

## „Competitive Exclusion“ - ein Verfahren zur Prophylaxe der *Salmonella*-Infektion beim Geflügel

Dr. Ulrich Methner (Jena)

### Einleitung

Der Gastrointestinaltrakt mit seiner Mikroflora stellt ein offenes ökologisches System dar. Die als „autochthon“ bezeichnete normale Mikroflora des Darms erfüllt nach dem derzeitigen Erkenntnisstand eine Reihe von Funktionen, die für den Wirtsorganismus von unterschiedlicher physiologischer Bedeutung sind:

1. Aufbau und Aufrechterhaltung einer mikrobiellen Barriere gegen die Ansiedelung und Vermehrung pathogener Erreger,
2. Förderung von Stoffwechsel und Durchblutung der Darmschleimhaut,
3. Beeinflussung des darmassoziierten Immunsystems,
4. Anregung der Darmmotilität,
5. Reduzierung der bakteriellen Translokation vom Darmlumen ins Lymphsystem,
6. Produktion von Vitaminen (SAVAGE, 1977).

Unter dem Verfahren der „Competitive Exclusion (CE)“ versteht man die Applikation von Darmflora gesunder adulter Tiere an Küken kurze Zeit nach dem Schlupf bzw. in den ersten Lebensstagen. Diese Methode zur Reduzierung der intestinalen Salmonellenbesiedelung beim Geflügel wurde im Jahre 1973 durch NURMI und RANTALA beschrieben. Das nach den Beschreibern benannte „Nurmi-Konzept“ bzw. der Begriff „Competitive Exclusion“ werden als Termini für den Mechanismus der mikrobiellen Verhinderung der Besiedelung des Kükendarmes mit Salmonellen verwendet.

Es ist bekannt, dass die Empfänglichkeit von Küken für eine Infektion mit nicht wirtsadaptierten *Salmonella*-Sero-varen mit steigendem Alter der Tiere abnimmt. Bereits MILNER und SHAFFER (1952) stellten die Beziehung zwischen dem Alter und der Dosis einerseits und dem Verlauf der *Salmonella*-Infektion nach oraler Applikation andererseits fest. Bei Eintagsküken genügten bereits 5 koloniebildende Einheiten (kbE) /Tier, um ein Haften der Salmonellen zu erreichen. In zahlreichen nachfolgenden Untersuchungen wurde gezeigt, dass bei oraler Applikation von *Salmonella*-Stämmen unterschiedlicher Serovaren an Eintagsküken eine Dosis von nur 100 kbE ausreichend ist, um eine über mehrere Wochen bestehende lokale (intestinale bzw. zäkale) und auch systemische Infektion auszulösen (SADLER et al., 1969; KNIVETT und STEVENS, 1971; BARROW et al., 1988; METHNER et al., 1994, 1995; METHNER und STEINBACH, 1997). Bei älteren Küken kann mit derart geringen Infektionsdosen auch bei Verwendung von virulenten Stämmen keine intestinale Kolonisation erreicht werden. Adulte Tiere mit etablierter Intestinalflora benötigen bei oraler Applikation in Abhängigkeit vom Infektionsstamm eine Dosis von mindestens  $10^7$  kbE/Tier, um eine über einen längeren Zeitraum bestehende *Salmonella*-Infektion auszulösen (HUMPHREY et al., 1991; METHNER et al., 1995). Als eine wichtige Ursache für die mit dem Alter der Küken abnehmende Empfänglichkeit für eine intestinale Besiedelung durch Salmonellen wird die sich in den ersten Lebenswochen entwickelnde normale (autochthone) Darmflora betrachtet

