

Minimale Infectueuze Dosis voor Salmonella in pluimveevoeders

Kwaliteitsreeks nr. 79
Februari 2002

Minimale Infectueuze Dosis voor Salmonella in pluimveevoeders

Kwaliteitsreeks nr. 79
Februari 2002

Auteur: dr. A. Veldman
Instituut voor de Veevoeding
"De Schothorst"
Meerkoetenweg 26,
Postbus 533
8200 AM LELYSTAD

Productschap Diervoeder
Stadhoudersplantsoen 12
2517 JL DEN HAAG
telefoon 070 - 3708503

oplaag: 750

INHOUDSOPGAVE

VOORWOORD	2
1 INLEIDING	3
2 SALMONELLA	4
2.1 TYPEN EN VOORKOMEN	4
2.2 PATHOGENESE MET NADRUK OP VIRULENTIEFACTOREN	4
2.3 CONDITIE.....	5
2.4 CONCLUSIE INFECTIEVERMOGEN SALMONELLA.....	5
3 DE GASTHEER	6
3.1 LEEFTIJD	6
3.2 GEZONDHEID	6
3.3 STRESS.....	6
3.4 RAS.....	7
3.5 VACCINATIE	7
3.6 CONCLUSIE ONTVANKELIJKHEID KIP VOOR SALMONELLA.....	7
4 OVERDRACHTSVECTOR VOER	8
4.1 GRONDSTOFFEN.....	8
4.2 ADDITIEVEN	8
4.2.1 <i>Voerbepaarders</i>	8
4.2.2 <i>Zuren</i>	8
4.2.3 <i>Prebiotica</i>	9
4.2.4 <i>Probiotica</i>	9
4.3 MENGVOEDERTECHNOLOGIE	9
4.4 CONCLUSIE INVLOED VOER OP DE MINIMALE INFECTIEUZE DOSIS	9
5 SEMI-KWANTITATIEVE BENADERING MINIMALE INFECTIEUZE DOSIS SALMONELLA	10
5.1 INFECTIEPROEVEN MET SALMONELLA BESMET VOER	10
5.2 SYNTHESE VAN BEVINDINGEN	10
6 SAMENVATTING	11
7. LITERATUUR	12

Voorwoord

De onderhavige literatuurstudie is in opdracht van het Productschap Diervoeder door Instituut voor de Veevoeding 'De Schothorst' uitgevoerd in het kader van de bijdrage van de diervoedersector in de aanpak van salmonella in de pluimveeketen. In deze studie is getracht na te gaan welke concentraties aan salmonellabacteriën in voer leiden tot besmetting van pluimvee. Anders gezegd: Wat is de minimale infectieuze dosis van salmonella in voer bij pluimvee?

Deze studie bevat veel relevante informatie. Hoewel pluimveevoeders niet de meest belangrijke oorzaak is van de salmonellabesmetting in de pluimveeketen, blijkt hieruit wel dat beheersmaatregelen m.b.t. salmonella in pluimveevoeders nodig zijn. Uit deze studie blijkt ook dat jongere dieren meer gevoelig zijn dan oudere dieren.

Deze studie geeft geen antwoord op de vraag in welke mate de huidige beheersmaatregelen in het kader van de GMP-regeling diervoedersector effectief en doelmatig zijn in verhouding tot de beheersmaatregelen in het overige schakels van de pluimveeketen.

J. den Hartog
secretaris

1 Inleiding

Infecties met salmonella spelen anno 2001 nog steeds een belangrijke rol in de pluimveehouderij. De infectie van pluimvee met salmonella kan op veel manieren en niveaus in de productieketen plaatsvinden. Besmetting van de keten via het mengvoer is slechts één van de vele mogelijkheden met een geringe importantie daar de salmonella incidentie in voer op zich laag is. Desalniettemin verdient het wel de volle aandacht van de Nederlandse mengvoerproducenten.

Mengvoerproducenten hebben reeds veel haalbare en betaalbare maatregelen genomen om de besmetting van pluimveevoer met salmonella terug te dringen. Desondanks blijven er problemen bestaan met salmonella besmettingen van pluimvee. De mengvoerproducenten staan hierbij voor de vraag of voer absoluut vrij moet zijn van salmonella's of dat een zeker aantal salmonella's in voer getolereerd kan worden. De vraag is in feite, indien voer salmonella's mocht bevatten, hoeveel salmonella's in voer alsdan leiden tot besmetting van pluimvee. Of anders geformuleerd: wat is de minimaal infectieuze dosis van salmonella in pluimveevoer bij pluimvee. In deze literatuurstudie wordt getracht een antwoord op deze vraag te formuleren. De infectie van pluimvee door salmonella is grotendeels afhankelijk van de betrokkenen, namelijk de salmonella en de kip. Op beiden wordt nader ingegaan. Vanzelfsprekend komt ook het voer als mogelijke overdrachtsvector uitvoerig aan de orde.

