

# Nosicielstwo w stadzie oraz obecność *Salmonella enteritidis* w jajach i zarodkach kurzych

BORYS BŁASZCZAK, MARIAN BINEK

Zakład Bakteriologii Katedry Mikrobiologii i Immunologii Wydziału Weterynaryjnego SGGW w Warszawie,  
ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

Błaszczak B., Binek M.

## *S. enteritidis* carrier state in flocks and its presence in eggs and chicken embryos

### Summary

The relation between the degree of carrier state of *S. enteritidis* in broiler reproductions flocks and the probability that these laying hens will produce contaminated eggs has been studied. The quantity of the *S. enteritidis* carrier state asymptomatic laying hens indicated that about 7% were carrying the infection. The shedding of the organism in the faeces was at a relatively low level, but maintained during the whole observation period. The following lesions were indicated in the carriers of *S. enteritidis* in the liver in 15,9% and spleen in 18,8%, as well as in their ovary (17,4%) and oviduct (0,58%).

*Salmonella* was isolated from the shell surface in 2,5% and from eggs contents in only 0,3%. Possible transovarial contamination of the eggs with this organism has been inferred by its recovery from the contents of intact eggs and ovaries of laying hens. This observation does not negate the fact that this microorganism is transmitted vertically and excreted by newly hatched chicks.

**Keywords:** *Salmonella enteritidis*, eggs, chickens.

Nosicielstwo *Salmonella enteritidis* wśród drobiu pozostaje w ścisłym związku z horyzontalnym rozprzestrzenianiem się zarazka i masowymi zakażeniami ptaków. Najbardziej wrażliwymi na zakażenie są pisklęta, szczególnie w pierwszych dniach po wykluciu. Mniej więcej połowa zakażonych piskląt pada, a te które przeżyją stają się siewcami pałeczek *Salmonella* nawet do 12 tygodnia życia (6). Samo zjawisko nosicielstwa, jak i drogi horyzontalnego i wertykalnego przenoszenia się zarazków nie są do końca wyjaśnione. Badania różnych autorów (5, 14) przedstawiają często sprzeczne dane dotyczące tego zagadnienia. *S. enteritidis* niezależnie od drogi zakażenia kolonizują się w przewodzie pokarmowym i są wydalane z kałem, ale także wnikają do komórek nabłonka jelitowego i do narządów mięsnych takich jak śledziona i wątroba (7). Stwierdzano je również w jajnikach i jajowodach (2, 15) oraz jądrach u kogutów (13). Wykazano, że szczepy *S. enteritidis* typu fagowego 4 powszechnie występującego w Europie, okazały się bardziej zjadliwe od innych typów fagowych, a kurczęta rasy White Leghorn bardziej wrażliwe od kurcząt innych ras (8). Berchieri i wsp. (1) izolowali *S. enteritidis* z wątroby i jelita grubego niosek tylko do 10 tygodnia po zakażeniu. Sugerują oni, że możliwe jest w tym czasie przeniesienie się zarazka drogą wertykalną, co jednak w rzeczywistości zdaniem tych autorów nie następuje.

Występowanie *S. enteritidis* w żółtku i białku jaj znoszonych przez zakażone nioski wykrywali także inni autorzy. Zazwyczaj był to niewielki procent jaj i to w pierwszych dwóch tygodniach po zakażeniu ptaków (3, 10). Obecność tych pałeczek w białku i w zewnętrznej błonie żółtkowej wspiera jednak hipotezę o możliwym wertykalnym przenoszeniu się zarazków, a także zakażeniu przetrwałym.

Celem badań było:

- 1) określenie odsetka nosicieli oraz jaj zanieczyszczonych *S. enteritidis* w stadzie niosek reprodukcyjnych,
- 2) przeanalizowanie zależności między zamieraniem zarodków a zakażeniem jaj przez *S. enteritidis*,
- 3) określenie odsetka piskląt, od których izoluje się *S. enteritidis* w pierwszych dniach po wykluciu.

### Materiał i metody

Badania przeprowadzono w stadzie niosek reprodukcyjnych liczących 6000 kur w wieku 12 miesięcy. Na 100 kur przypadało 12-15 kogutów. Stado utrzymywane było w standardowych warunkach i karmione mieszankami przemysłowymi przeznaczonymi dla niosek. Zwierzęta nie wykazywały żadnych objawów chorobowych, nie stwierdzano u nich także wahań ani spadku nieśności. Do doświadczenia wybierano 100 niosek i 12 kogutów, od których pobierano co 7 dni wymazy ze steku i wysiewano na podłoża do izolacji pałeczek *Salmonella*. Ptaki, od których wychodowano salmonele ubijano i wykonywano posiewy bakterio-

logiczne z wątroby i śledziony, u niosek z jajnika i jajowodów, a u kogutów z jąder.

