

添加乳糖和嗜酸性乳酸杆菌对鸡肠炎沙门氏菌感染的防治效果^①

张欣萍^{1②} 王金洛² 秦泽荣¹ 陈健²

(1 中国农业大学 2 北京市农林科学院)

摘要 单独使用乳糖以及联合使用乳糖和嗜酸性乳酸杆菌均能显著地减少雏鸡盲肠中的肠炎沙门氏菌数($P < 0.05$)。联合使用乳糖和乳酸杆菌的效果比单独使用乳糖的效果好($P < 0.05$)。单独使用嗜酸性乳酸杆菌并不能显著地减少盲肠中的沙门氏菌数。乳糖和乳酸杆菌单独或同时使用对雏鸡肝、脾中肠炎沙门氏菌的分离率无显著影响。

关键词 肠炎沙门氏菌; 乳糖; 嗜酸性乳酸杆菌

中图分类号 S858.31; S852.6

Effect of *Lactobacillus Acidophilus* and Lactose on the Colonization of *Salmonella enteritidis* in Chicks

Zhang Xinping¹ Wang Jinluo² Qin Zerong¹ Chen Jian²

(1 China Agricultural University 2 Beijing Academy of Agriculture & Forestry)

Abstract The effect of dietary lactose and *Lactobacillus acidophilus* on the colonization of *Salmonella enteritidis* in newly hatched chicks was studied. The cecal population of *S. enteritidis* was significantly reduced by lactose alone and the combination of lactose and *L. acidophilus* ($P < 0.05$), but the combination was more effective than lactose alone ($P < 0.05$). Adding anaerobic culture of *L. acidophilus* alone did not significantly decrease the population of *S. enteritidis* in the ceca. No significant reduction of colonization of *S. enteritidis* in the liver and spleen of birds was observed.

Key words salmonella enteritidis; lactose; lactobacillus acidophilus

近年来,肠炎沙门氏菌(*Salmonella enteritidis*)所引起的食物中毒病例在世界范围内急剧增多。世界卫生组织 1977 至 1987 年间的沙门氏菌感染监测数字表明,肠炎沙门氏菌在北美、南美、欧洲和非洲大陆均有增多之趋势^[1]。人肠炎沙门氏菌感染常与食用肠炎沙门氏菌污染鸡的鸡蛋有关^[2~4]。鸡感染肠炎沙门氏菌可能引起临床发病及产蛋鸡产蛋量下降^[5,6]。因此,肠炎沙门氏菌在鸡群中流行,无论对公共卫生还是对养鸡业都是很严重的潜在

收稿日期: 1997-04-23

①本研究得到了北京市教委的资助。

②张欣萍,北京圆明园西路 2 号中国农业大学(西校区),100094

威胁^[7], 可以造成巨大的经济损失和社会问题。1989年3月世界卫生组织专门召开了一次有关家禽及禽蛋中的肠炎沙门氏菌污染问题的紧急国际会议^[8]。

由于鸡在人的肠炎沙门氏菌食物中毒及传播中起着关键性作用。因此, 预防鸡肠炎沙门氏菌感染就成了控制人肠炎沙门氏菌感染的关键。雏鸡比成鸡更易感染肠炎沙门氏菌, 雏鸡感染后可成为无症状的带菌者, 能较长期排菌, 污染环境^[9]。因而控制雏鸡肠炎沙门氏菌的感染具有重要意义。

本课题对在雏鸡饲料和饮水中添加乳糖和嗜酸性乳酸杆菌对鸡肠炎沙门氏菌感染的防治效果进行了初步的探索。

1 材料和方法

鸡只饲养 Hy-line[®]系莱杭雏鸡自1日龄起饲养于消毒的育雏室内, 给予连续的人工光照和标准日粮。整个实验期间鸡自由采食、饮水。解剖时用颈椎脱臼的方法将鸡致死。