(NURMI und RANTALA 1973; SNOEYENBOS et al., 1982). Immunologische Reaktionen sind aufgrund der zum Zeitpunkt des Schlupfes der Küken nur unvollständig entwickelten Immunkompetenz (KODAMA et al., 1976; METHNER und STEINBACH, 1997; SHARMA, 1997) vermutlich erst bei älteren Tieren wirksam. Der Prozess der Etablierung der Darmflora variiert in Abhängigkeit von den Hal-tungs- und Fütterungsbedingungen und benötigt beim Dünndarm eine Zeit von etwa 2 Wochen während bis zum Abschluss der Mikrofloraentwicklung im Zäkum mehr als 4 bis 6 Wochen erforderlich sein können (BARNES et al., 1972, 1980). Der fehlende Kontakt der Küken zu den El-terntieren und die Haltung der Tiere in gereinigten und desinfizierten Ställen verzögern den Prozess der Darm-floraentwicklung. NURMI und RANTALA (1973) erkann-ten als erste diese Zusammenhänge und zeigten, dass durch die orale Applikation einer Suspension aus dem Kropf- und Darminhalt adulter gesunder Hühner an 1 bis 2 Tage alte Küken die Empfänglichkeit der Küken für eine 24 Stunden später erfolgende Infektion mit *Salmonella* In-fantis wesentlich verringert werden kann. Damit wurde erstmalig gezeigt, dass die bei den älteren Tieren nach-weisbar größere Widerstandsfähigkeit gegen eine Sal-monella-Infektion auf die hochgradig empfänglichen Ein-tagsküken übertragen werden kann.

Die vorliegende Arbeit soll über Aspekte der Entwicklung des Verfahrens der „Competitive Exclusion“ gegen *Sal-monella*-Infektionen beim Geflügel informieren. Weiterhin sollen die Möglichkeiten und Grenzen des Einsatzes von Darmflorakulturen sowie Besonderheiten bei der Ent-wicklung von Kulturen definierter Zusammensetzung dar-gestellt werden.

### Entwicklung von Competitive Exclusion-Kulturen nicht definierter Zusammensetzung

Nach den ersten erfolgreichen Versuchen unter Verwen-dung von Suspensionen aus dem Darminhalt adulter Tie-re zur Vorbehandlung der Küken gegen eine *Salmonella*-Infektion wurde begonnen, den Zäkuminhalt unter anaer-oben Bedingungen in flüssigen Medien zu kultivieren und als Darmflorakultur einzusetzen. Diese Präparationen als Gemische unbekannter bakterieller Zusammensetzung wurden an Eintagsküken mittels Kropfinstillation verab-reicht, 24 bis 48 Stunden später erfolgte die Wirksam-keitsprüfung durch eine orale Testinfektion der Küken un-ter standardisierten Bedingungen. Die Wirksamkeit des Verfahrens der „Competitive Exclusion“ konnte danach von zahlreichen Arbeitsgruppen in verschiedenen Län-dern bestätigt werden (SNOEYENBOS et al., 1978; GO-REN et al., 1984; MEAD und IMPEY, 1986; BAILEY, 1987). Dabei zeigte sich, dass anaerobe Kulturen aus dem Zä-kuminhalt von gesunden, salmonallafreien und kommer-zial gehaltenen adulten Tieren die beste Wirksamkeit ge-gen eine *Salmonella*-Infektion aufweisen. Die Schutzwir-kung von reinem Darminhalt schwankt in Abhängigkeit vom Spendertier und insbesondere vom Alter des Spen-dertieres. CE-Kulturen aus einem Gemisch obligat und fakultativ anaerober Bakterien weisen eine hohe Wirksam-keit auf, besitzen aber auch einen wesentlichen Nachteil. In einigen Ländern werden solche Präparate nicht defi-nierter bakterieller Zusammensetzung von den Zulas-

sungsbehörden nicht akzeptiert, da ein potenzielles Risiko der Übertragung von geflügelpathogenen und/oder humanpathogenen Erregern besteht (STAVRIC et al., 1991). Daher hat es zahlreiche Versuche gegeben, die Empfänglichkeit von Eintagsküken für eine Kolonisation durch Salmonellen mit Hilfe von Kulturen zu verringern, die sich aus einzelnen definierten Bakterienspezies zusammensetzen.

### Entwicklung von Competitive Exclusion-Kulturen definierter Zusammensetzung

Untersuchungen über die Zusammensetzung der Darmflora in Abhängigkeit vom Alter der Küken bildeten die Grundlage für die Entwicklung von definierten Kulturen. Frisch geschlüpfte Küken besitzen einen weitgehend sterilen Gastrointestinaltrakt, dessen Besiedelung mit Umgebungkeimen jedoch sofort nach dem Schlupf beginnt. Vor der ersten Futteraufnahme besteht die Zäkalfloora der Küken hauptsächlich aus koliformen Keimen, Streptokokken der Gruppe D und geringen Mengen an Klostridien. Zu diesem Zeitpunkt werden noch keine Laktobazillen oder nicht-sporenbildende Anaerobier isoliert (BARNES et al., 1980). Nach dem 4. bis 5. Lebenstag vermehren sich die vorherrschenden Keime fast ausschließlich unter anaeroben Bedingungen, die insbesondere durch den Sauerstoffverbrauch und die Verringerung des Redoxpotenzials durch *Streptococcus faecalis* und *faecium* geschaffen werden. Bis zur 5. bis 6. Lebenswoche erfolgt eine starke qualitative und quantitative Zunahme der anaeroben Flora (BARNES et al., 1972).