Z jaj pochodzących od niosek z grup doświadczalnych, bezpośrednio po zniesieniu, pobierano wymazy ze skorupy, a następnie dezynfekowano przez zanurzenie w roztworze Virkonu. Jaja rozbijano i zbierano białko razem z żółtkiem do jałowych naczyń. Wymazy i zawartość jaj wysiewano na podłoża do izolacji pałeczek *Salmonella*.

Z partii jaj niewyklutych w klujniku wybierano losowo 100 sztuk i wykonywano posiewy bakteriologiczne ze skorp i zamarych zarodków (woreczek żółciowy, jelito grube i stek).

Partię 100 nowo wyklutych piskląt przetrzymywano przez 3 dni i pobierano od nich wymazy, które badano bakteriologicznie na obecność *S. enteritidis*. Materiał do badań bakteriologicznych: wymazy, wycinki narządów wewnętrznych, zawartość jaj wysiewano bezpośrednio na agar z krwią, podłoże McConkeya i podłoże SS oraz na podłoża wybiórczo-namnażające jak SF (podłoże z kwaśnym seleninem sodu) i bulion GN (HAJNA). Po 18 godzinach inkubacji z podłoża SF i GN dokonywano przesiewu na podłoża McConkeya i SS. Izolowano kolonie podejrzone o przynależność do rodzaju *Salmonella*. Uzyskane szczepy identyfikowano biochemicznie przy pomocy API 20E i serologicznie przy pomocy surowic przeciwko antygenom somatycznym i rzęskowym.

### Wyniki i omówienie

W badaniach nad nosicielstwem *S. enteritidis* w stadzie reprodukcyjnym brojlerów stwierdzono jej obecność w steku u 69 na 1000 badanych niosek i u 7 na 720 badanych kogutów (tab. 1). Po eliminacji tych zwierząt w kolejnych tygodniach doświadczenia, stwierdzono w dalszym ciągu siewstwo zarazka przez około 2-3% zwierząt do 5 tygodnia obserwacji (tab. 2). Wśród kogutów przeciętnie jeden w grupie był siewcą *S. enteritidis*. U ptaków siewców po uboju stwierdzono nosicielstwo *S. enteritidis* w wątrobie (około 15,9%), śledzionie (18,8%), jajnikach (17,4%), jajowodach (0,58%), a u 1 z 6 kogutów stwierdzono ten zarazek w jądrach, wątrobie i śledzionie.

Przedstawione dane wykazały, że w zakażonym stadzie około 7% niosek było siewcami *S. enteritidis*, ale odsetek nosicieli był wyższy i spośród nich w kolejnych tygodniach ujawniali się potencjalni siewcy. W 5 tygodniowej obserwacji stwierdzono, że około 9% zwierząt ujawniło się jako siewcy *S. enteritidis*. W badaniach nad obecnością *S. enteritidis* na skorupkach i w zawartości jaj pochodzących od niosek nosicieli, zarazek stwierdzono w 25 przypadkach na 1000 jaj na skorupie i w 3 przypadkach na 1000 w zawartości jaja. Odsetek jaj zawierających *S. enteritidis* na skorupie (2,5%) jest zbliżony z odsetkiem siewców tych drobnoustrojów, u których wykazano *S. enteritidis* w steku w kolejnych tygodniach obserwacji od 2-3% niosek.

Tab. 1. Występowanie *Salmonella enteritidis* w steku i narządach wewnętrznych niosek i kogutów nosicieli

Stek		Liczba zwierząt, u których wykrywano <i>S. enteritidis</i>				
		W innych narządach w grupie ptaków, u których <i>S. enteritidis</i> stwierdzono w steku				
		wątroba	śledziona	jajniki	jajowody	jądra
nioski	69/1000	11/69	13/69	12/69	4/69	-
koguty	6/720	1/6	1/6	-	-	1/6

Objaśnienie: liczba wyników dodatnich/liczba badanych

Wyhodowanie zarazków z posiewów materiału pobranego z 12 jajników i 4 jajowodów w grupie 69 siewców sugeruje, że *S. enteritidis* może także zakażać jajo w trakcie jego powstawania. Potwierdzeniem tej tezy jest obecność zarazków w żółtku i białku badanym łącznie w 0,3% jaj (tab. 3). Według opinii Methnera i wsp. (10) *Salmonelle* mogą wnikać do pęcherzyków preowulacyjnych. Powtały jednak odczyn zapalny zapobiega ich dojrzewaniu i owulacji. Nie wykluczają oni przeniesienia się zakażenia do jaja z narządów zaangażowanych w jego powstawanie.

