

Ocena wpływu wybranych substancji stosowanych do dezynfekcji jaj wylęgowych na wyniki lęgu piskląt kurzych

**Klaudia Korowiecka, Magdalena Trela, Barbara Tombarkiewicz,
Krzysztof Pawlak, Jerzy W. Niedziółka, Magdalena Swadźba,
Marcin W. Lis[#]**

Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt,
Instytut Nauk Weterynaryjnych, Zakład Weterynarii, Rozrodu i Dobrostanu Zwierząt,
al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków; [#]e-mail: rzlis@cyf-kr.edu.pl

Celem pracy było zbadanie, czy preparaty używane do dezynfekcji jaj, w których podstawowymi substancjami czynnymi są: czwartorzędowe związki amoniowe (Amino-Steril); stabilizowany kwas nadoctowy i nadtlenek wodoru (Oxydion); aldehyd glutarowy, chlorek didecyldimetyloamoniowy, czwartorzędowe związki amoniowe i benzyl-C12-C16-alkilodimetyl (Viron FF); stabilizowany nadtlenek wodoru (Hydro-Clean), nie wykazują toksycznego działania na tkanki rozwijającego się zarodka kurzego. Badania przeprowadzono na jajach wylęgowych pochodzących od stada rodzicielskiego zestawu Ross 308. Ewentualne szkodliwe działanie wodnych roztworów preparatów dezynfekcyjnych oceniano *in vitro*, stosując test błony omoczniowo-kosmówkowej zarodka kurzego (ang. Hen's Egg Test – Chorioallantoic Membrane; HET-CAM). Uzyskane wyniki potwierdzono w badaniach *in vivo*, analizując wylęgowość dezynfekowanych jaj. W badaniu *in vitro* wodne roztwory preparatów o stężeniu 1%, 0,5%, 0,25% i 0,125% nakrapiano na uprzednio wypreparowaną błonę omoczniowo-kosmówkową żywego ośmiodniowego zarodka kurzego (n = 8 zarodków/preparat/stężenie). Toksyczność substancji oceniano na podstawie wystąpienia przekrwienia, wylewów i koagulacji naczyń krwionośnych błony po 0,5, 2 i 5 minutach, i odnoszono do 21-punktowej skali Luepke. Badanie *in vivo* obejmowały dwa doświadczenia przeprowadzone w warunkach produkcyjnych, podczas których wykorzystano jaja od stad w szczytowej (37. tydzień życia) i schyłkowej (54. tydzień życia) fazie nieśności. Oprysk jaj 1% wodnym roztworem preparatu dezynfekcyjnego (400 jaj/preparat/doświadczenie) przeprowadzano na ok. 2 godziny przed rozpoczęciem inkubacji. Oceniano wyniki lęgu, fazę rozwojową zarodków w chwili zamarcia oraz ewentualne przypadki zakażeń. W badaniach metodą HET-CAM stwierdzono, że 1% roztwory preparatów powodowały reakcję silną (Hydro-Clean), umiarkowaną (Oxydion i Amino-Steril) oraz słabą (Viron FF). Natomiast dla stężenia 0,125% stwierdzono słabą reakcję lub jej brak. Analiza wyników lęgu nie wykazała wpływu użytych preparatów dezynfekcyjnych na końcowe wyniki lęgu. Jednak w przypadku jaj pochodzących od niosek w końcowym okresie produkcji można zaobserwować, że

oprysk wodnymi roztworami każdego ze środków zmniejszał straty spowodowane wczesną zamieralnością zarodków. Podsumowując, badane środki dezynfekcyjne mogą być bezpiecznie stosowane w zakładach wylęgu drobiu.

SŁOWA KLUCZOWE: test błony omoczniowo-kosmówkowej / dezynfekcja / jaja wylęgowe / wylęgowość

Zadaniem każdego zakładu wylęgu drobiu jest zapewnienie producentowi zdrowych, pełnowartościowych piskląt. Zależy to zarówno od jakości stada reprodukcyjnego, tj. wartości genetycznej, stanu zdrowia, żywienia, jak i warunków utrzymania i postępowania z jajami wylęgowymi przed nakładem oraz samej technologii inkubacji. Jednak na każdym z tych etapów kluczowe znaczenie ma ściśle przestrzeganie zasad bioasekuracji [5]. Powszechnie uważa się, że znajdujące się na skorupie mikroorganizmy: bakterie *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*, *Enterobakter*, a także pleśnie i drożdże [1], mogą być czynnikiem istotnie obniżającym zdolność wylęgową jaj, a także powodować upadki piskląt w pierwszych dniach po wykluciu [3]. Zabiegiem prewencyjnym skutecznie zapobiegającym rozwojowi mikroorganizmów na skorupie jest dezynfekcja jaj. Zaleca się, aby jaja wylęgowe dezynfekować dwukrotnie: pierwszy raz niezwłocznie po zbiorze, a następnie przed rozpoczęciem inkubacji. Najczęściej w tym celu stosuje się zamgławianie parami formaliny, naświetlanie promieniowaniem ultrafioletowym lub opryski środkiem dezynfekującym [6].