2 Salmonella

Het genus *Salmonella* maakt deel uit van de familie van de Enterobacteriaceae, waaronder ook de *E. coli* valt. *Salmonellae* zijn gramnegatieve, rechte staafjes, die facultatief anaëroob zijn. *Salmonella* is niet één bacterie maar bestaat uit verschillende typen, die afhankelijk van hun virulentie en conditie, de kip kunnen infecteren.

2.1 Typen en voorkomen

Er zijn verschillende serotypen te onderscheiden op grond van verschillen in antigene structuur. Typering gebeurt dan ook met behulp van serologische technieken. *Salmonellae* beschikken allemaal over O- (somatische) en enkele over H- (flagellaire) antigenen. Op basis hiervan worden *salmonellae* via het Kauffman-White schema van elkaar onderscheiden (Breed et al., 1957). Op deze wijze zijn meer dan 2300 serotypen van *salmonella* geïdentificeerd. Deze kunnen in drie categorieën worden ingedeeld (Vielitz, 1992). De eerste categorie bestaat uit gastheer-specifieke serotypen, de tweede uit invasieve serotypen en de derde uit non-invasieve serotypen. *S. pullorum* en *S. gallinarum* behoren tot de eerste groep. Deze serotypen worden alleen bij pluimvee of andere vogels aangetroffen en veroorzaken ziekte bij pluimvee, gepaard gaande met veel uitval en slechtere technische resultaten. Beide serotypen zijn al enkele decennia geleden succesvol uitgebannen en komen niet meer in Nederland voor. Overigens zijn de meeste *salmonella*'s niet gastheerspecifiek. De tweede groep bestaat uit de invasieve serotypen, waaronder *S. enteritidis* en *S. typhimurium*. Ze beïnvloeden de technische resultaten van pluimvee nauwelijks maar kunnen in bepaalde situaties ziekte veroorzaken. De derde groep, de non-invasieve serotypen die meer dan 99% van de bekende serotypen omvat, leveren alleen een gevaar op voor de mens als de geconsumeerde pluimveeproducten grote hoeveelheden *salmonella*'s bevatten.

2.2 Pathogenese met nadruk op virulentiefactoren

Virulentie is het vermogen van een bacterie om de gastheer te infecteren en vervolgens ziek te maken. Hierin spelen de zogenoemde virulentiefactoren een rol. Dit zijn bacteriële producten die benodigd zijn voor de bacterie om ziekte te veroorzaken. Er zijn voor *salmonella* verschillende virulentiefactoren geïdentificeerd en deze zijn werkzaam in verschillende stadia van de infectie (Finlay & Falkow, 1988; Gevaert et al., 1990). De meeste *salmonella* infecties ontstaan bij orale opname van bacteriën. Deze passeren de maag en dringen de mucosa in de dunne darm binnen, waar ze zich vestigen. Voor het binnendringen van de darmcellen is het noodzakelijk dat de *salmonella* bacteriën zich door middel van aanhechtingsfactoren aan de darmcellen kunnen hechten. Er zijn twee typen aanhechtingsfactoren bekend, namelijk de type 1 pili (fimbriae) en de mannose resistente haemagglutinine (MRHA). Ook flagellen die de *salmonella* bacterie in staat stellen te bewegen, dragen bij aan de virulentie (Dibb-Fuller & Woodward, 2000). *Salmonella* species kunnen tenminste drie toxinen produceren, te weten enterotoxine, cytotoxine en endotoxine die een rol spelen in de pathogenese. Met name endotoxine, dat bestaat uit lipopolysacchariden (LPS) en lipid A, vormt een belangrijke virulentiefactor. Endotoxine is betrokken bij de invasie van *salmonella* in epitheelcellen. Vanuit het intestinaal stelsel kunnen *salmonella* species verder migreren naar de mesenteriale lymfeknopen en doorbreken in de bloedbaan. Er is dan sprake van septische salmonellose. Samenvattend kan worden gesteld dat *salmonella*'s een verscheidenheid aan virulentiefactoren kunnen bezitten die de minimale infectieuze dosis mede bepalen.

2.3 Conditie

Bacteriën kunnen worden gedood of gewond raken wanneer zij worden blootgesteld aan chemische of fysische processen (Hurst, 1984). Bij chemische processen valt te denken aan zuurbehandeling, terwijl hittebehandeling en drogen onder andere relevante fysische processen zijn die bacteriën schade toebrengen.

Pelleteren van voer doodt een deel van de bacteriën, maar verwondt ook een substantieel deel. Gewonde bacteriën zijn in een slechtere conditie en kunnen in mindere mate een gastheer infecteren. Ook salmonella's in voer zijn in een slechtere conditie dan die in een rijk cultuurmedium omdat zij in minder gunstige omstandigheden verkeren (wateractiviteit, temperatuur, additieven). Dergelijke bacteriën kunnen met enkele voorzorgsmaatregelen wel worden aangetoond (Veldman et al., 1995). De betekenis van deze zogeheten sublethale salmonella's is niet bekend.

