

Katedra Profilaktyki Ogólnej i Chorób Ptaków
Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR w Lublinie

JERZY RZEDZICKI, MAŁGORZATA BOŚ,
STANISŁAW TOKARZEWSKI, ANETA KOŁODZIEJCZYK,
KAMILLA SMEJA

*Mikrobiologiczna i serologiczna analiza jaj pochodzących
od kur doświadczalnie zakażonych pałeczkami
S. enteritidis i S. typhimurium**

Microbiological and serological analysis of eggs from hens experimentally
infected with *S. enteritidis* and *S. typhimurium*

Słowa kluczowe: jaja, doświadczalne zakażenie, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*.
Key words: eggs, experimental infection, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*.

Toksykoinfekcje pokarmowe wywoływane przez odzwierzęce pałeczki *Salmonella* stanowią poważny problem epidemiologiczny w skali światowej. Wśród różnego rodzaju żywności będącej źródłem zatruc i zakażeń pokarmowych ludzi najważniejszą rolę w aspekcie salmonelozy odgrywają produkty spożywcze pozyskiwane od drobiu, a zwłaszcza jaja. Serowarem obecnie najczęściej izolowanym z jaj oraz odpowiedzialnym za większość zakażeń ludzi jest *S. enteritidis* (*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serowar *Enteritidis*) (6, 9, 16, 18). W Polsce w roku 1997 serowar ten został wyosobniony od 90,2% osób chorych na salmonelozę. Drugie miejsce zajmował serowar *S. typhimurium* (3,0% osób chorych) (8).

Istotna rola jaj w epidemiologii salmoneloz wiąże się z faktem, że za ich pośrednictwem następuje transmisja salmonel ze stad zarodowych i reprodukcyjnych na stada towarowe drobiu, będące źródłem żywności dla ludzi. Mechanizmy, za pośrednictwem których zachodzi przenikanie salmonel do jaj, nie są obecnie w pełni wyjaśnione. Zewnętrzna powierzchnia skorupy może ulegać zanieczyszczeniu tymi bakteriami wskutek zetknięcia się z kałem wydalany przez zakażone ptaki. Niektóre serowary *Salmonella* mają zdolność do penetracji skorupy i wnikania do wnętrza jaja (17). Zakażenie jaj może być także wynikiem transowarialnej transmisji zarazków. U zakażonych niosek pałeczki *Salmonella* mogą umiejscawiać się w jajniku, jajowodzie lub na otrzewnej, a stąd przenikać do rozwijających się jaj. Taki mechanizm transmisji wykazano w przypadku *S. gallinarum-pullorum*, a także *S. enteritidis*, *S. typhimurium* oraz *S. heidelberg* (13, 15, 20, 21).

*Badania finansowane przez KBN Projekt Nr 4 PO5D 040 17.

Obserwacje prowadzone przez H e n z l e r a i wsp. (9) oraz H u m p h r e y a i wsp. (11) w przebiegu naturalnych infekcji *S. enteritidis* u kur niosek wskazują, że jaja zakażone tym zarazkiem pojawiają się okresowo, z większą częstotliwością w początkowej fazie nieśności stada. Ponadto z badań tych wynika, że odsetek jaj zakażonych nie przekracza zwykle 1%, a liczba komórek salmonel w takich jajach jest mała (poniżej 10 komórek w zawartości jednego jaja).

Pierwszoplanowa rola jaj jako źródła salmonelozy u człowieka w dużym stopniu wynika z nieodpowiednich warunków ich przechowywania. Przetrzywanie zakażonych jaj w temperaturze pokojowej prowadzi do szybkiego namnażania się pałeczek *Salmonella*, co z kolei umożliwia im przetrwanie podczas standardowej obróbki termicznej jaj. H u m p h r e y i wsp. (12) wykryli te bakterie w żółtku jaj gotowanych przez 8 min. oraz przygotowanych w postaci jaj sadzonych. Według tych badaczy zachowanie nawet niewielkiej części żółtka w formie płynnej umożliwia przeżycie salmonel w jajach.