Porównując liczby przypadków, w których izolowano *S. enteritidis* z jajników – 12 i jajowodów – 4 i zawartości jaj – 3 w odniesieniu do łącznej liczby 1000 niosek i 1000 jaj, można zauważyć ich zbieżność. Uwzględniając hipotezę, że wszystkie lub część pęcherzyków preowulacyjnych ginie (10), w dalszym ciągu pozostaje niebezpieczeństwo zanieczyszczenia jaja poza jajnikiem w trakcie jego rozwoju.

Z danych przedstawionych w tab. 3 wynika, że jeżeli do wylęgu przeznacza się jaja pochodzące od niosek nosicieli *S. enteritidis*, to w znacznym odsetku (41 na 100 zamarych zarodków) można reizolować te zarazki z jaj zamarych podczas inkubacji. Zakażenie może być jednym z czynników powodującym zamieranie zarodków. Zwykle w takich przypadkach odsetek zamarych zarodków w inkubatorze i klujniku dochodzi do 15%, a nawet przekracza tę wartość. Biorąc pod uwagę, że jaja do wylęgu gromadzone są przez kilka dni, można się spodziewać zwiększenia liczby jaj zakażonych w całej partii, w porównaniu do jaj znoszonych danego dnia. Jak przedstawiono w tab. 3. przyżyciowo u piskląt do 3-go dnia życia (u 2 na 100) można stwierdzić *S. enteritidis* w steku. Wydalanie zarazka nawet przez pojedyncze piskląta nosicieli może wpływać jednak na gwałtowne szerzenie się zakażeń horyzontalnych. Obecność *S. enteritidis* na skorupkach jaj i w narządach wewnętrznych zamarych zarodków w klujniku, sugeruje, że zakażenia horyzontalne mogą już mieć tam miejsce. Wykazanie przez Nakamurę i wsp. (7) aerogennej drogi zakażenia i wnikania *S. enteritidis* do komórek i tkanek ptaków, podobnie jak przy zakażeniu doustnym, uprawdopodobnia tę tezę.

Badania nad nosicielstwem *S. enteritidis* w stadzie reprodukcyjnym brojlerów, spośród których 79,2% wykazywało pozytywne miano serologiczne, prze-

Tab. 2. Występowanie *Salmonella enteritidis* w steku niosek nosicieli zarazka

Tydzień badania	Liczba zwierząt, u których wykryto <i>S. enteritidis</i>	
	nioski	koguty
1	2/100	0/12
2	3/98	1/12
3	2/95	0/11
4	0/93	0/11
5	2/93	0/11

Objaśnienie: jak w tab. 1.

Tab. 3. Obecność *Salmonella enteritidis* w jajach, zamaryłych zarodkach i u nowo wyklutych piskląt pochodzących od niosek nosicieli zarazka

Liczba izolatów			
ze skorup	z zawartości jaj	z zamaryłego zarodka	przyżyciowo z wymazów ze steku piskląt do 3 dnia życia
25/1000	3/1000	41/100	2/100

Objaśnienie: jak w tab. 1.

przewodzą Corkish i wsp. (4). Podobnie jak w przedstawionej pracy liczba zwierząt siewców zarazka była niewielka. Przeniesienie ptaków do nowego środowiska spowodowało znaczne zwiększenie wydalania zarazka nawet przez 10% ptaków, co potwierdzili posiewami wykonywanymi w odstępach tygodniowych. Po 9 tygodniach obserwacji liczba nosicieli spadła ponownie do około 1% tj. podobnie jak to miało miejsce na początku doświadczenia. Odpowiedź serologiczna w trakcie doświadczenia zmieniała się i niektóre ptaki wykazujące uprzednio miano dodatnie stawały się seroujemne, po czym ponownie serododatnie. Pozytywne miano serologiczne uzyskane w różnych okresach doświadczenia dotyczyło 95,2% ptaków. Sugeruje to, że badanie serologiczne może być ważne dla oceny i ustalenia nosicielstwa *Salmonella* w stadzie, ale dane te nie zawsze dają się odnieść do poszczególnych osobników, w tym także takich, u których zarazek mógł znajdować się tylko przejściowo, bez kolonizowania się. *S. enteritidis* na skorupce jaj była wykrywana przez wielu autorów (3, 10, 16). Obecność zarazka w niewielkim odsetku jaj w białku, żółtku lub zewnętrznej błonie żółtkowej sugeruje, że u pojedynczych osobników wyklutych z takich jaj, zarazek może przenosić się drogą wertykalną. Hipoteza ta znajduje odzwierciedlenie w uzyskanych danych z naszych doświadczeń, w których około 2% nowo wyklutych piskląt okazało się siewcami *Salmonella*. Methner i wsp. (11) wręcz wykluczają przenoszenie się salmoneli przez żółtko, twierdząc, że zarodki takie giną w trakcie inkubacji. Z zarodków zakażonych natomiast dobiałkowo uzyskiwali pisklęta nosiciele *S. enteritidis*. Znaczny odsetek

(41%) zamaryłych zarodków w klujniku potwierdzałby tę hipotezę, podobnie jak izolowanie *S. enteritidis* od 2% piskląt do 3 dnia po wykluciu, co sugerowałoby, że część tych zarodków jednak przeżywa.

