

专论与综述

Nurmi 概念及其在控制鸡沙门氏菌病中的应用进展

曹郁生

(江西省科学院微生物所 南昌 330029)

关键词 Nurmi 概念, 鸡沙门氏菌, CE 培养物

分类号 S852.6 文献标识码 C 文章编号 ISSN-0253-2654(1999)-01-53-55

由沙门氏菌、大肠杆菌、弯曲杆菌等引起的食物传播疾病,不但造成巨大的经济损失,而且危害人类健康,是一个全球范围重视的问题。其中以沙门氏菌引起的疾病为最常见者。近年来,随着市场上鸡肉及其制品销量的增加,人的沙门氏菌病也与之平行增加。沙门氏菌污染的鸡肉正是此类传染病的主要根源和媒介。在美国,由于污染的肉和鸡引起的沙门氏菌感染估计约有200多万例,造成约10亿美元的损失^[1],同样的情况也出现在其它国家^[2]。

对养禽业及其加工业而言,污染的危险存在于每一个环节中。感染沙门氏菌等病原菌的鸡及其它家禽,是最主要的传染源。在国内,许多养鸡场采用长期在饲料中添加抗生素及化学药品的方法来降低病原菌的感染,甚至将抗生素持续使用,从雏禽直至屠宰,这不仅影响了肉品的质量,又从另一方面给消费者带来了不安全。因而发现一种有效、无污染、无副作用的防治措施是极为需要的。

七十年代初,芬兰科学家 Nurmi 和 Rantala 根据他们的研究,首先提出了利用竞争排除方法控制鸡沙门氏菌感染的理论及方法,随之被后来大量的研究所证实,从而翻开了防治沙门氏菌及其它食物传播性疾病的崭新的一页。

1 Nurmi 概念

1973年,芬兰科学家 Nurmi 和 Rantala 指出^[3-4],雏鸡对沙门氏菌易感的原因,是由于肠道天然菌群进入体内太晚,不能及时定植发展,他们通过给1d龄的雏鸡喂服成年健康鸡的肠道内容物悬浮液或厌氧培养物,有效地提高了雏鸡对沙门氏菌的抵抗力。这一理论及方法随之在许多国家的实验室及现场试验中得到证实

和发展,并被称之为 Nurmi 概念,或竞争排除。

Nurmi 概念主要包括如下内容^[5]:

- (1) 刚孵出的雏鸡可以被单个沙门氏菌所感染。
- (2) 较大的鸡具有较强的抗沙门氏菌感染的能力,主要是因其消化道中,特别是盲肠或其它肠道中天然菌群的存在。
- (3) 成年鸡肠道天然菌群,可以在由大鸡孵化的雏鸡体内迅速发展繁殖。
- (4) 使用现代化的孵化器时,大批量生产的雏鸡处于一个相当清洁的环境,雏鸡无从得到天然菌群并让其在肠道中及时定植发展。
- (5) 雏鸡室一般都经过消毒,而且只有雏鸡进入,因而成年鸡的天然菌群难以进入雏鸡体内并定植。
- (6) 刚孵出的小鸡在摄入成年鸡的天然肠道菌群后,可立即产生抵抗 $10^3 \sim 10^6$ 个沙门氏菌感染的能力。
- (7) 成年家禽肠道菌群可以通过其粪便、盲肠内容物的悬浮液,或其厌氧培养物而被引入雏鸡体内,称之为“处理物”,这些处理物可以直接饲喂或加入饮水或饲料被摄入,气雾也是一个有效的途径。
- (8) 处理物应来源于相同的种,尽管不同种来源的处理物有交叉保护作用。

2 竞争排除培养物

2.1 培养物的来源 用于排除沙门氏菌或其它病原菌的肠道天然菌群或其培养物,称之为竞争排除培养物(competitive exclusion culture, 下简称 CE 培养物)或

国家自然科学基金资助项目(No. 39760059)

Project Granted by Chinese National Natural Science Fund (No. 39760059).

1997-11-17收稿,1998-05-29修回

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

Nurmi 培养物(Nurmi culture)。这些培养物主要来自健康无沙门氏菌的成年家禽的消化道,开始人们曾应用肠道内容物或粪便的悬浮液,近年来,研究者多利用盲肠或其它肠道内容物来得到 CE 培养物。

来源于不同种家禽的 CE 培养物,有着交叉保护作用。如来自鸡的 CE 培养物可以保护火鸡免于沙门氏菌的感染,从火鸡来源的也可以保护鸡。但应当强调利用同种动物的天然菌群来作为 CE 培养物^[6~7]。