De conditie van salmonella's om een gastheer te infecteren kan zelfs worden verbeterd. Volgens Roth (1988) verhoogt het enzymatisch milieu in de dunne darm de invasiviteit doordat pancreasenzymen inwerken op de buitenmembraan van de bacterie. Deze bevinding sluit aan bij die van Notermans (pers. med.) dat de minimale infectieuze dosis voor salmonella die het maagdarmkanaal van een muis is gepasseerd, vele tientallen malen lager wordt. Salmonella's in muizenkeutels zijn dus bijzonder virulent. Het is aldus aannemelijk dat salmonella's die door kuikens worden uitgescheiden eveneens extra virulent zijn met als consequentie dat een enkel via voer besmet kuiken in een koppel kuikens een groot deel van het koppel kuikens kan besmetten.

2.4 Conclusie infectievermogen salmonella

Het infectievermogen oftewel de virulentie van salmonella is afhankelijk van het type salmonella en de conditie van die salmonella. De minimale infectieuze dosis (MID) dient altijd in dit kader te worden beschouwd. Dit betekent dat de MID geen eenduidig getal kan zijn.

3 De gastheer

Een aantal eigenschappen van de gastheer, in casu de kip, is van betekenis voor het optreden van salmonella. Deze eigenschappen zijn: leeftijd, gezondheid en stress maar niet de genetische aanleg (ras). Vaccinatie tegen salmonella kan pluimvee minder gevoelig maken voor salmonella infectie.

3.1 Leeftijd

De gevoeligheid van kuikens voor salmonella daalt wanneer de leeftijd toeneemt (Gast & Beard, 1989). Bij kuikens van vier weken oud is de minimale infectieuze dosis voor salmonella ongeveer 100 maal hoger dan bij eendagskuikens. Desmidt et al. (1996) toonden aan dat minder dan 10 kolonie vormende eenheden van *S. enteritidis* faagtype 4 voldoende zijn voor het aanslaan van een infectie bij meer dan de helft van een groep eendagskuikens.

Er zijn twee belangrijke oorzaken voor de hoge gevoeligheid van jonge kuikens voor salmonella. In de eerste plaats is dat de afwezigheid van een beschermende microflora in het darmkanaal. De darmflora verhoogt de kolonisatieresistentie van de darm tegen pathogenen zoals salmonella (Nurmi & Rantala, 1973). De laatste tijd verschijnen er steeds meer studies, die aantonen dat het falen van de cellulaire afweer gedurende de eerste levensdagen eveneens een belangrijke rol speelt in de gevoeligheid van jonge kuikens voor salmonella (Kodama et al., 1976; Wells et al., 1998; Qureshi et al., 2000). De aangeboren cellulaire afweer is bij piepjonge kuikens nog in ontwikkeling. In dat ontwikkelingsstadium kunnen T afweercellen zich onvoldoende vermenigvuldigen en cytokines produceren. Cytokines nu, blijken een sleutelrol te spelen in de regulatie van de afweer van kuikens tegen salmonella (Kogut, 2000; Trebichavsky, 1999). Jonge kuikens hebben dus een grotere kans drager van salmonella te worden en zullen langere tijd salmonella's uitscheiden. De infectiedruk voor de andere kuikens in het koppel wordt zodoende hoger.

3.2 Gezondheid

De gezondheid van de kip heeft invloed op de weerstand van het dier en is daarom van invloed op de MID van salmonella. Een coccidiose infectie van vleeskuikens door *E. tenella* geeft een lagere kolonisatie resistentie zodat salmonella's zich makkelijker kunnen vestigen in de darm. In twee studies van respectievelijk Kogut et al. (1994) en Qin et al. (1995) werd dit aangetoond. Een infectie van kuikens met *Mycoplasma gallisepticum* of het infectieuze bronchitis virus (IBV) resulteerde volgens onderzoek van Weinack et al. (1985) in een grotere gevoeligheid van salmonella infectie. Overigens geldt in het algemeen dat pluimvee gevoeliger is voor infectie met salmonella als reeds sprake is van een andere bacteriële, virale of parasitaire infectie. De kans hierop is bij jonge kuikens hoger; een tweede reden voor de veel grotere ontvankelijkheid van jonge kuikens voor salmonella's.

3.3 Stress

Stress kan worden teweeggebracht door een aantal factoren zoals bijvoorbeeld een hoge omgevingstemperatuur (hittestress), een hoge bezettingsdichtheid (sociale stress) en infectie (immunologische stress). Hittestress en andere vormen van stress bleken in een studie van Weinack et al. (1985) alleen bij kuikens tot 14 dagen leeftijd invloed te hebben op de gevoeligheid voor infectie met salmonella. De veronderstelling is dat stress interfereert met de ontwikkeling van de darmflora van jonge kuikens waardoor de kolonisatieresistentie afneemt. Stress bij leghennen, opgewekt door deze door middel van voeronthouding te laten ruien, resulteerde in een 100 tot 1000 maal lagere infectieuze dosis oraal toegediende salmonella's (Holt, 1993). Voor leghennen in de rui was de gemiddelde infectieuze dosis ID50 -de dosis waarbij 50% van de leghennen worden geïnfecteerd- minder dan 10 salmonella's per hen. Er zijn aanwijzingen dat de cellulaire immuunrespons tijdens de rui minder optimaal functioneert.

