

# Wpływ szczepienia stad reprodukcyjnych indyków przeciwko zakażeniom pałeczkami *Salmonella enteritidis* (NOBILIS SALENVAC) na siewstwo omawianego drobnoustroju.

István Tenk<sup>1\*</sup>, István Győrvári<sup>2</sup>, Péter Erdei<sup>4</sup>, Zoltán Szabó<sup>2</sup>,  
Ágnes Kostyák<sup>3</sup> and Dalma Mátray<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Mikrolab-Vitafort Ltd., Szabadság út 3, H-2370 Dabas, Hungary; \*E-mail: [vitafort@mail.datanet.hu](mailto:vitafort@mail.datanet.hu)

<sup>2</sup>Nagisz Co. Ltd., Nádudvar, Hungary

<sup>3</sup>National Food Investigation Institute, Budapest, Hungary

<sup>4</sup>Intervet Hungária Ltd., Budapest, Hungary

## Streszczenie

Obserwacji poddano 36 416 ptaków, pochodzących ze stad reprodukcyjnych indyków (B.U.T), zaszczepionych domięśniowo szczepionką Nobilis Salenvac. W dwóch kolejnych cyklach produkcyjnych badano występowanie siewstwa drobnoustroju z rodzaju *Salmonella*.

Indykom w stadzie A podano 1 ml szczepionki Nobilis Salenvac dwukrotnie, domięśniowo (i.m.) w 20 oraz 27 tygodniu życia, a w stadzie B ptaki immunizowane były 0,5 ml szczepionki trzykrotnie w 8, 20 i 27 tygodniu życia. W fermie indyków, w której wprowadzono eksperymentalne szczepienie szczepionką Nobilis Salenvac, w związku z problemami zdrowotnymi, które wystąpiły w trakcie produkcji, w cyklu poprzedzającym szczepienie przeprowadzono badania.

Z pobranych 1334 prób w badaniach laboratoryjnych stwierdzono w 141 przypadkach (10,6%) obecność pałeczek *Salmonella*. Również badania niewylężonych jaj wykazały wysoki procent zakażenia omawianym drobnoustrojem, 138 wyników dodatnich na 1051 badanych jaj, co oznacza wysoki 13,1% stopień zakażenia.

U potomstwa stad reprodukcyjnych szczepionych przeciwko *S. enteritidis* nie izolowano drobnoustroju z rodzaju *Salmonella* w 1 dniu życia, ani w okresie odchowu.

W stadzie „A”, u indyków w 34 tygodniu życia stwierdzono siewstwo *S. senftenberg* o nieznacznym nasileniu. W stadzie „B” ujawniono zakażenie *S. tennessee*, a w 52 tygodniu życia, pod koniec cyklu produkcyjnego wyizolowano również pałeczkę *Salmonella enteritidis*.

Większość dodatnich prób pochodziła ze ściółki (11 dodatnich z 2880 pobranych; 0,38%). Relatywnie najczęściej pozytywnej izolacji wykonano z

wymazów (1,38%) i kurzu z kurnika (1,29% prób). W jednym przypadku wyizolowano *S. enteritidis* z próby pobranej w wylęgarni (stado A).

Badanie surowic szczepionych ptaków przeprowadzone w 54 tygodniu życia metodą ELISA wykazało stosunkowo niskie miana przeciwciał.

Szczepienie indyków przeciwko *S. enteritidis* obniżyło stopień występowania zakażeń pałeczkami z rodzaju *Salmonella* oraz zmniejszyło straty z nim związane (do 1/3 stanu sprzed wprowadzenia profilaktyki specyficznej).

Znacznej poprawie uległy również wskaźniki wylęgowości, jakość piskląt 1-dniowych oraz ogólne parametry produkcyjne.

Zakażenie drobnoustrojami z rodzaju *Salmonella* jest poważnym problemem epizootycznym wpływającym na wyniki produkcyjne w stadach drobiu. Może również stanowić zagrożenie zdrowia publicznego, dla konsumentów mięsa drobiowego (5,12). Ostatnich 10 lat przyniosło w światowym przemyśle drobiarskim nasilenie strat spowodowanych infekcją *S. enteritidis* i wywołało naciski konsumentów na wypracowanie efektywnej i skutecznej strategii kontroli zakażeń drobiu, a co za tym idzie obniżenie ryzyka zachorowań u ludzi.

Obok wprowadzania wysokich standardów higieny ferm i profilaktyki niespecyficznej (probiotyki, blokery receptorów), szczepienie stało się stałym elementem tej strategii.