Dobry środek dezynfekujący powinien być skuteczny wobec drobnoustrojów, odporny na niekorzystne warunki środowiska oraz mieć relatywnie niską cenę. Dodatkowymi zaletami są: bezwonność, łatwa biodegradowalność oraz brak toksyczności wobec organizmów żywych [14].

Używany powszechnie do dezynfekcji jaj formaldehyd jest substancją silnie toksyczną, drażniącą i rakotwórczą oraz ulegającą powolnej biodegradacji, a tym samym szkodliwą dla środowiska naturalnego [16, 20]. Z tego powodu coraz częściej w produkcji drobiarskiej odchodzi się od jego stosowania, sięgając po preparaty oparte na takich związkach chemicznych, jak: nadtlenuk wodoru, związki amoniowe, kwas nadoctowy oraz aldehydy (z wyłączeniem aldehydu mrówkowego). Należy jednak zauważyć, że do tej pory jednoznacznie nie udowodniono, czy preparaty oparte na wymienionych związkach są w pełni bezpiecznie dla ptasiego zarodka.

Jedną z metod stosowanych do oceny drażniącego działania substancji chemicznych, alternatywnych dla testu Draize, jest opracowany przez Luepke [10] test błony omoczniowo-kosmówkowej jaja kurzego (ang. Hen's Egg Test – Chorioallantoic Membrane; HET CAM). Model błony omoczniowo-kosmówkowej jaja kurzego z powodzeniem wykorzystywany jest do badania procesów biologicznych, takich jak: wymiana gazowa, transport substancji, a także ocena toksyczności substancji chemicznych oraz zjadliwości drobnoustrojów [18].

Dlatego interesujące wydawało się przeprowadzenie oceny ewentualnego szkodliwego działania czterech wybranych preparatów dezynfekcyjnych *in vitro*, przy wykorzystaniu testu błony omoczniowo-kosmówkowej zarodka kury domowej oraz weryfikacji tych wyników *in vivo* na podstawie analizy wyników lęgu.

Material i metody

Podczas badań wykorzystano preparaty dezynfekujące, w których podstawowymi substancjami czynnymi są:

- czwartorzędowe związki amoniowe (Amino-Steril);
- stabilizowany kwas nadoctowy i nadtlenek wodoru (Oxydion);
- aldehyd glutarowy i chlorek didecyldimetyloamoniowy oraz czwartorzędowe związki amoniowe i benzyl-C12-C16-alkilodimetyl (Viron FF);
- stabilizowany nadtlenek wodoru (Hydro-Clean).

Producentem wszystkich preparatów jest firma DDD-1 (Polska).

Ocena ewentualnego szkodliwego działania środków dezynfekujących przeprowadzona została w dwóch etapach: w badaniach *in vitro* metodą HET-CAM oraz w badaniach *in vivo*.

Jaja wylęgowe pochodzące od stada reprodukcyjnego kur mięsnych Ross 308 inkubowano w aparatach lęgowych typu Mesalles 65, w temperaturze (T) 37,8°C i wilgotności względnej (RH) 50% przez 8 dni. Po tym czasie przeprowadzonoświetlenie, odrzucając jaja niezapłodnione, uszkodzone i zawierające zamarte zarodki. W pozostałych jajach nad komorą powietrzną wykonywano otwór o średnicy ok. 20 mm, przez który wewnętrzną błonę podskorupową (ang. internal egg shell membrane – IESM) zwilżano 0,9% NaCl i odkładano do inkubatora na 20 minut. Po tym czasie jaja wyjmowano z inkubatora, odpipetowywano pozostały płyn fizjologiczny, a następnie usuwano IESM, odkrywając błonę omocznio-kosmówkową (ang. chorioallantoic membrane – CAM). Do testu używano tylko zarodków o nieuszkodzonej podczas preparowania błonie omocznio-kosmówkowej.

Na tak wypreparowaną błonę omocznio-kosmówkową (CAM) nakrapiano 200 µl wodnego roztworu badanego preparatu. Analizie poddano roztwory preparatów Amino-Steril, Oxydion, Hydro-Clean i Viron FF o stężeniu 1%, 0,5%, 0,25% i 0,125% (n = 8 zarodków/preparat/stężenie). W ocenie toksyczności posłużono się skalą 21-punktową (0-0,9 pkt. – brak reakcji; 1,0-4,9 pkt. – reakcja słaba; 5,0-8,9 pkt. – reakcja umiarkowana; 9,0-21 pkt. – reakcja silna) opartą na stopniu wystąpienia przekrwienia, wylewów i koagulacji naczyń krwionośnych błony po 0,5, 2 i 5 minutach [10]. Obserwacje przeprowadzono w temperaturze pokojowej przy użyciu lupy.