3.4 Ras

Er zijn geen markante verschillen gevonden in gevoeligheid voor salmonella infectie tussen verschillende rassen (Milner & Shaffer, 1952).

3.5 Vaccinatie

Een recente ontwikkeling is vaccinatie tegen salmonella (Voß, 1996). Vanwege de hoge kosten gebeurt dit voornamelijk bij pluimvee hoog in de productiekolom. De toepassing van salmonella vaccins betekent dat de MID voor salmonella bij ingeente dieren hoger wordt; afhankelijk van de werkzaamheid van de vaccins tegen de verschillende serotypen.

3.6 Conclusie ontvankelijkheid kip voor salmonella

De minimale infectieuze dosis salmonella voor pluimvee hangt nauw samen met de fysiologische status van de kip. Leeftijd is veruit de belangrijkste factor. De gevoeligheid voor een salmonella infectie van piepjonge kuikens neemt met de dag af doordat de darmflora én de cellulaire afweer zich ontwikkelt. Andere belangrijke factoren zijn gezondheid en stress. Beide verminderen de weerstand tegen salmonella infecties.

4 Overdrachtsvector voer

Voer is één van de vectoren die salmonella over kan brengen naar de kip: opname van voer, besmet met salmonella kan leiden tot infectie van het dier. Het is niet ondenkbaar dat de samenstelling van voer van invloed kan zijn op de minimale infectieuze dosis salmonella in dat voer. Voer heeft immers zowel invloed op salmonella als op de kip. Daarnaast speelt de bereidingswijze van voer -mengvoedertehnologie- een rol. De invloed van de voersamenstelling, inclusief additieven en mengvoedertehnologie zal worden belicht.

4.1 Grondstoffen

Er zijn aanwijzingen dat de koolhydraatsamenstelling van grondstoffen invloed kan hebben op de kolonisatie van salmonella bij pluimvee. Koolhydraten, die niet worden verteerd door het dier, kunnen door darmbacteriën worden gefermenteerd waarbij kortketenige zuren ontstaan zoals azijnzuur, propionzuur en melkzuur, die de kolonisatie van salmonella in het darmkanaal van de kip remmen (Ziprin et al., 1991; Nisbet et al., 1994; Corrier et al., 1994). Verder stimuleren bepaalde onverteerbare koolhydraten de groei van Lactobacillen en Bifidobacteriën (prebiotisch effect). Ook kunnen bepaalde koolhydraten de aanhechting van salmonella aan darmepitheelcellen remmen waardoor de bacterie zich moeilijker kan koloniseren. Het betreft salmonella's met mannose gevoelige fimbriae als aanhechtingsfactor. Deze wordt geblokkeerd door mannose in het voer. Uit onderzoek van Allen et al. (1997) en Fernandez et al. (2000) blijkt dat mannose zelf of in palmpitschroot of manno-oligosacchariden effectief is.

4.2 Additieven

De additieven die betrekking hebben op dit onderwerp zijn voerbepaarders, zuren, prebiotica en probiotica.

4.2.1 Voerbepaarders

Voerbepaarders staan de laatste tijd volop in de schijnwerpers in verband met kruis- en co-resistentie bij humane pathogenen. Minder bekend is dat zij ook een rol kunnen spelen bij besmetting van pluimvee met salmonella. De gedachtegang is dat voerbepaarders die grampositieve bacteriën in het maag-darmkanaal onderdrukken daardoor indirect gramnegatieve bacteriën als salmonella meer kans bieden om zich te kunnen koloniseren (Hinton & Allen, 1997). In verschillende proeven is aangetoond dat avoparcine de kolonisatie van salmonella op deze manier bevordert (Humbert et al., 1991; Williams Smith & Tucker, 1978; Barrow et al., 1984). Voor andere voerbepaarders is het effect minder duidelijk of juist positief. Zo vonden Hinton en Allen (1997) een tienvoudige toename van het aantal salmonella's in de caeca bij virginiamycine en zinkbacitracine terwijl Humbert et al. (1991) voor beide voerbepaarders juist een afname vonden. Bolder et al. (1999) vonden met flavomycine of salinomycine (coccidiostaticum) in voer na experimentele Salmonella enteritidis infectie van kuikens op 12 dagen leeftijd juist een afname van de salmonella uitscheiding.

In het kader van de vijfde wijziging van de EU-voederadditieven richtlijn dienen de effecten van voerbepaarders op de uitscheiding van salmonella tegenwoordig te worden vastgesteld.

4.2.2 Zuren

Kortketenige zuren hebben een bacteriostatisch en bactericide effect en worden toegepast om pluimveegrondstoffen te decontamineren en herbesmetting van gereed pluimveevoer te voorkomen.