肠炎沙门氏菌 由中国农业大学动物医学院提供, 该菌株最初由涉及一例人肠炎沙门氏菌感染的鸡蛋中分离得到, 经鉴定为PT4型肠炎沙门氏菌。

嗜酸性乳酸杆菌在37℃, 于GAM肉汤中厌氧培养24 h。使用时向指定组鸡的饮水中每天2次添加这种厌氧培养液。饮水中的乳酸杆菌浓度为添加后2 h时的含量仍大于 10^5 cfu·mL⁻¹。乳糖在使用时向指定组的饲料中加入4%。

细菌学检查 用MLCB琼脂平板计数接种物和盲肠中的肠炎沙门氏菌数, 以及确认肝脏和脾脏中肠炎沙门氏菌的存在。用连四硫酸盐肉汤选择性地增菌培养肝脏和脾脏样品中肠炎沙门氏菌。鸡剖检时, 无菌取出盲肠样品, 称重, 放入盛有无菌生理盐水的试管中, 经搅拌器混匀样品, 进行系列倍比稀释。取每一样品的 10^1 , 10^3 和 10^5 倍的稀释悬液0.1 mL, 涂于MLCB琼脂平板上, 37℃培养24 h。计数直径3~5 mm、表面凸出、黑色的菌落数, 用血清学方法确认为肠炎沙门氏菌。无菌取出肝脏和脾脏样品, 研细, 置于盛有10 mL连四硫酸盐肉汤的试管中。37℃培养24 h后, 将试管充分摇动, 从每一样品中取出1铂圈内容物, 画线于MLCB琼脂平板上, 37℃培养24 h, 以确证肠炎沙门氏菌的存在。

实验设计 将150只1日龄雏鸡随机分成均等的5个实验组(表1)。即: ①未感染为对照组; ②不治疗组; ③乳糖治疗组; ④嗜酸性乳酸杆菌治疗组; ⑤嗜酸性乳酸杆菌和乳糖治疗组。肠炎沙门氏菌感染组鸡在3日龄和4日龄时每天经口服感染 10^5 个细菌。在肠炎沙门氏菌感染后第3, 5, 7天剖检鸡, 作细菌学检查。本研究包括2次重复试验。

表1 实验分组设计

处 理	第一组	第二组	第三组	第四组	第五组
肠炎沙门氏菌 (<i>Salmonella enteritidis</i>)	-	+	+	+	+
乳糖	-	-	+	-	+
乳酸杆菌 (<i>Lactobacillus acidophilus</i>)	-	-	-	+	+

肠炎沙门氏菌阳性率和肠炎沙门氏菌数的对数变换值作多重比较分析。重复试验结果间经检验无显著差异,故放在一起进行检验。

2 结果

2.1 乳糖对肠炎沙门氏菌的防治效果

在饲料和饮水中添加乳糖对肠炎沙门氏菌有抑制作用(表2)。表现为盲肠内的沙门氏菌数显著地减少($P < 0.05$),但并不能完全防止肠炎沙门氏菌在盲肠中的定殖,在实验期间,盲肠内容物中的沙门氏菌数的对数值不低于4.0,表明仍有大量的肠炎沙门氏菌生长。添加乳糖对肝和脾的肠炎沙门氏菌分离率无显著影响。

2.2 嗜酸性乳酸杆菌对肠炎沙门氏菌的防治效果

添加嗜酸性乳酸菌对盲肠中的肠炎沙门氏菌的数量和肝、脾中的肠炎沙门氏菌分离率均无显著的影响(表2,3)。

2.3 乳糖和嗜酸性乳酸杆菌对肠炎沙门氏菌的协同防治效果

同时添加乳糖和嗜酸性乳酸杆菌可以显著地降低盲肠内容物中的肠炎沙门氏菌数量($P < 0.05$)。其降低的幅度也显著地大于单独使用乳糖时的下降幅度,即两者联合使用对减少盲肠中肠炎沙门氏菌数的效果更佳。但是,添加乳糖和嗜酸性乳酸杆菌并不能使鸡的肝脏和脾脏的沙门氏菌阳性率显著减少(表3)。