U ptaków dorosłych zakażenia pałeczkami *Salmonella*, z wyjątkiem *S. gallinarum-pullorum*, często przebiegają bezobjawowo (20). Wykrywanie infekcji polega na izolacji i identyfikacji zarazka i/lub badaniu serologicznym wykrywającym specyficzne przeciwciała. Materiałem służącym do takich badań mogą być m.in. jaja. Określenie stopnia zakażenia jaj ma zasadnicze znaczenie w aspekcie epidemiologicznym. Czynniki przemawiającymi za celowością wykorzystania jaj w diagnostyce jest również łatwość ich pozyskiwania, a także brak wywoływania stresu u ptaków, co np. ma miejsce przy pobieraniu krwi.

Niniejsze opracowanie przedstawia analizę mikrobiologiczną i serologiczną jaj pozyskanych od kur niosek doświadczalnie zakażonych pałeczkami *Salmonella*.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły jaja zniesione przez 13 kur rasy Isa 215 podczas 8-tygodniowego okresu doświadczenia. Nioski pochodziły z komercyjnego stada reprodukcyjnego w wieku 51 tygodni. Przed rozpoczęciem doświadczenia wykonano badania bakteriologiczne kału i jaj oraz badania serologiczne testem ELISA surowic i żółtek jaj w celu wykluczenia zakażenia pałeczkami *Salmonella*. Na czas trwania doświadczenia ptaki umieszczono w osobnych klatkach, w pomieszczeniach o temp. 21-23°C, w 12-godzinnym cyklu oświetleniowym, ze swobodnym dostępem do paszy i wody.

Do zakażenia kur wykorzystano 2 szczepy *Salmonella* (*S. enteritidis* i *S. typhimurium*) pochodzące z materiału zgromadzonego w Katedrze Profilaktyki Ogólnej i Chorób Ptaków AR w Lublinie. Bakterie namnażano w bulionie odżywczym w temp. 37°C przez 24 godz. Uzyskaną hodowlę w ilości 10 ml przenoszono do 1 l bulionu tryptozowo-sójowego i ponownie inkubowano przez 12 godz. Po inkubacji, hodowlę odwirowywano (5000 x g, 30 min. 4°C) i 3-krotnie przemywano jałowym 0,85% roztworem NaCl. Otrzymaną zawiesinę bakterii, o gęstości optycznej odpowiadającej w przybliżeniu standardowi 10⁷ CFU/ml wg skali McFarlanda, podano ptakom bezpośrednio do wola w dawce 1 ml/sztukę. Pięć kur zakażono szczepem *S. enteritidis*, 5 – *S. typhimurium*, pozostałe 3 nie zostały zakażone i stanowiły grupę kontrolną.

Z każdego jaja bezpośrednio po zbiorze pobierano wymaz ze skorupy. Następnie skorupę dezynfekowano przez zanurzenie w wodzie o temp. 100°C na 12 sek. W dalszym etapie jajo rozbijano i umieszczano osobno białko i żółtko w jałowych naczyniach.

Wykrywanie pałeczek *Salmonella* w wymazach ze skorup oraz jałowo pobranych białkach i żółtkach przeprowadzono zgodnie z normą ISO 6579: 1993(E). Badane próbki inkubowano w

zbuforowanej wodzie peptonowej, a uzyskaną hodowlę bakteryjną przesiewano na płynne podłoże selektywne Rappaporta-Vassiliadis oraz pożywkę z kwaśnym seleninem sodowym i cystyną. W kolejnym etapie hodowlę przesiewano na stałe pożywki selektywne BGA i XLD. Po inkubacji na płytkach wyszukiwano kolonie charakterystyczne dla pałeczek *Salmonella*. W przypadku obecności takich kolonii, z każdego podłoża wybierano po 5 kolonii i identyfikowano je za pomocą zestawu API 20E oraz odczynu aglutynacji szkiełkowej.