Uit onderzoek van Hinton & Linton (1988) blijkt dat er sprake is van een lager percentage besmette kuikens wanneer voer dat met een laag aantal salmonella's experimenteel is geïnfecteerd, wordt behandeld met zuur. Wel zijn de salmonella's nog in het voer aan te tonen.

Zij stellen dat het zuur pas zijn bacteriostatische werking kan uitoefenen nadat het voer in de krop van het kuiken is bevochtigd. Dit verzwakt de salmonella's (zie: 2.3 Conditie) waardoor ze zich moeilijker kunnen koloniseren. Dit effect is niet meer waargenomen, indien het voer is besmet met hogere aantallen salmonella's. De bacteriostatische werking van zuur in de krop resulteerde tevens in minder salmonella infecties bij pluimvee vanuit de omgeving. Humphrey & Lanning (1988) toonden dit aan in een longitudinale studie onder praktijkomstandigheden met mierenzuur in voer.

Zuren met een lage dampspanning zoals mierenzuur, zijn tevens werkzaam in het droge voer maar kunnen besmetting van de kip via andere vectoren niet tegengaan.

4.2.3 Prebiotica

Prebiotica zijn stoffen die preferentieel een substraat zijn voor bepaalde groepen bacteriën die daardoor kunnen uitgroeien. Prebiotica in voer zouden hierdoor de kolonisatie resistentie tegen salmonella kunnen bevorderen. Fructo-oligosacchariden (FOS) stimuleren de groei van Lactobacillen en Bifidobacteriën. Dit resulteerde volgens onderzoek van Mul & Perry (1994) in een lagere besmettingsgraad van pluimvee. Ook lactose kan worden gezien als een prebioticum in plaats van een grondstof (zie 4.1: Grondstoffen).

4.2.4 Probiotica

Probiotica zijn mono- of mengculturen van levende micro-organismen. Via het voer beïnvloeden zij de gastheer gunstig door verbetering van de eigenschappen van de natuurlijke flora. Zij verhogen echter de koloniseresistentie tegen salmonella niet of nauwelijks (Veldman, 1992). Sproeibehandeling van jonge kuikens met een natuurlijke darmflora van volwassen kippen, de zogeheten CE-behandeling, heeft wel een positief effect (Goren et al., 1984; Mead, 2000) maar valt buiten het bestek van voer.

4.3 **Mengvoedertehnologie**

De bereidingswijze van pluimveevoer heeft invloed op de conditie van salmonella's in het gereede eindproduct. Het betreft technologieën waarbij warmte wordt toegevoegd zoals pelleteren en expanderen. Het overgrote deel van de salmonella's wordt afgedood maar een aantal wordt verwond. Deze beschadigde salmonella's verkeren in sublethale toestand en kunnen in mindere mate de kip infecteren (zie 2.3 Conditie). Mengvoertehnologieën waarbij hittebehandelingen worden toegepast zijn -mits juist toegepast- doeltreffend om pluimveevoer te decontamineren (Himathongkham et al., 1996).

4.4 **Conclusie invloed voer op de minimale infectieuze dosis**

De samenstelling van voer (grondstoffen, additieven) kan invloed uitoefenen op de kolonisatie resistentie. Met andere woorden voer kan een infectie met salmonella positief en negatief beïnvloeden. Zuren als additief in voer hebben invloed op de conditie van salmonella in voer en in de krop. Op deze wijze beïnvloeden ze de minimale infectieuze dosis; niet alleen via voer maar ook vanuit de omgeving. Hittebehandelingen van voer doodt het overgrote deel van de eventueel aanwezige salmonella's en verwondt een gering deel, hetwelk resulteert in een hogere minimale infectieuze dosis.

De conclusie is dan ook dat de minimale infectieuze dosis salmonella door voerfactoren en mengvoedertehnologie wordt beïnvloed en er ook in dit opzicht geen sprake is van een eenduidige dosis.

5 Semi-kwantitatieve benadering minimale infectieuze dosis salmonella

De minimale infectieuze dosis (MID) salmonella in pluimveevoer bij pluimvee is afhankelijk van de betrokkenen namelijk salmonella, kip en voer, hetgeen uitvoerig in voorgaande punten aan de orde is gesteld. Dit maakt het onmogelijk kwantitatief een MID aan te geven. Wel kan op basis van infectieproeven onder randvoorwaarden een semi- kwantitatieve benadering worden gegeven.

5.1 Infectieproeven met Salmonella besmet voer

Reeds in 1965 rapporteerden Gordon et al. dat uit infectieproeven van met salmonella geïnfecteerd voer bleek dat één salmonella per 2-3 gram voer in staat was jonge kuikens van drie dagen leeftijd te besmetten. Een probleem was echter de heterogene verdeling van salmonella's in experimenteel geïnfecteerd voer en het terugvinden van de salmonella's in dat voer. Schleifer et al. (1984) kwamen met verbeterde technieken evenwel ook tot de conclusie dat één salmonella per gram voer, verstrekt aan kuikens van 1 tot 7 dagen oud, leidde tot besmetting van deze kuikens.