W badaniach *in vivo* użyto jaj wylęgowych pochodzących z tej samej fermi reprodukcyjnej kur mięsnych zestawu Ross 308 (Aviagen®), utrzymywanych w systemie ściółkowym. Przeprowadzono dwa doświadczenia, w których wykorzystano jaja od stad w różnej fazie nieśności:

- szczytowej (38. tydzień życia) i masie jaja 62,1 ± 3,42 g (średnia ±SD);
- schyłkowej (54. tydzień życia) i masie jaja 70,6 ± 7,38 g.

Jaja przed nakładem przechowywano przez ok. 72 godziny w magazynie jaj (T=18 ± 1°C, RH=70 ± 2%). Aby nie zaburzyć wyników doświadczenia zrezygnowano z dezynfekcji bezpośrednio po zbiorze jaj przeznaczonych do doświadczeń.

Na ok. 2 godziny przed rozpoczęciem inkubacji jaja wylęgowe podzielono na 6 grup doświadczalnych, złożonych z 8 tac lęgowych o pojemności 50 jaj (n=8/grupę; 8 tac × 50 jaj = 400 jaj/grupę). Przy pomocy ręcznego opryskiwacza nanoszono tzw. „dużą kroplą”

na powierzchnię skorup jaj (ok. 20 ml/ jajo) czystą wodę (ślepa próba) lub 1% wodny roztwór preparatów: Amino-Steril, Oxydion, Viron FF, Hydro-Clean. Jaja z grupy kontrolnej nie były opryskiwane. Temperatura wody i roztworów wynosiła ok. 20°C. Tace z jajami pozostawiano do wyschnięcia przez ok. 30 minut, a następnie umieszczano losowo na jednym wózku lęgowym. Jednakową procedurę stosowano w każdym z przeprowadzonych powtórzeń doświadczenia.

Jaja inkubowano w warunkach produkcyjnych, w wielonakładowych aparatach lęgowych typu Reform-Poldrob, w temperaturze 37,8°C i RH 51% (doby E1-E18), a po przekładzie w komorze klujnikowej Jartom przy parametrach mikroklimatycznych zmieniających się w zależności od fazy klucia piskląt (temperaturę stopniowo obniżano z początkowej 37,8°C i RH 55%, przez 37,2°C i RH 60% podczas fazy nakluwania wewnętrznego oraz 37,0°C i RH 70% podczas opuszczania skorupy przez pisklęta, tzw. wysyp lub szczyt wykluwania, do 36,5°C i RH 60% podczas dosuszania piskląt).

Wszystkie jaja wybrakowane podczas świetlenia w 10. dobie inkubacji (E10) oraz pozostałe po wylęgu w koszach klujnikowych objęte zostały analizą embriopatologiczną, podczas której stwierdzano zapłodnienie i określano fazę rozwojową zarodka według klucza zaproponowanego przez Borzemską [2], a także odnotowywano ewentualne zakażenia, wady ułożenia zarodka w jaju oraz deformacje rozwojowe.

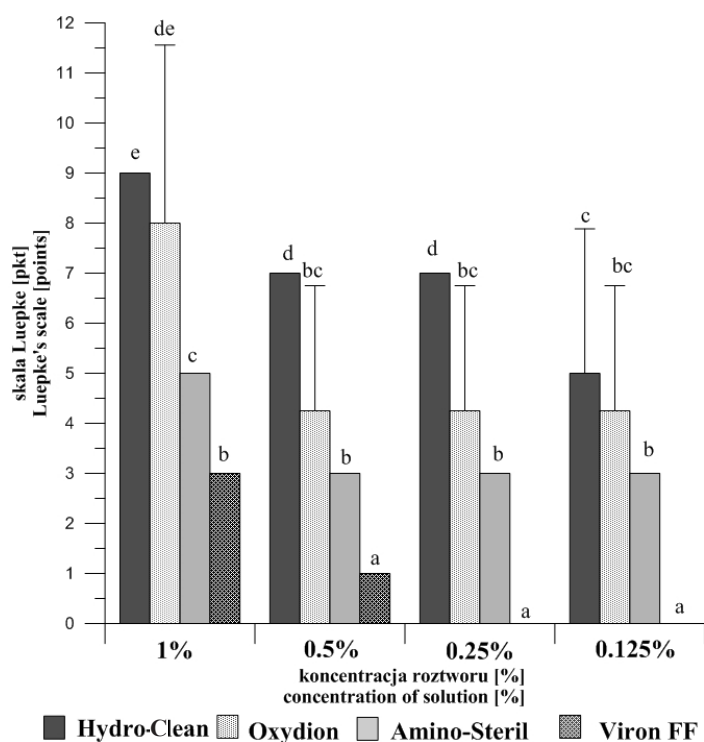
Wyniki uzyskane w badaniach metodą HET-CAM analizowano przy pomocy dwuczynnikowej analizy wariancji, uwzględniając rodzaj i stężenie preparatu, a różnice pomiędzy grupami określano testem Holm-Sidaka.