表2 乳糖和嗜酸性乳酸杆菌对鸡盲肠中肠炎沙门氏菌定殖和数量的影响

组 别		感染肠炎沙门氏菌后第3天	感染肠炎沙门氏菌后第5天	感染肠炎沙门氏菌后第7天
空白对照组		实验期间均未能从盲肠检出肠炎沙门氏杆菌		
非治疗对照组	阳性率 ^①	15/15	15/15	15/15
	计数 ^②	7.12±1.12a ^③	6.89±0.95a	7.82±1.32a
乳糖组	阳性率	15/15	15/15	14/14
	计数	5.01±1.52b	4.95±2.31b	4.26±0.86b
乳酸杆菌组	阳性率	15/15	15/15	15/15
	计数	6.91±1.54a	6.15±0.62a	6.04±0.53a
乳糖加乳酸杆菌组	阳性率	15/15	15/15	15/15
	计数	4.36±1.31c	5.14±0.97c	3.18±1.19c

①各组盲肠的肠炎沙门氏菌分离率间无显著差异($P > 0.05$)。

②盲肠内容物中肠炎沙门氏菌数经对数转换后的平均值和标准差。

③数字后的不同字母表示该数值与其相对应组的数值间差异显著($P < 0.01$)。

表3 乳糖和嗜酸性乳酸杆菌对鸡肝脏和脾脏中肠炎沙门氏菌阳性率的影响^①

组 别		感染肠炎沙门氏菌后第3天	感染肠炎沙门氏菌后第5天	感染肠炎沙门氏菌后第7天
		实验期间未能检出肠炎沙门氏菌		
空白对照组				
非治疗对照组	肝脏 SE 阳性率	5/14	11/15	13/15
	脾脏 SE 阳性率	8/15	9/15	12/15
乳糖组	肝脏 SE 阳性率	7/15	8/15	13/15
	脾脏 SE 阳性率	9/15	9/15	14/15
乳酸杆菌组	肝脏 SE 阳性率	4/15	6/15	8/15
	脾脏 SE 阳性率	6/15	7/15	8/15
乳糖加乳酸杆菌组	肝脏 SE 阳性率	3/15	8/15	4/15
	脾脏 SE 阳性率	5/15	6/15	5/15

①各治疗组间差异不显著($P>0.05$)。

3 讨论与结论

在食物中添加某些碳水化合物可减少沙门氏菌的感染。如甘露醇能抑制鼠伤寒沙门氏菌对肠粘膜上皮细胞的粘附,可减少鼠伤寒沙门氏菌在肠道的感染;而葡萄糖、麦芽糖或蔗糖对感染水平无影响^[11,12]。乳糖的抗沙门氏菌效果不很一致。对无菌鸡,饲料中添加5%乳糖并不能为雏鸡提供明显的保护力^[4]。日粮中添加高浓度乳糖(10%)可使肝、脾及盲肠固有层中的沙门氏菌数量减少,盲肠腔内pH值下降,乙酸、丙酸和丁酸的浓度升高^[17]。本研究表明,饲料中添加乳糖,可使雏鸡盲肠中的沙门氏菌数量显著地减少。

根据竞争性排斥的理论,肠道中的有益微生物可竞争性地占据肠道粘膜上的可结合位点,从而减少沙门氏菌的定殖位点^[8,10]。给鸡接种成年鸡的正常肠道菌丛,可显著地减少沙门氏菌在盲肠中的数量^[2]。添加大肠杆菌或嗜酸性乳酸杆菌,均可显著地减少普通鸡和无菌鸡鼠伤寒沙门氏菌的感染^[7]。但在本研究中,在雏鸡的饮水中若只加入嗜酸性乳酸杆菌,则对盲肠中肠炎沙门氏菌数量影响很小,表明有益微生物联合应用的效果将优于单独使用的效果。

