

SALMONELLA IN PLUIMVEEVLEES EN EIEN: EEN GEVAAR VOOR DE CONSUMENT DIE OM EFFICIËNTE BESTRIJDINGSPROGRAMMA'S VRAAGT

F. Van Immerseel¹, J. De Buck¹, L. Timbermont¹, I. Gantois¹, L. Bohez¹, F. Boyen¹, F., Pasmans¹, S. Bertrand², J.M. Collard², C. Saegerman³, J. Hooyberghs⁴, F. Haesebrouck¹, R. Ducatelle¹

¹ Universiteit Gent, Faculteit Diergeneeskunde, Onderzoeksgroep Veterinaire Volksgezondheid en Zoönosen, Vakgroep Pathologie, Bacteriologie en Pluimveeziekten, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

² Nationaal Referentiecentrum voor *Salmonella* en *Shigella*, Wetenschappelijk Instituut voor Volksgezondheid, Afdeling Bacteriologie, J. Wytmanstraat 14, B-1050 Brussel

³ Secretariaat van het Wetenschappelijk Comité, Federaal Agentschap voor Veiligheid van de Voedselketen, WTC III, Simon Bolivarlaan 30, B-1000 Brussel

⁴ Directie Diergezondheid en Veiligheid van de Dierlijke Producten, Federaal Agentschap voor Veiligheid van de Voedselketen, WTC III, Simon Bolivarlaan 30, B-1000 Brussel
filip.vanimmerseel@UGent.be

SAMENVATTING

Tussen 1965 en 1980 was er een sterke stijging van het voorkomen van *Salmonella* bij pluimvee. Sindsdien is Enteritidis het meest frequent geïsoleerde serotype geworden bij pluimvee. Dit serotype is verantwoordelijk voor de besmetting van eieren, die de belangrijkste oorzaak vormt van humane salmonellose. Op deze wijze komt ook verticale overdracht tussen het moederdier en de slachtkip of leghen tot stand. Bovendien verspreidt dit serotype zich ook gemakkelijk horizontaal en is het erg resistent in de omgeving. Hierdoor is het zeer moeilijk om een besmette toom met klassieke hygiënische maatregelen vrij te krijgen van *Salmonella*. Het mechanisme van de transmissie van de kiem naar eieren is tot op heden nog steeds niet volledig gekend, wat een hinderpaal vormt voor de ontwikkeling van specifieke preventieve en curatieve maatregelen. Het merendeel van de huidige producten en maatregelen tegen *Salmonella*-infecties bij pluimvee werd dan ook op een empirische manier ontwikkeld. Nieuwe, meer gerichte oplossingen dringen zich dus op. Op Europees niveau werd een nieuwe wetgeving geïntroduceerd ter reductie van de besmettingsgraad langs de hele pluimveeproductielijn, de verwerking en de distributie van eieren en pluimveevlees. In België start het Federale Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen (FAVV) met een bestrijdingsprogramma in de pluimveesector.

Dit literatuuroverzicht behandelt de belangrijkste aspecten van de epidemiologie en de pathogenese van *Salmonella* bij pluimvee, alsook de huidige beschikbare preventieve en bestrijdingsmaatregelen tegen *Salmonella*-infecties bij pluimvee, en de meest recente wetgeving hieromtrent.

INLEIDING

Salmonella is één van de belangrijkste oorzaken van voedsel toxi-infecties bij de mens. Pluimveeproducten, en in het bijzonder eieren, zijn de belangrijkste infectiebron van *Salmonella* voor de mens. Ondanks de inspanningen van de pluimveesector om de prevalentie van *Salmonella* te doen dalen, is de besmettingsgraad bij het levend pluimvee nog steeds zeer hoog, zeker voor het serotype Enteritidis. In de meeste landen van de Europese Unie werden er daarom maatregelen getroffen en *Salmonella*-controleprogramma's opgestart.

In dit overzicht wordt de prevalentie van *Salmonella* behandeld zowel bij het pluimvee als bij de mens. De pathogenese van *Salmonella*-infecties bij pluimvee wordt besproken, met in het bijzonder de eicontaminatie door *Salmonella* Enteritidis. Er wordt een kritisch overzicht gegeven van mogelijke preventieve en curatieve maatregelen. Een laatste luik vat de meest relevante wetgeving over de problematiek samen.

De discussie werd gestart in het kader van een symposium getiteld 'Salmonella infecties bij pluimvee en de gevolgen voor de volksgezondheid', dat plaatsvond op 9 maart 2004 in Gent, en een meeting van de

Association d'Epidemiologie et de Santé Animale (AESAs) getiteld 'Salmonellose: welke risico's voor volksgezondheid?', georganiseerd op 22 oktober 2004 in Ukkel.

EPIDEMIOLOGIE

Pluimvee

Pluimvee kan besmet worden met verschillende serotypes van *Salmonella*. De sterke stijging van het voorkomen van *Salmonella* Enteritidis heeft de laatste jaren erg veel aandacht gekregen gezien het belang van de overdracht naar de mens. Een van de grote problemen is het tropisme van dit serotype voor de voortplantingsorganen van pluimvee en de contaminatie van eieren waardoor het in de voedselketen terechtkomt. De toename van het aantal *Salmonella* Enteritidis-isolaten bij pluimvee begon in alle westerse landen tussen 1965 en 1980 (Lee, 1974; Rabsch *et al.*, 2000). Gedurende de laatste 20 jaar heeft *Salmonella* Enteritidis andere serotypes verdrongen en is nu het meest voorkomende serotype bij pluimvee ter wereld (Poppe, 2000). Een studie van McIlroy en Cracken (1990) toonde in het Verenigd Koninkrijk een stijging van *Salmonella* Enteritidis-isolaten uit kippen van 3,3% in 1985 tot bijna 50% in 1988. Het aantal pluimvee-isolaten van *Salmonella* Enteritidis in Nederland steeg van ongeveer 5,5% in 1986 tot 15% in 1992 en ongeveer 20% in 2000, waardoor het het meest voor-

komende serotype werd (Van Duijkeren *et al.*, 2002). De laatste jaren werd er een lichte daling van het aantal isolaten waargenomen in de meeste landen. Deze dalende trend is weliswaar niet op alle niveaus van de productieketen even duidelijk. Hierna wordt een kort overzicht gegeven van de besmettingsgraad van moederdieren, leghennen en vleeskippen in Europa. De data moeten echter voorzichtig worden geïnterpreteerd gezien onder andere het tijdstip van de staalnamen, de wijze van staalname en de isolatie erg kunnen verschillen tussen de onderlinge landen.

Moederdieren

De besmettingsgraad bij moederdieren is zeer laag in West-Europa (minder dan 3%) en Scandinavië (vrijwel vrij). In Zuid-Europa (Griekenland, Italië en Spanje) daarentegen varieert de besmettingsgraad van tomen tussen 7% en 10%. De meest gerapporteerde serotypes in de Europese Unie (EU) zijn *Salmonella* Enteritidis (42%), *Salmonella* Mbandaka (8,8%), *Salmonella* Livingstone (6,4%), *Salmonella* Typhimurium (4,5%) en *Salmonella* Senftenberg (3%) (Trends and Sources of zoonotic agents in the European Union and Norway, 2002). In België was er een duidelijke afname van het aantal *Salmonella*-positieve bedrijven vanaf de tweede helft van de jaren '90. In 1997 waren 13,7% en 7,5% van de moederdierbedrijven positief voor respectievelijk *Salmonella* Enteritidis en *Salmonella* Typhimurium, terwijl dit in 2003 1,2% en 1,9% was (Tabel 1).

Tabel 1. Voorkomen van *Salmonella* Enteritidis en *Salmonella* Typhimurim op bedrijven met moederdieren in België (1995-2003).

Jaar	<i>Salmonella</i> Enteritidis		<i>Salmonella</i> Typhimurium	
	Bedrijven (%)	Tomen (%)	Bedrijven (%)	Tomen (%)
1995	10,6	7,7	4,3	2,4
1996	11,6	6,3	6,0	3,4
1997	13,7	7,7	7,5	4,3
1998	9,4	6,3	5,2	2,9
1999	6,9	3,0	3,2	2,1
2000	3,0	1,7	1,7	0,9
2001	2,2	1,3	2,2	1,1
2002	0,4	0,1	2,7	1,0
2003	1,2	0,5	1,9	0,8

Tabel 2. Voorkomen van *Salmonella* op bedrijven met vleeskippen en reforme leghennen in België (jaar 2003).

	Bacteriologische analyse			
	Aantal geteste stalen	Aantal positieve stalen	%	95% betrouwbaarheidsinterval
Vleeskippen	22165	1647	7,4	7,1 – 7, 8
Reforme leghennen	642	96	15,0	12,3 – 18, 0

Bron: FAVV, *activiteitenrapport 2003*.

Tabel 3. Percentage *Salmonella*positieve stalen van pluimveevlees in België (2000-2003).

Vlees*	2000	2001	2002	2003
Vleeskippenkarkassen	6,6	11,4	7,0	12,1
Kippenfilet	12,7	15,1	12,6	11,7
Soepkippenkarkassen	26,7	21,9	20,3	18,6
Gevogeltebereidingen	-	-	21,0	29,3

* De isolatiemethoden zijn niet volledig vergelijkbaar voor de verschillende geanalyseerde soorten vlees.

Bron: FAVV, *activiteitenrapport 2003*.

Leghennen

Hoewel het besmettingsniveau van leghennen een dalende trend vertoont in de EU, is nog steeds een groot aantal tomen positief voor *Salmonella*. Binnen Europa heeft Zuid-Europa ook hier hogere percentages positieve tomen, variërend tussen 5% en 10%. In Zuid-Europa worden ook meer positieve eieren gevonden dan in de rest van Europa. De eischaal is frequenter gecontamineerd dan het eiwit of de dooier. Eiproducten vertonen in heel Europa een lagere besmettingsgraad door de thermische behandeling. De serotypes die in 2002 het meest frequent werden gerapporteerd bij leghennen in de EU zijn *Salmonella* Enteritidis (57,7%), *Salmonella* Typhimurium (9,6%) en *Salmonella* Infantis (6,9%). In eieren is het relatieve aandeel van *Salmonella* Enteritidis zelfs nog groter (72,9%) (Trends and Sources of zoonotic agents in

the European Union and Norway, 2002). In 2003 werden in België van reforme leghennen fecale swabs bacteriologisch onderzocht voordat ze naar het slachthuis werden gebracht. Vijftien percent was positief (n = 642), terwijl het vlees van de reforme dieren in 18,6% van de gevallen positief was voor *Salmonella* (Tabel 2 en 3).