Wpływ oprysku danym preparatem na wyniki lęgu odnoszono do liczby jaj rzeczywiście zapłodnionych i analizowano przy pomocy jednoczynnikowej analizy wariancji, przyjmując, że liczebność każdej z grup wynosi 8 tac ($n=8$). Różnice pomiędzy poszczególnymi grupami określano testem Tukey'a lub w przypadku braku rozkładu normalnego – testem Holm-Sidaka. Obliczenia statystyczne wykonano przy pomocy programu Sigma-Stat 3.5 (USA).

Wyniki i dyskusja

W badaniu metodą HET-CAM stwierdzono istotne różnice w toksyczności poszczególnych preparatów (rys. 1). Roztwory wodne preparatów o stężeniu 1% (zalecanego do dezynfekcji przez producenta) charakteryzowały się toksycznością: silną – preparat Hydro-Clean (9 pkt.), umiarkowaną – preparaty Oxydion i Amino-Steril (odpowiednio 8 i 5 pkt.) oraz słabą – Viron FF (3 pkt.), zgodnie z przyjętą skalą Luepke [10]. Wraz ze spadkiem stężenia substancji czynnej obniżała się jej toksyczność ($P\leq 0,05$). Brak reakcji zanotowano już przy stężeniu 0,25% dla preparatu Viron FF, podczas gdy reakcję umiarkowaną obserwowano dla pozostałych preparatów jeszcze dla stężenia 0,125% (rys. 1).

Mając na uwadze obiektywizm analizy i interpretacji uzyskanych wyników w kolejnych doświadczeniach *in vivo* należy zauważyć, że zapłodnienie jaj wylęgowych pochodzących od stada znajdującego się w szczycie nieśności wynosiło $97,1 \pm 2,29\%$ (średnia \pm SD) i było wyższe o 12,7 punktów procentowych (p.p.) w porównaniu do jaj od stada znajdującego się w końcowym okresie produkcji ($P\leq 0,05$). Szczegółowa analiza embrio-



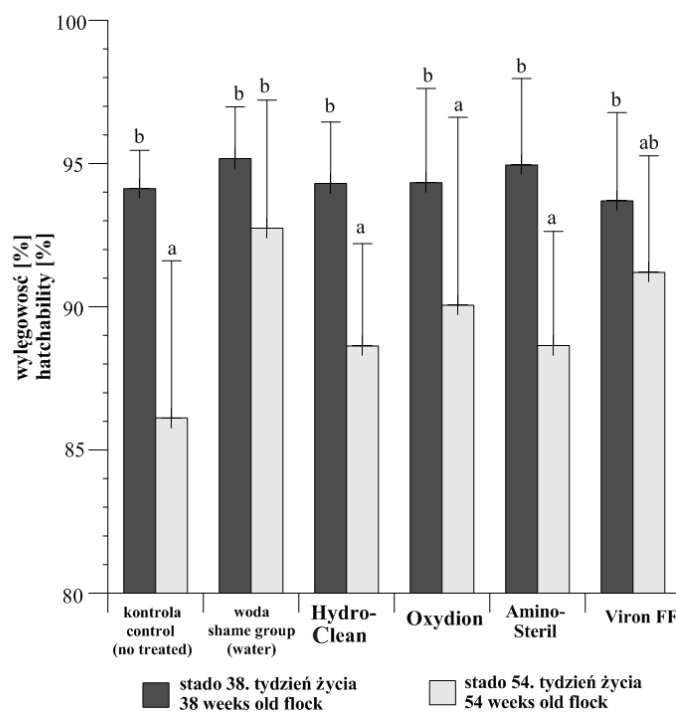
a, b – wartości oznaczone różnymi literami różnią się istotnie ($P \leq 0,05$)
 a, b – values marked with different letters differ significantly ($P \leq 0,05$)

Rys. 1. Ocena stopnia toksyczności wodnych roztworów preparatów Amino-Steril, Oxydion, Hydro-Clean i Viron FF o stężeniu 1%, 0,5%, 0,25% i 0,125% w teście błony omocznio-kosmówkowej zarodka kurzego ($n = 8$ zarodków/preparat/stężenie). Wyniki w 21-punktowej skali Luepke'a (0-0,9 pkt. – brak reakcji; 1,0-4,9 pkt. – reakcja słaba; 5,0-8,9 pkt – reakcja umiarkowana; 9-21 pkt. – reakcja silna) opartą na stopniu wystąpienia przekrwienia, krwotoków i koagulacji naczyń krwionośnych błony po 0,5, 2 i 5 minutach