Ausgehend von diesen Erkenntnissen wurde begonnen, einzelne Stämme aus den nicht definierten Darmfloramischen zu isolieren und sie einzeln (1) oder in Kombinationen (n) auf ihre Wirksamkeit gegen eine *Salmonella*-Infektion zu testen.

- *Streptococcus faecalis* (1): Verlust der Wirksamkeit nach in-vitro-Kultivierung (SOERJADI et al., 1978).
- *Clostridium* sp.(1): nur zeitlich begrenzte Schutzwirkung (RIGBY et al., 1977).
- *Bacterioides* spp. (1-2); *Bifidobacterium* spp. (1-3); *Escherichia* spp. (3): keine Wirksamkeit (BARNES et al., 1979; STAVRIC et al., 1991).
- Mischung aus 23 *Lactobacillus*-Stämmen: keine ausreichende Reproduzierbarkeit der Wirkung (BARNES et al., 1980).
- Mischungen aus 48 bis 65 Stämmen [*Clostridium* (10), *Lactobacillus* (11), *Escherichia* (8), *Streptococcus* (2), *Bacterioides* (5) u. a. Gattungen]: Wirksamkeit mit undefinierten Kulturen vergleichbar, bei Puten nicht wirksam (IMPEY et al., 1982, 1984).
- Mischungen aus 10, 28 oder 50 Reinkulturen: Mischung mit 50 Stämmen zeigte die größte Wirksamkeit, jedoch nur eine begrenzte Reproduzierbarkeit (STAVRIC et al., 1985).

Das unzureichende Wissen über die tatsächlich schützenden Spezies der Darmflora, das Fehlen entsprechender Selektivmedien zur Isolierung von quantitativ gering vorkommenden Organismen und die unzureichenden Identifikationsmöglichkeiten für einzelne Stämme erschweren die Entwicklung effektiver definierter Kulturen (MEAD und IMPEY, 1987). Trotz umfangreicher und intensiver Untersuchungen in verschiedenen Arbeitsgruppen und trotz

einzelner Erfolge mit Mischungen aus zahlreichen bakteriellen Spezies ist es bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt nicht gelungen, definierte Competitive Exclusion-Kulturen zu entwickeln, die eine ähnlich hohe Wirksamkeit und Stabilität besitzen wie undefinierte Kulturen.

### Mechanismus der Wirksamkeit von Competitive Exclusion-Kulturen

Eine wesentliche Ursache für die geringen Fortschritte bei der Entwicklung von wirksamen Kulturen definierter Zusammensetzung sind die nach wie vor unzureichenden Kenntnisse über die Mechanismen der Schutzwirkung. Es gilt als sicher, dass die festgestellte Schutzwirkung nur durch lebende Bakterien erreicht wird, da bakterienfreie Überstände von Fäkalsuspensionen keine Effekte zeigten (SNOEYENBOS et al., 1978). Zahlreiche Prozesse, wie der sich ändernde pH-Wert durch die von Anaerobiern im Zäkum produzierten flüchtigen Fettsäuren, die Konkurrenz um Nährstoffe und die Wirkung hemmender Substanzen ( $H_2S$ , Bakteriozine, dekonjugierte Gallensalze) werden in Betracht gezogen (BARNES et al., 1979; SAVAGE, 1987; CORRIER et al., 1995a,b; SCHNEITZ et al., 1997). Im Rahmen der gesamten Schutzwirkung scheinen diese Reaktionen jedoch nur eine untergeordnete Rolle zu spielen. Der wahrscheinlich wichtigste Mechanismus der Schutzwirkung von CE-Kulturen ist die direkte Konkurrenz um intestinale Bindungsstellen an der Darmschleimhaut bzw. das Blockieren von Bindungsstellen für Salmonellen durch die Organismen der Kultur. Die applizierte Intestinalflora besiedelt die Darmschleimhaut und bildet eine mechanische Schutzschicht, die den Kontakt von Salmonellen mit der Darmschleimhaut unterdrückt (SOERJADI et al., 1982).