Profilaktyce specyficzna (immunizacja) znalazła szerokie zastosowanie w kontroli salmonelozy u kur, natomiast brak jest doniesień i obserwacji efektów szczepienia stad indyczych.

Celem przeprowadzonego badania było określenie skuteczności profilaktyki specyficznej u indyków, po zastosowaniu inaktywowanej szczepionki Nobilis Salenvac (Intervet, Holandia) przeciwko *S. enteritidis* w kontekście siewstwa i wyników ekonomicznych.

## *Materiał i metody*

### *Indyki*

Szczepienia przeprowadzono u 36 416 indyków reprodukcyjnych angielskiej krzyżówki B.U.T. Big 6, w dwóch kolejnych cyklach produkcyjnych. Pisklęta 1-dniowe

importowane były z Wielkiej Brytanii. W 28 tygodniu życia ptaki zostały przeniesione z odchowni do budynków produkcyjnych, gdzie pozostawały przez cały okres nieśności.

### *Prowadzenie i żywienie stad indyków*

Stada utrzymywano na głębokiej ściółce, poidła i karmidła były rozmieszczone zgodnie ze standardem wyposażenia kurnika.

W jednym pomieszczeniu przebywało 1500 ptaków. Na fermie stosowano sztuczną inseminację. Indyki otrzymywały paszę granulowaną, w dawce i składzie stosownym do wieku. W żywieniu nie stosowano mączek pochodzenia zwierzęcego.

### *Szczepienie*

W stadzie „A” podawano domięśniowo 1 ml szczepionki Nobilis Salenvac dwukrotnie, w 20 i 27 tygodniu życia. W stadzie „B” immunizowano ptaki trzykrotnie w 8, 20 i 27 tygodniu życia podając domięśniowo 0,5 ml szczepionki.

### *Badania laboratoryjne*

#### *Pobieranie prób*

W trakcie wykonywania badań w stadach indyków pobierano wymazy, próbki kurzu z indyczników (2x4 pulowane próby) i 4 próby ściółki/stado (w sumie 40 prób).

Próby pobierano w 34, 43, i 52 tygodniu życia ptaków. Stado badano po osiągnięciu 15 tygodni życia.

Pobrano 37 prób paszy i zbadano je zgodnie z węgierskim standardem MSZ 69-77-87. Po przeprowadzeniu szczepień indyków badano 310 jaj na obecność zakażeń *S. enteritidis*.

#### *Izolacja pałeczek Salmonella*

Próby paszy wstępnie wzbogacano przy użyciu 24 godzinnej inkubacji z wodą peptonową. Pozostałe próby na kilka godzin po pobraniu umieszczono na podłożu wzbogaconym Strokes-Osborna. Po 24 godzinnej inkubacji w temperaturze 41,5 °C próby przenoszono na podłoże Drygalskiego i Rambacha i ponownie inkubowano przez 24 godziny w temperaturze 37 °C.

Izolowane kolonie identyfikowano przy pomocy poliwalentnej surowicy oraz na podstawie właściwości biochemicznych. Serotypizację przeprowadzano metodą aglutynacji.

W 54 tygodniu życia od indyków pobrano 277 prób surowic krwi, które przebadano serologicznie.

Do ustalenia mian przeciwciał anti-SE posłużono się testem ELISA firmy IDEXX, USA. Przeprowadzono go zgodnie z zaleceniami producenta testu.

## Wyniki

W okresie poprzedzającym szczepienia pobrano w celach diagnostycznych ogółem 1334 próby. Z zebranych w trakcie badania prób, w 141 (10,6%) stwierdzono obecność pałeczek *Salmonella*. Jedenaście z 141 izolatów poddano serotypizacji i w 7 z nich (63,6%) potwierdzono obecność szczepów *S. enteritidis*. (Tabela 1)

Wyniki produkcyjne stad „A” i „B” poddanych immunizacji przedstawiono w tabelach 2, 3 i 4. Z badanych stad indyków nie izolowano *Salmonelli* od piskląt jednodniowych oraz przez cały okres tuczu. W okresie produkcyjnym zakażenia omawianym drobnoustrojem były na niskim poziomie. W stadzie „A” izolowano *S. senftenberg* z próbek ściółki. W stadzie „B” izolowano okazjonalnie *S. tennessee* z pobranych próbek w ostatnim etapie badań wykryto obecność *S. enteritidis* i towarzyszącą jej *S. tennessee* (tabela 2)

Nie izolowano pałeczek *Salmonella* z paszy. W wylęgarni stwierdzano tylko w nielicznych przypadkach *S. enteritidis* (tabela 3). Zmarłe zarodki, mekonium ani kurcz nie wykazały obecności pałeczek *Salmonella*.