Vleeskippen

Vleeskippen zijn meer besmet met *Salmonella* dan leghennen en moederdieren en meer verschillende serotypes worden geïsoleerd. De Scandinavische landen rapporteren zeer lage percentages van geïnfecteerde tomen, terwijl in West-Europa de besmettingsgraad hoger ligt, met grote verschillen tussen de landen, variërend van 1% tot 11% in 2002. Opnieuw worden in de zuiderse landen hogere besmettingsniveaus ge-

meld met zelfs 16,9% in Italië. Het is dan ook niet verwonderlijk dat de contaminatie van het pluimveevlees enorm hoog ligt. In 2002 was in alle Europese landen, behalve in Scandinavië, 10% tot 15% van het vlees afkomstig van pluimvee besmet met *Salmonella*. Ook hier is *Salmonella* Enteritidis één van de meest frequent geïsoleerde serotypes bij vleeskippen (10,8%) en kippenvlees (11,1%). Daarnaast vindt men een brede waaier van uiteenlopende andere serotypes (Trends and Sources of zoonotic agents in the European Union and Norway, 2002). In 2003 werden in België ook van vleeskippen fecale swabs bacteriologisch onderzocht voordat ze naar het slachthuis werden gebracht. Dit resulteerde in 7,4% positieve testen (Tabel 2) (n = 22165), terwijl 12,1% van de vleeskippenkarkassen, 11,7% van de kippenborsten en 29,3% van het gehakt vlees positief waren voor *Salmonella* (Tabel 3).

Mens

Ziekte veroorzaakt door de gastheerspecifieke *Salmonella* Typhi, leidend tot levensbedreigende koorts, wordt tyfoïdale salmonellose genoemd, terwijl ziekte geïnduceerd door de andere *Salmonella*-serotypes niet-tyfoïdale salmonellose wordt genoemd. Niet-tyfoïdale salmonellose gaat gepaard met een zelflimiterende diarree. Tijdens de tweede helft van de 20ste eeuw werden er op wereldniveau twee grote veranderingen in de epidemiologie van non-tyfoïdale salmonellose bij de mens waargenomen. Ten eerste was er een toename van het voorkomen van bepaalde *Salmonella*-stammen, zoals *Salmonella* Typhimurium DT104, die resistent geworden zijn tegen verscheidene antibiotica. Ten tweede is *Salmonella* Enteritidis tot de belangrijkste kip- en eigeassocieerde pathogeen geëvolueerd (Rabsch *et al.*, 2001). Voor literatuur betreffende multiresistente *Salmonella*-stammen wordt de lezer verwezen naar Van Duijkeren *et al.*, (2003) en Wilson, (2004).

Tot 1980 werd *Salmonella* Enteritidis aan een vrij lage frequentie geïsoleerd bij de mens. Tussen 1979 en 1987 werd een stijging van het aantal besmettingen bij de mens toegeschreven aan dit serotype in 24 van de 35 landen die aan de wereldgezondheidsorganisatie (WHO) rapporteren. In 1979 hadden slechts 2 van de 21 landen die gegevens verstrekken, *Salmonella* Enteritidis als meest geïsoleerde serotype. In 1987 echter was *Salmonella* Enteritidis in 9 van de 21 landen het belangrijkste serotype geworden. Onder die 9 waren er 8 Europese landen (Rodrigue *et al.*, 1990). Van de isolaten afkomstig van infecties bij de mens in

Duitsland in 1995 waren er 61,3% *Salmonella* Enteritidis en 23,4% Typhimurium (National Reference Centre for *Salmonella* and other enteric pathogens, Robert Koch Institute, Berlin, Germany), terwijl gedurende de periode 1956-1959 in West-Duitsland het aantal isolaties van *Salmonella* Enteritidis tussen 4,4% en 5,9% en van *Salmonella* Typhimurium tussen 34% en 41% varieerde (Poppe, 1999). In Engeland en in Wales is *Salmonella* Enteritidis eveneens het belangrijkste serotype geworden met 70,7% van de isolaten in 1997 (Schroeter *et al.*, 1998). In de Verenigde Staten is de evolutie minder snel geweest, maar toch steeg Enteritidis van de zesde plaats in 1960 naar de eerste plaats in 1990 op de lijst van de meest geïsoleerde serotypes (Aserkoff *et al.*, 1970; Mishu *et al.*, 1994).

In de Verenigde Staten registreert men ongeveer 40.000 humane gevallen van non-tyfoïdale salmonellose per jaar. Nochtans werd het reële cijfer van de gevallen door "Centre for Disease Control and Prevention (CDC)" op bijna 1,4 miljoen gevallen per jaar geschat (Mead *et al.*, 1999). Het aantal gerapporteerde gevallen van salmonellose bij de mens blijkt inderdaad slechts een fractie te zijn van het aantal reële gevallen. In een klein land zoals Nederland schat men het aantal gevallen van salmonellose jaarlijks op 50.000 (Van Pelt en Valkenburgh, 2001). Met ongeveer 16.000 ziekenhuisopnamen en meer dan 500 sterfgevallen per jaar wordt de economische impact van salmonellose bij de mens in de Verenigde Staten tussen 0,5 en 2,3 miljard \$ per jaar geschat (Kennedy, 2004). De meerderheid van de isolaten behoort tot de serotypes Enteritidis (24,7%) en Typhimurium (23,5%) (Glynn *et al.*, 1998).

Deze sterke stijging van de prevalentie van *Salmonella* Enteritidis bij de mens leidt tot een significante verhoging van het totale aantal gevallen van salmonellosis. Gelukkig werd in de laatste jaren, behalve in 2001, een stapsgewijze vermindering van het totale aantal infecties in de EU gerapporteerd (Report on Trends and Sources of zoonotic agents in the European Union and Norway, 2002). In 2002 werden meer dan 145.000 *Salmonella*-besmettingen bij de mens gemeld in 15 lidstaten van de EU; in 1997 waren er dat 200.000. De situatie varieert echter sterk per land. In het zuiden (Griekenland, Spanje, Italië) stijgt het aantal gevallen, terwijl men in Frankrijk en in het Verenigd Koninkrijk een sterke daling rapporteert. In de Scandinavische landen wordt een dalende trend vastgesteld, maar 70% van de gevallen wordt beschouwd als ingevoerd. In 2002 werd in de EU en in Noorwe-

Tabel 4. Aantal *Salmonella*-isolaten bij de mens in België (2000-2003).

	2000		2001		2002		2003	
	Aantal	%	Aantal	%	Aantal	%	Aantal	%
<i>Salmonella</i> Enteritidis	9503	67,5	6921	64,2	6398	63,5	9201	71,6
<i>Salmonella</i> Typhimurium	2799	19,9	2322	21,4	2438	24,2	2512	19,4
Andere	1786	12,7	1540	14,4	1239	12,3	1181	9,1
Totaal	14088	100	10783	100	10075	100	12894	100

Bron: Nationaal Referentie Centrum voor *Salmonella* and *Shigella*, activiteitenrapport 2003-2003 (Wetenschappelijk Instituut voor Volksgezondheid).

gen ongeveer 70% van de besmettingen bij de mens veroorzaakt door het serotype Enteritidis en 17% door het serotype Typhimurium (Report on Trends and Sources of zoonotic agents in the European Union and Norway). Dit wijst duidelijk op de noodzaak om bijzondere maatregelen tegen deze twee serotypes te treffen.

In de periode 1962-1969 was in België minder dan 1,2% van de humane isolaten *Salmonella* Enteritidis. In die periode kwam *Salmonella* Typhimurium voor in 57,7% tot 71,1% van de gevallen. In de periode 1970-1987 was 1,8% tot 5,5% van alle isolaten *Salmonella* Enteritidis. Vanaf 1988 werd een sterke stijging van *Salmonella* Enteritidis-isolaten waargenomen en vanaf 1991 heeft het serotype Enteritidis Typhimurium verdrongen als meest frequent geïsoleerde serotype van *Salmonella* bij de mens. Tengevolge van de stijging van *Salmonella* Enteritidis heeft men een stijging van het totale aantal *Salmonella*-isolaten waargenomen en in 1999 werd een maximum bereikt van 15.774 isolaten. Vanaf 1999 is het aantal isolaten geleidelijk verminderd tot 10.075 in 2002. Toch werden er in 2003 opnieuw 12.894 *Salmonella*-stammen geïsoleerd. In 2003 bleef Enteritidis nog steeds het meest frequent geïsoleerde serotype (71,4% van alle isolaten), gevolgd door Typhimurium (19,5% van alle isolaten) (Tabel 4). Deze bevindingen suggereren dat eieren de belangrijkste bron van besmetting voor de mens vormen.

Binnen hetzelfde serotype is het mogelijk om de stammen op een nog nauwkeurigere wijze te karakteriseren aan de hand van faagtypering. In Europa werd faagtype (PT) 4 van *Salmonella* Enteritidis voor het eerst in 1980 geïsoleerd. *Salmonella* Enteritidis PT4 verspreidde zich snel in kippenpopulaties en werd vervolgens in isolaten afkomstig uit humane gevallen waargenomen. In landen waar *Salmonella* Enteritidis PT4 is opgedoken, verving het snel andere *Salmonella* Enteritidis faagtypes. Dit had een vijfvoudige verhoging van *Salmonella* Enteritidis gevallen bij de mens tot gevolg (Rampling, 1993). In Canada was PT 8 het meest voorkomende faagtype tijdens de periode 1976-1989, gevolgd door PT4, PT13 en PT13a. Vervolgens stelde men gedurende de periode 1990-1994 een onafgebroken stijging van *Salmonella* Enteritidis-isolaten vast. PT4 werd het belangrijkste faagtype in Canada in 1992 (Poppe, 1999). Sinds 1998 is in Europa de verdeling van de faagtypes van *Salmonella* Enteritidis nog veranderd. Van de 34.998 isolaten van 1998 afkomstig uit 12 Europese landen was 62% nog PT4, terwijl in 2003 van de 27.431 isolaten afkomstig uit 14 landen nog maar 32,1% van de isolaten PT4 was (bron: Enter-net). In de loop van die periode (1998-2003) werd een stijging van PT1, PT8, PT14b en PT21 waargenomen, terwijl PT6 en PT6a op hetzelfde niveau, dit wil zeggen tussen 3 en 5% van de isolaten, zijn gebleven. Deze zeven PT's maken ongeveer 90% van alle getypeerde stammen van *Salmonella* Enteritidis uit. In België is de situatie een beetje ver-

schillend: in 2000 kwam PT4 nog het meest voor, met 54,8% van de stammen, gevolgd door PT21 met 29,5% (Wybo *et al.*, 2004). Over de periode (2000-2003) steeg PT21 en overtrof het PT4 in 2003 (34,1% tegenover 27,6%). PT8 en PT14b zijn eveneens belangrijker geworden, met 9,8% en 12,6% van de gevallen in 2003.

Antimicrobiële resistentie in humane isolaten van *Salmonella* Enteritidis komt zelden voor. De meest voorkomende resistenties zijn tegen nalidixinezuur, ampicilline en sulfonamiden (Threlfall *et al.* 2003, Busani *et al.*, 2004). In *Salmonella* Enteritidis-stammen geïsoleerd uit pluimvee in Spanje heeft men echter veel resistentie tegen nalidixinezuur (61,5%) gevonden. Dit werd in verband gebracht met het in de handel brengen van verschillende quinolonen (Cru-chaga *et al.*, 2001). Deze resistentie werd voornamelijk teruggevonden bij *Salmonella* Enteritidis PT1 en PT6a faagtypes.

INFECTIEROUTES

Pluimvee

Pluimveetomen kunnen via verschillende routes gecontamineerd worden. Over het algemeen onderscheiden we verticale en horizontale transmissie.