鸡的日龄大小决定着它们供给的菌群保护能力的大小。1~3d 龄的雏鸡一般不能提供有良好保护能力的菌群,除非提前用 CE 培养物处理它们。研究证明,用 CE 培养物处理过的雏鸡,在 6~8h 后就可产生具有很强保护力的菌群。Stavric 等从接种了 CE 培养物的 3d 龄雏鸡盲肠中得到了同样有效的培养物^[8]。笔者在美国进行这方面的研究时,采取 10 周龄鸡盲肠内容物作为起始菌群,所得到的厌氧培养物对雏鸡显示了良好的保护作用。对利用 SPF 鸡作为菌群供体的意见尚不一致,一些研究者认为来自 SPF 鸡的菌群培养物,比起来自普通喂养鸡的菌群培养物,保护能力要弱一些^[10]。

2.2 CE 培养物的种类 根据 CE 培养物中所含的细菌种类是否清楚,可以将其分为两大类:一类是细菌种类不清楚的培养物,即未定培养物(undefined culture);另一类是细菌种类明确的培养物,即特定培养物(defined culture)。多年的研究和现场试验证明,这两种培养物均能有效地促进雏禽对沙门氏菌的抵抗力。由于至今尚无合适的从肠道菌群中筛选和分离保护性细菌的方法,所以大多数特定培养物都是人为的利用某些肠道细菌组合而成,从十多种到上百种细菌不等。在实际应用中,特定培养物的保护能力不如未定培养物稳定,效果不如后者好。虽然未定培养物来自正常菌群,但由于其中所含细菌种类不明,出于安全考虑,很难为大部分国家的检查部门及法规所接受和通过。因此开发具有良好、稳定保护能力的特定培养物,用于控制禽沙门氏菌及其它一些病原菌的感染,是当前国际上注意的热点^[10~11]。

未定培养物是直接来自健康鸡的粪便,肠道内容物得到的厌氧培养物。自从 Nurmi 等首次将其用于控制沙门氏菌感染以来,许多国家的实验室也进行了同样的工作,并证实了未定培养物的良好效果,已有几种商品化产品在瑞典、芬兰等国使用,有效地降低了沙门氏

菌的感染率^[11]。

从理论上分析并在实际应用中证实未定培养物具有良好安全性,但仍然在大多数国家受到限制。因而近年来的工作多集中于特定培养物的研究。研究者从肠道天然菌群中分离鉴定一些细菌,然后将其组成一个混合培养物,通过雏鸡检查其保护性能。近年来报道了多种特定培养物,它们在细菌的种类、数量及保护能力上都不尽相同,从一个属的一个或几个菌株,到数个属的数十个到上百个菌株。研究结果证实:含有单一菌株,或来自同一属的数个菌株的混合培养物,大部分没有或不具备稳定的保护能力。培养物必须由多个属的多种菌株组成,严格厌氧菌必须在某些兼性厌氧菌存在时才具有保护性^[10,12]。

研究特定培养物时遇到的主要问题是:(1)缺乏可靠的科学依据以选择确有保护性能的菌株;(2)缺乏可靠的能对大多数肠道细菌进行鉴定的方法;(3)需要适合大多数肠道细菌,尤其是大多数具保护性能的细菌的培养方法;(4)能使这些细菌在生长时保持稳定生态平衡的培养方法。

3 应用效果及安全性

自从 Nurmi 概念提出后,CE 培养物的应用效果已在不同国家的实验室及现场试验中得到了证实^[9~10,13~14,18]。虽然大部分的研究工作主要针对控制沙门氏菌的感染,但也有一些研究者将竞争排除法用于控制弯曲杆菌、大肠杆菌及耶新氏菌的感染。一些试验中已证明了这类菌群对弯曲杆菌、大肠杆菌的抑制消除作用。因而竞争排除法在控制沙门氏菌病及其它食物传播性疾病上有着极大的潜力。

现场试验时,由于环境因素不易控制,造成了许多困难,但仍显示了良好的效果。在芬兰进行的一次现场试验中,通过在初次饮用水中加入 CE 培养物,对 400 个肉鸡群进行了处理,另外 192 个鸡群作为对照,结果显示处理过的鸡群只有 6.5% 为沙门氏菌阳性,而对照组则为 21%^[15]。

在瑞典,从 1981 年到 1990 年 10 年间,利用在第一次饮用水中加入 CE 培养物的方法处理了 382 万只肉鸡,处理组中,177 个鸡群中仅有一个群为沙门氏菌阳性^[16]。

荷兰曾对 284 群鸡,约 800 万只小鸡上做了试验,其中 143 群鸡为处理组,141 群为对照组。采用将 CE 培养物喷洒在孵化器 and 蛋上的方法,结果显示,沙门氏菌