Fig. 1. Toxicity assessment by Hen's Egg Test – Chorioallantoic Membrane of 1%, 0.5%, 0.25% and 0.125% aqueous solutions of disinfectants: Amino-Steril, Oxydion, Hydro-Clean and Viron FF ($n = 8$ embryos/disinfectant/concentration). Results presented in Luepke's 21-point scale (0-0.9 points – no reaction, 1.0-4.9 points – weak reaction, 5.0-8.9 points – moderate reaction, 9-21 points – strong reaction) based on the degree of hyperaemia, haemorrhage and coagulation of the blood vessels of the membrane after 0.5, 2 and 5 minutes

patologiczna wykazała jednak, że wartość biologiczna jaj (udział jaj zapłodnionych) w poszczególnych grupach danego doświadczenia kształtowała się na podobnym poziomie ($P > 0,05$; tab. 1 i 2) i nie zaburzała oceny działania właściwego czynnika doświadczalnego (preparatu dezynfekcyjnego).

Wylęgowość z jaj zapłodnionych w stadzie znajdującym się w szczycie nieśności była wyższa niż w stadzie znajdującym się w końcowym okresie produkcji. W przypadku grupy kontrolnej różnica ta wynosiła 8,6 p.p. ($P \leq 0,05$), podczas gdy w grupach doświadczalnych wahała się od 1,8 p.p. (grupa dezynfekowana Vironem FF; $P > 0,05$) do 5,8 p.p. (grupa dezynfekowana preparatem Amino-Steril; $P \leq 0,05$) (rys. 2, tab. 1 i 2). Jednocześnie końcowe wyniki lęgu z jaj pochodzących od stada w wieku 54 tygodni w grupach traktowanych wodnymi roztworami preparatów były wyższe od 2,5 (Amino-Steril i Hydro-Clean) do 6,6 p.p. (czysta woda) w porównaniu do grupy niedezynfekowanej (tab. 2). Było to wynikiem zmniejszenia strat związanych z wczesną zamieralnością zarodków w grupach opryskiwanych wodą lub wodnymi roztworami preparatów Amino-Steril, Viron FF, Hydro-Clean i Oxydion, w porównaniu do grupy kontrolnej, odpowiednio o 3,1; 1,8; 2,1; 1,8 i 2,3 razy ($P \leq 0,05$; tab. 2). Takiego efektu nie obserwowano natomiast w przypadku zastosowania oprysku jaj wylęgowych pochodzących od stada w szczycie nieśności ($P > 0,05$; tab. 1).



a, b – wartości oznaczone różnymi literami różnią się istotnie ($P \leq 0,05$)
 a, b – values marked with different letters differ significantly ($P \leq 0,05$)

Rys. 2. Wylęgowości z jaj zapłodnionych pochodzących od stada rodzicielskiego brojlerów kurzych Ross 308 w wieku 38 i 54 tygodni w zależności od zastosowanego środka dezynfekcyjnego
 Fig. 2. Hatchability of fertilized eggs from parent stock of Ross 308 broiler breeders at the age of 38 and 54 weeks depending on the disinfectant used

Tabela 1 – Table 1

Wyniki analizy embriopatologicznej jaj od 38-tygodniowych kur stada rodzicielskiego zestawu kurcząt brojlerów Ross 308 dezynfekowanych przed inkubacją przez opryskiwanie 1% wodnymi roztworami środków Amino-Steril, Viron FF, Hydro-Clean oraz Oxydion

Results of pathological embryo analyses of eggs laid by 38-week-old hens from the parent stock of Ross 308 broiler breeders, disinfected before incubation by spraying with a 1% solution of Amino-Steril, Viron FF, Hydro-Clean or Oxydion

Wyszczególnienie Specification	Kontrola Control (not disinfected)		Czysta woda Blank (sprayed with water)		Amino-Steril		Viron FF		Hydro-Clean		Oxydion	
	mean	±SD	mean	±SD	mean	±SD	mean	±SD	mean	±SD	mean	±SD
Jaja nalożone Set eggs	50,0	±0,00	50,0	±0,00	50,0	±0,00	50,0	±0,00	50,0	±0,00	50,0	±0,00
Jaja uszkodzone mechanicznie Cracked eggs	0,5	±0,71	1,0	±0,00	0,5	±0,71	0,0	±0,00	0,8	±0,75	1,0	±0,00
Jaja niezaplodnione Unfertilized eggs	0,9	±0,83	0,8	±0,71	0,6	±0,74	0,5	±0,93	1,3	±1,28	0,9	±0,83
Jaja zaplodnione Fertilized eggs	48,5	±0,53	48,8	±1,04	49,0	±0,53	48,9	±1,25	47,9	±1,73	48,5	±1,41
pomiędzy E1-E6 between E1-E6	2,3	±1,72	2,8	±2,16	1,5	±1,79	3,0	±2,40	2,1	±1,51	3,1	±3,52
pomiędzy E7-E17 between E7-E17	0,3	±0,71	0,5	±0,94	1,0	±1,07	1,3	±1,49	1,3	±1,54	0,8	±1,07
pomiędzy E18-E21 between E18-E21	1,5	±1,81	1,5	±1,78	2,3	±1,72	1,3	±2,38	2,6	±1,86	1,6	±1,86
Razem Total	4,1	±2,17	4,8	±1,81	4,8	±1,86	5,5	±3,33	5,9	±2,50	5,4	±3,58
Deformacje rozwojowe Malformations	0,3	±0,71	0,0	±0,00	0,3	±0,71	0,3	±0,71	1,1	±2,32	0,5	±0,93
Jaja zakażone Contaminated eggs	1,0	±1,08	0,5	±0,94	0,5	±0,93	1,3	±2,38	0,5	±1,47	0,5	±0,97
Pisklęta wykłute Hatched chicks	94,7	±2,12	95,2	±1,81	94,4	±2,56	93,0	±3,84	92,5	±3,02	93,5	±4,00