Verticale overdracht is het resultaat van transovariële transmissie en eicontaminatie, dus overdracht van het moederdier naar hun nakomelingen. Gecontamineerde broedeieren kunnen *Salmonella* naar leghen- en vleeskippenbedrijven overbrengen. Daarom is het van groot belang *Salmonella*-besmettingen van moederdieren laag te houden. Het mechanisme van eicontaminatie zal verder in dit overzicht besproken worden.

Horizontale overdracht is beslist van even groot belang als verticale transmissie. Sterker nog, terwijl moederdieren doorgaans een lage contaminatiegraad hebben, zijn leghennen- en vleeskippenbedrijven frequent gecontamineerd, wat het belang van horizontale transmissie aantoont. Verschillende factoren kunnen horizontale transmissie in de hand werken. In dit opzicht zijn persisterende infecties in bedrijven en contaminatie van de broeierij belangrijk. Verder kunnen knaagdieren ook dragers zijn van *Salmonella* en zo de stallen en het voeder contamineren. In een recente studie werd aangetoond dat muizen in de omgeving van *Salmonella*-positieve leghennenbedrijven nagenoeg 4 keer vaker *Salmonella*-positief zijn dan muizen in de omgeving van negatieve boerderijen (Garber *et al.*, 2003). In een andere studie werden meer dan

1000 muizen gevangen in leghennenbedrijven in de VS, waarvan quasi 20% drager was van *Salmonella* Enteritidis in de milt (Guard-Petter *et al.*, 1997). Onlangs werd aan de hand van moleculaire technieken aangetoond dat muizen die werden gevangen nabij leghennenbedrijven, dezelfde stammen dragen als de leghennen in de respectievelijke bedrijven (Liebana *et al.*, 2003). Een andere bron van contaminatie is insecten. In 14 vleeskippenstallen van verschillende bedrijven werd dezelfde *Salmonella*-stam die uit de dieren werd geïsoleerd, eveneens geïsoleerd uit kevers (Skov *et al.*, 2004). Ook vliegen en meelwormen kunnen besmet zijn met *Salmonella* in pluimveebedrijven (Hald *et al.*, 1998; Olsen and Hammack, 2000). Wanneer met *Salmonella* gecontamineerde kevers werden vrijgelaten onder experimentele omstandigheden in een stal met jonge kuikens, waren vier dagen later alle kuikens *Salmonella*-positief (Hald *et al.*, 1998). Het is duidelijk dat contaminatie van voeder en water een potentiële bron is van *Salmonella* bij pluimvee. Het drinkwater wordt gemakkelijk gecontamineerd door de bek, poten en de uitwerpselen van de dieren. Logischerwijze zorgt het drinkstelsel met nippels voor minder contaminatie van het water (Renwick *et al.*, 1992). Voedercontaminatie kan gebeuren gedurende de verwerking en de bewaring van het voeder. In een studie uitgevoerd in Groot-Brittannië tussen 1995 en 1997 was meer dan 3% van de 15.000 geteste varkens- en pluimveevoederstallen *Salmonella*-positief (Davies en Hinton, 2000). De uit voeder geïsoleerde serotypes behoren echter meestal niet tot de endemische serotypes. Boeren, bezoekers of materiaal aanwezig in pluimveebedrijven kunnen ook drager zijn van *Salmonella*. Tenslotte moeten we zeker ook rekening houden met het feit dat slechts één of enkele positieve kippen voldoende is/zijn om alle dieren in het bedrijf te besmetten. De kippen hebben de neiging om uitwerpselen op te pikken, wat de verspreiding van de infectie vergemakkelijkt.

Mens

Ziekte bij de mens ten gevolge van non-tyfoïdale *Salmonella* wordt hoofdzakelijk veroorzaakt door de consumptie van gecontamineerd voedsel. De meeste van de gevallen van salmonellose bij de mens zijn sporadisch. Toch zijn *Salmonella*-epidemieën niet zeldzaam en kunnen deze epidemieën soms een groot aantal personen treffen. In september en oktober 1994 trof in de Verenigde Staten een epidemie van gastro-enteritis door *Salmonella* Enteritidis 224.000

personen na het consumeren van besmet ijs (Hennessy *et al.*, 1996).

In principe kunnen alle landbouwhuisdieren besmet worden en dus een risico voor de mens vormen. Het vlees en de eieren van kippen zijn echter de belangrijkste bronnen. Vooral besmettingen bij de mens met *Salmonella* Enteritidis zijn bijna uitsluitend geassocieerd met de eieren en het vlees van kippen (Telzak *et al.*, 1990; Altekruze *et al.*, 1993; Henzler *et al.*, 1994; Plummer *et al.*, 1995). De epidemieën van *Salmonella* bij de mens zijn in de meeste gevallen toe te schrijven aan de consumptie van besmette verse eieren (St Louis *et al.*, 1988; Ejidokun *et al.*, 2000; Parry *et al.*, 2002). Van 1985 tot 1998 werden 279 van een totaal van 360 *Salmonella* Enteritidis-uitbraken (82%) in de Verenigde Staten geassocieerd met eiconsumptie (Centre for Disease Control and Prevention, United States, 2000). De belangrijkste risicofactoren voor sporadische besmettingen zijn in de eerste plaats consumptie van onvoldoende gekookte eieren en in de tweede plaats consumptie van kippenvlees (Schmid *et al.*, 1996; Humphrey *et al.*, 1988; Cowden *et al.*, 1989; Mohle-Boetani *et al.*, 1998; Hayes *et al.*, 1999; Kimura *et al.*, 2004). Verre reizen en de consumptie van commerciële of in een restaurant bereide schotels werden ook geïdentificeerd als risicofactoren voor sporadische besmettingen met *Salmonella* bij de mens (Kimura *et al.*, 2004). In dit laatste geval worden de voedingsmiddelen in grote hoeveelheden vooraf bereid, wat het risico verhoogt dat de schotel een besmet ei kan bevatten. Het belang van eieren in humane salmonellose wordt verder bewezen door het volgende feit. Een verhoging van het aantal eieren dat in het kader van het bewakingsprogramma van de eikwaliteit wordt geproduceerd (EQAP), met 1 procent, verlaagde het aantal humane besmettingen met *Salmonella* Enteritidis met 0,14% (Mumma *et al.*, 2004). Het bewaren van eieren meer dan twee weken na aankoop, in het bijzonder tijdens de zomerperiode, werd ook geïdentificeerd als risicofactor voor het voorkomen van sporadische besmettingen met *Salmonella* Enteritidis bij kinderen (Delarocque-Astagneau *et al.*, 1998).

Gezien de mogelijke gevaren verbonden aan de consumptie van eieren voor bepaalde risicogroepen van de bevolking, heeft men voorgesteld dat in ziekenhuizen en andere verzorgingsinstellingen geen rauwe of onvoldoende gekookte eieren geserveerd mogen worden aan personen die bejaard en/of immunodeficiënt zijn. Men heeft eveneens geadviseerd om de eieren te pasteuriseren voor gebruik in kinder-

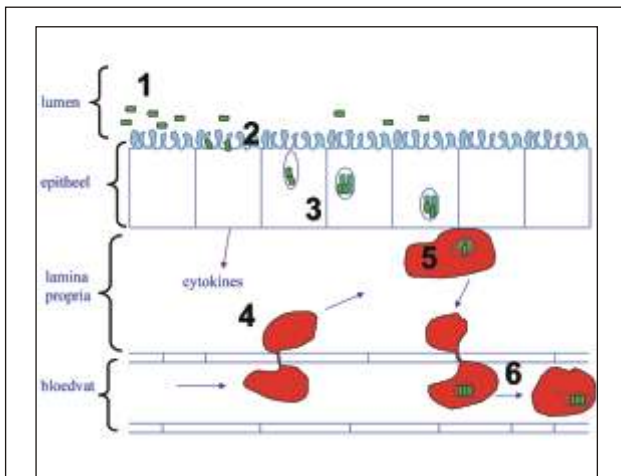
crêches of vooraleer ze gebruikt worden in bereide schotels (Poppe, 1999).

PATHOGENESE BIJ PLUIMVEE

Het merendeel van de *Salmonella*-serotypes kan een breed spectrum van gastheerspecies koloniseren. Sommige serotypes zijn gastheergeadapteerd, wat betekent dat ze genetische eigenschappen verworven hebben die resulteren in een preferentiële en persistente kolonisatie van een bepaalde gastheer. *Salmonella*-serotypes die exclusief geassocieerd zijn met een bepaalde gastheersoort, zijn gastheerspecifieke serotypes, zoals *Salmonella* Gallinarum bij pluimvee. Serotypes die meestal een zelflimiterende gastroenteritis induceren in een breed spectrum van niet-verwante gastheerspecies, worden niet-gastheerspecifiek of breedspectrumgastheerserotypes genoemd (Uzzau *et al.*, 2000). Daaronder bevinden zich *Salmonella* Enteritidis en Typhimurium. De pathogenese van gastheerspecifieke serotypes zal in dit artikel niet worden besproken. De pathogenese van niet-gastheerspecifieke serotypes bij de kip zal wel in detail behandeld worden (Figuur 1). Doorgaans begint de pathogenese na orale opname van de bacterie. De bacteriën passeren de maag en hechten zich vast aan de epitheelcellen van de darm. Na het aanhechtingsproces kan de bacterie in de epitheelcellen dringen, wat invasie genoemd wordt. Vervolgens volgt na de intestinale fase, een systemische fase. Tijdens deze systemische fase worden de bacteriën opgenomen in de macrofagen, waar ze kunnen overleven, om zich dan zo via de bloedbaan te verspreiden naar interne organen. Voor deze verschillende processen beschikt de bacterie over een set virulentiegenen die gegroepeerd zijn in pathogeniciteitseilanden.

Intestinale fase

Salmonella kan de zuurtegraad van de maag overleven en kan na orale opname migreren naar de darmen (Kwon en Ricke, 1998). De caeca vormen de belangrijkste kolonisatieplaats bij de kip (Desmidt *et al.*, 1997; 1998). De bacteriën hechten zich vast aan de caecale wand door receptor-ligandinteracties. De fimbriae van de bacterie en de mannoseresiduen in de mucus en op de epitheelcellen van de darm zijn betrokken bij de adhesie (Dibb-Fuller *et al.*, 1999; Vimal *et al.*, 2000). De cruciale stap in de pathogenese is de invasie in intestinale epitheelcellen. Op het ogenblik dat de bacterie zich vasthecht aan de epitheelcellen van de darm, injecteert ze een reeks bacteriële pro-



Figuur 1. Pathogenese van *Salmonella*-infecties.