Test serologiczny przeprowadzony w 54 tyg. życia stad reprodukcyjnych ujawnił stosunkowo niskie miana przeciwciał przeciwko *Salmonella enteritidis* (tabela 4).

Po wprowadzeniu szczepień podniósł się wskaźnik wylęgu z jaj nałożonych oraz o 1/3 zmalała liczba reklamacji piskląt (tabela 5).

## Dyskusja

Ze względu na zmienną skuteczność i niedoskonałość strategii zapobiegania występowaniu salmoneloz ze szczególnym uwzględnieniem *S. enteritidis* (np.: leczenie antybiotykami, stosowanie mikroflory konkurencyjnej, działania bioasekuracyjne) sugerowana jest możliwość czynnego uodporniania (2).

Wyniki przeprowadzonego doświadczenia wskazują, że zastosowanie szczepionki Nobilis Salenvac powoduje zredukowanie kolonizacji jelit a za tym i namnażania *Salmonelli enteritidis* u indyków, a czasem zupełnie taką kolonizację uniemożliwia. Po szczepieniu obserwuje się również obniżenie zamieralności zarodków będącej skutkiem zakażenia z 13,1% do 0,1%. Przed wprowadzeniem szczepienia na fermie większość (63,6%) izolowanych kolonii *Salmonella* należało do serotypu *Salmonella enteritidis*. Występowanie omawianego drobnoustroju znacząco zmalała po wprowadzeniu szczepienia.

Wyniki badań szczepionych indyków wskazują, że samym tylko szczepieniem nie można wyeliminować drobnoustrojów z rodzaju *Salmonella* z produkcji drobiarskiej.

Drogi zakażenia są praktycznie niemożliwe do zdefiniowania. W opisywanym eksperymencie w okresie nieśności w stadzie „A” izolowano szczepy *Salmonella senftenberg*, podczas gdy w podobnym okresie w stadzie „B” izolowano szczepy *Salmonella tennessee*.

*Salmonella enteritidis* występowała także wśród innych salmonelli izolowanych w końcu cyklu produkcyjnego w stadzie „B”. Może to sugerować, że pod koniec cyklu produkcyjnego odporność nie jest już wystarczająca do zapobiegania kolonizacji przez pałeczki *S. enteritidis*, ale może także wskazywać na wcześniejszą obecność tego drobnoustroju w środowisku (10). Jednakże nie jest prawdopodobne, aby zakażenie stada pochodziło z jednego źródła. Założenie to wydaje się być uzasadnione faktem występowania w końcu okresu produkcyjnego pojedynczej próbki zakażonej *S. enteritidis* pomimo nie izolowania w okresie produkcyjnym *S. enteritidis* w stadzie „A”. Jest bardzo prawdopodobne, że ten szczep został wprowadzony do wylęgarni ze stada biorącego udział w eksperymencie.

W końcu okresu produkcyjnego, w 54 tygodniu życia, miana przeciwciał krążących przeciwko *Salmonella enteritidis* były stosunkowo niskie. Korelacja tego zjawiska ze szczepieniem lub zjawiskiem i intensywnością siewstwa wymagałaby dalszych badań.

Powszechnie wiadomo, że w przypadku infekcji naturalnych podkliniczny stan zakażenia i siewstwo mogą pojawić się nawet bez wzrostu mian przeciwciał krążących, a obecność wysokich mian w surowicy krwi nie wyklucza nosicielstwa i siewstwa (8).

Porównując cykle produkcyjne sprzed i po szczepieniu, bezpośrednio i pośrednio straty wywołane zakażeniem *Salmonella enteritidis* zmalały do ok. 1/3, bez żadnych (poza szczepieniem) dodatkowych działań. W okresie przed szczepieniem 45 870 piskląt z 6,6 miliona wytężonych było złej jakości (0,7%), po podjęciu szczepień ta liczba zmalała do 17 640 (0,3%). Podobne rezultaty uzyskuje się po szczepieniu kur przeciwko *S. enteritidis* (11). Dalsze badania byłyby potrzebne dla określenia, czy poza ochroną ptaków przeciwko *S. enteritidis* nie występuje niespecyficzna ochrona przed zakażeniem ptaków drobnoustrojami z rodziny *Enterobacteriaceae* i jaki ma to wpływ na jakość piskląt indycznych. Możliwość występowania takiego zjawiska może mieć miejsce z powodu specyficznej technologii produkcji szczepionki Nobilis Salenvac, w czasie, której namnażanie szczepu szczepionkowego odbywa się w środowisku ograniczonego dostępu do jonów żelaza. Wiadomo, że dzięki

zastosowaniu tej metody namnażania szczepu *S. enteritidis* zwiększają się właściwości immunogenne szczepionki (9).

Pomimo prowadzenia szczepień, u indyków stwierdzano kolonizację i obecność *S. senftenberg* i *S. tennessee*. Konieczne są dalsze badania, które pozwoliłyby stwierdzić czy szczepienie przeciwko *S. enteritidis* nie ułatwia namnażania się serotypów regularnie izolowanych ze stada. Ponadto należy ustalić czy odporność poszczepienna hamuje rozprzestrzenianie się innych szczepów pałeczek *Salmonella* (w niniejszym przypadku *S. senftenberg* i *S. tennessee*) wprowadzanych do badanego środowiska, przeciwko którym nie jest wytwarzana odporność. *S. senftenberg* i *S. tennessee* posiadają identyczne składniki występujące w antygenach O i H (3). Innym interesującym aspektem jest stopień, w jakim odporność poszczepienna zwiększa skuteczność innych działań mających na celu ograniczenie siewstwa *Salmonella*, np. antybiotykoterapii.

Całkowite uwolnienie stad drobiu od zakażeń drobnoustrojami z rodzaju *Salmonella* nie jest możliwe wyłącznie poprzez zastosowanie szczepień, co więcej, efektywność immunizacji może zostać upośledzona przez szereg niekorzystnych czynników (7). Dlatego równoległe stosowanie innych środków zabezpieczających stada ptaków przed zakażeniem jak bioasekuracja, czy kontrola bezpieczeństwa pasz jest absolutnie konieczna (4). Wiadomo też, że specyficzna odporność indukowana szczepieniem spada wraz z wiekiem stada. Dostępne dane ze stad brojlerów pokazują, że jest ona bardzo dobra jeszcze w 12 tygodni po szczepieniu, ale w końcowym okresie produkcji należy się liczyć z możliwością przełamania odporności (11). Stąd tak ważne jest stosowanie kompleksowego programu kontroli *Salmonelli* na fermie, a nie ograniczania się wyłącznie do wprowadzenia programu immunoprofilaktyki.

### Literatura

1. CALNEK, B. W. (ed.): Diseases of Poultry. 10th ed. Mosby-Wolfe, London, 1997.
2. CHARLES, S. D. – HUSSAIN, J. et al.: Adjuvanted subunit vaccines for the control of *Salmonella enteritidis* infection in turkeys. Am. J. Vet. Res., 1994. 55. 636–642.
3. LÁNYI, B. (ed.): Epidemiological and Clinical Bacteriology (in Hungarian). OKI, Budapest, 1980.
4. MÉSZÁROS, J. (ed.): Diseases of Poultry (in Hungarian). Mezőgazd. Kiadó, Budapest, 1976.
5. NAGY, B. – KOVÁCS, S. – MILCH, H. – BITAY, Z. – LANTOS, CS. – SZENTGÁLINÉ CSÓRIÁN, E. – GADÓNÉ LÁSZLÓ, V. – KOSTYÁK, Á.: Salmonellosis of poultry: public health and animal health aspects and principles of control (in Hungarian, with English abstract). Magy. Állatorv. Lapja, 1993. 48. 397–406.

6. NAGY, B. – KOVÁCS, S. – KOSTYÁK, Á. – BITAY, Z.: Importance of salmonellosis in food safety and possibilities to reduce losses in Hungary (in Hungarian, with English abstract). *Magy. Állatorv. Lapja*, 1997. 119. 672–685.
7. NAKAMURA, M. N. – NAGAMINE, T. et al.: Evaluation of the efficacy of a bacterin against *Salmonella enteritidis* infection and the effect of stress after vaccination. *Avian Dis.*, 1994. 38. 717–724.
8. OLESIUK, O. M. – SNOEYENBOS, G. H. – SMYSER, C. F.: Experimental *Salmonella typhimurium* infection in two chickens flocks. *Avian Dis.*, 1969. 13. 500–508.
9. SZABÓ, I. M. (ed.): *Microbiology of the Biosphere* (in Hungarian). Akad. Kiadó, Budapest, 1989.
10. TENK, I. – KOSTYÁK, Á. – MÁTRAY, D.: Observations on the effectiveness of periodic preventive disinfection of poultry houses, with especial regard to the occurrence of salmonellae (in Hungarian, with English abstract). *Magy. Állatorv. Lapja*, 1996. 51. 614–616.
11. TIMMS, L. M. – MARSHALL, R. N. – BRESLIN, M. F.: Laboratory and field trial assessment of protection given by a *Salmonella enteritidis* PT4 inactivated, adjuvant vaccine. *Br. Vet. J.*, 1994. 150. 93–102.
12. VARGA, J. (ed.): *The Epidemiology of Zoonoses* (in Hungarian). Mezőgazda Kiadó, Budapest, 1993.

Przekazano do opublikowania 06.06.2000

Magyar Allatorvosok lapja (Hungarian Veterinary Journal) 122,737 – 741, 2000/12

Tabela 1. Zakażenie *S. enteritidis* w stadzie reprodukcyjnym indyków przed wprowadzeniem immunizacji szczepionką Nobilis Salenvac

Próby	Ilość prób przebadanych / próby dodatnie	Obecność <i>S. enteritidis</i> (SE)
Zamarte zarodki	1051/138 (13.1%)	8/4 (50%)
Wymazy z kloaki	99/0	
Pisklęta 1-dniowe	40/1 (2.5%)	1/1 (100%)
Meconium	24/0	
Wylęgarnia	120/2 (0.17)	2/2 (100%)
Razem	1334/141 (10.6%)	11/7 (63.6%)

Tabela 2. Siewstwo pałeczek *Salmonella* w stadach indyków szczepionych szczepionką Nobilis Salenvac w 2 kolejnych cyklach produkcyjnych

Próby	Ilość prób Cykl produkcyjny - stado „A”				Cykl produkcyjny - stado „B”				Razem
	tydz 15	tydz 34	tydz 43	tydz 52	tydz 15	tydz 34	tydz 43	tydz 52	
Ściółka (odchowalnia)	200				400				600/-
Wymazy	5				5				10/-
Kurz kurnikowy(odchowalnia)	20				24				4/-
Ściółka (produkcja)		480/1+ SS	480/2+ SS	480/2+ SS		480	480/3+ ST	480/3+ ST, SE	2880/11+ (0.38%)
Wymazy		12	12	12		12	12/1+ ST	12	72/1+ (1.38%)
Kurz kurnikowy (produkcja)		48	10/1+ SS	24/1+ SS		24	24	24	154/2+ (1.29%)
Razem	225	540/1+	502/3+	516/3+	429	516	516/4+	516/3+	3760/14+ (0.37%)

SS = *S. senftenberg*; ST = *S. tennessee*; SE = *S. enteritidis*

Tabela 3. Zakażenie pałeczkami *Salmonella* w cyklu produkcyjnym w stadach „A” i „B” (ilość wyników dodatnich)

Rodzaj prób	Próby badane i próby dodatnie w okresie monitorowania fermy						Razem
	1	2	3	4	5	6	
Wylęgarnia				56/1+SE		51	107/1+(0.9%)
Zamarłe zarodki		90	100		120		310/-
Meconium		12	4				16/-
Kurz,pióra			6				6/-
Pisklęta 1-dn (import)	38						38/-
Papier ze skrzynek transportowych		6					11/-
Pasza			37				37/-
Razem	43/-	108/-	147/-	56/1+	120/-	51/-	525/1+(0.19%)

SE = *S. enteritidis*

Tabela 4. Miana przeciwciał anti-SE w surowicy krwi indyków szczepionych szczepionką Nobilis Salenvac); badanie w teście ELISA firmy IDEXX (stado „A” w produkcji, 54 tydzień życia)

Nr. obiektu	Badane surowice			
	Ilość prób	ujemne	wątpliwe	dodatnie
1	26	19	7	0
2	30	19	11	0
3	30	22	8	0
4	16	14	2	0
5	20	18	1	1
6	20	16	4	0
7	20	17	3	0
8	18	14	4	0
9	18	14	5	0
10	30	15	15	1
11	24	12	12	0
12	24	22	2	0

Tabela 5. Wyniki lęgów ze stad reprodukcyjnych indyków przed i po szczepieniu szczepionką Nobilis Salenvac

Data	Zamarte %	(selekcja), %	% wylęgu z jaj nałożonych	
			z jaj nałożonych	z jaj zapłodnionych
1996	11.4	5.0	73.5	79.70
1997	10.0	6.2	73.48	79.85
1998	9.6	5.0	76.79	82.10
Początek szczepień: 04.1999				
1999	10.2	4.4	76.23	81.87
01-04.2000	8.2	3.4	79.72	85.53