Badania serologiczne żółtek jaj przeprowadzono przy użyciu zestawu ELISA, w którym do opłaszczenia mikroplatek wykorzystano lipopolisacharyd *S. enteritidis*. Żółtka przygotowywano do badań w oparciu o metodę Bollen i wsp. (3). Żółtka rozcieńczano jałową wodą destylowaną w stosunku 1 : 10, a następnie zamrażano w temp. -20°C . Po rozmrożeniu do próbek dodawano chloroform w proporcji 1 : 50, dokładnie mieszano i wirowano ($2500 \times g$, 30 min., temp. 4°C). Do oznaczeń wykorzystywano supernatant w rozcieńczeniu 1 : 10. Każde żółtko наносono do dwóch dołków mikroplatek. Wyniki testu odczytywano w czytniku do mikroplatek przy długości fali 405 nm. Żółtko klasyfikowano jako dodatnie, gdy średnia wartość jego absorbancji (OD) wynosiła $\geq 0,2$, a średnia wartość absorbancji kontroli dodatniej była $> 0,4$.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Obserwacje prowadzone nad zakażeniem *S. enteritidis* i *S. typhimurium* u kur niosek wskazują na brak zależności pomiędzy stopniem zakażenia stada ocenianym w oparciu o badania mikrobiologiczne narządów wewnętrznych, wymazów z kloaki oraz próbek pobranych ze środowiska utrzymania ptaków a obecnością tych

Tab. 1. Wyniki badań bakteriologicznych jaj pochodzących od kur doświadczalnie zakażonych pałeczkami *Salmonella*
Results of bacteriological investigations of eggs laid by hens experimentally infected with *Salmonella*

Tydzień doświadczenia								
0*	1	2	3	4	5	6	7	8
Jaja kur zakażonych <i>S. enteritidis</i>								
0/14**	4/16	4/15	0/18	0/14	0/6	0/8	0/8	0/6
(0)***	(25,0)	(26,7)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
Jaja kur zakażonych <i>S. typhimurium</i>								
0/12**	9/17	7/17	0/21	0/17	0/9	0/16	0/6	0/5
(0)***	(52,9)	(41,2)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)

* – Tydzień przed zakażeniem, ** – liczba jaj zakażonych / liczba jaj zbadanych, *** – odsetek jaj zakażonych.

* – One week before infection, ** – number of infected eggs, *** – percentage of m.

Tab. 2. Występowanie pałeczek *Salmonella* w poszczególnych elementach jaj zakażonych
The occurrence of *Salmonella* in the particular elements of infected eggs

Nr kury	Dzień PZ*	Skorupa	Białko	Żółtko
Kury zakażone <i>S. enteritidis</i>				
1 E	1	+	-	-
	4	+	-	+
	7	+	+	+
	8	-	+	+
2 E	3	+	-	-
	10	+	-	-
3 E	8	+	-	+
	9	+	-	-
Kury zakażone <i>S. typhimurium</i>				
1 T	3	+	+	+
	6	+	-	-
	9	+	-	+
	12	+	-	-
2 T	3	+	-	-
	6	+	-	-
3 T	1	-	+	-
	6	-	+	+
	7	+	+	+
	10	+	-	-
	12	+	-	-
4 T	4	+	-	-
	5	+	-	+
	8	+	-	-
	10	+	-	-
5 T	8	+	+	+

* – Dzień zniesienia jaja, po zakażeniu kury. *Egg-laying day following hen infection.

zarazków w jajach. Najbardziej miarodajnym wskaźnikiem określającym zdolność stada ptaków do produkcji jaj zakażonych jest badanie bakteriologiczne jaj (7, 10).

W przeprowadzonych badaniach mikrobiologicznych pałeczki *Salmonella* izolowano z jaj tylko w okresie pierwszych 2 tygodni po doświadczalnym zakażeniu kur (ostatnie zakażone jaja wykryto 12 dnia). Odsetek jaj zakażonych *S. enteritidis* w 1 tygodniu wynosił 25%, a w 2 – 26,7%. *S. typhimurium* izolowano z 52,9% i 41,2% jaj, odpowiednio w 1 i 2 tygodniu doświadczenia (tab. 1). Pałeczek *Salmonella* nie wyosobniono z żadnego jaja pochodzącego od kur grupy kontrolnej.

Salmonele wykrywano najczęściej na zewnętrznej powierzchni skorupy. Obecność *S. enteritidis* wykazano na skorupie 7 spośród 8 zakażonych jaj, przy czym w przypadku 4 jaj skorupa była jedynym źródłem izolacji zarazka. *S. typhimurium* wykryto na skorupie 14 spośród 16 zakażonych jaj, a u 9 jaj tylko na skorupie. Rzadziej pałeczki *Salmonella* izolowano z zawartości jaj, przy czym częstość izolacji z żółtka była większa niż z białka. Obecność *S. enteritidis* wykryto w 4

żółtkach oraz 2 białkach, natomiast *S. typhimurium* izolowano z 6 żółtek i 5 białek (tab. 2).