1. Na orale opname passeren *Salmonella*-bacteriën de maag om het darmlumen te bereiken.
2. *Salmonella*-bacteriën hechten zich vast aan darm-epitheelcellen en induceren veranderingen in het actineskelet van deze cellen.
3. Dit leidt tot internalisatie van de bacteriën in de cellen, invasie genoemd.
Salmonella-bacteriën kunnen zich intracellulair vermeerderen.
4. Door ontstekingsreacties in de darmwand migreren macrofagen vanuit de bloedbaan naar de darmwand.
5. Deze macrofagen fagocyteren *Salmonella*-bacteriën. *Salmonella* beschikt over mechanismen om in deze cellen te overleven en om zich zelfs hierin te verdubbelen.
6. De macrofagen migreren via de bloedbaan naar inwendige organen, zoals lever en milt, en verspreiden op deze wijze *Salmonella* in het dier. Dit wordt de systemische fase genoemd.

teïnen in de gastheercel met behulp van het type 3-secretiesysteem (*Type Three Secretion System*, TTSS), dat wordt gecodeerd door het *Salmonella*-pathogeniciteitseiland 1 (*Salmonella Pathogenicity Island I*, SPI-1) (Zhou en Galan, 2001). Dit type 3-secretiesysteem bestaat uit een gespecialiseerde naaldstructuur gelokaliseerd op het bacteriële membraan, die de injectie van de bacteriële proteïnen in de eukaryote cellen uitvoert (Hueck, 1998; Galán en Collmer, 1999; Cornelis en Van Gijsegem, 2000). Het *Salmonella*-pathogeniciteitseiland 1 is een groot DNA-gebied op het bacteriële chromosoom dat codeert voor een reeks proteïnen, onder andere proteïnen noodzakelijk voor de opbouw van de naaldstructuur van het TTSS, maar ook regulator- en effectorproteïnen die geïnjecteerd

worden via het naaldcomplex in de gastheercel (Lostro en Lee, 2001). De geïnjecteerde bacteriële proteïnen interageren met proteïnen van de gastheercel. Hun belangrijkste effect is een reorganisatie van het cytoskelet van de darmepitheelcellen gepaard gaande met de vorming van zogenaamde 'ruffles' in de celmembraan waardoor de bacterie wordt opgenomen door de epitheelcel. Na dit proces, dat dus actief is en gecontroleerd wordt door bacteriële proteïnen die geïnjecteerd werden in de darmepitheelcellen, bevindt de bacterie zich in een vacuole in de cel. Dit gehele proces wordt invasie genoemd. Eens binnenin de gastheercel, zal de bacterie apoptotische reacties (geprogrammeerde celdood) in de cel onderdrukken. Hierdoor creëert de bacterie een niche waarin ze kan vermeerderen en waarin ze beschermd is tegen het immuunsysteem van de gastheer.

De proteïnen die gecodeerd worden door SPI-1 spelen ook een rol bij de aantrekking van immuuncellen naar de darmwand. Na een *Salmonella*-infectie bij kippen start binnen 24 uur een infiltratie van heterofiele granulocyten, macrofagen, T- en B-lymfocyten naar de darmwand (Van Immerseel *et al.*, 2002a). Macrofagen dringen binnen in de caecale mucosa en nemen zo bacteriën op. Dit is de start van de systemische fase van de infectie.

Systemische fase

De bacteriën worden via fagocytose opgenomen in de macrofagen. Daar kunnen de bacteriën overleven en zich vermenigvuldigen. De macrofagen kunnen in de bloedbaan terechtkomen en langs deze weg bacteriën verspreiden naar inwendige organen, zoals lever en milt, waar de bacteriën in grote aantallen voorkomen (Barrow, 1999). De bacterie bevindt zich in een vacuole in het cytoplasma van de macrofaag. De replicatie van *Salmonella* in de macrofagen wordt gecontroleerd door het pathogeniciteitseiland 2 (SPI-2) type 3-secretiesysteem (TTSS). Dit SPI-2 TTSS vertoont eveneens gelijkenissen met de structuur van een naald waardoor bacteriële proteïnen door het membraan van de vacuole worden geïnjecteerd naar het cytoplasma van de gastheercel (Hensel *et al.*, 2000).

De *Salmonella*-bacterie heeft verschillende mechanismen ontwikkeld om in macrofagen te kunnen overleven. Na fagocytose blijft de bacterie binnenin de zogenaamde '*Salmonella* containing vacuole' (SCV). Wanneer de macrofaag via fagocytose bacteriën opneemt, vindt een fusie plaats tussen de vacuole waarin de bacterie zich bevindt en het lysosoom, die toxische stoffen bevat voor de bacterie. In het geval van *Salmo-*

nella wordt fusie tussen het SCV en het lysosoom geïnhibeerd door de proteïnen van het SPI-2 TTSS.

Naast de enzymen van het lysosoom bezit de macrofaag nog andere krachtige systemen om de bacteriën te doden, namelijk de productie van stikstof- en zuurstofradicalen en NO. Het NADPH-oxidase van de fagocyten is een zeer doeltreffend wapen in de strijd tegen de bacteriën. Het enzymatische complex katalyseert de omzetting van zuurstof naar superoxide. Dit laatste is een antibacterieel radicaal dat dient als precursor voor andere toxische, reactieve zuurstofverbindingen, waaronder waterstofperoxide (Babior, 1995). In de niet-geactiveerde macrofagen verzekert de scheiding van NADPH-oxidase in membraangebonden en cytosolische componenten dat de productie van toxische radicalen wordt voorkomen. Na de stimulatie van de macrofaag migreren alle subeenheden naar elkaar toe en verenigen zich tot een actief enzymcomplex (Vazquez-Torres en Fang, 2001). *Salmonella*-bacteriën hebben strategieën ontwikkeld om de vorming van dit enzymatisch complex te vermijden of te onderdrukken. Naast het feit dat *Salmonella* superoxide dismutasen en katalasen bevat (Buchmeier *et al.*, 1995; Buchmeier *et al.*, 1997; Lundberg *et al.*, 1999), kan *Salmonella* de migratie van NADPH-oxidase bevattende fagocyten naar de SCV blokkeren. Dit laatste fenomeen staat ook onder de controle van SPI-2 TTSS.

Salmonella beschikt ook over mechanismen die de bacterie toelaten om de levensvatbaarheid van macrofagen in haar voordeel te manipuleren. Via een tot nog toe onbekend mechanisme blijkt de bacterie in staat te zijn het activeringsniveau van de macrofaag aan te voelen zodat de inductie van celdood gewijzigd kan worden. Necrose is geassocieerd met het verlies van de membraanintegriteit en de vrijstelling van de intracellulaire componenten, wat resulteert in de aantrekking van immuuncellen. Tijdens de initiële fase van de infectie, wanneer de eerste macrofagen worden aangetrokken ter hoogte van de darm, induceert de bacterie celdood door necrose, waardoor nog meer macrofagen worden aangetrokken (Knodler en Finlay, 2001). Eens de systemische fase bereikt wordt, is het niet voordelig voor de bacterie dat de gastheercellen vlug worden afgedood. In deze fase verblijven de bacteriën in een intracellulaire niche en stellen ze de celdood uit om zich te kunnen vermeerderen en inwendige weefsels te bereiken (Jesenberger *et al.*, 2000; Van Der Velden *et al.*, 2000). De uitgestelde celdood van de gastheercel zou gebeuren via apoptose, zodat geen ontsteking veroorzaakt wordt, wat op dat moment nadelig zou zijn voor de bacteriën.

Eicontaminatie

Eicontaminatie door *Salmonella* Enteritidis kan veroorzaakt worden door penetratie van de kiem, afkomstig van gecontamineerde feces, door de eischaal tijdens of na de ovipositie (Gast and Beard 1990b; Barrow and Lovell 1991; Humphrey *et al.* 1991b). Een andere mogelijkheid is besmetting van het ei voordat het gelegd is, door contaminatie van de dooier, het eiwit, de eischallemembraan (schaalvlies) of de eischaal ten gevolge van een infectie van de voortplantingsorganen met *Salmonella* Enteritidis (Timoney *et al.* 1989; Shivaprasad *et al.* 1990).

Schaalcontaminatie en -penetratie

Uit eischalen werd reeds een groot aantal verschillende *Salmonella*-serotypes geïsoleerd, waaronder *Salmonella* Enteritidis (Humphrey 1994; Schutze *et al.* 1996). De aanwezigheid van verschillende *Salmonella*-serotypes op het oppervlak van de eischalen vormt een even grote bedreiging voor de volksgezondheid als de contaminatie van de inhoud van het ei. Oppervlaktecontaminatie kan het gevolg zijn van ofwel een infectie van de distale delen van de oviduct, ofwel van fecale contaminatie na de ovipositie.

Verschillende onderzoekers hebben de mogelijkheid van penetratie door de eischaal onder experimentele condities getest met verschillende *Salmonella*-serovars waaronder *Salmonella* Enteritidis en *Salmonella* Typhimurium (Javed *et al.* 1994; Miyamoto *et al.* 1998; Wang en Slavik 1998; Berrang *et al.* 1999). Deze experimenten hebben tot de hypothese geleid dat de ei-inhoud, onmiddellijk nadat het ei gelegd is, besmet kan worden met bacteriën die door poriën of scheuren in de schaal kunnen binnendringen. Dit fenomeen doet zich echter niet veel voor in de praktijk, aangezien het spectrum *Salmonella*-serovars dat gevonden wordt op het oppervlak van de eieren, niet overeenkomt met wat er in de ei-inhoud wordt gevonden. Eigenlijk wordt bijna alleen *Salmonella* Enteritidis geïsoleerd uit de ei-inhoud.

Slechts enkele publicaties suggereren dat de ei-inhoud vooral gecontamineerd wordt tijdens de doorgang in de cloaca en niet door een ovariële infectie (Rodrigue *et al.* 1990; Barrow en Lovell 1991). Als volledige eischalen in cultuur worden gebracht, is het echter onmogelijk om een verschil te maken tussen oppervlaktecontaminatie uit de omgeving en contaminatie tijdens de vorming van de eieren. Bepaalde auteurs hebben dit probleem opgelost door het volledige ei in een cultuurmedium onder te dompelen, het vervolgens te desinfecteren en tenslotte de eischalen

in cultuur te brengen (Bichler *et al.* 1996; Miyamoto *et al.* 1997; Okamura *et al.* 2001a; Okamura *et al.* 2001b). Deze aanpak laat toe om een onderscheid te maken tussen een contaminatie van het oppervlak en een contaminatie van de schaalmembranen die gebeurt tijdens de vorming van het ei.

Contaminatie van het ei tijdens de vorming

Zoals reeds bovenvermeld is *Salmonella* Enteritidis het dominante serotype dat uit de ei-inhoud wordt geïsoleerd (Mawer *et al.* 1989). Er bestaat een inconsistente relatie tussen de contaminatie van de eischaal en de contaminatie van de ei-inhoud door *Salmonella* Enteritidis (Humphrey *et al.* 1991c; Methner *et al.* 1995). Dit toont aan dat de contaminatie van de ei-inhoud waarschijnlijk plaatsvindt in de voortplantingsorganen en niet gebeurt door eischaalpenetratie. Onderzoek op eieren van experimenteel geïnfecteerde kippen heeft geen verband aan het licht gebracht tussen intestinale of fecale besmetting en de aanwezigheid van *Salmonella* Enteritidis in de eieren (Gast en Beard 1990a; Humphrey *et al.* 1991b). Bovendien kan men *Salmonella* Enteritidis PT4 uit het voortplantingsweefsel van geïnfecteerde leghennen isoleren terwijl er geen intestinale kolonisatie is (Bygrave and Gallagher 1989; De Buck *et al.* 2004).