### Bewertung der Schutzwirkung von Competitive Exclusion-Kulturen

Es gibt verschiedene Methoden, um die Schutzwirkung von CE-Kulturen gegen eine *Salmonella*-Besiedelung bei wenige Tage alten Küken zu bewerten. Da zahlreiche Faktoren, wie die Art der Applikation der Darmflorakultur, der Zeitpunkt und die Art der Testinfektion, der Infektionsstamm, die Höhe der Infektionsdosis und die Zeitpunkte der bakteriologischen Untersuchung die Ergebnisse von Wirksamkeitsprüfungen beeinflussen, empfahlen PIVNICK und NURMI (1982) für experimentelle Untersuchungen ein Standardprotokoll zur Prüfung der Wirksamkeit und Unschädlichkeit von CE-Kulturen. Die Anwendung eines Standardprotokolls ermöglicht darüber hinaus auch den Vergleich der Ergebnisse verschiedener Arbeitsgruppen bei der Wirksamkeitsprüfung dieser Kulturen. MEAD et al. (1989) beschrieben ein sehr detailliertes Protokoll zur Wirksamkeits- bzw. Chargenprüfung von Darmflorakulturen unter Verwendung eines nicht invasiven *Salmonella*-Kedougou-Stammes, der jedoch den Darm gut kolonisiert. 24 Stunden nach der oralen Applikation der Kultur am ersten Lebenstag wird ein nalidixinsäureresistenter *Salmonella*-Kedougou-Stamm in einer Dosis von  $10^4$  kbE/Tier ebenfalls oral mittels Kropfinstillation an die Küken verabreicht. 5 Tage nach der Infektion erfolgt die Bestimmung der Keimzahl des Infektionsstammes im Zäkuminhalt von Tieren der vorbehandelten Gruppe und der Kontrollgruppe. Zur Bewertung der Wirksamkeit der CE-Kultur werden der von PIVNICK und NURMI (1982) beschriebene Infektionsfaktor (IF =  $\log_{10}$  der Keimzahl des Infektionsstammes im Zäkum von behandelten bzw. unbehandelten und infizierten Tieren) und der Schutzfaktor (PF = IF

einer unbehandelten Kontrollgruppe / IF einer behandelten Gruppe) herangezogen. Je höher der Schutzfaktor (PF), desto effektiver ist die Kultur. Eine bessere Vergleichbarkeit der Ergebnisse wird erzielt, wenn der Schutzfaktor nicht als Quotient der Logarithmen der Keimzahlen, sondern als deren Differenz ( $LR = IF$  einer unbehandelten Kontrollgruppe -  $IF$  einer behandelten Gruppe) angegeben wird (STEPHAN et al., 1999). Eine derartige experimentelle Vorgehensweise gibt wichtige Informationen zur Effektivität von CE-Kulturen, ersetzt jedoch nicht die Wirksamkeitsprüfung unter Feldbedingungen. Kulturen, die unter Laborbedingungen keine adäquate Schutzwirkung auslösen, werden jedoch für den Einsatz unter Feldbedingungen wahrscheinlich nicht geeignet sein.

### Welche Faktoren beeinflussen die Schutzwirkung von Competitive Exclusion-Kulturen beim Geflügel?

Eine Schutzwirkung von CE-Kulturen gegen *Salmonella*-Stämme ist bereits wenige Stunden nach der Applikation messbar und bleibt erhalten, wenn das mikroökologische Gleichgewicht der Darmflora nicht durch exogene biologische oder chemische Einflüsse geschädigt wird. Wesentliche **Störfaktoren** für die Darmflora sind **Stress-situationen** für die Tiere (zu hohe oder zu geringe Temperaturen, Futter- oder Wasserentzug, Transport, Umstellungen) oder auch die Verabreichung von Antibiotika, antimikrobiell wirkenden Futterzusatzstoffen und Kokzidiostatika (MEAD und IMPEY, 1987).

Die **Wirksamkeit** von CE-Kulturen gegen invasive und nicht invasive Stämme von verschiedenen **nicht an das Geflügel adaptierten *Salmonella*-Serovaren** wurde in zahlreichen Untersuchungen gezeigt (MEAD und BARROW, 1990; SCHNEITZ et al., 1992). Im Vergleich zu diesen nicht-wirtsadaptierten Serovaren war die Effektivität der Kultur gegen *Salmonella* Gallinarum reduziert. Das ist darauf zurückzuführen, dass *Salmonella* Gallinarum das Zäkum bzw. den Intestinaltrakt nicht regelmäßig in hohen Keimkonzentrationen besiedelt (SILVA et al., 1981).