Z badań doświadczalnych innych autorów wynika, że częstość izolacji *S. enteritidis* z jaj kształtuje się na niskim poziomie (0,6-0,7%) lub jest stosunkowo duża, ale – podobnie jak zaobserwowano w badaniach własnych – tylko przez krótki okres po zakażeniu kur (1, 10). M e t h n e r i wsp. (14) izolowali *S. enteritidis* z jaj do 4 tygodnia, przy czym źródłem izolacji były przede wszystkim skorupy. Odsetek skorup zanieczyszczonych tym zarazkiem w 1, 2 i 3 tygodniu doświadczenia wynosił odpowiednio 80%, 55% i 10%. Znacznie niższy poziom zakażenia przedstawiały białka jaj – 0,7% i to tylko w 1 tygodniu. W żadnym przypadku *S. enteritidis* nie wyisobniono z żółtka. T i m o n e y i wsp. (21) wykrywali obecność *S. enteritidis* w białkach i żółtkach 15% jaj jedynie do 13 dnia po zakażeniu ptaków. Z kolei G a s t i B e a r d (7) w 1 tygodniu po zakażeniu izolowali tę bakterię z 41% skorup, 71% białek oraz 50% błon żółtkowych. W 2 tygodniu obecność zarazka wykryli tylko na błonach żółtkowych (2%).

Badania K e l l e r i wsp. (13) wskazują, że *S. enteritidis* i *S. typhimurium* w jednakowym stopniu przejawiają zdolność do kolonizacji układu rozrodczego kur oraz przenikania do ich jaj. Wyniki badań własnych wykazały natomiast, że odsetek jaj zakażonych *S. enteritidis* zarówno w 1, jak i 2 tygodniu doświadczenia był około dwukrotnie niższy w porównaniu z odsetkiem jaj, z których izolowano *S. typhimurium*. Sytuacja ta niewątpliwie była związana z faktem, że *S. enteritidis* wykrywano w jajach pozyskanych tylko od 3 spośród 5 zakażonych kur, natomiast *S. typhimurium* izolowano przynajmniej z 1 jaja od każdej zakażonej nioski (tab. 2). Wydaje się, że zaobserwowane różnice w częstości izolacji tych dwóch serowarów *Salmonella* z jaj mogą wynikać z małej liczby kur zakażonych lub też mogą świadczyć o

Tab. 3. Udział żółtek pozytywnych serologicznie w ogólnej liczbie żółtek zbadanych
Percentage of serologically positive yolks in the total number of examined yolks

Tydzień doświadczenia								
0*	1	2	3	4	5	6	7	8
Żółtka kur zakażonych <i>S. enteritidis</i>								
0/14**	0/16	1/15	17/18	14/14	6/6	8/8	8/8	6/6
(0)***	(0)	(6,7)	(94,4)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)
Żółtka kur zakażonych <i>S. typhimurium</i>								
0/12**	0/17	5/17	19/21	17/17	9/9	16/16	6/6	5/5
(0)***	(0)	(29,4)	(90,5)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)

* – Tydzień przed zakażeniem, ** – liczba żółtek pozytywnych / liczba żółtek zbadanych,
*** – odsetek żółtek pozytywnych.

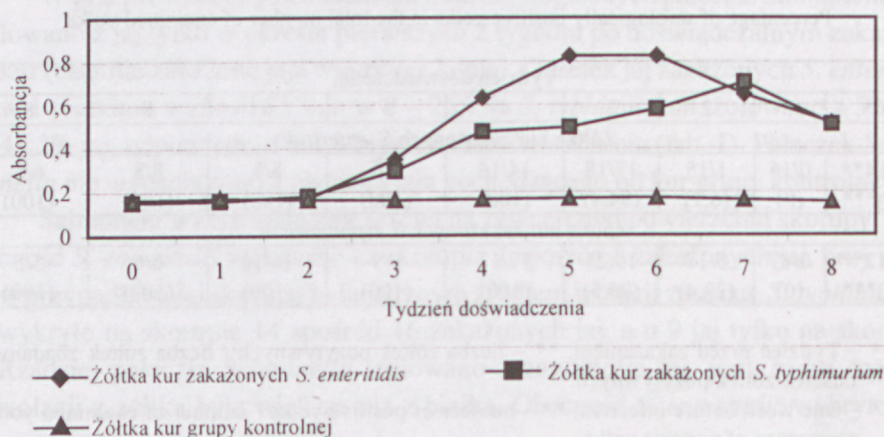
* – One week before infection, ** – number of positive yolks / number of examined yolks,
*** – percentage of positive yolks.

różnej zdolności użytych w doświadczeniu szczepów do kolonizacji tkanek i narządów ptaków oraz przenikania do ich jaj. Wyniki te nie odzwierciedlają obecnej sytuacji epidemiologicznej, w świetle której serowarem najczęściej izolowanym z jaj jest *S. enteritidis* (6, 9, 16, 18).

Zwraca uwagę fakt, że obecność pałeczek *Salmonella* stwierdzano najczęściej na zewnętrznej powierzchni skorupy jaj. Sytuacja ta może być wynikiem zanieczyszczenia skorup jaj kałem zakażonych ptaków w kloace lub w gnieździe, po zniesieniu jaja. Z drugiej strony badania Humphreya i wsp. (10) wskazują na brak zależności pomiędzy kolonizacją jelit przez *S. enteritidis* a obecnością tego zarazka na skorupie jaj. Cytowani badacze wykazali obecność *S. enteritidis* na skorupie jaj zniesionych przez kurę, u której w 24-dniowym okresie poprzedzającym zniesienie pierwszego zakażonego jaja nie wykryto tych bakterii w kale.

Wykazana w przeprowadzonych badaniach obecność *S. enteritidis* i *S. typhimurium* w zawartości jaj zdaniem autorów mogła być efektem przenikania zarazków z układu rozrodczego niosek do żółtka i białka podczas formowania się jaj, przed wytworzeniem skorupy. Możliwość zakażenia żółtka i białka w drodze penetracji bakterii przez skorupę wydaje się mniej prawdopodobna, gdyż badania mikrobiologiczne jaj przeprowadzano każdego dnia bezpośrednio po ich zbiorze. Badania Schoeni i wsp. (17) wskazują natomiast, że *S. enteritidis* i *S. typhimurium* przenikają przez skorupę do zawartości jaj dopiero po 3 dniach ich przechowywania w temp. 25°C. Argumentem przemawiającym za możliwością transowarialnego zakażenia badanych jaj jest również fakt, że w trzech przypadkach (1 jajo zakażone *S. enteritidis* i 2 jaja zakażone *S. typhimurium*) zarazki izolowano z zawartości jaj, natomiast nie wykryto ich obecności na skorupie.

Ryc. 1. Średnia wartość absorbancji żółtek jaj w poszczególnych tygodniach doświadczenia
Average value of yolks absorbance in the particular weeks of experiment



Ponadto pałeczki *Salmonella* częściej stwierdzano w żółtku niż białku jaj. Według Braun i wsp. (4) *S. enteritidis* może przenikać z białka do żółtka, ale dopiero po pewnym czasie ich przechowywania. Z badań tych autorów wynika, że minimalny czas potrzebny do migracji tego zarazka z białka do żółtka w zakresie temp. 20-30°C wynosi 1-2 dni, zaś w temp. 7°C przynajmniej 14 dni.

Częstszą izolację *S. enteritidis* z żółtek niż białek jaj wykazał również B i c h l e r i wsp. (2). Zdaniem tych badaczy obecność zarazków w zawartości żółtka w krótkim okresie po zakażeniu kur sugeruje ich zdolność do wywoływania bakteriemii oraz przenikania do tkanek i narządów uczestniczących w powstawaniu jaj.

Wyniki badań serologicznych żółtek jaj przedstawiono w tab. 3 i na ryc. 1. Pierwsze żółtka serologicznie dodatnie w teście ELISA wykryto w 2 tygodniu po zakażeniu kur. Odsetek żółtek pozytywnych, pochodzących od kur zakażonych *S. enteritidis* wynosił 6,7%, natomiast w przypadku kur zakażonych *S. typhimurium* – 29,4%. W 3 tygodniu wartości te przedstawiały się następująco – 94,4% żółtek pozytywnych od kur zakażonych *S. enteritidis* oraz 90,5% żółtek dodatnich od kur zakażonych *S. typhimurium*. Począwszy od 4 tygodnia aż do końca doświadczenia (8 tydz.) wszystkie żółtka pochodzące zarówno od ptaków zakażonych *S. enteritidis*, jak i *S. typhimurium* były serologicznie pozytywne. W żółtkach kur grupy kontrolnej wyników serologicznie dodatnich nie stwierdzono.

Począwszy od 3 tygodnia po zakażeniu ptaków wartości średnie absorbancji (OD) wyliczone dla żółtek badanych w poszczególnych tygodniach doświadczenia przekraczały wartość 0,2. W następnych tygodniach wartości te narastały osiągając poziom maksymalny w 6 tygodniu (OD = 0,826) w przypadku żółtek pozyskanych od kur zakażonych *S. enteritidis* oraz w 7 tygodniu (OD = 0,704) w przypadku żółtek pochodzących od kur zakażonych *S. typhimurium*. W kolejnych tygodniach badań średnie wartości OD uległy zmniejszeniu.

Uzyskane wyniki badań serologicznych żółtek jaj potwierdzają prace innych autorów. S u n w o o i wsp. (19) wykazali najwyższy poziom przeciwciał anty *S. typhimurium*, mierzony wartością gęstości optycznej (OD > 0,3) w 6 tygodniu po doświadczalnym zakażeniu kur. C o r k i s h i wsp. (5) badając nioski naturalnie zakażone *S. enteritidis* stwierdzili, że odsetek żółtek posiadających swoiste przeciwciała wynosił 81% i kształtował się na poziomie zbliżonym do odsetka dodatnich surowic – 95,7%.

Podsumowując przedstawione dane należy stwierdzić, że badania mikrobiologiczne jaj stanowią efektywną metodę wykrywania *S. enteritidis* i *S. typhimurium*, ale tylko przez krótki okres po zakażeniu kur. W dłuższym okresie bardziej efektywne w identyfikacji zakażenia są badania serologiczne żółtek jaj.

PIŚMIENNICTWO

1. Baskerville A., Humphrey T. J., Fitzgeorge R. B., Cook R. W., Chart H., Rowe B., Whitehead A.: Airborne infection of laying hens with *Salmonella enteritidis* phage type 4. Vet. Rec. **130**, 395, 1992.
2. Bichler L. A., Nagaraja K. V., Halvorson D. A.: *Salmonella enteritidis* in eggs, cloacal swab specimens, and internal organs of experimentally infected White Leghorn chickens. Am. J. Vet. Res. **57**, 498, 1996.
3. Bollen L. S., Crowley A., Stodulski G., Hau J.: Antibody production in rabbits and chickens immunized with human IgG. A comparison of titre and avidity development in rabbit serum, chicken serum and egg yolk using three different adjuvants. J. Immunol. **191**, 113, 1996.
4. Braun P., Fehlhaber K.: Migration of *Salmonella enteritidis* from the albumen into the egg yolk. Int. J. Food Microbiol. **25**, 95, 1995.
5. Corkish J. D., Davies R. H., Wray C., Nicholas R. A. J.: Observations on a broiler breeder flock naturally infected with *Salmonella enteritidis* phage type 4. Vet. Rec. **134**, 591, 1994.
6. Cowden J. M., Chisholm D., O'Mahony M., Lynch D.: Two outbreaks of *Salmonella enteritidis* phage type 4 infection associated with the consumption of fresh shell-egg products. Epidemiol. Infect. **103**, 47, 1989.
7. Gast R. K., Beard C. W.: Production of *Salmonella enteritidis*-contaminated eggs by experimentally infected hens. Avian Dis. **34**, 438, 1990.
8. Góncz E.: Salmonellozy w 1997 roku. Przegl. Epidemiol. **53**, 83, 1999.
9. Henzler D. J., Ebel E., Sanders J., Kradel D., Mason J.: *Salmonella enteritidis* in eggs from commercial chicken layer flocks implicated in human outbreaks. Avian Dis. **38**, 37, 1994.
10. Humphrey T. J., Baskerville A., Chart H., Rowe B., Whitehead A.: *Salmonella enteritidis* PT 4 infection in specific pathogen free hens: influence of infecting dose. Vet. Rec. **129**, 482, 1991.
11. Humphrey T. J., Baskerville A., Mawer S., Rowe B., Hopper S.: *Salmonella enteritidis* phage type 4 from the contents of intact eggs: a study involving naturally infected hens. Epidemiol. Infect. **103**, 415, 1989.
12. Humphrey T. J., Greenwood M., Gilbert R. J., Rowe B., Chapman P. A.: The survival of salmonellas in shell eggs cooked under simulated domestic conditions. Epidemiol. Infect. **103**, 35, 1989.
13. Keller L. H., Schifferli D. M., Benson C. E., Aslam S., Eckroade R. J.: Invasion of chicken reproductive tissues and forming eggs is not unique to *Salmonella enteritidis*. Avian Dis. **41**, 535, 1997.
14. Methner U., Al-Shabini S., Meyer H.: Experimental oral infection of specific pathogen-free laying hens and cocks with *Salmonella enteritidis* strains. J. Vet. Med. B. **42**, 459, 1995.
15. Poppe C., Duncan C. L., Mazzocco A.: *Salmonella* contamination of hatching and table eggs: a comparison. Can. J. Vet. Res. **62**, 191, 1998.
16. Przybylska A.: Ogniska zbiorowych zatrueń i zakażeń pokarmowych o etiologii bakteryjnej w Polsce w latach 1990-1996. Przegl. Epidemiol. **52**, 269, 1998.
17. Schoeni J. L., Glass K. A., McDermott J. L., Wong A. C. L.: Growth and penetration of *Salmonella enteritidis*, *Salmonella heidelberg* and *Salmonella typhimurium* in eggs. Int. J. Food Microbiol. **24**, 385, 1995.
18. Stevens A., Joseph C., Bruce J., Fenton D., O'Mahony M., Cunningham D., O'Connor B., Rowe B.: A large outbreak of *Salmonella enteritidis* phage type 4 associated with eggs from overseas. Epidemiol. Infect. **103**, 425, 1989.

19. Sunwoo H. H., Nakano T., Dixon W. T., Sim J. S.: Immune responses in chicken against lipopolysaccharide of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. Poultry Sci. **75**, 342, 1996.
20. Suzuki S.: Pathogenicity of *Salmonella enteritidis* in poultry. Int. J. Food Microbiol. **21**, 89, 1994.
21. Timoney J. F., Shivaprasad H. L., Baker R. C., Rowe B.: Egg transmission after infection of hens with *Salmonella enteritidis* phage type 4. Vet. Rec. **125**, 600, 1989.

SUMMARY

A significant proportion of foodborne *Salmonella* outbreaks in recent years has been attributed to the consumption of contaminated eggs or food containing eggs. The purpose of the present study was microbiological and serological investigation of eggs laid by hens experimentally infected with *S. enteritidis* and *S. typhimurium*. The laying hens at 51 weeks of age were inoculated by the crop route with 10^7 colony forming units (cfu) of *Salmonella* in 1 ml of sterile physiological saline. The microbiological and serological investigations of eggs were conducted for 8 weeks' postinoculation. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used for the evaluation serological response in egg yolks.

Eggs contaminated by *S. enteritidis* and *S. typhimurium* were produced by the infected hens only during first 2 weeks' postinoculation. The organisms were isolated most frequently from the outside of the egg shells. The frequency of recovery of *S. enteritidis* and *S. typhimurium* from the contents of eggs were considerably lower than from egg shells. In eggs with contaminated contents the bacteria were more frequently isolated from the yolk than from the albumen. From 3rd week of postinoculation the average values of antibody activity in the egg yolks were higher than 0.2. The highest level of antibody activity in the egg yolks was in 6th week of postinoculation (OD=0.826, eggs of hens infected with *S. enteritidis*) and 7th week of postinoculation (OD=0.704, eggs of hens infected with *S. typhimurium*).

Our results indicated that microbiological investigation of eggs was an effective method of *S. enteritidis* and *S. typhimurium* detection but only short time after postinoculation. For a long time more effective in identification of the infection was serological investigation of egg yolks.