Salmonella Enteritidis werd zowel geïsoleerd uit het eiwit als uit het eiwit van eieren, gelegd door geïnfecteerde leghennen (Keller *et al.* 1995; Bichler *et al.* 1996). De meeste auteurs concluderen dat het eiwit het compartiment is van het ei dat het meest frequent gecontamineerd is (Gast en Beard 1990a; Shivaprasad *et al.* 1990; Humphrey *et al.* 1991c; Gast en Beard 1993; Humphrey 1994; Methner *et al.* 1995; Price *et al.* 1995). De contaminatie van het eiwit door *S. Enteritidis* zou plaatsvinden tijdens de passage door de oviduct (Gast en Beard 1990b; Shivaprasad *et al.* 1990; Humphrey *et al.* 1991c; Hoop en Pospischil 1993; Reiber en Conner 1995). Verschillende studies suggereren zelfs dat *Salmonella* Enteritidis in de eieren migreert ter hoogte van de bovenste segmenten van de oviduct in associatie met eiwit (Gast en Beard 1990a; Shivaprasad *et al.* 1990; Hoop en Pospischil 1993; Humphrey 1994; Keller *et al.* 1995). *Salmonella* Enteritidis werd zelfs in associatie met secreterende cellen van het bovenste en onderste magnum gedetecteerd via immunohistochemische kleuring (Hoop en Pospischil 1993). Dit kan verklaren waarom de bacterie het eiwit van het ei contamineert. Eigeelbesmetting wijst op een contaminatie van het ovarium.

De eischaal en het eischaalmembraan worden in het onderste deel van de oviduct gevormd. Deze compartimenten van het ei kunnen ook gecontamineerd worden tijdens de eiontwikkeling. Verschillende onderzoeken wezen uit dat de contaminatie van eischalen en eischaalmembranen frequent voorkomt (Humphrey 1989; De Buck *et al.* 2004). Sommige auteurs concluderen zelfs dat het de meest frequent geïnfecteerde plaatsen zijn van gecontamineerde eieren (Bichler *et al.* 1996; Miyamoto *et al.* 1997; Okamura *et al.* 2001b). In eieren die uitgebroed worden, kunnen de bacteriën, die in de schaalmembranen aanwezig zijn, het embryo pas laat in de incubatieperiode infecteren. De infectie kan zelfs uitgesteld worden tot bij het uitkippen.

PREVENTIE EN CONTROLE

Maatregelen op het niveau van de pluimveeproductie

Verschillende maatregelen om *Salmonella* bij pluimvee te bestrijden zijn voorhanden. De eerste stap om *Salmonella*-besmettingen te voorkomen is uiteraard het opzetten van *Salmonella*-vrije dieren in de stallen, wat erop neerkomt dat grootouder- en moederdieren negatief moeten zijn voor *Salmonella* om te verzekeren dat verticale overdracht wordt tegengegaan.

Vaccinatie is waarschijnlijk de meest frequent gebruikte controlemaatregel. Commerciële, levende en geïnactiveerde vaccins claimen reducties in uitscheiding van *Salmonella* (Ferberwee *et al.*, 2001; Clifton-Hadley *et al.*, 2002; Woodward *et al.*, 2002). Deze vaccins zijn empirisch ontwikkeld en zullen ongetwijfeld bescherming bieden tot op een zeker niveau. Momenteel laten ontwikkelingen in de moleculaire biologie toe om op een rationele wijze mutaties te maken om levende *Salmonella*-vaccins te produceren die niet persisteren in gastheerweefsel en maximale bescherming geven. Een waaijer van genetisch gemoedificeerde *Salmonella*-vaccins werd reeds met succes experimenteel getest bij pluimvee maar de toelating tot de introductie ervan in de praktijk is een probleem (Zhang-Barber *et al.*, 1999). Hoe dan ook is het duidelijk dat de vaccinatie van moederdieren en leghennen een zeer waardevolle bijdrage kan leveren tot het verlagen van de contaminatiegraad van *Salmonella* bij pluimvee.

Momenteel is er een grote verscheidenheid aan voederadditieven ter bestrijding van *Salmonella* op de markt. Door een tekort aan wetenschappelijk gefundeerde data over de mechanismen en de efficiëntie van de meeste van deze producten, en door het over-

aanbod van deze producten is het niet evident voor practici om een juiste keuze te maken uit het aanbod. Momenteel worden organische zuren met wisselend succes gebruikt als drinkwater- of voederadditief om de infectiedrempel te verhogen. Boterzuur blijkt veelbelovend in dit opzicht vermits bewezen werd dat invasie van *Salmonella* in intestinale epitheelcellen en virulentiegenexpressie sterk daalt na contact van *Salmonella* met lage concentraties boterzuur (Lawhon *et al.*, 2003; Van Immerseel *et al.*, 2004a). Boterzuur als voederadditief gecoat op een drager, verlaagt sterk de darmkolonisatie van *Salmonella* bij jonge kippen. Ook middellangeketenvetzuren hebben dezelfde gunstige eigenschappen als boterzuur (Van Immerseel *et al.*, 2004c), naast het feit dat ze heel sterk antibacterieel zijn. Ook prebiotica zijn op de markt waarvan beweerd wordt dat ze de contaminatie met *Salmonella* verminderen. Prebiotica zijn niet-verteerbare voedercomponenten die de gastheer gunstig beïnvloeden door een stimulatie van de groei en de activiteit van één of een gelimiteerd aantal bacteriële species die al aanwezig zijn in de darm (Gibson en Roberfroid, 1995). Prebiotica kunnen worden gefermenteerd door de microbiota van de darm tot korteketenvezuren, en kunnen verschuivingen in de flora van de darm veroorzaken. Fructo-oligosacchariden (FOS) bijvoorbeeld worden gefermenteerd tot boterzuur in de darm, wat gepaard gaat met een toename van de bifidobacteriën (Rada *et al.*, 2001). Er werd reeds aangetoond dat het supplementeren van FOS aan voeder van kippen de kolonisatie van de darm door *Salmonella* tegengaat (Bailey *et al.*, 1991). Een ander prebioticum dat potentieel kan gebruikt worden in de *Salmonella*-bestrijding zijn manno-oligosacchariden, waarvan verondersteld wordt dat ze binding van *Salmonella* aan intestinale epitheelcellen blokkeren door de binding van de mannoseresiduen aan type I-fimbriae (Spring *et al.*, 2000). Ook probiotica kunnen potentieel worden gebruikt om *Salmonella*-contaminatie van *Salmonella* bij pluimvee te reduceren. Probiotica zijn levende microbiële additieven die de gastheer gunstig beïnvloeden door de intestinale microbiële gezondheid te bevorderen (Fuller, 1989). Vooral Lactobacillen werden experimenteel getest voor de bestrijding van *Salmonella* bij pluimvee, maar commerciële preparaten worden totnogtoe niet in de praktijk gebruikt (Mulder *et al.*, 1997; Pascual *et al.*, 1999). Meer informatie omtrent voederadditieven ter bestrijding van *Salmonella* bij pluimvee is te vinden in een overzichtsartikel van Van Immerseel *et al.* (2000). Hoewel een aantal additieven de darmkolonisatie door *Salmo-*

nella kan reduceren, is het niet duidelijk wat het effect is op eicontaminatie.

Voor de volledigheid dient ook vermeld te worden dat competitieve exclusieproducten kunnen gebruikt worden om de contaminatie door *Salmonella* tegen te gaan. Deze producten zijn mengsels van niet-gedefinieerde bacteriële flora uit de darm van kippen en worden, ondanks hun efficiëntie, bijna niet gebruikt in de praktijk (Nurmi en Rantala, 1973).

Hogervernoemde bestrijdingsmaatregelen zijn hoogstwaarschijnlijk niet succesvol zonder goede hygiënische maatregelen op de bedrijven. Reinigen en desinfectie ronde na ronde, een systeem waarbij alle dieren tegelijk in- en uitgaan (all-in – all-out principe) en goede monitoringsystemen zijn van groot belang om te verzekeren dat vaccinatie en andere complementaire maatregelen optimaal kunnen renderen. Ook insecten- en knaagdierenbestrijding is noodzakelijk, vermits het duidelijk is dat ze vectoren kunnen zijn voor *Salmonella*. Voeder en water kunnen eveneens fysisch of chemisch worden gedecontamineerd. Decontaminatie van eieren met desinfectantia is verboden in de EU.

Buitengewoon belangrijk zijn tenslotte de variaties in besmettingsgraad tijdens het transport naar het slachthuis en tijdens het eigenlijke slachtproces. Dit aspect van het *Salmonella*-probleem wordt hier buiten beschouwing gelaten.

Maatregelen op het niveau van de consument

Het is evident dat preventie- en bestrijdingsmaatregelen die gebruikt worden in pluimveebedrijven tot doel hebben om humane salmonellose te voorkomen. Vermits de meeste humane infecties worden veroorzaakt door de consumptie van besmette eieren zijn alle maatregelen om eicontaminatie te verlagen cruciaal. Een belangrijke stap in de preventie van humane infecties is echter de koeling van eieren om bacteriële multiplicatie te voorkomen. Ondanks het feit dat deze simpele handeling hoogstwaarschijnlijk het aantal humane salmonellosegevallen drastisch zou doen dalen, is het verbazend dat de meeste eieren nog steeds op kamertemperatuur worden bewaard en dit zowel in supermarkten, winkels als bij de consument thuis. Informatiecampagnes opgezet door het FAVV en de invoering van verplichtingen op het niveau van de verdelers kunnen een cruciale stap zijn. Uiteraard is het dan nodig dat de eieren in de leghennenbedrijven ook zo snel mogelijk gekoeld worden. Ook eenvoudige keukenhygiëne kan waarschijnlijk een groot aantal humane besmettingen voorkomen. Mensen met een

hoger risico, zoals jonge kinderen, ouderen en immuno-deficiënte personen, dienen extra aandacht te krijgen.

Wetgeving en bestrijdingsplannen

In 1992 werd een richtlijn aangenomen door de Raad van de Europese Unie (raadsrichtlijn 92/117/EEG) omtrent bestrijdingsmaatregelen tegen bepaalde zoönotische agentia in dieren en dierlijke producten met als doel de preventie van uitbraken van voedselinfecties. De richtlijn stelde voor om monitoringsystemen en bestrijdingsmaatregelen in te voeren en dit minstens op het niveau van de moederdieren en in geval van infecties met *Salmonella* Enteritidis of Typhimurium. De richtlijn vraagt ook dat de lidstaten de commissie informeren omtrent de genomen maatregelen. Een tiental jaar later is het duidelijk dat maatregelen die genomen worden op het niveau van de moederdieren, met als doel een reductie van verticale overdracht van *Salmonella*, niet voldoende zijn om het besmettingsniveau van leghennen en vleeskippen te reduceren, en dus slechts weinig invloed hebben op het aantal humane *Salmonella*-infecties. Dit is vooral te wijten aan de horizontale overdracht in de productiebedrijven zowel voor de leg- als vleesproductie. Verder werd het eveneens duidelijk dat de epidemiologische gegevens die doorgestuurd werden door de lidstaten van de EU onvolledig waren en niet onderling vergelijkbaar.