Die **Höhe der Infektionsdosis** hat einen direkten Einfluss auf die Höhe der Schutzwirkung von CE-Kulturen. Die Vorbehandlung von Küken mit der kommerziellen Kultur Broilact® am 1. Lebenstag verhinderte die zäkale Besiedelung durch *Salmonella* Typhimurium und *Salmonella* Enteritidis bei einer Infektionsdosis von  $10^4$  kbE/Tier (Applikation am 2. Lebenstag) vollständig. Weder am 2. noch am 6. Tag nach der Infektion konnten die Infektionsstämme bei den vorbehandelten Tieren reisoliert werden (METHNER et al., 1997). Bei einer Infektionsdosis von  $10^8$  kbE/Tier konnte die Kolonisation der Infektionsstämme bei den vorbehandelten Tieren bis zum 2. Tag nach der Infektion signifikant gehemmt werden, danach bestand kein Unterschied mehr zur nicht vorbehandelten Kontrollgruppe (METHNER et al., 1996). Diese Untersuchung bestätigte, dass die Vorbehandlung mit der CE-Kultur zu einer deutlichen Verminderung der Empfänglichkeit der Küken für eine Besiedelung mit *Salmonella*-Stämmen verschiedener Serovaren führt, dass jedoch bei der Verwendung von hohen Infektionsdosen eine lokale und systemische *Salmonella*-Infektion nicht verhindert wird. Vergleichbare Ergebnisse erzielten STEPHAN et al. (1999) nach Vorbehandlung von Küken mit dem Präparat Aviguard®. Diese Ergebnisse sind nicht überraschend, da die Wirksamkeit einer Darmflorakultur nicht größer sein wird, als die Schutzwirkung einer vollständig entwickelten physiologischen Darmflora. In zahlreichen Untersuchungen wurde gezeigt, dass bei gesunden adulten Tieren mit etablierter Darmflora bei einer

Infektionsdosis von  $10^8$  kbE/Tier eine ausgeprägte *Salmonella*-Infektion hervorgerufen werden kann (SADLER et al., 1969; GAST und BEARD, 1990; HUMPHREY et al., 1991; HOLT et al., 1995).

Neben der Höhe der Infektionsdosis des *Salmonella*-Stammes kommt insbesondere der **Menge der** durch das Küken **aufgenommenen Kultur** und der **Art ihrer Applikation** eine besondere Bedeutung zu. Eine Verabreichung der Darmflorapräparate am 1. bzw. 2. Lebenstag über das Trinkwasser kann die Effektivität einschränken, da Küken zu diesem Zeitpunkt nur wenig, einzelne Tiere möglicherweise gar kein Trinkwasser aufnehmen (MEAD und IMPEY, 1987; SCHNEITZ et al., 1992). Darüber hinaus ist die Überlebensfähigkeit der anaeroben Bakterien im Trinkwasser und damit die Wirksamkeit der Kulturen eingeschränkt.

Eine wesentliche Verringerung der Effektivität von CE-Kulturen tritt ein, wenn die Küken **vor der Applikation der Kultur Kontakt zu Salmonellen** hatten (MEAD und BARROW, 1990; SCHNEITZ et al., 1992; BAILEY, et al., 1998; METHNER et al., 1999). Diese Frage besitzt besondere Bedeutung bei der über das infizierte Brutei erfolgenden Infektion. Selbst wenn nur eine äußerst geringe Anzahl an Bruteiern infiziert ist, kann es aufgrund der sehr schnellen Salmonellenausbreitung im Schlupfbrüter und der sehr hohen Empfänglichkeit der frisch geschlüpften Küken über den oralen und aerogenen Infektionsweg zu einer Infektion des gesamten Schlupfes kommen. Nachfolgend applizierte CE-Präparate können die intestinale Salmonellenbesiedelung nicht wirksam hemmen.