Tabela 2 – Table 2

Wyniki analizy embriopatologicznej jaj od 54-tygodniowych kur stada rodzicielskiego zestawu kurcząt broilerów Ross 308 dezynfekowanych przed inkubacją przez opryskiwanie 1% wodnymi roztworami środków Amino-Steril, Viron FF, Hydro-Clean oraz Oxydion

Results of pathological embryo analyses of eggs laid by 54-week-old hens from the parent stock of Ross 308 broiler breeders, disinfected before incubation by spraying with a 1% solution of Amino-Steril, Viron FF, Hydro-Clean or Oxydion

Wyszczególnienie Specification	Kontrola Control (not disinfected)		Czysta woda Blank (sprayed with water)		Amino-Steril		Viron FF		Hydro-Clean		Oxydion	
	mean	±SD	mean	±SD	mean	±SD	mean	±SD	mean	±SD	mean	±SD
Jaja nalożone Set eggs	50,0	±0,00	50,0	±0,00	50,0	±0,00	50,0	±0,00	50,0	±0,00	50,0	±0,00
Jaja uszkodzone mechanicznie Cracked eggs	0,2	±0,41	0,3	±0,46	0,1	±0,35	0,3	±0,46	0,0	±0,00	0,4	±0,52
Jaja niezaplodnione Unfertilized eggs	7,7	±1,75	6,6	±1,30	6,6	±2,56	7,1	±3,04	8,3	±1,98	6,9	±1,13
Jaja zaplodnione Fertilized eggs	41,7	±1,86	43,0	±1,51	42,5	±2,33	42,3	±3,06	41,4	±2,07	42,4	±1,19
pomiędzy E1-E6 beetwen E1-E6	8,0	±4,92 ^b	2,6	±1,45 ^a	4,4	±2,05 ^a	3,9	±2,13 ^a	4,5	±2,93 ^a	3,5	±4,00 ^a
pomiędzy E7-E17 beetwen E7-E17	1,2	±1,95	1,7	±2,69	1,8	±2,42	1,4	±2,08	2,1	±1,48	1,4	±1,75
pomiędzy E18-E21 beetwen E18-E21	2,8	±4,51	2,1	±1,99	2,6	±1,95	2,3	±1,72	2,4	±2,21	4,1	±2,10
Razem Total	12,0	±7,23^b	6,4	±4,00^a	8,8	±3,54^{ab}	7,7	±3,79^{ab}	9,0	±2,81	9,1	±6,54^{ab}
Deformacje rozwojowe Malformations	0,8	±1,20	0,9	±1,22	0,9	±1,18	0,3	±0,75	1,5	±1,22	0,0	±0,00
Jaja zakażone Contaminated eggs	1,1	±1,91	0,3	±0,80	1,7	±1,57	0,9	±1,18	0,9	±1,25	0,9	±1,21
Pisklęta wyklute Hatched chicks	86,1	±5,49	92,7	±4,47	88,6	±3,99	91,2	±4,08	88,6	±3,58	90,1	±6,56

a, b – wartości w rzędach oznaczone różnymi literami różnią się istotnie (P≤0,05)

a, b – values in rows marked with different letters differ significantly (P≤0,05)

Stosowane środki dezynfekcyjne nie miały wpływu na częstotliwość występowania deformacji rozwojowych ($P > 0,05$). Niemniej jednak stwierdzono, że w jajach pochodzących od stada znajdującego się w końcowym okresie produkcji zmiany rozwojowe występowały 2,4 razy częściej niż w szczycie nieśności (tab. 1 i 2).

Przeprowadzone analizy nie wykazały wpływu stosowanego środka dezynfekcyjnego, jak i wieku stada reprodukcyjnego, na częstotliwość występowania zmian w treści jaja spowodowanych przez bakterie i grzyby. Zmiany takie można było stwierdzić w przypadku 0,5-1,3% jaj ($P \geq 0,05$; tab. 1 i 2).