In 2003 introduceerde het Europese Parlement en de Raad van de Europese Unie richtlijn 2003/99/EG met als doel te verzekeren dat zoönosen, zoönotische agentia en antimicrobiële resistentie grondig in het oog worden gehouden en dat de haarden van humane

toxi-infecties epidemiologisch zouden onderzocht worden, zodat noodzakelijke informatie kan worden verzameld met het oog op het analyseren van de infectiebronnen en -patronen. Hetzelfde jaar introduceerde het Europese Parlement en de Raad van de Europese Unie verordening 2160/2003/EG met als doel ervoor te zorgen dat er maatregelen worden genomen om *Salmonella* en andere zoönotische agentia te detecteren en te bestrijden op alle niveaus van de productie, de verwerking en de distributie, met nadruk op de primaire productie, met de bedoeling het voorkomen van *Salmonella* te verminderen en het risico voor de volksgezondheid te verkleinen. Lidstaten moeten hierbij nationale controleprogramma's opstellen om bepaalde doelstellingen binnen de voorgeschreven deadlines te bereiken (Tabel 5). De EU dient een beslissing te nemen in verband met de goedkeuring van de voorgestelde programma's.

Nationale controleprogramma's moeten voorzien in de detectie van zoönosen en zoönotische agentia in overeenstemming met bepaalde minimale bemonsteringsvoorschriften. Deze minimale bemonsteringsvoorschriften houden in dat stalen van moederdieren tijdens de opfok moeten worden genomen bij opzet, en op vier weken ouderdom en vervolgens twee weken vóór transport naar de leggenheid of twee weken vóór het in de leg gaan, en daarna iedere 2 weken tijdens de legperiode. Leghennen dienen tijdens de opfok bemonsterd te worden bij opzet en twee weken vóór het transport naar het legbedrijf of vóór het in de leg gaan. Tijdens de legperiode moeten staalnamen om de 15 weken gebeuren. Staalnamen bij vleeskippen dienen minimaal te gebeuren vóór het transport naar het slachthuis. Met het oog op de bescherming

Tabel 5. Voorziene termijnen in het kader van verordening 2160/2003/EG betreffende de detectie en controle van *Salmonella* bij pluimvee.

	Datum waarop doelstellingen van nationale bestrijdingsprogramma's vastgelegd worden	Datum waarop testen moeten plaatsvinden bij intracommunautair handelsverkeer
Moederdieren	12/12/2004	12/6/2006
Leghennen	12/12/2005	12/6/2007
Vleeskippen	12/12/2006	12/6/2008
Kalkoenen	12/12/2007	12/6/2009

van de consument dienen nationale controleprogramma's ook de respectievelijke verantwoordelijkheden van de betrokken autoriteiten en van de veehouders te bepalen en bestrijdingsmaatregelen te definiëren volgens op de detectie van zoönotische agentia of zoönosen.

Ook bepaalde specifieke maatregelen moeten worden opgenomen in de bestrijdingsprogramma's. Deze specifieke maatregelen houden in dat in het geval van een *Salmonella* Enteritidis- of Typhimurium-infectie van moederdieren, de niet-geïncubeerde broedeieren moeten vernietigd of gebruikt worden voor humane consumptie na een behandeling op een dusdanige wijze dat gegarandeerd kan worden dat *Salmonella* Enteritidis en *Salmonella* Typhimurium worden geëlimineerd. Alle dieren van deze tomen, inclusief ééndagskuikens, dienen vernietigd of geslacht te worden, teneinde het risico op de verspreiding van *Salmonella* tegen te gaan. Wanneer eieren van deze dieren aanwezig zijn in een broeierij moeten deze ook vernietigd worden of behandeld worden zoals bovenvermeld. Een andere specifieke vereiste is dat vanaf december 2009 eieren niet meer gebruikt mogen worden voor rechtstreekse humane consumptie als de kippen waarvan ze afkomstig zijn niet onderworpen zijn aan een nationaal controleprogramma. Verder zullen eieren afkomstig van bedrijven met ongekende *Salmonella*-status, verdacht van *Salmonella*-besmetting of afkomstig van een geïnfecteerde toom enkel mogen gebruikt worden voor humane consumptie als ze behandeld zijn op een zodanige manier dat de eieren gegarandeerd vrij zijn van *Salmonella*-serotypes die belang hebben voor de volksgezondheid. Vanaf december 2010 zal geen vers pluimveevlees op de markt mogen gebracht worden als er *Salmonella* aanwezig is in 25g. Nationale controleprogramma's dienen de vooruitgang te evalueren en moeten zowel de voederproductie, de primaire productie als de verwerking en bereiding van voedsel omvatten.

CONCLUSIE

Hoewel de contaminatie van pluimvee door *Salmonella* de laatste jaren in de meeste landen systematisch gedaald is, komen er bij de mens nog regelmatig uitbraken van salmonellose voor die kunnen getraceerd worden naar eieren als bron van contaminatie. Het is voornamelijk de verspreiding van serovar Enteritidis en de eigenschap van dit serovar om eieren te contamineren die verontrustend zijn. De focus van controleprogramma's en preventiemaatregelen moet

daarom in de eerste plaats op *Salmonella* Enteritidis gericht zijn, en in de tweede plaats op enkele andere serotypes, zoals *Salmonella* Typhimurium, die frequent salmonellose bij de mens veroorzaken.

De volledige eradicatie van alle *Salmonella*-bacteriën uit levend pluimvee is waarschijnlijk een utopie. Vandaar dat het doel van de bestrijdingsprogramma's op lange termijn zonder twijfel de eliminatie van *Salmonella*-infecties door eieren is, en indien mogelijk ook de eliminatie van de *Salmonella*-infecties door pluimveevlees. Dit zou het aantal gevallen van salmonellose bij de mens sterk moeten doen verminderen. De beschermingsmaatregelen, zoals vaccinatie, zullen zeker helpen om het besmettingsniveau te verminderen. Zulke maatregelen hebben echter alleen effect als ze worden toegepast in een globale aanpak die ook hygiënische maatregelen en andere complementaire maatregelen inhoudt. Dit alles is een uitdaging waarvan de verantwoordelijkheid rust op de schouders van de dierenartsen, de pluimveehouders, de onderzoekers en de overheid. Enkel een gezamenlijke actie van al deze betrokkenen zal tot een succesvolle controle van deze belangrijke pathogeen leiden.

DANKBETUIGING

De auteurs danken de afdeling Contractueel Onderzoek, Directie Generaal IV van de Federale Overheidsdienst Volksgezondheid, Veiligheid van de Voedselketen en Leefmilieu, voor de subsidiëring van de onderzoeksactiviteiten rond salmonellose bij pluimvee, uitgevoerd aan de vakgroep Pathologie, Bacteriologie en Pluimveeziekten, Faculteit Diergeneeskunde, Gent.

REFERENTIES

- Altekruse S., Koehler J., Hickman-Brenner F., Tauxe R.V., Ferris K. (1993). A comparison of *Salmonella* enteritidis phage types from egg-associated outbreaks and implicated laying flocks. *Epidemiology and Infection* 110, 17-22.
- Aserkoff B., Schroeder S.A., Brachman P.S. (1970). Salmonellosis in the United States, a five-year review. *American Journal of Epidemiology* 92, 13-24.
- Babior B.M. (1995). The respiratory burst oxidase. *Current Opinion in Hematology* 2, 55-60.
- Bailey J.S., Blankenship L.C., Cox N.A. (1991). Effect of fructooligosaccharide on *Salmonella* colonization of the chicken intestine. *Poultry Science* 70, 2433-2438.
- Barrow P.A. (1999). Virulence of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. In: Saeed, A.M. (ed.). *Salmonella enterica serovar Enteritidis in humans and animals*, Iowa State University Press, Ames, 173-181.

- Barrow P.A., Lovell M.A. (1991). Experimental infection of egg-laying hens with *Salmonella* Enteritidis phage type 4. *Avian Pathology* 20, 335-348.
- Berrang M.E., Frank J.F., Buhr R.J., Bailey J.S., Cox N.A. (1999). Eggshell membrane structure and penetration by *Salmonella* Typhimurium. *Journal of Food Protection* 62, 73-76.
- Bichler L.A., Nagaraja K.V., Halvorson D.A. (1996). *Salmonella* Enteritidis in eggs, cloacal swab specimens, and internal organs of experimentally infected White Leghorn chickens. *American Journal of Veterinary Research* 57, 489-495.
- Buchmeier N.A., Libby S.J., Xu Y., Loewen P.C., Switala J., Guiney D.G., Fang F.C. (1995). DNA repair is more important than catalase for *Salmonella* virulence in mice. *Journal of Clinical Investigation* 95, 1047-1053.
- Buchmeier N., Bossie S., Chen C.Y., Fang F.C., Guiney D.G., Libby S.J. (1997). SlyA, a transcriptional regulator of *Salmonella* Typhimurium, is required for resistance to oxidative stress and is expressed in the intracellular environment of macrophages. *Infection and Immunity* 65, 3725-3730.
- Busani L., Graziani C., Battisti A., Franco A., Ricci A., Vio D., Digiannatale E., Paterlini F., D'Incau M., Owczarek S., Caprioli A., Luzzi I. (2004). Antibiotic resistance in *Salmonella* enterica serotypes Typhimurium, Enteritidis and Infantis from human infections, foodstuffs and farm animals in Italy. *Epidemiology and Infection* 132, 245-251.
- Bygrave A.C., Gallagher J. Transmission of *Salmonella* Enteritidis in poultry. (1989). *The Veterinary Record* 124, 333.
- Clifton-Hadley F.A., Breslin M., Venables L.M., Springings K.A., Cooles S.W., Houghton S., Woodward M.J. (2002). A laboratory study of an inactivated bivalent iron restricted *Salmonella* enterica serovars Enteritidis and Typhimurium dual vaccine against Typhimurium challenge in chickens. *Veterinary Microbiology* 89, 167-179.
- Cornelis G.R., Van Gijsegem F. (2000). Assembly and function of type III secretory systems. *Annual Reviews in Microbiology* 54, 735-774.
- Cowden J.M., Chisholm D., O'Mahony M., Lynch D., Mawer S.L., Spain G.E., Ward L., Rowe B. (1989). Two outbreaks of *Salmonella* enteritidis phage type 4 infection associated with the consumption of fresh shell-egg products. *Epidemiology and Infection* 103, 47-52.
- Cruchaga S., Echeita A., Aladuena A., Garcia-Pena J., Frias N., Usera M.A. (2001). Antimicrobial resistance in *Salmonellae* from humans, food and animals in Spain in 1998. *Journal of Antimicrobials and Chemotherapy* 47, 315-321.
- Davies R.H., Hinton M.H. (2000). *Salmonella* in animal feed. In: Wray, A. and Wray, C. (eds.). *Salmonella* in domestic animals. CAB International, Oxford, 285-300.
- De Buck J., Van Immerseel F., Haesebrouck F., Ducatelle R. (2004). Effect of type 1 fimbriae of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis on bacteremia and reproductive tract infection in laying hens. *Avian Pathology* 33, 314-320.
- Delarocque-Astagneau E., Desenclos J.C., Bouvet P., Grimont P.A. (1998). Risk factors for the occurrence of sporadic *Salmonella* enterica serotype enteritidis infections in children in France: a national case-control study. *Epidemiology and Infection* 121, 561-567.
- Desmidt M., Ducatelle R., Haesebrouck, F. (1997). Pathogenesis of *Salmonella* Enteritidis phage type four after experimental infection of young chickens. *Veterinary Microbiology* 56, 99-109.
- Desmidt M., Ducatelle R., Mast J., Goddeeris B.M., Kaspers B., Haesebrouck, F. (1998). Role of the humoral immune system in *Salmonella* enteritidis phage type four infection in chickens. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 63, 355-367.
- Dibb-Fuller M.P., Allen-Vercoe E., Thorns C.J., Woodward M.J. (1999). Fimbriae- and flagella-mediated association with and invasion of cultures epithelial cells by *Salmonella* Enteritidis. *Microbiology* 145, 1023-1031.
- Ejidokun O.O., Killalea D., Cooper M., Holmyard S., Cross A., Kemp C. (2000). Four linked outbreaks of *Salmonella* enteritidis phage type 4 infection-the continuing egg threat. *Communicable Diseases Public Health* 3, 95-100.
- Europees Parlement en Raad van Europa. Directive 2003/99/EC of the European Parliament and of the Council of 17 November 2003 on the monitoring of zoonoses and zoonotic agents, amending Council Decision 90/424/EEC and repealing Council Directive 92/117/EEC. (2003). *Official Journal of the European Union*, 2003, L325, 31-40.
- Europees Parlement en Raad van Europa. 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, 1-15.
- Feberwee A., de Vries T.S., Hartman E.G., de Wit J.J., Elbers A.R., de Jong W.A. (2001). Vaccination against *Salmonella* enteritidis in Dutch commercial layer flocks with a vaccine based on a live *Salmonella* gallinarum 9R strain: evaluation of efficacy, safety, and performance of serologic *Salmonella* tests. *Avian Diseases* 45, 83-91.
- Fisher I.S.T. International trends in *Salmonella* serotypes 1998-2003 - a surveillance report from the Enter-net international surveillance network. *Eurosurveillance*, in press.
- Fuller R. (1999). Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology* 66, 365-378.
- Galán J.E., Collmer A. (1999). Type III secretion machines: bacterial devices for protein delivery into host cells. *Science* 284, 1322-1328.
- Garber L., Smeltzer M., Fedorka-Cray P., Ladely S., Ferris K. (2003). *Salmonella* enterica serotype enteritidis in table egg layer house environments and in mice in U.S. layer houses and associated risk factors. *Avian Diseases* 47, 134-142.
- Gast R.K., Beard C.W. (1990a). Isolation of *Salmonella* Enteritidis from internal organs of experimentally infected hens. *Avian Diseases* 34, 991-993.

- Gast R.K., Beard C.W. (1990b). Production of *Salmonella* Enteritidis-contaminated eggs by experimentally infected hens. *Avian Diseases* 34, 438-446.
- Gast R.K., Beard C.W. (1993). Recovery of *Salmonella* Enteritidis from inoculated pools of egg contents. *Journal of Food Protection* 56, 21-24.
- Gibson G.R., Roberfroid M.B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition* 125, 1401-1412.
- Glynn M.K., Bopp C., Dewitt W., Dabney P., Mokhtar M., Angulo, F.J. (1998). Emergence of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium DT104 infections in the United States. *New England Journal of Medicine* 338, 1333-1338.
- Guard-Petter J., Henzler D.J., Rahman M.M., Carlson R.W. (1997). On-farm monitoring of mouse-invasive *Salmonella enterica* serovar enteritidis and a model for its association with the production of contaminated eggs. *Applied and Environmental Microbiology* 63, 1588-1593.
- Hald B., Olsen A., Madsen M. (1998). Typhaea stercorea (Coleoptera: Mycetophagidae), a carrier of *Salmonella enterica* serovar Infantis in a Danish broiler house. *Journal of Economy and Entomology* 91, 660-664.
- Hayes S., Nylen G., Smith R., Salmon R.L., Palmer S.R. (1999). Undercooked hens eggs remain a risk factor for sporadic *Salmonella enteritidis* infection. *Communicable Diseases Public Health* 2, 66-67.
- European Commission (Health and Consumer Protection Directorate-general). Trends and Sources of zoonotic agents in the European Union and Norway, 2002.
- Hennessey T.W., Hedberg C.W., Slutsker L., White K.E., Besser-Wiek J.M., Moen M.E., Feldman J., Coleman W.W., Edmonson L.M., MacDonald K.L., Osterholm M.T. (1996). A national outbreak of *Salmonella* enteritidis infections from ice cream. The Investigation Team. *New England Journal of Medicine* 334, 1281-1286.
- Hensel M. (2000). *Salmonella* Pathogenicity Island 2. *Molecular Microbiology* 36, 1015-1023.
- Henzler D.J., Ebel E., Sanders J., Kradel D., Mason J. (1994). *Salmonella* enteritidis in eggs from commercial chicken layer flocks implicated in human outbreaks. *Avian Diseases* 38, 37-43.
- Hoop R.K., Pospischil A. (1993). Bacteriological, serological, histological and immunohistochemical findings in laying hens with naturally acquired *Salmonella* Enteritidis phage type 4 infection. *Veterinary Microbiology* 133, 391-393.
- Hueck C.J. (1998). Type III secretion systems in bacterial pathogens of animals and plants. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 62, 379-433.
- Humphrey T.J. (1994). Contamination of egg shell and contents with *Salmonella* Enteritidis: a review. *International Journal of Food Microbiology* 21, 31-40.
- Humphrey T.J., Chart H., Baskerville A., Rowe B. (1991a). The influence of age on the response of SPF hens to infection with *Salmonella* Enteritidis PT4. *Epidemiology and Infection* 106, 33-43.
- Humphrey T.J., Mead G.C., Rowe B. (1988). Poultry meat as a source of human salmonellosis in England and Wales. Epidemiological overview. *Epidemiology and Infection* 100, 175-184.
- Humphrey T.J., Whitehead A., Gawler A.H.L., Henley A., Rowe B. (1991b). Numbers of *Salmonella* Enteritidis in the contents of naturally contaminated hens' eggs. *Epidemiology and Infection* 106, 489-496.
- Javed T., Hameed A., Siddique M. (1994). Egg shell penetration tendency of different *Salmonella* serotypes by attached ring color method. *Acta Microbiologica Polonica* 43, 67-72.
- Jesenberger V., Procyk K.J., Yuan J., Reipert S., Baccarini M. (2000). *Salmonella* induced caspase-2 activation in macrophages: a novel mechanism in pathogen-mediated apoptosis. *Journal of Experimental Medicine* 192, 1035-1046.
- Keller L.H., Benson C.E., Krotec K., Eckroade R.J. (1995). *Salmonella* Enteritidis colonization of the reproductive tract and forming and freshly laid eggs. *Infection and Immunity* 63, 2443-2449.
- Kennedy M., Villar R., Vugia D.J., Rabatsky-Ehr T., Farley M.M., Pass M., Smith K., Smith P., Cieslak P.R., Imhoff B., Griffin P.M. (2004). Hospitalizations and deaths due to *Salmonella* infections, FoodNet, 1996-1999. *Clinical Infectious Diseases* 15, 142-148.
- Kimura A.C., Reddy V., Marcus R., Cieslak P.R., Mohle-Boetani J.C., Kassenborg H.D., Segler S.D., Hardnett F.P., Barrett T., Swerdlow D.L. (2004). Chicken consumption is a newly identified risk factor for sporadic *Salmonella enterica* serotype Enteritidis infections in the United States: a case-control study in FoodNet sites. *Clinical Infectious Diseases* 38, 244-252.
- Knodler L.A., Finlay B.B. (2001). *Salmonella* and apoptosis. *Microbes and Infection* 3, 1321-1326.
- Kwon Y.M., Rieke S.C. (1998). Induction of acid resistance of *Salmonella* Typhimurium by exposure to short-chain fatty acids. *Applied and Environmental Microbiology* 64, 3458-3463.
- Lawhon S.D., Maurer R., Suyemoto M., Altier C. (2002). Intestinal short-chain fatty acids alter *Salmonella* typhimurium invasion gene expression and virulence through BarA/SirA. *Molecular Microbiology* 46, 1451-1464.
- Lee J.A. (1974). Recent trends in human salmonellosis in England and Wales: the epidemiology of prevalent serotypes other than *Salmonella* typhimurium. *Journal of Hygiene* 72, 185-95.
- Liebana E., Garcia-Migura L., Clouting C., Clifton-Hadley F.A., Breslin M., Davies R.H. (2003). Molecular fingerprinting evidence of the contribution of wildlife vectors in the maintenance of *Salmonella* Enteritidis infection in layer farms. *Journal of Applied Microbiology* 94, 1024-1029.
- Lostroh C.P., Lee C.A. (2001). The *Salmonella* Pathogenicity Island-1 type III secretion system. *Microbes and Infection* 3, 1281-1291.
- Lundberg B.E., Wolf R.E., Dinaue, M.C., Xu Y., Fang F.C. (1999). Glucose 6-phosphate dehydrogenase is required for *Salmonella* Typhimurium virulence and resis-