### Anwendungsbereiche von Competitive Exclusion-Kulturen

Das Ziel des Verfahrens der „Competitive Exclusion“ bzw. des Einsatzes von Darmflorakulturen beim Geflügel besteht in der **Erhöhung der Widerstandsfähigkeit von frisch geschlüpften Küken gegen die intestinale Besiedelung durch Salmonellen**. Da die Wirksamkeit von CE-Kulturen deutlich verringert ist, wenn die *Salmonella*-Infektion der Tiere vor der Applikation der Kultur erfolgt, wird eine möglichst frühe Behandlung der Küken angestrebt. In den meisten Felduntersuchungen erfolgt die Applikation am 1. und 2. Lebenstag über das Trinkwasser (HIRN et al., 1992; SCHNEITZ et al., 1992; WIERUP et al., 1992; ). Um die Wirksamkeit der CE-Kulturen zu verbessern, wurde der Applikationszeitpunkt weiter vorverlegt. Die Darmflorakulturen wurden mittels Sprayapplikation (GOREN et al., 1984, 1988) entweder in den Kükentransportbehältern nach Verlassen der Brüterei, vor Entnahme der Küken aus dem Schlupfbrüter oder bei Einlage der Bruteier in den Schlupfbrüter eingesetzt. Da aus verschiedenen Gründen (Infektionsdruck in der Brüterei, unzureichende Aufnahme der Kultur durch die einzelnen Tiere) trotz dieser frühen Verabreichung keine ausreichende Schutzwirkung erreicht wurde, gab es Versuche, die CE-Kulturen vor dem Schlupf direkt in das Eiinnere (in-ovo) zu injizieren (COX et al., 1992; EDENS et al., 1997; MEIJERHOF und HULET 1997). Diese Technik weist jedoch erhebliche Nachteile auf, da durch proteolytische, gas- oder toxinproduzierende Spezies der nicht definierten Darmflora die Schlupfrate der Küken deutlich gemindert wird. Die Applikation der Kulturen in die Luftkammer senkte die Schlupfrate beträchtlich, es konnten jedoch Küken erbrütet werden, die eine hohe Schutzwirkung gegen eine frühe *Salmonella*-Infektion aufweisen. Die Injektion der Kultur in die Amnionflüssigkeit führte zu einem Absterben fast aller Embryonen (COX et al., 1992).

Neben dem prophylaktischen Einsatz von CE-Kulturen findet die Applikation von Darmflorapräparaten über das Trinkwasser nach einer **antibiotischen Behandlung von salmonelleninfizierten adulten Tieren** breite Anwendung (JOHNSON, 1992; GOREN, 1993; REYNOLDS et al., 1997). Die Kulturen unterstützen die **Wiederansiedelung der normalen Darmflora** und verringern damit die Empfänglichkeit der Tiere für eine Reinfektion. Für den Erfolg dieses Verfahrens ist es wichtig, dass die Tiere kurz vor dem Abschluss der antibiotischen Behandlung in eine salmonellenfreie Stalleinheit umgesetzt werden (FOWLER, 1992). Der Einsatz von CE-Kulturen ist bei Legehennen auch nach der Umsetzung aus dem Aufzuchtbereich denkbar, da die Ausstallung, der Transport und auch die hormonelle Umstellung mit dem Legebeginn Stressfaktoren darstellen, die das mikroökologische Gleichgewicht der Darmflora stören können.

Die Möglichkeiten und Grenzen der kombinierten Anwendung von **Immunisierungsverfahren mit Salmonella-Impfstoffen und CE-Kulturen** wurden unter experimentellen Bedingungen untersucht (METHNER et al., 1999). Die Kombination dieser Verfahren muss sicherstellen, dass beide Elemente wirksam werden können. Ein kombinierter Einsatz von oral oder als Spray zu verabreichenden Darmflorakulturen und parenteral zu injizierenden *Salmonella*-Inaktivimpfstoffen wird möglich sein, da eine gegenseitige Beeinflussung der Wirksamkeit zwischen dem inaktivierten Impfstoff und der Kultur nicht zu erwarten ist. Dagegen muss beim kombinierten Einsatz von oral zu applizierenden *Salmonella*-Lebendimpfstoffen und CE-Kulturen mit einer gegenseitigen Beeinflussung gerechnet werden. Es konnte gezeigt werden, dass die Applikation des *Salmonella*-Lebendimpfstoffes vor oder zeitgleich mit der Darmflorakultur die intestinale Kolonisation des Lebendimpfstoffes ermöglicht und insgesamt zu einer stärkeren Schutzwirkung gegen eine *Salmonella*-Infektion führt als die jeweils alleinige Anwendung dieser Verfahren. Demzufolge bietet die reduzierte Wirksamkeit von CE-Kulturen bei vorausgegangener Salmonellenapplikation vermutlich die Möglichkeit, den Einsatz von *Salmonella*-Lebendimpfstoffen und Darmflorakulturen wirksam zu kombinieren.