Bicher i wsp. (3) zgadzają się z twierdzeniem, że podstawowa droga przenoszenia się *S. enteritidis* odbywa się przez zanieczyszczone skorupki, jednakże nie wykluczają oni drogi transowarialnej. Podobnego zdania pozostają autorzy niniejszej pracy, twierdząc że możliwe jest, że wykluwają się pojedyncze pisklęta zakażone transowarialnie, które następnie stają się siewcami i sprawcami horyzontalnego rozprzestrzeniania się zakażenia. Sprzyjają temu czynniki stresogenne jak przenoszenie piskląt poza inkubator, transport, zasiedlanie kurników, zła jakość pasza, gwałtowne zmiany temperatury itp. Znaczenie wymienionych czynników w szerzeniu się salmonelozji potwierdziło wielu innych autorów (4, 9, 12). Przypuszcza się, że przeciwciała obecne w woreczku żółtkowym nie wpływają na namnażanie się zarodków w jajach, ale zapobiegają one zakażeniu zarodka. Szczyt przechodzenia przeciwciał z woreczka żółtkowego następuje około 18 dnia życia zarodka aż do pierwszych dni po wykluciu, stąd obserwowane padnięcia piskląt następują w większym stopniu po 48 godzinach życia niż w ciągu pierwszych godzin. Z drugiej strony w doświadczeniu Corkisha i wsp. (4) stwierdzano u 81% przeciwciała w woreczku żółtkowym, a w surowicach nowo wyklutych piskląt tylko u 23% osobników, co sugeruje, że tylko część ptaków uzyskuje naturalną odporność przeciwko *S. enteritidis*. Rodzi to potrzebę wykorzystywania wielu metod postępowania w tym: immunoprofilaktyki swoistej i profilaktyki nieswoistej, jak np.: pobudzanie aktywności komórek heterofilnych, sterowanie mikroflorą jelitową itp. do zwalczania zakażeń drobiu względnie wewnątrzkomórkowymi pasożytami jakimi są *S. enteritidis*.

## Wnioski

1. Odsetek siewców *S. enteritidis* w stadach niosek reprodukcyjnych i nowo wyklutych piskląt jest niewielki, ale istotny dla zanieczyszczenia skorup jaj.

2. Możliwa jest transowarialna droga przenoszenia *S. enteritidis*.

## Piśmiennictwo

- Berchieri A., Barrow P. A., Murphy C. K.: Proc. Inter. Symp. Salmonella and Salmonellosis. May 20/21/22, Ploufragan, France, 293, 1997.
- Barnhart H. M., Dreesen D. W., Burke I. L.: Avian Dis. 37, 977, 1993.
- Bichler L., Nagaraja K. V., Halvorson D. A.: AJVR, 57, 489, 1996.
- Corkish J. D., Davies R. H., Wray C., Nicholas R. A. I.: Vet. Rec. 134, 591, 1994.
- Cox N. A., Davis B. H., Watts A. B., Colmer A. R.: Poult. Sci. 52, 661, 1973.
- Duchet-Suchaux M., Lechopier O., Marly I., Bernardet P., Delaunay R., Pardon P.: Avian Dis. 39, 796, 1995.
- Finley B. B., Leung K. Y., Rosenshine I., Garcia-Del partillo F.: ASM News, 58, 486, 1992.
- Gast K. R., Benson S. T.: Avian Dis. 39, 567, 1995.
- Holt P. S.: Avian Dis. 39, 239, 1995.
- Methner V., Al-Shabini S., Meyer H.: J. Vet. Med. B 42, 459, 1995.
- Methner U., Al-Shabini S., Meyer H.: I. Vet. Med. B 42, 471, 1995.
- Nakamura M., Nagamine N., Takahashi T., Norimatsu M., Susuki S., Sato S.: Avian Dis. 38, 717, 1994.
- Nakamura M., Nagamine N., Takahashi T., Norimatsu M., Susuki S., Sato S.: Avian Dis. 39, 853, 1995.
- Padrou N. H.: Avian Dis. 34, 463, 1990.
- Reiber M. A., Cowner D. E.: Avian Dis. 39, 323, 1995.
- Shiraprasad H. L., Timoney J. F., Marales B., Lucio B., Baker R. C.: Avian Dis. 34, 548, 1990.

Adres autora: lek. wet. Borys Błaszczak, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa