

Vědecký výbor veterinární

Klasifikace: Draft	<input type="checkbox"/>	<i>Pro vnitřní potřebu VVV</i>
Oponovaný draft	<input type="checkbox"/>	<i>Pro vnitřní potřebu VVV</i>
Finální dokument	<input checked="" type="checkbox"/>	<i>Pro oficiální použití</i>
Deklasifikovaný dokument	<input type="checkbox"/>	<i>Pro veřejné použití</i>

ANALÝZA RIZIK ŠÍŘENÍ SALMONEL V CHOVECH NOSNIC A JEJICH PŘENOSU NA KONZUMNÍ VEJCE

Garant studie : MVDr. František Šišák, CSc.

Spoluautoři studie: Ing. Hana Havlíčková

Listopad 2007

Výzkumný ústav veterinárního lékařství v.v.i., Hudcova 70, 621 32, Brno
Tel. +4205 3333 1111 / fax +4205 4121 1229, URL: <http://www.vri.cz/>

Obsah

Anotace	3
Úvod	4
Kontaminace vajec salmonelami	4
Výskyt salmonel v chovech nosnic	6
Tlumení salmonel v chovech nosnic	7
Vlastní výsledky	8
Závěr	15
Literatura	16

Anotace

Analýza rizik šíření salmonel v chovech nosnic a jejich přenosu na konzumní vejce

MVDr. František Šišák, CSc. - Ing. Hana Havlíčková

Vědecký výbor veterinární, Brno 2007

Ve studii jsou zpracovány aktuální poznatky o kontaminaci vajec salmonelami, které jsou hlavním zdrojem alimentárních onemocnění u lidí a o výskytu těchto původců zoonóz v chovech nosnic v Evropské unii (EU) a v České republice (ČR). Na základě předložených informací jsou hodnocena rizika přenosu *Salmonella* Enteritidis (SE) a dalších epidemiologicky významných sérovarů salmonel do potravního řetězce na konzumní vejce. Dále je zde uveden přehled o současné problematice tlumení salmonel v chovech nosnic a o zajištění produkce zdravotně nezávadných a bezpečných potravin v EU a v ČR včetně legislativního rámce pro zavedení těchto programů. Harmonizovaný program tlumení salmonel u nosnic vypracovaný EU bude uplatňován v národních programech v jednotlivých členských zemích v období let 2008-2010. V ČR byl Národní program zahájen s předstihem již v roce 2007 z důvodů zjištěné vysoké prevalence salmonel v chovech nosnic. Je založen na monitorování salmonel v chovech nosnic a snižování jejich výskytu v prostředí pro omezení rizika kontaminace vajec pomocí sanitačních a zoogygienických opatření. Dále pomocí vakcinace, která specificky zvyšuje odolnost drůbeže proti infekci SE. Literární přehled je doplněn vlastními výsledky, které byly získány v průběhu studie při sledování výskytu salmonel v prostředí a ve vejcích ve čtyřech infikovaných chovech nosnic před zahájením a po zahájení národního programu. Byla zjištěna korelace mezi výskytem SE prevalentního fágového typu PT8 v prostředí čtyř infikovaných chovů nosnic a kontaminací vajec na skořápkách i v jejich obsahu. Po zahájení Národního programu a zavedení imunizace živou vakcínou SE byl zjištěn částečný ochranný efekt. Ve dvou chovech byl snížen výskyt salmonel v trusu a v prostředí a ve třech chovech na skořápkách. Ve všech vakcinovaných chovech nosnic byla izolace SE v obsahu vyšetřených vajec negativní; zatímco před vakcinací byl pozitivní nález v obsahu vajec zjištěn ve třech chovech. Pro zlepšení současné nepříznivé situace ve výskytu salmonel v chovech nosnic je proto nutné, aby kromě důsledného uplatňování Národního programu a vakcinace byla chovateli ve vlastním zájmu trvale zvyšována zoohygiena, technologická úroveň provozů. Zejména provádět účinné čištění, desinfekci, hubení hlodavců a hmyzu a dodržovat zásady správné chovatelské praxe a ochrany chovů – biosecurity. Účinnost vakcinace je limitována imunogenitou vakcíny a nakažovou situací v chovech nosnic, infekčním tlakem. Rovněž je omezena výskytem jiných sérovarů než SE a dalšími rizikovými faktory v chovech nosnic, které ovlivňují průběh tlumení salmonel.

Úvod

Chovy drůbeže a kontaminované finální produkty, zejména vejce a maso jsou v mnoha zemích nejčastějšími zdroji alimentárních onemocnění u lidí vyvolaných zoonotickými sérovary salmonel. Jejich rozšíření v chovech drůbeže a přenos do potravního řetězce je celosvětově závažným zdravotně-hygienickým a ekonomickým problémem.^{1,2} Z hlediska ochrany zdraví lidí a zajištění bezpečnosti drůbežích produktů je proto nutné výskyt salmonel v chovech snižovat. V současné době je tato problematika velmi aktuální v souvislosti s uplatňováním harmonizovaných programů na monitorování a tlumení salmonel v reprodukčních chovech drůbeže a u nosnic v zemích Evropské unie. Cílem naší studie bylo předložit aktuální informace o hodnocení rizika kontaminace vajec salmonelami a o jeho omezení v chovech nosnic, které by přispěly k zajištění produkce zdravotně nezávadných a bezpečných potravin a ochraně zdraví lidí v České republice.

Kontaminace vajec salmonelami

Epidemiologické analýzy prokázaly, že syrová slepičí vejce a potraviny obsahující nedostatečně tepelně opracované vaječné produkty jsou hlavními zdroji salmonelových infekcí u lidí.^{5,3,4} V polovině 80. let došlo v mnoha zemích světa k prudkému nárůstu alimentárních onemocnění u lidí vyvolaných bakteriemi *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sérovar Enteritidis (SE) prevalentního fágového typu PT4. Vehikulem nákazy byla ve více jak 60 % kontaminovaná konzumní vejce. Tento celosvětový rozšířený vzestup hostitelsky neadaptovaného sérovaru SE, který měl charakter pandemie, byl v jednotlivých zemích vyvolán rozdílnými fagotypy a subtypy pomocí nichž byly sledovány cesty šíření nákazy a prokazovány epidemiologické souvislosti. Příčiny vysokého nárůstu sérovaru SE v populacích lidí a drůbeže nejsou doposud zcela vysvětleny. Souvisí však s mimořádnou schopností tohoto sérovaru kolonizovat reprodukční trakt slepic a s jeho transvariálním přenosem vejci, který byl rovněž prokázán u sérovaru Typhimurium (STM) - multirezistentní kmeny fagotypu DT104 a Heidelberg.^{8,6,7} Jeho rozšíření a perzistenci v chovech drůbeže velmi usnadnila jejich pyramidální struktura.⁹ V posledních deseti letech se v některých zemích západní Evropy a v Severní Americe výrazně snížila incidence salmonelových infekcí u lidí vyvolaných epidemickými kmeny sérovaru Enteritidis. Zvýšil se však výskyt multirezistentních kmenů *S. Typhimurium* fagotypu DT104 a dalších sérovarů, zejména Infantis, Virchow, Hadar a Heidelberg. Tento trvalý trend klesajícího výskytu SE je v těchto zemích spojován s uplatňováním národních programů na tlumení salmonel v chovech drůbeže.¹⁰ Rovněž v České republice byl od roku 1989 zaznamenán v humánní populaci vysoký nárůst SE. V průměru bylo ročně evidováno více jak 500 případů alimentární salmonelózy na 100 tis. obyvatel. Tento počet byl až desetinásobně vyšší než průměr v zemích západní Evropy.¹¹ Teprve v posledních letech, od roku 2000, dochází v humánní populaci k poklesu výskytu alimentární salmonelózy, v průměru 270 hlášených případů onemocnění ročně na 100 tis. obyvatel. Hlavním vehikulem salmonelózy u lidí vyvolané dominantním sérovarem Enteritidis (95 %) a jeho prevalentním fágovým typem PT8 (90 %) jsou konzumní vejce a potraviny obsahující nedostatečně tepelně opracované vaječné produkty jako jsou cukrářské, pekařské a lahůdkářské výrobky (60 %). Pomocí fenotypových a genotypových epidemiologických markerů byl prokázán stejný původ kmenů zjištěných u lidí, v potravinách a v chovech drůbeže. Druhým nejčastějším sérovarem je *S. Typhimurium*. V humánní populaci je zastoupen 3 %.¹² Z hlediska epidemiologického je velmi významný trvalý nárůst multirezistentních kmenů tohoto sérovaru, zejména klonu ACSSuT fágového typu DT104. Jeho první výskyt v České republice u lidí byl prokázán v roce 1996 v epidemii salmonelózy jejímž vehikulem byla vejce.¹³ Exaktní mechanismus kontaminace vajec salmonelami není doposud objasněn. Vejce mohou být kontaminována na skořápce nebo i v obsahu. Horizontální přenos, který je nejčastější se uskutečňuje prostupem salmonel přes

skořápku vajec, po znečištění trusem při průchodu kloakou nebo sekretem z distální části vejcovodů infikovaných nosnic. Dále může docházet ke kontaminaci skořápky salmonelami pomocí podestýlky, snáškových míst a technologických zařízení znečištěných trusem a prachem, v nichž salmonely v infikovaných chovech nosnic perzistují.¹⁴ Údaje o frekvenci výskytu kontaminace na skořápkách v chovech nosnic infikovaných salmonelami se velmi liší, pohybují se od 0,5 % až do 20 %. Jsou závislé na nálezové situaci v chovu, způsobu ustájení nosnic, použitých metodách vyšetřování vajec a dalších faktorech.^{15,17,16} Pravděpodobnost přežití salmonel na skořápce a jejich průniku do vaječného obsahu závisí na teplotě a podmínkách skladování vajec. Salmonely v suchém prostředí velmi rychle hynou již za několik hodin i při pokojové teplotě. Jejich přežívání na skořápce vajec může však být prodlouženo na několik dnů až týdnů ve vlhkém prostředí i při teplotě 8 °C.^{19,18} Toto riziko kontaminace konzumních vajec salmonelami během skladování může být sníženo nebo eliminováno dodržováním předepsaných nízkých teplot, nižších než 18°C, a nízké relativní vlhkosti 70-75 %.²⁰ Průnik salmonel ze skořápky do vaječného obsahu je tlumen některými přirozenými obrannými mechanismy vejce danými složením podskořápkových blan a bílku. Penetrace salmonel je závislá na teplotě; při pokojové teplotě proniknou salmonely skrze skořápku během jednoho až tří dnů. Velmi nebezpečný je teplotní šok, po prudkém ochlazení čerstvě sneseného vejce, které má teplotu kolem 40 °C. Vlivem podtlaku jsou do obsahu vejce nasávány nečistoty včetně nežádoucí bakteriální kontaminace. K vertikálnímu – transovariálnímu přenosu, který je z hlediska epidemiologického nejvýznamější, dochází u infikovaných slepic, jejichž reprodukční orgány – vaječníky a vejcovody, byly kolonizovány salmonelami, zvláště sérovarem Enteritidis. Odtud se salmonely v průběhu tvorby vejce dostávají do žloutku, bílku a podskořápkových blan. U přirozeně a experimentálně infikovaných slepic sérovarem SE byl prokázán vertikální přenos nálezem salmonel v obsahu snesených vajec a ve tkáních reprodukčních orgánů.^{23,21,22} Byly detekovány specifické geny sérovary SE, které jsou zodpovědné za kolonizaci reprodukčního traktu slepic, jejímž výsledkem je kontaminace vaječného obsahu salmonelami.²⁴ Počet buněk salmonel v obsahu vajec u přirozeně infikovaných chovů nosnic je zpravidla nízký. Pohybuje se v rozmezí 10²-10³ CFU/ml. Epidemiologicky je však velmi významný i při těchto nízkých počtech. Při teplotě pohybující se mezi 20 až 30 °C dochází k rychlé multiplikaci salmonel, jejich počet může dosahovat řádu 10⁵-10⁶ CFU/ml během několika dnů. Tento proces je závislý na změnách v permeabilitě vitelinní membrány, ke kterým dochází již po snášce s narůstající dobou skladování konzumních vajec.¹⁴

Výskyt salmonel v chovech nosnic

Salmonelové infekce v chovech drůbeže vyvolané SE, STM a dalšími epidemiologicky významnými sérovary salmonel probíhají zpravidla bez klinických příznaků onemocnění a úhynů. Závažným problémem, který komplikuje průběh tlumení nákazy v chovech drůbeže je dlouhodobé vylučování salmonel trusem – bacilonosičství a reinfekce drůbeže. K infekci drůbeže salmonelami může docházet již v raném věku v odchovu, přenosem nákazy z líhně nebo četnými zdroji v prostředí, zejména kontaminovaným krmivem. Prostřednictvím infikovaných kuřat v odchovu je nákaza pak přenesena do chovu nosnic. K infekci salmonelami však dochází častěji než v odchovu až u dospělé drůbeže v produkčním období.²⁵ Salmonely v infikovaných chovech nosnic často perzistují v nedostatečně asanovaném prostředí snáškových hal, které je zdrojem nákazy pro nový zástav drůbeže.²⁶ Salmonely se šíří orofekální a aerogenní cestou prostřednictvím prachu, krmiva a napájecí vody. Častými vektory salmonel jsou hlodavci, hmyz a volně žijící ptáci, kteří udržují nákazu v chovu.^{27,28,29} V nedávno vydané zprávě Evropského úřadu pro bezpečnost potravin EFSA byly analyzovány výsledky základní studie o prevalenci salmonel v chovech nosnic - hospodářstvích v 25 zemích Evropské Unie a v Norsku.³⁰ Studie byla provedena v chovech nosnic na konci produkčního období od října 2004 do září 2005. Nákazová situace byla hodnocena podle stejné metodologie, na základě výsledků kultivačního vyšetření směsných vzorků trusu a prachu. V každém registrovaném chovu nosnic - hospodářství bylo odebráno z jednoho hejna (haly, budovy) 5 vzorků trusu a 2 vzorky prachu. V ČR bylo odebráno celkem 490 vzorků ze 70 hospodářství. Byl sledován výskyt *Salmonella* spp. a zastoupení jednotlivých sérovarů, zvláště pak podíl invazivních sérovarů Enteritidis a Typhimurium, které jsou epidemiologicky nejvýznamnější. Kromě hodnocení citlivosti záchytů salmonel ve vzorcích trusu a prachu byly sledovány další faktory – velikost chovu, technologie ustájení, způsob odběru vzorků, použití vakcinace proti SE a medikace antibiotiky. Celkem byly v průběhu studie vyšetřeny vzorky z 5 317 hospodářství – chovů nosnic. Prevalence *Salmonella* spp. byla v průměru 30,7 %, z toho ve 20,3 % byla zastoupena SE a STM. Nejčastěji izolovanými sérovary byly Enteritidis, Infantis, Typhimurium, Mbandaka a Livingstone. Nejvyšší prevalence *Salmonella* spp. byla zjištěna v chovech nosnic v Portugalsku (79,5 %), Polsku (77,2 %), Španělsku (73,2 %), a v České republice (65,6 %). Prevalence invazivních sérovarů salmonel byla nejvyšší ze všech zemí Evropské unie v České republice (62,5 %); z toho byl výskyt SE v 59,4 % a STM v 4,7 %. Dále následovalo Polsko (55,9 %), Španělsko (51,6 %) a Portugalsko (47,7 %). Byla zjištěna signifikantně vyšší pozitivní kultivace salmonel z prachu oproti nálezům ze směsných vzorků trusu. Medikace antibiotiky 2 týdny před odběrem vzorků neovlivnila výsledek kultivace. Bylo zjištěno celkem v osmi zemích, že ve vakcinovaných chovech nosnic byl nižší výskyt SE oproti chovům nevakcinovaným. Výsledky studie prokázaly velké rozdíly mezi prevalencí salmonel v chovech nosnic v jednotlivých zemích EU, od nuly až do 79,5 %. Hlavními rizikovými faktory, které ovlivnily výsledek zjištěné prevalence salmonel v chovech nosnic byly velikost chovu, systém ustájení a rozdílný věk drůbeže v chovech. Tyto faktory zvyšovaly výskyt a rozšíření salmonel v chovech nosnic. V zemích s vysokou prevalencí byly nosnice na farmách ustájeny převážně ve velkokapacitních provozech v klecových technologiích a často v rozdílném stáří drůbeže.

Tlumení salmonel v chovech nosnic

Výskyt zoonotických sérovarů salmonel, zejména SE, ve střevním traktu nosnic, v trusu a v prostředí chovů je potencionálním rizikem pro kontaminaci vajec a ohrožení zdraví lidí. Z důvodu ochrany zdraví lidí, zajištění produkce zdravotně bezpečných a nezávadných potravin, vypracovaly státy EU v posledních letech nový program tlumení zoonóz v chovech hospodářských zvířat a vydaly řadu legislativních dokumentů. Jsou zaměřeny na snižování rizika přenosu původců zoonóz do lidské populace v celém potravním řetězci systémem „farm to fork“. Velký důraz je kladen na realizaci opatření proti šíření původců v živočišné prvovýrobě – na farmách, které omezí přenos patogenních mikroorganismů na finální produkty – vejce a maso. Jejich cílem je dále harmonizace programu monitorování a tlumení zoonóz a systému hlášení, aby mohly být v zemích Evropského společenství vzájemně srovnatelné.^{31,32} Pro chovatele nosných typů drůbeže a agropotravinářský průmysl v České republice jsou současné legislativní požadavky EU na zajištění zdravotní nezávadnosti produkce konzumních vajec velmi důležité z hlediska ekonomické rentability a jejich konkurenceschopnosti se zahraničím. Dalším zásadním problémem, před kterým výrobci konzumních vajec stojí je splnění požadavku EU na zajištění welfare nosnic, používání konvenčních klecí pro užitkové nosnice musí být ukončeno. Od 1.1.2012 musí být zavedeny ve všech zemích EU nové alternativní technologie pro ustájení nosnic – obohacené klece nebo voliéry nebo volné výběhy. Není doposud jasné, jak nové technologie ovlivní výskyt salmonel v prostředí těchto chovů a ve vejcích. Údaje z Německa, Belgie, Velké Británie a dalších západoevropských zemí ukazují, že výskyt salmonel v alternativních chovech je nižší ve srovnání s konvenční klecovou technologií.^{33,34,35} Po vyhodnocení základní studie o prevalenci salmonel u nosnic na úrovni celé EU a v jednotlivých členských zemích vydala Evropská komise dva legislativní dokumenty. V nařízení 1168/2006 (ES) byl stanoven cíl společenství zaměřený na snížení prevalence sérotypů Enteritidis a Typhimurium u nosnic.³⁶ Ve druhém dokumentu nařízení komise 1177/2006 (ES) byly stanoveny požadavky na používání určitých tlumících metod v rámci národních programů pro tlumení salmonel u drůbeže.³⁷ Na základě těchto legislativních dokumentů bylo všem členským zemím uloženo vypracovat do konce roku 2006 svůj národní program na tlumení salmonel u nosnic na léta 2008 – 2010. V deseti zemích, kde byla prevalence salmonel v základní studii u nosnic vyšší jak 10 % byla nařízena plošná vakcinace živými nebo inaktivovanými vakcínami proti SE. Národní program pro tlumení výskytu salmonel v chovech nosnic produkujících konzumní vejce vypracovala SVS ČR.³⁸ V důsledku nepříznivého výsledku základní studie u nosnic v ČR byl národní program po dohodě s MZe ČR a Českomoravskou drůbežářskou unií (ČMDU) zahájen s ročním předstihem, již od 1.1.2007. Program je zaměřen na monitorování výskytu salmonel v prostředí chovů během snáškového období. Jsou provedena nejméně tři vyšetření během produkce v celkovém počtu s odstupem 15 týdnů. Při nálezech salmonel se provádí konfirmační vyšetření z orgánů uhynulé nebo utracené drůbeže. Dále je program zaměřen na kontrolu provádění sanitačních a zoohygienických opatření, zajištění nezávadného krmiva a vody a dodržování zásad správné chovatelské praxe. Specifickým preventivním opatřením je plošná vakcinace během odchovu kuřic živými nebo inaktivovanými vakcínami proti SE. Očekává se, že zavedení vakcinace přispěje k výraznému snížení salmonelových infekcí u nosnic v prostředí chovů a omezí zdravotní riziko kontaminace konzumních vajec. Cena vakcíny a náklady na vyšetřování odebraných vzorků budou v průběhu Národního programu hrazeny z prostředků státu a EU.

Vlastní výsledky

V rámci studie VVV byl sledován výskyt salmonel v prostředí a ve vejcích ve čtyřech infikovaných chovech nosnic v období před zahájením a po zahájení „Národního programu pro tlumení výskytu salmonel v chovech nosnic produkujících konzumní vejce na rok 2007“.

Jeho součástí je povinná vakcinace drůbeže proti *Salmonella* Enteritidis (SE) a uplatňování komplexních preventivních opatření za jejichž dodržování odpovídají chovatelé.

Materiál a metody

V průběhu let 2006 až 2007 byly kultivací na salmonely vyšetřeny čtyři infikované chovy nosnic v období před vakcinací a po imunizaci živou vakcínou SE. První chov byl lokalizován ve Středočeském kraji, druhý a třetí chov v Jihomoravském kraji a čtvrtý chov v Moravskoslezském kraji.

Charakteristika chovů

Chov I měl celkovou kapacitu 180 tisíc kusů v deseti halách. Před zahájením Národního programu byly vyšetřeny dvě haly s klecovou technologií a jedna hala s alternativním systémem ustájení na rostech. Po imunizaci živou vakcínou Gallivac SE (Merial, FR) byly vyšetřeny dvě odlišné haly s klecovou technologií.

V chovu II byla celková kapacita 30 tisíc kusů v jedné hale s klecovou technologií. Před zahájením programu a po imunizaci živou vakcínou AviPro *Salmonella* Vac E (Lohmann, GE) byla vyšetřena stejná hala.

Chov III měl celkovou kapacitu 235 tisíc kusů v šesti halách. Před zahájením programu byly vyšetřeny dvě haly s klecovou technologií. Po imunizaci živou vakcínou Gallivac SE (Merial, FR) byly vyšetřeny tři odlišné haly s klecovou technologií.

V chovu IV byla celková kapacita 150 tisíc kusů v devíti halách. Před zahájením programu byly vyšetřeny čtyři haly s klecovou technologií. Po imunizaci živou vakcínou Gallivac SE (Merial, FR) byly vyšetřeny dvě odlišné haly s klecovou technologií.

Odběr vzorků

Z každé vyšetřované haly byly odebrány ve sledovaných chovech nosnic vzorky trusu, prachu a stěry z prostředí. Za týden po zjištěném pozitivním výsledku kultivace na salmonely bylo z jedné haly odebráno 150 až 240 kusů čerstvě snesených vajec. Nejpozději do 2 dnů po skladování při teplotě v laboratoři byla vejce kultivací vyšetřena na přítomnost salmonel.

Izolace salmonel, sérotypizace a fagotypizace kmenů

Všechny odebrané vzorky trusu, prachu, stěrů a vajec byly vyšetřeny metodou EN ISO 6579:2002 a její alternativou s kultivací na semisolidním MSR/V mediu (CM 0910 OXOID). Vejce byla kultivována směsně po 5 kusech, zvlášť skořápky a obsah, po jejich homogenizaci v navážce 25 g v 225 ml pufrované peptonové vody (PPV). Izolované kultury salmonel byly sérotypizovány a zařazeny dle Kaufmann-Whiteova schématu. Kmeny SE byly fagotypizovány dle CPHA London, UK.

Výsledky

Celková prevalence *Salmonella* spp. ve čtyřech infikovaných chovech nosnic z 11 snáškových hal před zahájením Národního programu a vakcinace byla 38,8 % v trusu, 25,0 % v prachu a 44,45 % ve stěrech z prostředí. Na skořápkách se pohybovala od 0,64 % do 3,20 %, v obsahu vajec od 0,25 % do 1,28 % (Tab. 1). V chovu I byla zjištěna pouze SE PT8; v trusu v 60,0 %, v prachu v 37,5 % a ve stěrech z prostředí v 75,0 %. Na skořápkách se pohybovala od 0,55 % do 2,78 % a v obsahu vajec od 0,37 % do 1,86 % (Graf 1). V chovu II byla v trusu zjištěna SE PT8 (n=3) a PT23 (n=2), celkem v 25,0 %. Kultivace z prachu byla negativní, stěry nebyly vyšetřovány. Na skořápkách byla zjištěna SE PT8 v 1,25 - 6,25 % a v obsahu vajec v 0,41 - 2,08 % (Graf 2). V chovu III byla v trusu zjištěna SE PT23 (n=1) a *S. Havana* (n=1), celkem v 16,67 %. V prachu byla zjištěna *S. Ohio* v 16,67 % (n=1); ve stěrech z prostředí byla izolována SE PT4b (n=1) a *S. Kentucky* (n=1), celkem ve 20,0 %. SE fagotypu PT23 byla

zjištěna na skořápkách v 1,11 - 5,56 % a v obsahu vajec v 0,56 - 2,78 % (Graf 3). V chovu IV byla v trusu zjištěna SE PT4 (n=3), PT7 (n=1), PT6 (n=3), PT35 (n=1) a *S. Wirchow* (n=1), celkem v 45,0 %. V prachu byla zjištěna SE PT7 (n=1) a PT6 (n=1), celkem v 25,0 %. Na skořápkách byla zjištěna SE PT6 (n=1) a PT30 (n=1) v 0,33 - 1,66 %, vzorky z obsahu vajec byly negativní (Graf 4).

Tab. 1 Výskyt salmonel. ve vzorcích z prostředí a ve vejcích v infikovaných chovech nosnic – před zahájením programu tlumení salmonel a vakcinace

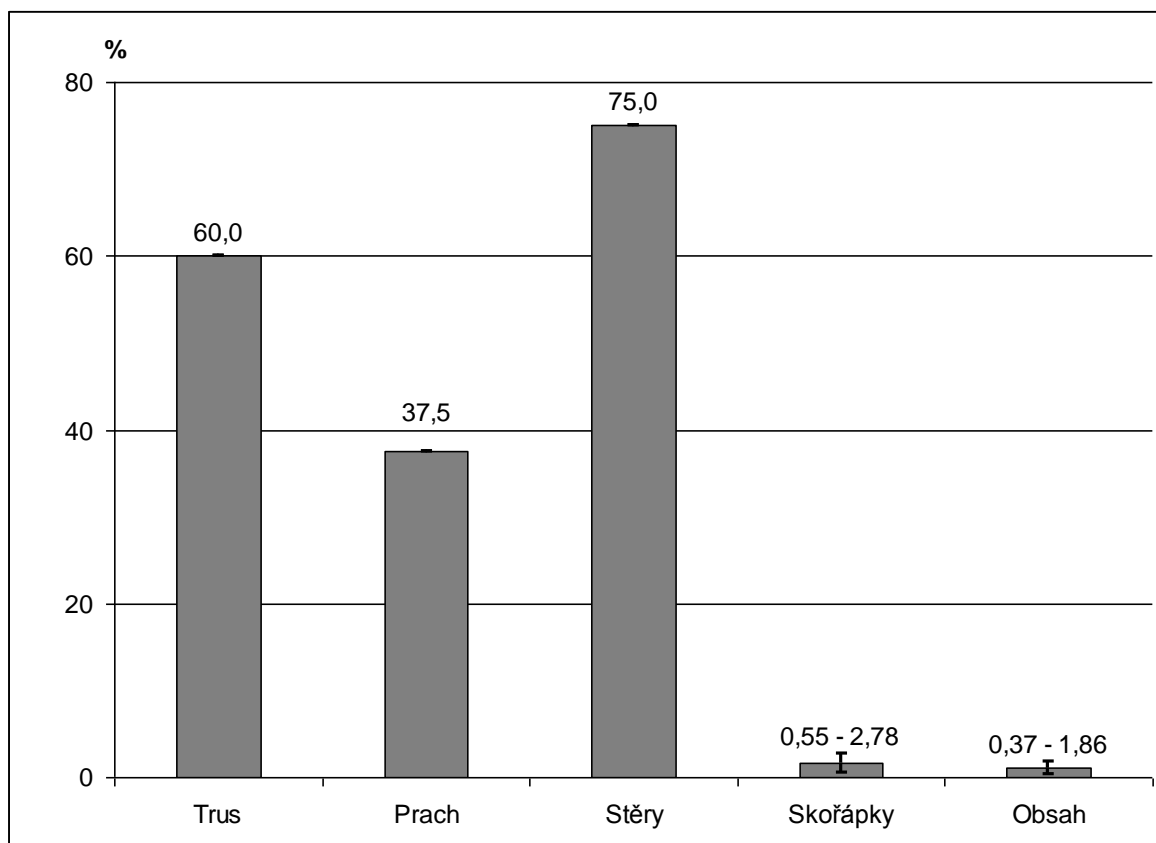
Chov	Počet hal n=	Trus	Prach	Stěry	Vejce	
					Skořápky*	Obsah*
Počet pozitivních/počet vyšetřených vzorků						
I	(3)	12 ¹ /20	3 ¹ /8	6 ² /8	3 ¹ /108 (540)	2 ¹ /108 (540)
		60,0 %	37,5 %	75,0 %	0,55-2,78 %	0,37-1,86 %
II	(1)	5 ^{1,2} /20	0/2	NT	3 ¹ /48 (240)	1 ¹ /48 (240)
		25,0 %	0 %		1,25-6,25 %	0,41-2,08 %
III	(3)	2 ^{2,a} /12	1 ^b /6	2 ^{3,c} /10	2 ² /36 (180)	1 ² /36 (180)
		16,67 %	16,67 %	20,0 %	1,11-5,56 %	0,56-2,78 %
IV	(4)	9 ^{4,5,6,7,d} /20	2 ^{5,6} /8	NT	2 ^{6,8} /120(600)	0/120(600)
		45,0 %	25,0 %		0,33-1,66 %	0 %
Celkem		28/72	6/24	8/18	10/312 (1560)	4/312 (1560)
		38,88 %	25,0 %	44,45 %	0,64-3,20 %	0,25-1,28 %

*1 vzorek = 5 vajec

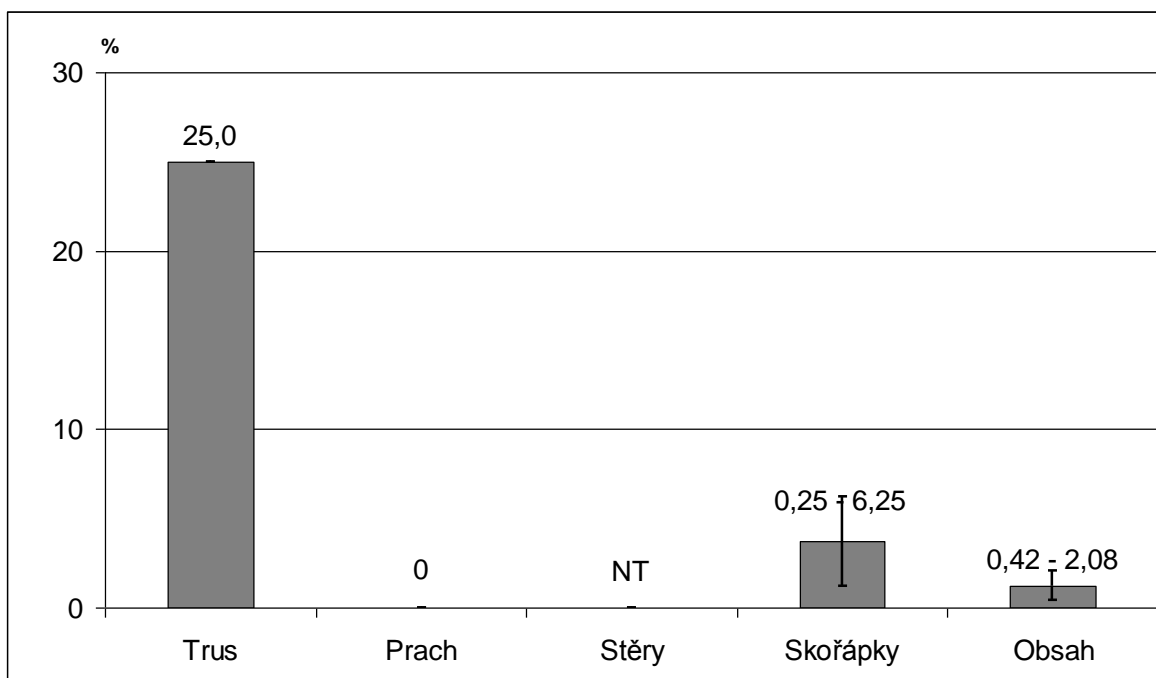
S. Enteritidis – fagotypy: PT8¹, PT23², PT4b³, PT4⁴, PT7⁵, PT6⁶, PT35⁷, PT30⁸

Ostatní sérovary: *S. Havana*^a, *S. Ohio*^b, *S. Kentucky*^c, *S. Virchow*^d

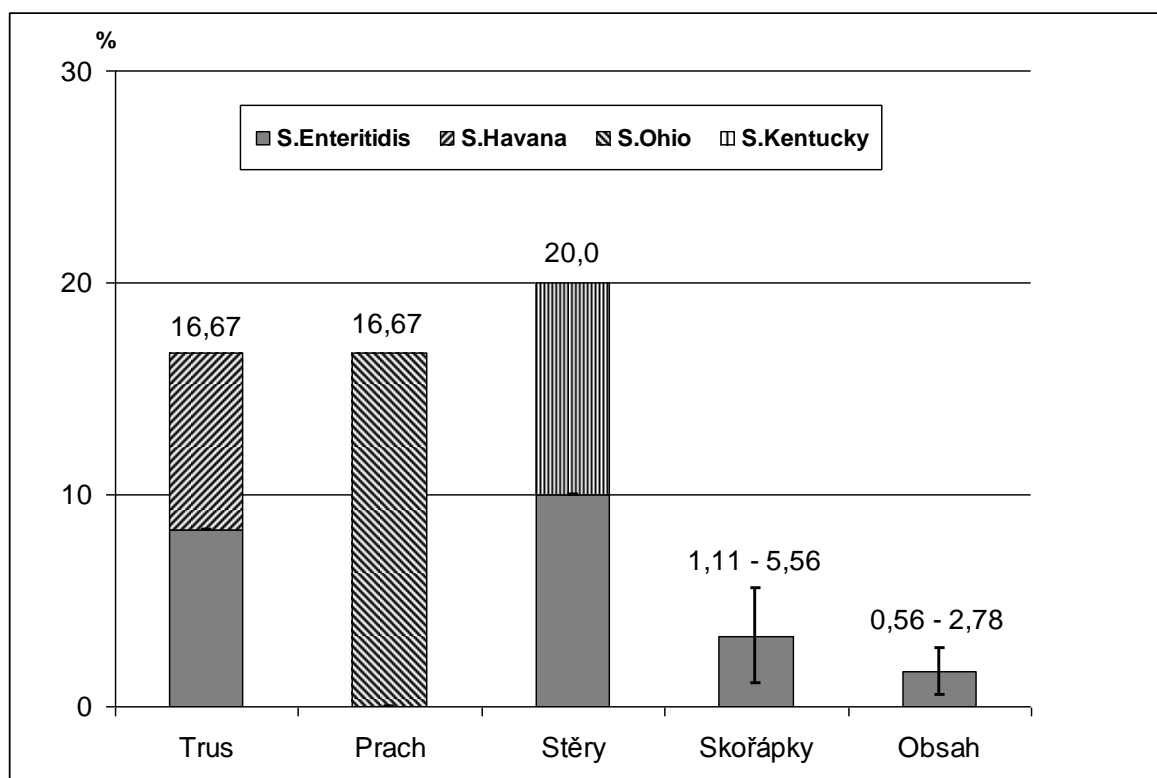
Graf 1 Výskyt *Salmonella* Enteritidis v chovu nosnic I - před vakcinací



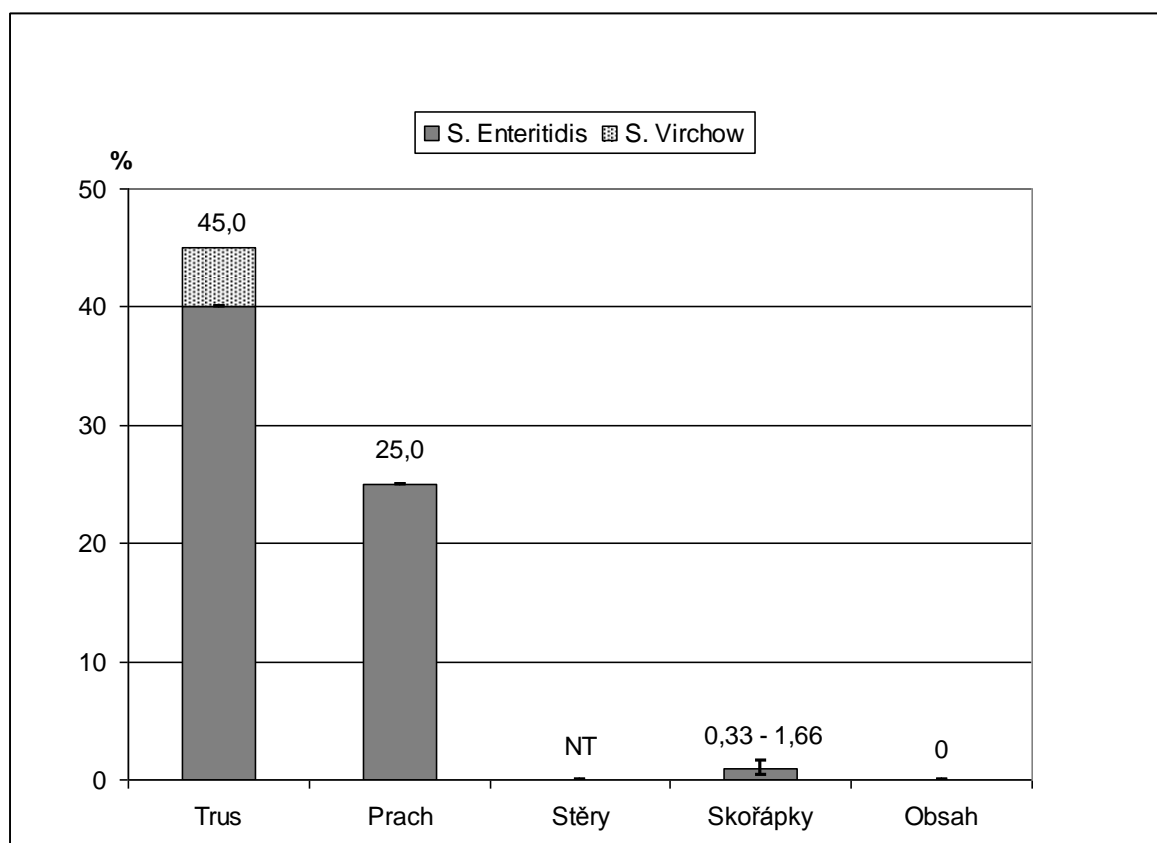
Graf 2 Výskyt *Salmonella* Enteritidis v chovu nosnic II – před vakcinací



Graf 3 Výskyt *Salmonella* spp. v chovu nosnic III – před vakcinací



Graf 4 Výskyt *Salmonella* spp. v chovu nosnic IV – před vakcinací



Celková prevalence *Salmonella* spp. ve čtyřech infikovaných chovech nosnic z 8 snáškových hal po zahájení Národního programu a vakcinaci byla 18,75 % v trusu, 30,55 % v prachu, 22,22 % ve stěrech z prostředí a 0,46 – 2,32 % na skořápkách; izolace z obsahu vajec byla negativní (Tab. 2). V chovu I byla zjištěna v trusu SE PT8 v 3,33 %. Z prachu byla izolována SE PT8 (n=3) a PT23 (n=3) v 50,0 % a na skořápkách byla SE PT8 v 0,66 – 3,33 % (Graf 5). V chovu II byla zjištěna SE PT8 v trusu v 25,0 %, v prachu v 50,0 % a na skořápkách v 0,83 – 4,16 % (Graf 6). V chovu III byla kultivace v trusu pozitivní v 56,25 % (*S. Agona* n=7, SE PT8 n=1 a SE PT4b n=1). Kultivace z prachu byla pozitivní v 33,33 % (*S. Agona* n=1 a SE PT8 n=1) a ze stěrů z prostředí v 22,22 % (*S. Agona* n=1 a SE PT8 n=1). Na skořápkách byla zjištěna SE PT8 v 0,44 – 2,22 % (Graf 7). V chovu IV byla izolována v trusu SE PT4 (n=2) a PT6 (n=1), kultivace z prachu a z vajec byla negativní (Graf 8).

Tab. 2 Výskyt salmonel. ve vzorcích z prostředí a ve vejcích v infikovaných chovech nosnic – po zahájení programu tlumení salmonel a vakcinace

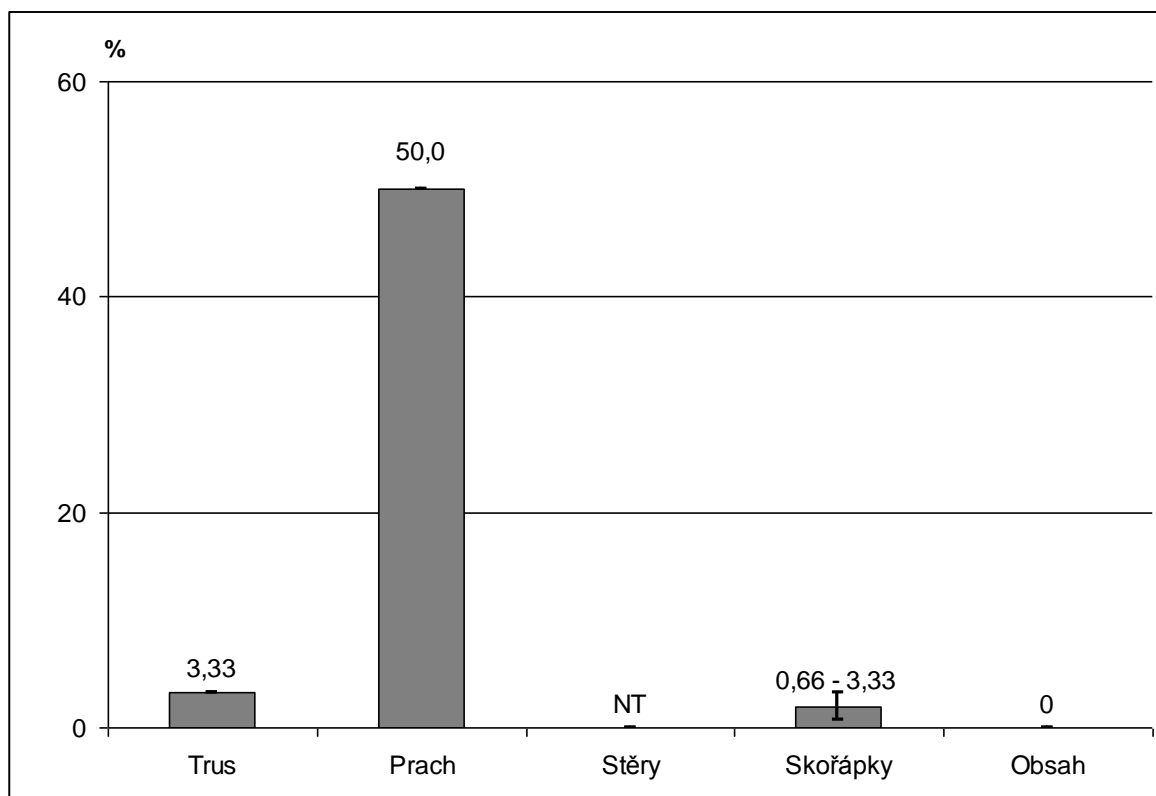
Chov Počet hal n=	Trus	Prach	Stěry	Vejce	
				Skořápky*	Obsah*
Počet pozitivních/počet vyšetřených vzorků					
I (2)	1 ¹ /30	6 ^{1,2} /12	NT	2 ¹ /60 (300)	0/60 (300)
	3,33 %	50,0 %		0,66-3,33 %	0 %
II (1)	5 ¹ /20	3 ¹ /6	NT	2 ¹ /48 (240)	0/48 (240)
	25,0 %	50,0 %		0,83-4,16 %	0 %
III (3)	9 ^{a,1,3} /16	2 ^{a,1} /6	2 ^{a,1} /9	2 ^a /90 (450)	0/90 (450)
	56,25 %	33,33 %	22,22 %	0,44-2,22 %	0 %
IV (2)	3 ^{4,5} /30	0/12	NT	0/60 (300)	0/60 (300)
	10,0 %	0 %		0 %	0 %
Celkem	18/96	11/36	2/9	6/258 (1290)	0/258 (1290)
	18,75 %	30,55 %	22,22 %	0,46-2,32 %	0 %

*1 vzorek = 5 vajec

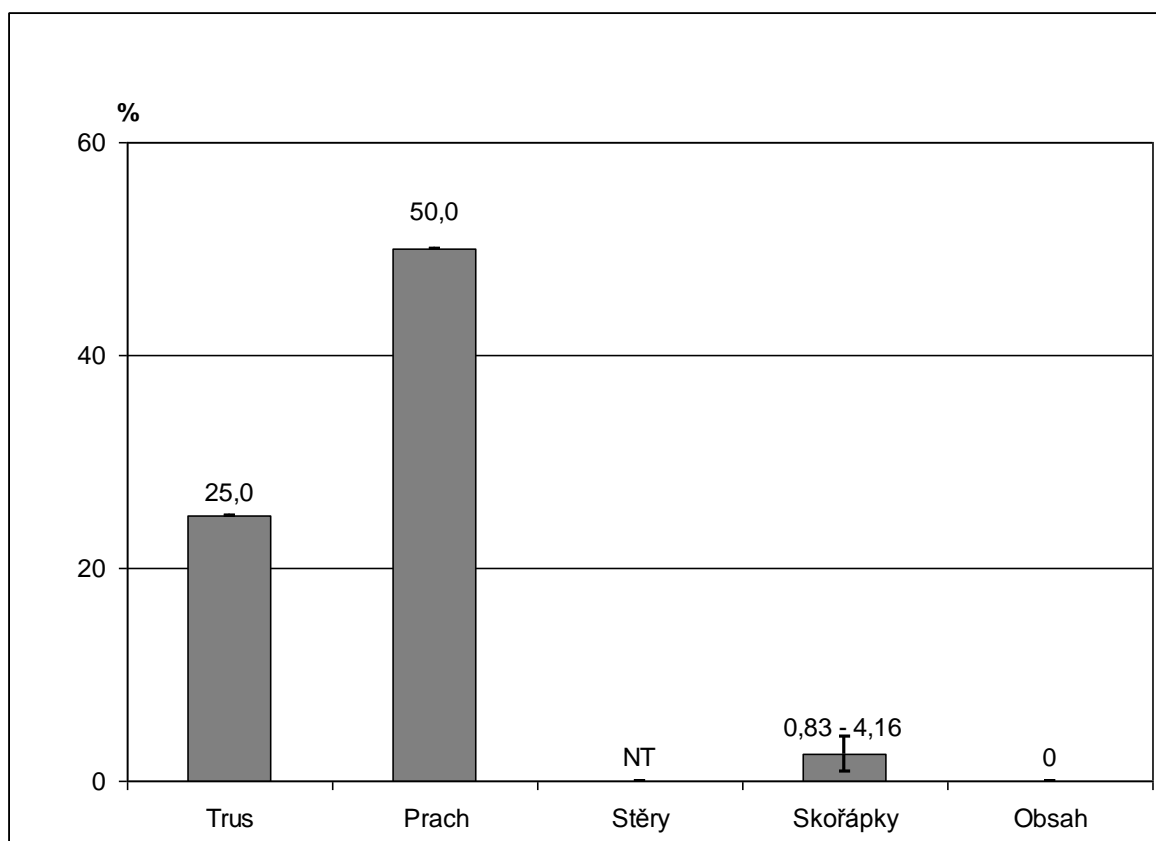
S. Enteritidis – fagotypy: PT8¹, PT23², PT4b³, PT4⁴, PT6⁵

Ostatní sérovary: *S. Agona*^a

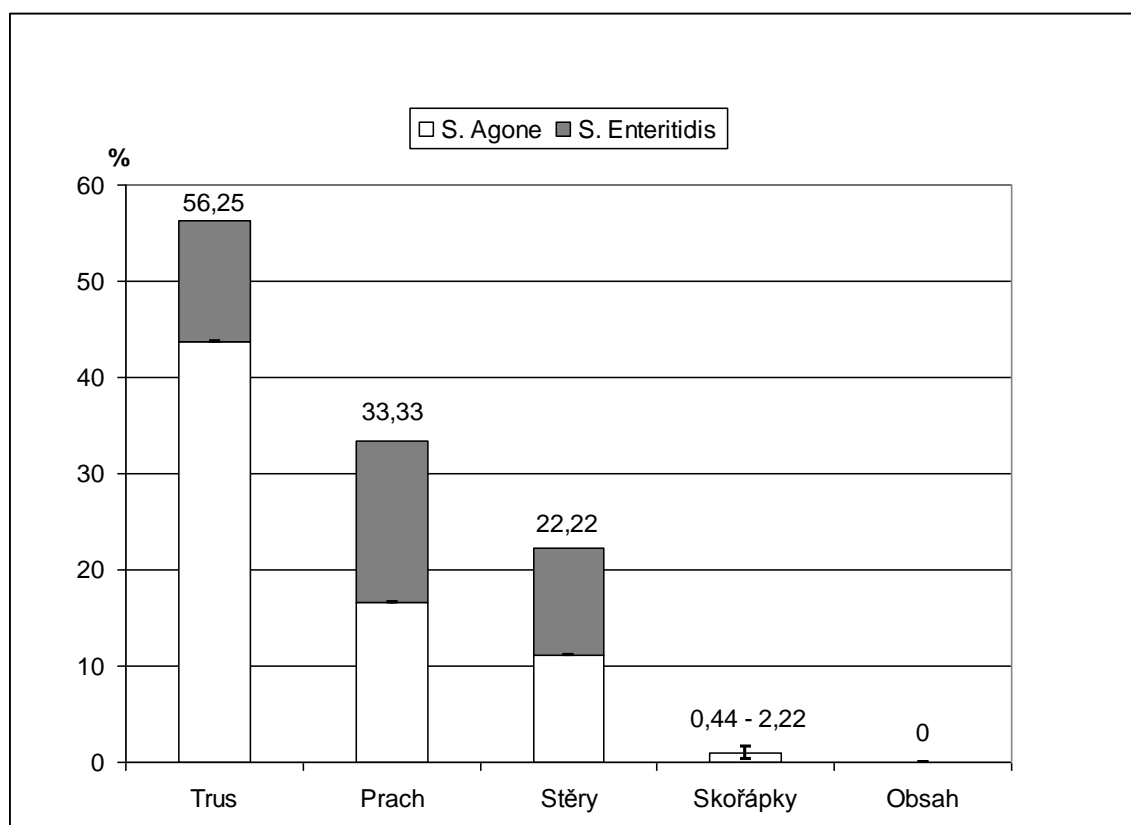
Graf 5 Výskyt *Salmonella* Enteritidis v chovu nosnic I – po vakcinaci



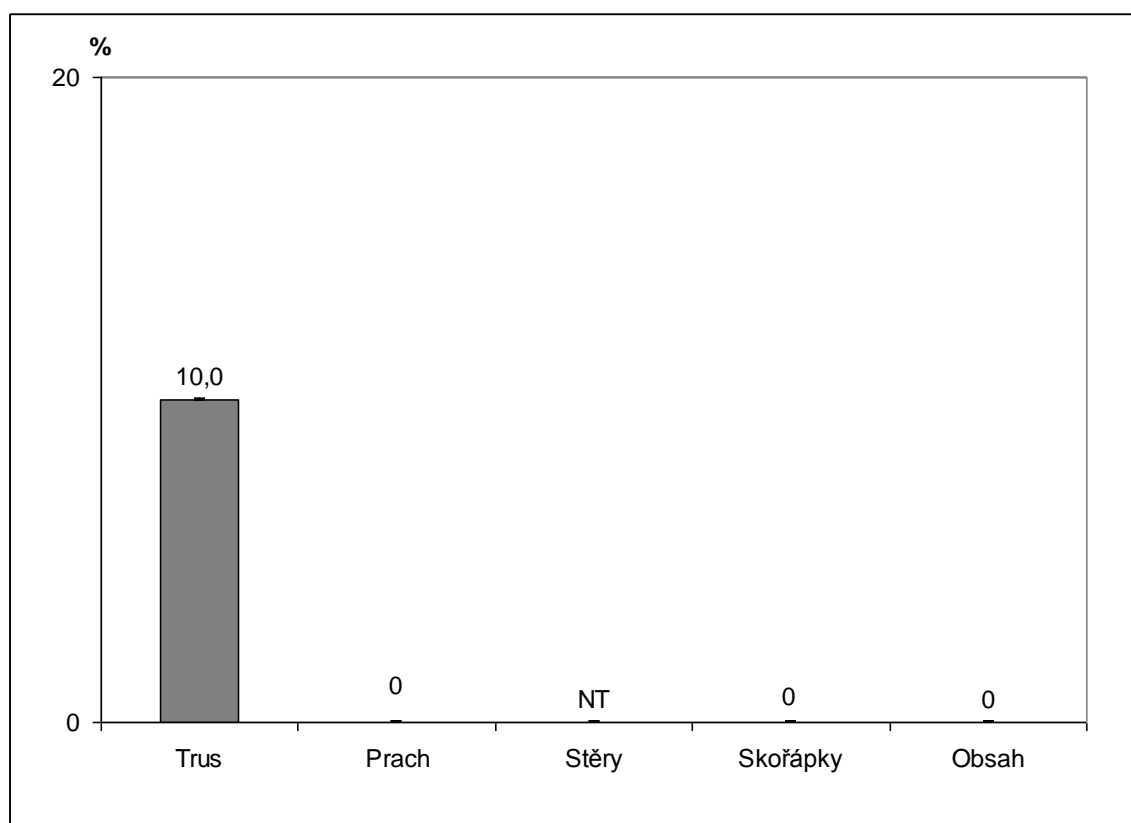
Graf 6 Výskyt *Salmonella* Enteritidis v chovu nosnic II – po vakcinaci



Graf 7 Výskyt *Salmonella* spp. v chovu nosnic III – po vakcinaci



Graf 8 Výskyt *Salmonella* Enteritidis v chovu nosnic IV – po vakcinaci



Závěr

Ve studii jsou zpracovány aktuální poznatky o kontaminaci vajec salmonelami, které jsou hlavním zdrojem alimentárních onemocnění u lidí a o výskytu těchto původců zoonóz v chovech nosnic v Evropské unii (EU) a v České republice (ČR). Na základě předložených informací jsou hodnocena rizika přenosu *Salmonella* Enteritidis (SE) a dalších epidemiologicky významných sérovarů salmonel do potravního řetězce na konzumní vejce. Dále je zde uveden přehled o současné problematice tlumení salmonel v chovech nosnic a o zajištění produkce zdravotně nezávadných a bezpečných potravin v EU a v ČR včetně legislativního rámce pro zavedení těchto programů. Harmonizovaný program tlumení salmonel u nosnic vypracovaný EU bude uplatňován v národních programech v jednotlivých členských zemích v období let 2008-2010. V ČR byl Národní program zahájen s předstihem již v roce 2007 z důvodů zjištěné vysoké prevalence salmonel v chovech nosnic. Je založen na monitorování salmonel v chovech nosnic a snižování jejich výskytu v prostředí pro omezení rizika kontaminace vajec pomocí sanitačních a zoogygienických opatření. Dále pomocí vakcinace, která specificky zvyšuje odolnost drůbeže proti infekci SE. Literární přehled je doplněn vlastními výsledky, které byly získány v průběhu studie při sledování výskytu salmonel v prostředí a ve vejcích ve čtyřech infikovaných chovech nosnic před zahájením a po zahájení národního programu. Byla zjištěna korelace mezi výskytem SE prevalentního fágového typu PT8 v prostředí čtyř infikovaných chovů nosnic a kontaminací vajec na skořápkách i v jejich obsahu. Po zahájení Národního programu a zavedení imunizace živou vakcínou SE byl zjištěn částečný ochranný efekt. Ve dvou chovech byl snížen výskyt salmonel v trusu a v prostředí a ve třech chovech na skořápkách. Ve všech vakcinovaných chovech nosnic byla izolace SE v obsahu vyšetřených vajec negativní; zatímco před vakcinací byl pozitivní nález v obsahu vajec zjištěn ve třech chovech. Pro zlepšení současné nepříznivé situace ve výskytu salmonel v chovech nosnic je proto nutné, aby kromě důsledného uplatňování Národního programu a vakcinace byla chovateli ve vlastním zájmu trvale zvyšována zoohygiena, technologická úroveň provozů. Zejména provádět účinné čištění, desinfekci, hubení hlodavců a hmyzu a dodržovat zásady správné chovatelské praxe a ochrany chovů – biosekurity. Účinnost vakcinace je limitována imunogenitou vakcíny a nakažovou situací v chovech nosnic, infekčním tlakem. Rovněž je omezena výskytem jiných sérovarů než SE a dalšími rizikovými faktory v chovech nosnic, které ovlivňují průběh tlumení salmonel.

Summary

The study is analyzing current data on egg contamination with *Salmonellas*, which are the major sources of alimentary infections in humans, as well as data on the incidence of these causal agents of zoonoses in flocks of laying hens in the European Union (EU) and in the Czech Republic (CR). Risk assessment has been performed based on the obtained data in association of *Salmonella* Enteritidis (SE) and other epidemiologically significant serotypes transmission to the food chain represented by table eggs. A review is further included on current problems associated with Salmonella control in flocks of laying hens and production of safety foodstuffs in EU and CR including a respective legislation for implementation of the mentioned programmes. A harmonized programme of *Salmonella* control in laying hens developed in EU will be implemented in National Programmes of individual EU member states over the period 2008-2010. In the Czech Republic, the National Programme for Salmonella Control has already been launched this year due to the high Salmonella prevalence reported in flocks of laying hens. The programme is based on *Salmonella* monitoring in layer flocks and reduction of their occurrence in the environment to minimize the risk of egg contamination by using sanitation and hygienic measures as well as by means of vaccination which enhances specifically poultry resistance against SE infection.

Review of literature is supplemented with our results obtained during the studies of *Salmonella* monitoring in the environment and in eggs in four infected layer flocks prior to and after initiation of the National Programme. Correlation was found between the occurrence of SE, phage type PT8, in four infected layer flocks and contamination of egg shells and egg contents. A partial preventive effect has been observed after launching the National Programme and immunization with live SE vaccine. *Salmonella* findings decreased in feces and the environment of two flocks, and in egg shells of three flocks. SE isolation was negative in egg contents of all vaccinated layer flocks whereas positive findings were recorded in three flocks prior to vaccination. To improve the current unfavorable situation in *Salmonella* occurrence in flocks of laying hens requires not only a strict enforcement of the National Programme for *Salmonella* Control and vaccination but also a permanent improvement of zoohygiene and technological procedures. This includes predominantly an efficient cleaning, disinfection, extermination of rodents and insect and observation of suitable principles of breeding and flock protection i.e. biosecurity. Vaccine efficiency is limited by its immunogenicity and epidemiological situation in layer flocks, infection pressure, as well as the occurrence of other serotypes than SE and other risk factors in poultry breeding which have impact on *Salmonella* control.

Literatura

1. Guard-Petter J. The chicken, the egg and *Salmonella enteritidis*. Environ.Microbiol. 2001;3(7):421-430.
2. WHO/FAO. Risk assessments of *Salmonella* in eggs and broiler chickens. Microbiological Risk Assessment Series 2 2002;1-302.
3. From the Centers for Disease Control and Prevention. Outbreaks of *Salmonella* serotype enteritidis infection associated with eating shell eggs in the United States, 1999-2001. JAMA 2003;289(5):540-541.
4. Braden C.R. *Salmonella enterica* serotype Enteritidis and eggs: a national epidemic in the United States. Clin.Infect.Dis. 2006;43(4):512-517.
5. Radkowski M. Occurrence of *Salmonella* spp. in consumption eggs in Poland. Int.J.Food Microbiol. 2001;64(1-2):189-191.
6. Gast R.K., Guard-Bouldin J., Holt P. S. Colonization of reproductive organs and internal contamination of eggs after experimental infection of laying hens with *Salmonella heidelberg* and *Salmonella enteritidis*. Avian Dis. 2004;48(4):863-869.
7. Gast R.K., Guard-Bouldin J., Holt P. S. The relationship between the duration of fecal shedding and the production of contaminated eggs by laying hens infected with strains of *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Heidelberg. Avian Dis. 2005;49(3):382-386.
8. Williams A., Davies A. C., Wilson J., Marsh P. D., Leach S., Humphrey T. J. Contamination of the contents of intact eggs by *Salmonella typhimurium* DT104. Vet Rec. 1998;143(20):562-563.
9. Humphrey T. Chapter 15: Public-health aspects of *Salmonella* infection. In: *Salmonella* in Domestic Animals. C. Wray and A. Wray, ed. Cabi Publishing. Wallingford Oxon, U.K. 2000:245-263.
10. Cogan T.A., Humphrey T. J. The rise and fall of *Salmonella* Enteritidis in the UK. J.Appl.Microbiol. 2003;94 Suppl:114S-119S.
11. Šrámová H., Karpíšková R., Beneš C. Salmonelózy v České republice v letech 1989-1998. Epidemiol.Mikrobiol.Imunol. 2000;49(1):34-38.
12. Šrámová H., Beneš C., Karpíšková R. Výskyt *S. typhimurium* v ČR v letech 1999-2001. Epidemiol.Mikrobiol.Imunol. 2002;51(4):148-151.
13. Karpiskova R., Benes C., Dedicova D. Emergence of multigrug resistant *Salmonella typhimurium* DT 104 in the Czech Republic. Eurosurveillance 1999;4:56-58.
14. Humphrey T.J. Contamination of egg shell and contents with *Salmonella enteritidis*: a review. Int.J.Food Microbiol. 1994;21(1-2):31-40.
15. Kinde H., Castellan D. M., Kass P. H. et al. The occurrence and distribution of *Salmonella enteritidis* and other serovars on California egg laying premises: a comparison of two sampling methods and two culturing techniques. Avian Dis. 2004;48(3):590-594.
16. Kinde H., Castellan D. M., Kerr D., Campbell J., Breitmeyer R., Ardans A. Longitudinal monitoring of two commercial layer flocks and their environments for *Salmonella enterica* serovar enteritidis and other *Salmonellae*. Avian Dis. 2005;49(2):189-194.

17. Musgrove M.T., Jones D. R., Northcutt J. K. et al. Recovery of *Salmonella* from commercial shell eggs by shell rinse and shell crush methodologies. *Poult.Sci.* 2005;84(12):1955-1958.
18. Messens W., Grijspeerdt K., Herman L. Eggshell penetration by *Salmonella*: a review. *World's Poultry Science Journal* 2005;61:71-86.
19. Messens W., Grijspeerdt K., Herman L. Eggshell characteristics and penetration by *Salmonella enterica* serovar Enteritidis through the production period of a layer flock. *Br.Poult.Sci.* 2005;46(6):694-700.
20. Radkowski M. Effect of moisture and temperature on survival of *Salmonella* Enteritidis on shell eggs. *Arch.Gelflügelk* 2002;66:119-123.
21. De Buck J., Van Immerseel F., Haesebrouck F., Ducatelle R. Effect of type 1 fimbriae of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis on bacteraemia and reproductive tract infection in laying hens. *Avian Pathol.* 2004;33(3):314-320.
22. De Buck J., Pasmans F., Van I. F., Haesebrouck F., Ducatelle R. Tubular glands of the isthmus are the predominant colonization site of *Salmonella* enteritidis in the upper oviduct of laying hens. *Poult.Sci.* 2004;83(3):352-358.
23. Okamura M., Kamijima Y., Miyamoto T., Tani H., Sasai K., Baba E. Differences among six *Salmonella* serovars in abilities to colonize reproductive organs and to contaminate eggs in laying hens. *Avian Dis.* 2001;45(1):61-69.
24. De Buck J., Van Immerseel F., Haesebrouck F., Ducatelle R. Colonization of the chicken reproductive tract and egg contamination by *Salmonella*. *J.Appl.Microbiol.* 2004;97(2):233-245.
25. Poppe C. Chapter 7: *Salmonella* Infections in the Domestic Fowl. In: *Salmonella* in Domestic Animals. C. Wray and A. Wray, ed. Cabi Publishing. Wallingford Oxon, U.K. 2000;107-132.
26. Mollenhorst H., van Woudenberg C. J., Bokkers E. G., de B., I. Risk factors for *Salmonella* enteritidis infections in laying hens. *Poult.Sci.* 2005;84(8):1308-1313.
27. Davies R., Breslin M. Environmental contamination and detection of *Salmonella enterica* serovar enteritidis in laying flocks. *Vet Rec.* 2001;149(23):699-704.
28. Garber L., Smeltzer M., Fedorka-Cray P., Ladely S., Ferris K. *Salmonella enterica* serotype enteritidis in table egg layer house environments and in mice in U.S. layer houses and associated risk factors. *Avian Dis.* 2003;47(1):134-142.
29. Liebana E., Garcia-Migura L., Clouting C., Clifton-Hadley F. A., Breslin M., Davies R. H. Molecular fingerprinting evidence of the contribution of wildlife vectors in the maintenance of *Salmonella* Enteritidis infection in layer farms. *J.Appl.Microbiol.* 2003;94(6):1024-1029.
30. Analysis of the baseline study on the prevalence of *Salmonella* in laying hen flocks of *Gallus gallus*. *The EFSA Journal* 2006;81:1-71.
31. Directive 2003/99/EC of the European Parliament and of the Council of November 2003 on the monitoring of zoonoses and zoonotic agents, amending Council Decision 90/424/EEC and repealing Council Directive 92/117/EEC. *Official Journal of the European Union* 2003;L325:1-40.

32. Regulation (EC) No 2160/2003 of the European Parliament and of the Council of 17 November 2003 on the control of *Salmonella* and other specified food-borne zoonotic agents. Official Journal of the European Union 2003;L325:1-13.
33. Davies R.H., Breslin M. Persistence of *Salmonella* enteritidis phage type 4 in the environment and arthropod vectors on an empty free-range chicken farm. Environ.Microbiol. 2003;5(2):79-84.
34. De Reu K., Grijspeerdt K., Heyndrickx M. et al. Bacterial eggshell contamination in conventional cages, furnished cages and aviary housing systems for laying hens. Br.Poult.Sci. 2005;46(2):149-155.
35. Methner U., Diller R., Reiche R., Bohland K. [Occurrence of *Salmonellae* in laying hens in different housing systems and inferences for control]. Berl Munch.Tierarztl.Wochenschr. 2006;119(11-12):467-473.
36. Nařízení Komise (ES) č. 1168/2006 ze dne 31. července 2006, kterým se provádí nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 2160/2003, pokud jde o cíl Společenství zaměřený na snížení prevalence určitých sérotypů salmonely u nosnic *Gallus gallus*, a kterým se mění nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1003/2005. Úřední věstník Evropské unie 2006.
37. Nařízení Komise (ES) č. 1177/2006 ze dne 1. srpna 2006, kterým se provádí nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 2160/2003, pokud jde o požadavky na používání určitých tlumicích metod v rámci národních programů pro tlumení salmonel u drůbeže. Úřední věstník Evropské unie 2006.
38. Státní veterinární správa ČR. Národní programy na tlumení salmonel v reprodukčních hejnech a v chovech nosnic. <http://www.svs-cr.cz>.