联合使用嗜酸性乳酸杆菌和乳糖,可见到其协同作用,表现为使盲肠中的肠炎沙门氏菌数量低于单独使用乳糖时的情况。但是,这种协同作用并不足以防止沙门氏菌的感染。

正常的肠道菌丛很可能有某种抵抗沙门氏菌的作用。

在本研究中见肝脏与脾脏样品的沙门氏菌阳性率高。当添加乳糖、或嗜酸性乳酸杆菌、或此二者时,并不能显著地减少肝脏和脾脏肠炎沙门氏菌的阳性率。

本研究的结果说明,雏鸡感染肠炎沙门氏菌时,添加乳糖或乳糖和嗜酸性乳酸杆菌,可显著地减少肠炎沙门氏菌在盲肠中的定殖,但仅添加嗜酸性乳酸杆菌则不能提供显著保护。

参 考 文 献

- 1 Altekuruse S, Koehler J, Hickman—Brenner F, Tauxe, R V, Ferris K. A comparison of *Salmonella enteritidis* phage types from egg—associated outbreaks and implicated laying flocks. *Epidemiol Infect*, 1993, 10:17~22
- 2 Barnes E M, Impey C S. Competitive exclusion of salmonellas from newly—hatched chicks. *Vet Rec*, 1980, 106:2
- 3 Barrow P A. Experimental infection of chickens with *Salmonella enteritidis*. *Avian Pathol*, 1991, 120: 1~153
- 4 Courier D E, Hargis B, Hinton A, Lindsey D, Caldwell D, Manning J, DeLoach J. Effect of anaerobic cecal microflora and dietary lactose on colonization resistance of layer chicks to invasive *Salmonella enteritidis*. *Avian Dis*, 1991, 35:337~343
- 5 Gast R K, Beard C W. Production of *Salmonella* contaminated eggs by experimentally infected hens. *Avian Dis*, 1990, 34:438~446
- 6 Gast R K, Beard C W. Evaluation of a chick mortality model for predicting the consequences of *Salmonella enteritidis* infections in laying hens. *Poultry Sci*, 1992, 71:281~287
- 7 Fukata T, Kageyama A, Baba E, Arakawa A. Effect of infection with *Eimeria tenella* upon the cecal bacterial population in monoflora chickens. *Poultry Sci*, 1987, 66:841~844
- 8 Impey C S, Mead G C. Fate of salmonellas in the alimentary tract of chicks pre-treated with a mature cecal microflora to increase colonization resistance. *J Appl Bacteriol*, 1989, 66:469~475
- 9 Mawer S L, Spain G E, Rowe B. *Salmonella enteritidis* phage type 4 and hens' eggs. *Lancet*, 1989, (1):280~281
- 10 Nurmi E, Rantala M. New aspects of salmonella infection in broiler production. *Nature*, 1973, 241: 210~211
- 11 Oyoyo B A, DeLoach J R, Corrier D E, Norman J O, Ziprin R L, Mollenhauer H H. Effect of carbohydrates on *Salmonella typhimurium* colonization in broiler chickens. *Avian Dis*, 1989, 33: 531~534
- 12 Oyoyo B A, Droleskey R E, Norman J O, Mollenhauer H H, Ziprin R L, Corrier D E, DeLoach J R. Inhibition by mannose of in vitro colonization of chicken small intestine by *Salmonella typhimurium*. *Poultry Sci*, 1989, 68:1 351~1 356
- 13 Qin Z. *Effect of Eimeria tenella* infection on *Salmonella enteritidis* infection in chickens. PhD Thesis, Beijing Agricultural University, 1995
- 14 Rodrigue D C, Tauxe R V, Rowe B. International increase in *Salmonella enteritidis*: a new pandemic? *Epidemiol Infect*, 1990, 105:21~27
- 15 Sockett P N, Roberts J A. A report of a national survey in England & Wales of laboratory-confirmed *Salmonella* infections. *Epidemiol Infect*, 1991, 107:335~347
- 16 St Louis M E, Morose D L, Potter M E, DeMelfi T M, Guzewich J J, Tauxe R V, Blake P A. The emergence of grade A eggs as a major source of *Salmonella enteritidis* infections. New implications for the control of salmonellosis. *J Am Med Assoc*, 1988, 259:2 103~2 107
- 17 Tellez G, Dean C E, Courier D E, De Loach J R, Jaeger L, Hargis B M. Effect of dietary lactose on cecal morphology, pH, organic acids, and *Salmonella enteritidis* organ invasion in leghorn chicks. *Poultry Sci*, 1993, 72:636~642