Uit onderzoek van Xu et al. (1988) bleek dat kuikens van één week oud veel minder gevoelig zijn voor infectie door salmonella gecontamineerd voer. Een groep kuikens van één week oud die voer kregen met 30-200 salmonella's per gram bleken bij *S. kedougou* voor 22% en bij *S. typhimurium* voor 56% salmonella positief te zijn, terwijl dit voor kuikens die dit voer vanaf het begin kregen voor 100% het geval was. *Salmonella typhimurium* geeft daarbij een hoger besmettingspercentage dan *S. kedougou*, hetgeen verschillen in virulentie bevestigt (zie punt 2.2: Pathogenese met nadruk op virulentiefactoren). De periode dat kuikens voer met salmonella krijgen is eveneens van invloed op het percentage besmette dieren. Eéndagskuikens die twee dagen voer met 16-35 *Salmonella enteritidis* per gram kregen, bleken in onderzoek van Hinton (1990) na 2 dagen voor 50% besmet maar na 6 dagen voor 100%. Het besmettingspercentage na twee dagen was daarbij afhankelijk van het faagtype *S.e*. In dergelijke proeven zijn de kuikens individueel gehuisvest om indirecte besmetting via de mest te voorkomen.

5.2 Synthese van bevindingen

Een semi-kwantitatieve benadering van de minimale infectieuze dosis salmonella bij pluimvee maakt opsplitsing noodzakelijk in twee groepen, namelijk jonge kuikens in de startfase en oudere dieren. Jonge kuikens zijn zeer gevoelig voor salmonella infectie vanwege het ontbreken van beschermende darmflora (lage kolonisatieresistentie) en een nog in ontwikkeling zijnde cellulaire afweer tegen salmonella.

Op basis van bevindingen kan worden gesteld dat er een minimaal risico op infectie van jonge kuikens bestaat bij minder dan één salmonella per gram voer, dat gedurende een aantal dagen aan eendagskuikens is verstrekt. Een grens die kolonisatie van salmonella uitsluit is evenwel niet te geven gelet op de factoren die invloed hebben op de minimale infectieuze dosis.

Oudere dieren zijn minder gevoelig voor salmonella infectie. Op basis van bevindingen gaat het om een factor 10 - 100, afhankelijk van de leeftijd van het dier. Een minimaal risico op infectie is dan aanwezig bij minder dan tien tot honderd salmonella's per gram voer. Een belangrijk aspect dat deze kwalitatieve grens verder doet vervagen, is de heterogene verdeling van salmonella's in voer. Volgens Jones (1990) bevat met salmonella besmet voer gemiddeld 1 tot 40 salmonella's per 100 gram. Dit aantal zou alleen een serieuze infectiebron zijn voor jonge kuikens. De heterogene verdeling van salmonella's in voer verhoogt het risico dat een kip uit een koppel besmet raakt met salmonella. Deze kip kan vervolgens uitscheider van salmonella's worden, die veel virulenter zijn (zie 2.3 Conditie) en daarmee andere kuikens in dat koppel infecteren. Op deze wijze vormt voer een indirecte besmettingsbron.

6 Samenvatting

Het doel van deze literatuurstudie is aan te geven hoeveel salmonella's in voer, indien voer salmonella's mocht bevatten, leiden tot besmetting van pluimvee. Een eenduidig antwoord is echter niet zonder meer mogelijk. Immers de infectie van pluimvee door salmonella's is afhankelijk van diverse factoren: de salmonella, de kip en het voer.

Het infectievermogen oftewel de virulentie van salmonella is afhankelijk van het type salmonella en de conditie daarvan. De ontvankelijkheid van de kip voor salmonella wordt in hoge mate bepaald door de leeftijd van de kip. Jonge kuikens in de startfase zijn ongeveer honderd maal gevoeliger voor infectie. De oorzaak hiervan is een lage kolonisatieresistentie en zwakke cellulaire afweer. Zowel de beschermende microflora in de darm alswel de cellulaire immunologische afweer zijn in de startfase ontwikkeling. Verder spelen gezondheid en stress een belangrijke rol. De minimale infectieuze dosis wordt eveneens beïnvloed door de samenstelling (grondstoffen, additieven) en technologische behandeling van voer. Voer heeft immers invloed op salmonella én kip.

Deze bevindingen leiden tot een semi-kwantitatieve benadering van de minimale infectieuze dosis (MID) en maakt opsplitsing noodzakelijk in twee groepen pluimvee, namelijk jonge kuikens in de startfase en oudere dieren.

Er bestaat een minimaal risico op infectie van jonge kuikens met salmonella bij minder dan één salmonella per gram voer, dat gedurende een aantal dagen aan eendagskuikens is verstrekt. Voor oudere dieren geldt een minimaal risico bij minder dan tien tot honderd salmonella's per gram voer. Een grens die kolonisatie van salmonella uitsluit is evenwel niet te geven gelet op de factoren die invloed hebben op de minimale infectieuze dosis en de heterogene verdeling van salmonella's in voer.

De semi-kwantitatieve MID waarden voor pluimveevoer vormen slechts enig houvast voor het risico van salmonella infectie bij pluimvee via voer, maar niet meer dan dat.

7. Literatuur

- Allen, V.M., F. Fernandez and M.H. Hinton (1997). Evaluation of the influence of supplementing the diet with mannose or palm kernel meal on salmonella colonisation in poultry. *British Poultry Science* 38, 485-488.
- Barrow, P.A., H. Williams Smith and J.F. Tucker (1984). The effect of feeding diets containing avoparcin on the excretion of salmonellas by chickens experimentally infected with natural sources of salmonella organisms. *Journal of Hygiene Cambridge* 93, 439-444.
- Bolder, N.M., J.A. Wagenaar, F.F. Putirulan, K.T. Veldman and M. Sommer (1999). The effect of flavophospholipol (Flavomycin) and salinomycin sodium (Sacox) on the excretion of *Clostridium perfringens*, *Salmonella enteritidis*, and *Campylobacter jejuni* in broilers after experimental infection. *Poultry Science* 78, 1681-1689.
- Breed, R.S., E.G.D. Murray and N.R. Smith (1957). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Williams & Wilkins.
- Corrier, D.E., D.J. Nisbet, C.M. Scanlan, G. Tellez, B.M. Hargis and J.R. DeLoach (1994). Inhibition of *Salmonella enteritidis* cecal and organ colonization in leghorn chicks by a defined culture of cecal bacteria and dietary lactose. *Journal of Food Protection* 57, 377-381.
- Desmidt, M., R. Ducatelle and F. Haesebrouck (1996). *Salmonella enteritidis* infecties bij pluimvee. *Dier en Arts* 5, 155-160.
- Dibb-Fuller, M.P. and M.J. Woodward (2000). Contribution of fimbriae and flagella of *Salmonella enteritidis* to colonization and invasion of chicks. *Avian Pathology* 29, 295-304.
- Fernandez, F., M. Hinton and B. van Gils (2000). Evaluation of the effect of mannan-oligosaccharides on the competitive exclusion of *Salmonella enteritidis* colonization in broiler chicks. *Avian Pathology* 29, 575-581.
- Finlay, B.B. and S. Flakow (1988). Virulence factors associated with *Salmonella* species. *Microbiological Sciences* 5, 324-328.
- Gast, R.K. and C.W. Beard (1989). Age related changes in the persistence and pathogenicity of *Salmonella typhimurium* in chicks. *Poultry Science* 68, 1454-1460.
- Gevaert, D., F. Haesebrouck en L. Devriese (1990). Kiem-gastheer interacties bij *Salmonella* infecties: een overzicht over virulentiefactoren en immuniteit. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 59, 43-48.
- Gordon, R.F. and J.F. Tucker (1965). The epizootiology of *Salmonella menston* infection of fowls and the effect of feeding poultry food artificially infected with *Salmonella*. *British Poultry Science* 6, 251-264.
- Goren, E., W.A. de Jong, P. Doornebal, J.P. Koopman and H.M. Kennis (1984). Protection of chicks against *Salmonella* infection induced by spray application of intestinal microflora in the hatchery. *Veterinary Quarterly* 6, 73-79.
- Himathongkham, S., M. das Gracas Pereira and H. Riemann (1996). Heat destruction of salmonella in poultry feed: Effect of time, temperature and moisture. *Avian Diseases* 40, 72-77.
- Hinton, M. and A.H. Linton (1988). Control of salmonella infections in broiler chickens by the acid treatment of their feed. *Veterinary Record* 123, 416-421.
- Hinton, M., E.J. Threlfall and B. Rowe (1990). The invasive potential of salmonella enteritidis phage types for young chicks. *Letters in Applied Microbiology* 10, 237-329.
- Hinton, M. and V.M. Allen (1997). The influence of growth promoting antibiotics on the colonisation of the caecum of young chicks following the consumption of feed artificially contaminated with salmonellas. In: *Proceedings of the World Congress on Food Hygiene*, Wageningen Pers, Wageningen, page 141.
- Holt, P.S. (1993). Effect of induced molting on the susceptibility of white leghorn hens to a *Salmonella enteritidis* infection. *Avian Diseases* 37, 412-417.
- Humbert, F., F. Lalande, R. L'Hospitalier, G. Salvat and G. Bennejan (1991). Effect of four antibiotic additives on the salmonella contamination of chicks protected by an adult caecal flora. *Avian Pathology* 20, 577-584.
- Humphrey, T.J. and D.G. Lanning (1988). The vertical transmission of salmonellas and formic acid treatment of chicken feed. *Epidemiology and Infection* 100, 43-49.
- Hurst, A., (1984) Revival of vegetative bacteria after sublethal heating. In: *The revival of injured microbes*. M.H.E. Andrew & A.D. Russel (Eds), Academic Press London.