- tance to reactive oxygen and nitrogen intermediates. *Infection and Immunity* 67, 436-438.
- Mawer S.L., Spain G.E., Rowe B. (1989). *Salmonella* Enteritidis phage type 4 and hens' eggs. *Lancet* 1, 280-281.
- McIlroy, S.G., McCracken, R.M. (1990). The current status of the *Salmonella* enteritidis control programme in the United Kingdom. In : Proceedings of the 94th Annual Meeting of the United States Animal Health Association, Carter Printing, Richmond, Virginia, 450-462.
- Mead P.S., Slutsker L., Dietz V., McCaig L.F., Bresee J.S., Shapiro C., Griffin P.M., Tauxe R.V. (1999). Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Diseases* 5, 607-625.
- Methner U., Al-Shabibi S., Meyer H. (1995). Experimental oral infection of specific pathogen-free laying hens and cocks with *Salmonella* Enteritidis strains. *Journal of Veterinary Medicine* 42, 459-469.
- Mishu B., Koehler J., Lee L.A., Rodrigue D., Brenner F.H., Blake P. and Tauxe R.V. (1994). Outbreaks of *Salmonella* Enteritidis infections in the United States, 1985-1991. *Journal of Infection Diseases* 169, 547-552.
- Miyamoto T., Baba E., Tanaka T., Sasai K., Fukata T., Arakawa A. (1997). *Salmonella* Enteritidis contamination of eggs from hens inoculated by vaginal, cloacal and intravenous routes. *Avian Diseases* 41, 296-303.
- Miyamoto T., Horie T., Baba E., Sasai K., Fukata T., Arakawa A. (1998). *Salmonella* penetration through eggshell associated with freshness of laid eggs and refrigeration. *Journal of Food Protection* 61, 350-353.
- Mohle-Boetani J.C., Werner S.B., Abbott S., Bendana N., Bryant R., Fenstersheib M., Ginsberg M., Gresham L., Koehler J., Mascola L. (1998). *Salmonella* enteritidis infections from shell eggs: outbreaks in California. *West Journal of Medicine* 169, 299-303.
- Mulder R.W. (1997). Safe poultry meat production in the next century. *Acta Veterinaria Hungaria* 45, 307-315.
- Mumma G.A., Griffin P.M., Meltzer M.I., Braden C.R., Tauxe R.V. (2004). Egg quality assurance programs and egg-associated *Salmonella* enteritidis infections, United States. *Emerging Infectious Diseases* 10, 1782-1789.
- Nurmi E., Rantala M. (1973). New aspects of *Salmonella* infection in broiler production. *Nature* 241, 210-211.
- Okamura M., Kamijima Y., Miyamoto T., Tani H., Sasai K., Baba E. (2001a). Differences among six *Salmonella* serovars in abilities to colonize reproductive organs and to contaminate eggs in laying hens. *Avian Diseases* 45, 61-69.
- Okamura M., Miyamoto T., Kamijima Y., Tani H., Sasai K., Baba E. (2001b). Differences in abilities to colonize reproductive organs and to contaminate eggs in intravaginally inoculated hens and in vitro adherences to vaginal explants between *Salmonella* Enteritidis and other *Salmonella* serovars. *Avian Diseases* 45, 962-971.
- Olsen AR, Hammack TS. (2000). Isolation of *Salmonella* spp. from the housefly, *Musca domestica* L., and the dump fly, *Hydrotaea aenescens* (Wiedemann) (Diptera: Muscidae), at caged-layer houses. *Journal of Food Protection* 63, 958-960.
- Parry S.M., Palmer S.R., Slader J., Humphrey T. (2002). Risk factors for *Salmonella* food poisoning in the domestic kitchen—a case control study. *Epidemiology and Infection* 129, 277-285.
- Pascual M., Hugas M., Badiola J.I., Monfort J.M., Garriga M. (1999). *Lactobacillus salivarius* CTC2197 prevents *Salmonella* enteritidis colonization in chickens. *Applied and Environmental Microbiology* 65, 4981-4986.
- Plummer R.A.S., Blissett S.J., Dodd C.E.R. (1995). *Salmonella* Contamination of Retail Chicken Products Sold in the UK. *Journal of Food Protection* 58, 843-846.
- Poppe C. (1999). Epidemiology of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. In: Saeed AM, Gast RK, Potter ME, Wall PG (eds.). *Salmonella enterica serovar Enteritidis in humans and animals. Epidemiology, pathogenesis and control*. Iowa State University Press, Iowa, 3-11.
- Poppe C. (2000). *Salmonella* infections in the domestic fowl. In: Wray, C. and Wray, A. (eds.). *Salmonella* in domestic animals. CAB International, New York, 107-132.
- Price K.A., Keller L.H., Davison S., Eckroade R.J. (1995). Optimal parameters of incubation for detection of *Salmonella* Enteritidis contamination in Grade A table eggs by monoclonal antibody-based ELISA. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 7, 265-268.
- Rabsch W., Hargis B.M., Tsolis R.M., Kingsley R.A., Hinz K.H., Tschape H., Baumler A.J. (2000). Competitive exclusion of *Salmonella* enteritidis by *Salmonella* gallinarum in poultry. *Emerging Infectious Diseases* 6, 443-8.
- Rabsch W., Tschape H., Baumler A.J. (2001). Non-typhoidal salmonellosis: emerging problems. *Microbes and Infection* 3, 237-247.
- Rada V., Duskova D., Marounek M., Petr J. (2001). Enrichment of bifidobacteria in the hen caeca by dietary inulin. *Folia Microbiologica (Praha)* 46, 73-75.
- Ramplung A. (1993). *Salmonella* enteritidis five years on. *Lancet* 342, 317-318.
- Renwick S. A., Irwin R. J., Clarke R. C., McNab W. B., Poppe C., McEwen S.A. (1992). Epidemiological associations between characteristics of registered broiler chicken flocks in Canada and the *Salmonella* culture status of floor litter and drinking water. *Canadian Veterinary Journal* 33, 449-458.
- Rodrigue D.C., Tauxe R.V., Rowe B. (1990). International increase in *Salmonella* enteritidis: a new pandemic? *Epidemiology and Infection* 105, 21-27.
- Schmid H., Burnens A.P., Baumgartner A., Oberreich J. (1996). Risk factors for sporadic salmonellosis in Switzerland. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 15, 725-732.
- Schutze G.E., Fawcett H.A., Lewno M.J., Flice E.L., Kirby R.S. (1996). Prevalence of *Salmonella* Enteritidis in poultry shell eggs in Arkansas. *South Medical Journal* 89, 889-891.
- Shivaprasad H.L., Timoney J.F., Morales S., Lucio, B., Baker, R.C. (1990). Pathogenesis of *Salmonella* Enteritidis infection in laying chickens. I. Studies on egg

- transmission, clinical signs, fecal shedding, and serologic responses. *Avian Diseases* 34, 548-557.
- Spring P., Wenk C., Dawson K.A., Newman K.E. (2000). The effects of dietary mannaoligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in the ceca of *Salmonella*-challenged broiler chicks. *Poultry Science* 79, 205-211.
- St Louis M.E., Morse D.L., Potter M.E., DeMelfi T.M., Guzewich J.J., Tauxe R.V., Blake P.A. (1988). The emergence of grade A eggs as a major source of *Salmonella* enteritidis infections. New implications for the control of salmonellosis. *Journal of the American Medical Association* 259, 2103-2107.
- Skov M.N., Spencer A.G., Hald B., Petersen L., Nauwerby B., Carstensen B., Madsen M. (2004). The role of litter beetles as potential reservoir for *Salmonella* enterica and thermophilic *Campylobacter* spp. between broiler flocks. *Avian Diseases* 48, 9-18.
- Telzak E.E., Budnick L.D., Greenberg M.S., Blum S., Shayegani M., Benson C.E., Schultz S. (1990). A nosocomial outbreak of *Salmonella* enteritidis infection due to the consumption of raw eggs. *New England Journal of Medicine* 323, 394-397.
- Threlfall E.J., Teale C.J., Davies R.H., Ward L.R., Skinner J.A., Graham A., Cassar C., Speed K. (2003). A comparison of antimicrobial susceptibilities in nontyphoidal *Salmonellas* from humans and food animals in England and Wales in 2000. *Microbial Drug Resistance* 9, 183-189.
- Timoney J.F., Shivaprasad H.L., Baker R.C., Rowe B. (1989). Egg transmission after infection of hens with *Salmonella* Enteritidis phage type 4. *The Veterinary Record* 125, 600-601.
- Uzzau S., Brown D.J., Wallis T., Rubino S., Leori G., Bernard S., Casadesús J., Platt D.J., Olsen J.E. (2000). Host adapted serotypes of *Salmonella enterica*. *Epidemiology and Infection* 125, 229-255.
- Van der Velden A.W., Lindgren S.W., Worley M.J., Heffron F. (2000). *Salmonella* pathogenicity island I-independent induction of apoptosis in infected macrophages by *Salmonella enterica* serotype Typhimurium. *Infection and Immunity* 68, 5702-5709.
- van Duijkeren E., Wannet W.J., Houwers D.J., van Pelt W. (2002). Serotype and phage type distribution of *Salmonella* strains isolated from humans, cattle, pigs, and chickens in the Netherlands from 1984 to 2001. *Journal of Clinical Microbiology* 40, 3980-3985.
- van Duijkeren E., Wannet W.J., Houwers D.J., van Pelt W. (2003). Antimicrobial susceptibilities of *Salmonella* strains isolated from humans, cattle, pigs, and chickens in the Netherlands from 1984 to 2001. *Journal of Clinical Microbiology* 41, 3574-3578.
- Van Immerseel F., De Buck J., De Smet I., Haesebrouck F. and Ducatelle R. (2002). Dynamics of immune cell infiltration in the caecal lamina propria of chickens after neonatal infection with a *Salmonella* Enteritidis strain. *Developmental and Comparative Immunology* 26, 355-364.
- Van Immerseel F., Cauwerts K., Devriese L.A., Haesebrouck F., Ducatelle R. Feed additives to control *Salmonella* in poultry. *World Poultry Science Journal* 58, 501-513.
- Van Immerseel F., De Buck J., De Smet I., Pasmans F., Haesebrouck F., Ducatelle R. (2004a). Interactions of butyric acid- and acetic acid-treated *Salmonella* with chicken primary cecal epithelial cells in vitro. *Avian Diseases* 48, 384-391.
- Van Immerseel F., Fievez V., de Buck J., Pasmans F., Martel A., Haesebrouck F., Ducatelle R. (2004b). Microencapsulated short-chain fatty acids in feed modify colonization and invasion early after infection with *Salmonella* enteritidis in young chickens. *Poultry Science* 83, 69-74.
- Van Immerseel F., De Buck J., Boyen F., Bohez L., Pasmans F., Volf J., Sevcik M., Rychlik I., Haesebrouck F., Ducatelle R. (2004c). Medium-chain fatty acids decrease colonization and invasion through hilA suppression shortly after infection of chickens with *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *Applied and Environmental Microbiology* 70, 3582-3587.
- van Pelt W., Valkenburgh S.M. (2001). Zoonoses and zoonotic agents in humans, food, animals and feed in the Netherlands. Keuringsdienst van Waren, PO box 1608, 2500RC Den Haag.
- Vazquez-Torres A., Fang F.C. (2001). *Salmonella* evasion of the NADPH phagocyte oxidase. *Microbes and Infection* 3, 1313-1320.
- Vimal D.B., Khullar M., Gupta S., Ganguly N.K. (2000). Intestinal mucins: the binding sites for *Salmonella typhimurium*. *Molecular Cellular Biochemistry* 204, 107-117.
- Wang H., Slavik M.F. (1998). Bacterial penetration into eggs washed with various chemicals and stored at different temperatures and times. *Journal of Food Protection* 61, 276-279.
- Wilson IG. (2004). Antimicrobial resistance of *Salmonella* in raw retail chickens, imported chicken portions, and human clinical specimens. *Journal of Food Protection* 67, 1220-1225.
- Woodward M.J., Gettinby G., Breslin M.F., Corkish J.D., Houghton S. (2002). The efficacy of Salenvac, a *Salmonella enterica* subsp. Enterica serotype Enteritidis iron-restricted bacterin vaccine, in laying chickens. *Avian Pathology* 31, 383-392.
- Wybo I., Wildemauwe C., Godard C., Bertrand S., Collard J.M. (2004). Surveillance of antimicrobial drug resistance in nontyphoid human *Salmonella* in Belgium: trends for 2000-2002. *Acta Clinica Belgica* 59, 152-160.
- Zhang-Barber L., Turner A.K., Barrow P.A. (1999). Vaccination for control of *Salmonella* in poultry. *Vaccine* 17, 2538-2545.
- Zhou D. and Galán J. (2001). *Salmonella* entry into host cells: the work in concert of type III secreted effector proteins. *Microbes and Infection* 3, 1293-1298.