Uzyskane wyniki wskazują, że w zależności od wieku stada zmienia się wrażliwość zarodków na zastosowany środek dezynfekcyjny. Zjawisko to może wskazywać na obniżanie się wartości biologicznej jaja wraz ze „starzeniem się” stada [7]. W przeprowadzonym doświadczeniu, w przypadku stada, które znajdowało się w szczycie nieśności nie stwierdzono istotnego wpływu dezynfekowania na wylęgowość. Natomiast w stadzie, które znajdowało się w końcowym okresie cyklu produkcyjnego, w grupie jaj zraszanych czystą wodą lub wodnymi roztworami preparatów Amino-Steril, Viron FF, Hydro-Clean i Oxydion uzyskano wylęgowość wyższą o 2,5-6,6 p.p. niż w grupie jaj niedezynfekowanych. Wiązało się to przede wszystkim ze zmniejszoną zamieralnością zarodków pomiędzy E1-E6 (w tzw. I szczycie zamieralności). Podobne zjawisko obserwowali także inni autorzy [8, 11, 17], ale nie podejmowali prób jego wytłumaczenia. Zaskakuje w szczególności znacząca poprawa wyników lęgu jaj opryskiwanych czystą wodą, z którą kontakt uważany jest za sprzyjający rozwojowi patogenów na skorupie i ich przenikaniu przez błony podskorupowe jaj [4].

Wysoka wylęgowość piskląt w grupach doświadczalnych dowodzi, że badane preparaty nie były toksyczne dla zarodków w jajach, a niewielka częstotliwość występowania deformacji rozwojowych wyklucza również ich działanie teratogenne. Znajduje to potwierdzenie w wynikach testu HET-CAM. Stwierdzono, że 1% wodne roztwory badanych preparatów charakteryzowały się słabą (Viron FF) lub umiarkowaną toksycznością (Amino-Steril i Oxydion). Jedynie preparat Hydro-Clean wykazywał silne działanie drażniące na naczynia krwionośne błony omoczniowo-kosmówkowej. Związane jest to najprawdopodobniej z silnym działaniem hemolitycznym nadtlenku wodoru, będącego podstawowym składnikiem aktywnym tego preparatu [12, 19].

Analiza embriopatologiczna nie wykazała różnic pomiędzy grupami w liczbie jaj o zmienionej treści, wskazującej na zakażenie mikroorganizmami patogennymi. Z tego powodu można domniemywać, że pojedyncze zakażenia powodujące zamieranie niektórych zarodków były wynikiem zakażeń transowarialnych, tzw. pionowych, spowodowanych stanem zdrowia danej nioski [9, 13]. Zakażeń takich, w przeciwieństwie do zakażeń poziomych, nie można wiązać ze skutecznością działania preparatów dezynfekujących. Należy również zauważyć, że w przypadku przestrzegania zasad prewencji na terenie fermy i zakładu wylęgu drobiu przypadki zakażenia poziomego w aparacie lęgowym występują sporadycznie [4, 15].

W kontekście uzyskanych wyników należy stwierdzić, że preparaty oparte na nadtlenku wodoru (Hydro-Clean), związkach amoniowych (Amino-Steril), kwasie nadoctowym (Oxydion) oraz aldehydach (Viron FF) są bezpieczne dla zarodków.