- Jones, F. (1990). Researchers pinpoint salmonella contamination sources. *Feedstuffs*, January 29, 27-31.
- Kogut, M.H., T. Fukata, G. Tellez, B.M. Hargis, D.E. Corrier and J.R. DeLoach (1994). Effect of *Eimeria tenella* infection on resistance to *Salmonella typhimurium* colonization in broiler chicks inoculated with anaerobic cecal flora and fed dietary lactose. *Avian Diseases* 38, 59-64.
- Kogut, M.H. (2000). Cytokines and prevention of infectious diseases in poultry: a review. *Avian Pathology* 29, 395-404.
- Kodama, H., T. Mikami and G. Sato (1976). Age dependent resistance of chicken to *Salmonella* in vitro: phagocytic and bacterial activities of splenic phagocytes. *American Journal of Veterinary Research* 37, 1091-1094.
- Mead, G.C. (2000). Prospects for 'Competitive Exclusion' treatment to control salmonellas and other foodborne pathogens in poultry. *The Veterinary Journal* 159, 111-123.
- Milner, K.C. and M.F. Shaffer (1952). Bacteriological studies of experimental *Salmonella* infection in chicks. *Journal of Infection Disease* 90, 81-96.
- Mul. A. J., and F.G. Perry (1994). The role of fructo-oligosaccharides in animal nutrition. 28^e Proceedings of the Nottingham Feed Manufacturers Conference, Nottingham, England, 57-79.
- Nurmi, E. and M. Rantala (1973). New aspects of salmonella infection in broiler production. *Nature* 241, 210-211.
- Nisbet, D.J., D.E. Corrier, C.M. Scanlan, A.G. Hollister, R.C. Beier and J.R. DeLoach (1994). Effect of dietary lactose and cell concentration on the ability of a continuous-flow-derived bacterial culture to control *Salmonella* cecal colonization in broiler chickens. *Poultry Science* 73, 56-62.
- Qin, Z.R., T. Fukata, E. Baba and A. Arakawa (1995). Effect of lactose and *Lactobacillus acidophilus* on the colonization of *Salmonella enteritidis* in chicks concurrently infected with *eimeria tenella*. *Avian Diseases* 39, 548-553.
- Qureshi, M.A., C.L. Heggen and I. Hussain (2000). Avian macrophage: effector functions in health and disease. *Developmental and Comparative Immunology* 24, 103-119.
- Roth, J. (1988). Overview of pathogenic mechanisms of *Salmonella* and *Yersinia* spp. In: *Virulence mechanisms of bacterial pathogens*. J.A. Roth (ed), Am Soc Microb, Washington D.C., 65-69.
- Schleifer, J.H., B.J. Juven, C.W. Beard and N.A. Cox (1984). The susceptibility of chicks to *Salmonella montevideo* in artificially contaminated poultry feed. *Avian Disease* 28, 497-503.
- Trebichavsky, I. (1999). Cytokines in *Salmonella* infection. *Folia Microbiology* 44, 457-460.
- Veldman, A., H.A. Vahl, G.J. Borggreve and D.C. Fuller (1995). A survey of the incidence of *Salmonella* species and *Enterobacteriaceae* in poultry feeds and feed components. *Veterinary Record* 136, 169-172.
- Veldman, A. (1992). Probiotica. *Tijdschrift voor Diergeneeskunde* 117, 345-348.
- Vielitz, E., (1992). Aktuelles zur *Salmonella*-Problematik. *Lohmann Information* 1/92, 5-9.
- Voß, M. (1996). *Salmonellenprophylaxe: Impfprogramm und Restrisiken*, *Lohmann Information* 3/96, 9-12.
- Weinack, O.M., G.H. Snoeyenbos, A.S. Soerjadi-Liem and C.F. Smyser (1985). Influence of temperature, social, and dietary stress on development and stability of protective microflora in chickens against *S. typhimurium*. *Avian Diseases* 29, 1177-1183.
- Wells, L.L., V.K. Lowry, J.R. DeLoach and M.H. Kogut (1998). Age-dependent phagocytosis and bactericidal activities of the chicken heterophil. *Developmental and Comparative Immunology* 22, 103-109.
- Williams Smith, H. and J.F. Tucker (1978). The effect of antimicrobial feed additives on the colonization of the alimentary tract of chickens by *Salmonella typhimurium*. *Journal of Hygiene Cambridge* 80, 217-231.
- Xu, Y.M., G.R. Pearson and M. Hinton (1988). The colonization of the alimentary tract and visceral organs of chicks with salmonellas following challenge via the feed: bacteriological findings. *British Veterinary Journal* 144, 403-410.
- Ziprin, R.L., M.H. Elissalde, A. Hinton, R.C. Beier, G.E. Spates, D.E. Corrier, T.G. Benoit and J.R. DeLoach (1991). Colonization control of lactose-fermenting *Salmonella typhimurium* in young broiler chickens by use of dietary lactose. *American Journal of Veterinary Research* 52, 833-837.