阳性的鸡群:处理组为15%,对照组为24%;阳性鸡群中沙门氏菌阳性鸡:处理组为0.9%,对照组为3.5%^[17]。

在美国1995年进行的研究证明,用CE培养物处理1d令雏鸡,3d后其盲肠中的挥发性脂肪酸,尤其丙酸比对照组高出几倍,接近大鸡的水平。对3d令雏鸡用大量沙门氏菌($10^4 \sim 10^6$ cfu / mL)经口感染,处理组显示了良好的抵抗力和对沙门氏菌的排除能力,攻击感染6d后,对照组为100%沙门氏菌阳性,处理组为30%左右阳性。对粪便、皮肤、羽毛、饲养用具进行检查,处理组沙门氏菌检出率明显低于对照组,减少了环境污染,因而处理组中,沙门氏菌在鸡与鸡间的水平传播比对照组降低70%以上。

就安全性而言,20多年来在不同的国家不同规模的试验中,CE培养物没有出现不安全或污染的现象。无论对人或动物的健康,或者对饲料的转化率,都没有不良影响,因为这些培养物本来就是动物体内天然菌群的成员。在生产CE培养物的培养基中,病毒和原生动物根本不能生长,当应用合适的培养方法时,一些污染的病原微生物会很快被抑制消除。笔者在美国曾应用厌氧连续培养技术,对鸡盲肠菌群进行了研究,当此培养系统达到稳定状态时,其许多重要参数都几乎保持稳定,而且可以自动的抑制排除一些添加的病原菌。

4 结束语

国外对微生态制剂的研究极为重视,许多产品已进入市场。这些制剂大致可分为三类:益生菌剂(Probiotics),饲用微生物(DFM Direct-fed microbiols)以及竞争排除培养物(CE culture),前两种制剂所含的微生物并不局限于动物肠道天然菌群中的成员,也不局限于细菌,它们还可能含有真菌酵母等。CE培养物一般都由肠道天然菌群中的细菌组成。

在CE培养物的研究中,国外的的工作证明了整个菌群的协同作用才是有效的,这也就是前面所谈到的未定培养物具有较稳定效果的原因。由于菌群在肠粘膜上吸附,竞争利用营养物质,代谢产生乙酸、丙酸、丁酸等有机酸,或者其它一些抑菌物质,这些活动使之入侵的病原微生物没有栖身之地及足够的营养物质,最后被排除出体外。虽然这一解释为大多数人所接受,但至今仍仍在探索之中。

Nurmi概念的提出,为控制沙门氏菌及某些病原菌提出了一个新的途径,在这方面进行深入的研究和开发,以期把国内的微生态学研究推向一个新的水平。

参 考 文 献

- [1] Roberts T. *Poult Sci*, 1988, **67**:936~943.
- [2] Sockett P N. *J Appl Bacteriol*, 1991, **71**:289~295.
- [3] Nurmi E, Rantala M. *Nature*, 1973, **241**:210~211.
- [4] Rantala M, Nurmi E. *Brit Poultry Sci*, 1973, **14**:627.
- [5] Pivnick H, Nurmi E. in: *Developments in Food Microbiology*, Vol 1, Barking, England: Applied Science, 1982, 41.
- [6] Reid C R, Barnum D A. *Avian Dis*, 1983, **23**:442.
- [7] Snoeyenbos G H, Weinack O M, Smyser C F. *Avian Dis*, 1983, **22**:273.
- [8] Stavric S, Gleeson T M, Blanchficed B *et al.* *J Food Prot*, 1987, **50**:928~932.
- [9] Nisbet D J, Corrier D E, Scanlan C M *et al.* *Avian Dis*, 1993, **37**:1017~1025.
- [10] Stavric S. *Food Technology*, 1987, **7**:93~98.
- [11] Stavric S, D'acoust J Y. *J Food Prot*, 1993, **56**:173~180.
- [12] Barnes E M, Impey C S, Cooper D M. *Vet Rec*, 1980, **106**:61.
- [13] Mead G C, Impey C S. *J Appl Bacteriol*, Symposium Suppl, 1986, 675~755.
- [14] Mead G C, Barrow P A. *Lett Appl Microbiol*, 1990, **10**:221~227.
- [15] Hirn J, Nurmi E. In: COVP-DLO Het Spelderholt ed. *Abstracts of International Symposium "Colonization control of human Pathogens in Poultry"*. The Netherland: Doorwerth, 1991, 16~17.
- [16] Wierup M, Wahlstrom H, Engstrom B. In: COVP-DLO Het Spelderholt ed. *Abstracts of International Symposium "Colonization control of human pathogens in poultry"*. The Netherland: Doorwerth, 1991, 17.
- [17] Mulder R W, Bolder N M. In: L C Blankenship ed. *Colonization Control of Human Bacteria Enteropathogens in Poultry*. San Diego: Academic Press Inc. 1991, 77~90.
- [18] Nisbet D J, Ricke S C, Scanlan C M *et al.* *J Food Prot*, 1994, **57**(1):12~15.