PIŚMIENNICTWO

1. AL-SHAMMARI K.I.A., BATKOWSKA J., GRYZIŃSKA M.M., 2015 – Assessment of ultraviolet light effect in hatching eggs disinfection on hatchability traits of two breeds of quails and chicken. *Acta Scientiarum Polonorum Zootechnica* 14, 33-44.
2. BORZEMSKA W.B., 1978 – Vademecum chorób drobiu. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa, 145.
3. COUFAL C.D., CHAVEZ C., KNAPE K.D., CAREY J.B., 2003 – Evaluation of a method of ultraviolet light sanitation of broiler hatching eggs. *Poultry Science* 82, 754-759.
4. COX N.A., BERRANG M.E., CASON J.A., 2000 – Salmonella penetration of egg shells and proliferation in broiler hatching eggs. *Poultry Science* 79, 1571-1574.
5. DROZD L., GONDEK M., SZKUCIK K., KNAGA S., ZIOMEK M., 2015 – Zanieczyszczenie mikrobiologiczne powierzchni jaj przepiórczych. *Medycyna Weterynaryjna* 71, 303-306.
6. DURMUS I., 2012 – Determining effects of use of various disinfecting materials on hatching results and total bacterial count. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances* 7, 739-744.
7. ELIBOL O., PEAK S.D., BRAKE J., 2002 – Effect of flock age, length of egg storage, and frequency of turning during storage on hatchability of broiler hatching eggs. *Poultry Science* 81, 945-950.
8. FASENKO G.M., O'DEA CHRISTOPHER E.E., MCMULLEN L.M. 2009 – Spraying hatching eggs with electrolyzed oxidizing water reduces eggshell microbial load without compromising broiler production parameters. *Poultry Science* 88, 1121-1127.
9. KĘDZIA R., LIS M.W., 2013 – Przyczyny śmiertelności piskląt brojlerów w początkowym okresie odchowu. *Polskie Drobiarstwo* 3, 2-7.
10. LUEPKE N.P., 1985 – Hen's egg chorioallantoic membrane test for irritation potential. *Food and Chemical Toxicology* 23, 287-291.
11. MAHARJAN P., COX S., GADDE U., CLARK F. D., BRAMWELL K., WATKINS S.E., 2017 – Evaluation of chlorine dioxide based product as a hatchery sanitizer. *Poultry Science* 96, 560-565.
12. MIZAK L., 2005 – Sporobójcza aktywność nadtlenu wodoru i kwasu nadoctowego wobec przetrwalników *Bacillus anthracis*. *Medycyna Doświadczalna i Mikrobiologia* 57, 437-422.
13. NEWELL D.G., FEARNLEY C., 2003 – Sources of campylobacter colonization in broiler chickens. *Applied and Environmental Microbiology* 69, 4343-4351.
14. OLESIAK P., STĘPNIAK L., 2012 – Skuteczność wybranych związków dezynfekcyjnych wobec przetrwalników *Bacillus*. *Inżynieria i Ochrona Środowiska* 15, 141-150.
15. PIJARSKA I., 2007 – Wpływ wybranych czynników zakaźnych na lęgi jaj kurzych. *Polskie Drobiarstwo* 12, 11-14.
16. RHOMBERG L.R., 2015 – Contrasting directions and directives on hazard identification for formaldehyde carcinogenicity. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 73, 829-833.
17. SHELDON B.W., BRAKE J., 1990 – Hydrogene peroxide as an alternative hatching egg disinfectant. *Poultry Science* 70, 1092-1098.
18. WALDES T.I., KREUTZER D., MOUSSY F., 2002 – The chick chorioallantoic membrane as a novel in vivo model for the testing of biomaterials. *Journal of Biomedical Materials Research* 62, 273-282.

19. WATT B.E., PROUDFOOT A.T., VALE J.A., 2004 – Hydrogen peroxide poisoning. *Toxicological Reviews* 23, 51-57.
20. WHISTLER P.E., SHELDON B.W., 1989 – Bactericidal activity, eggshell conductance, and hatchability effects of ozone versus formaldehyde disinfection. *Poultry Science* 68, 1074-1077.

Klaudia Korowiecka, Magdalena Trela, Barbara Tombarkiewicz,
Krzysztof Pawlak, Jerzy W. Niedziółka, Magdalena Swadźba,
Marcin W. Lis

Assessment of the effect of selected substances used for disinfection of hatching eggs on hatching results in chickens

Summary

The aim of the study was to investigate whether egg disinfectants have a toxic effect on the tissues of the developing chicken embryo. The basic active ingredients of the disinfectants tested were quaternary ammonium compounds (Amino-Steril); stabilized peracetic acid and hydrogen peroxide (Oxydion); glutaraldehyde, didecyldimethylammonium chloride, quaternary ammonium compounds and benzyl-C12-C16-alkyldimethyl (Viron FF); and stabilized hydrogen peroxide (Hydro-Clean). The tests were performed on hatching eggs from Ross 308 parent stock. The potential adverse effects of aqueous solutions of the disinfectants were tested *in vitro* using the Hen's Egg Test – Chorioallantoic Membrane (HET-CAM). The results were confirmed in *in vivo* tests by analysing the hatchability of disinfected eggs. In the *in vitro* tests, aqueous solutions of the disinfectants with concentrations of 1%, 0.5%, 0.25% and 0.125% were spotted onto previously prepared chorioallantoic membranes of live eight-day-old chicken embryos ($n = 8$ embryos/disinfectant/concentration). The toxicity of the substances was assessed on the basis of the occurrence of hyperaemia, haemorrhage, and coagulation of the blood vessels of the membrane after 0.5, 2 and 5 minutes, using the 21-point Luepke scale. The *in vivo* testing consisted of two experiments conducted under production conditions, using eggs from flocks in the peak (37th week of life) and the final (54th week) laying periods. The eggs were sprayed with a 1% aqueous solution of disinfectant (400 eggs/disinfectant/experiment) about 2 hours before incubation. Hatching results, the stage of embryonic development at the time of death and any cases of infection were evaluated. The HET-CAM tests showed that the 1% solutions of the disinfectants induced strong (Hydro-Clean), moderate (Oxydion and Amino-Steril) and weak (Viron FF) reactions, while the 0.125% concentration produced a weak reaction or none. Analysis of hatching results showed that they were not affected by the disinfectants. However, in the case of laying hens in their final production period, spraying with aqueous solutions of each agent reduced losses due to early embryo mortality. In conclusion, the disinfectants tested can be safely used in poultry hatcheries.

KEY WORDS: Hen's Egg Test – Chorioallantoic Membrane / disinfection / hatching eggs / hatchability