In experimentellen Untersuchungen wurde auch ein **effektiver Einfluss der Darmflorakulturen auf die intestinale Kolonisation von *Clostridium* spp.** (KALDHUSDAL et al., 1997), *Escherichia coli* (HAKKINEN und SCHNEITZ, 1996), *Yersinia* spp. (SOERJADI-LIEM et al., 1984) und *Campylobacter* spp. (MEAD et al., 1996) festgestellt.

Es wurde beobachtet, dass nach der Applikation von CE-Kulturen an Hühnerküken **eine verbesserte Gewichtsentwicklung** der Tiere, eine **bessere Futtermittelverwertung** und **niedrigere Verlustraten** auftreten (GOREN et al., 1984; CORRIER et al., 1995a; BOLDER et al., 1995).

Die **Wirksamkeit** von Darmflorakulturen gegen *Salmonella*-Infektionen wurde **auch bei Puten** untersucht (CAMERON et al., 1997; GHAZIKHAJIAN et al., 1997).

**Kontrollierte Feldversuche** zur Wirksamkeitsprüfung von CE-Kulturen gegen *Salmonella*-Infektionen in verschiedenen Ländern (GOREN et al., 1988; HIRN et al., 1992; WIERUP et al., 1988, 1992) führten teilweise zu unterschiedlichen Ergebnissen, konnten jedoch übereinstimmend zeigen, dass sowohl die **Anzahl infizierter Tiere** in den Herden als auch der **Besiedelungsgrad bei den infizierten Tieren deutlich gesenkt** wird. Ein Vergleich der Resultate von Felduntersuchungen ist aufgrund des Feh-

lens von Kontrollgruppen, des sehr variablen Infektionsdruckes in den Herden und der oben genannten Einflussfaktoren auf die Wirksamkeit von Darmflorakulturen erschwert. Die besten Ergebnisse werden erzielt, wenn durch einen hohen Hygienestandard in den Brütereien sichergestellt wird, dass die frisch geschlüpften Küken vor der Applikation der CE-Kultur keinen Kontakt zu Salmonellen haben (WIERUP et al., 1992). Die Wirksamkeit von Darmflorapräparaten ist deutlich verringert, wenn die Kulturen in bereits infizierten Herden eingesetzt werden. Aber auch in infizierten Beständen kann mit CE-Kulturen eine qualitative und quantitative Verringerung der Salmonellenbesiedelung bei den Tieren erreicht werden (BOLDER et al., 1995). Langjährige Untersuchungen zeigen, dass das Verfahren der „Competitive Exclusion“ eine zusätzliche prophylaktische Maßnahme darstellt, die als Bestandteil komplexer Bekämpfungsprogramme einen Beitrag zur Reduzierung des Salmonellenvorkommens in den Geflügelbeständen leisten kann. Eine vollständige Verhinderung der Salmonellenbesiedelung bei den Tieren bzw. die Eliminierung der Erreger aus den Geflügelbeständen kann mit der alleinigen Anwendung dieses Verfahrens jedoch nicht erreicht werden. (HIRN et al., 1992; NURMI und NUOTIO, 1995).

#### Kommerzielle Darmflorapräparate

Zum gegenwärtigen Zeitpunkt sind verschiedene kommerzielle Darmflorakulturen (AviFree, Aviguard®, Broilact® und Preempt™) verfügbar. Daneben gibt es eine *Lactobacillus reuteri*-Kultur, die als CE-Kultur in den USA vertrieben wird.

- AviFree besteht aus einer nicht selektierten bakteriellen Mischung aus dem Zäkuminhalt adulter Hühner. Das Produkt wurde von der Firma Alltech entwickelt und seit 1996 angeboten. Es gibt nur wenig publizierte Informationen (NEWMANN und SPRING, 1996) über dieses Produkt.
- Aviguard® ist eine lyophilisierte nicht definierte Kultur, die durch die Bayer AG vertrieben wird und seit 1993 verfügbar ist. Die Wirksamkeit von Aviguard® unter experimentellen und Feldbedingungen gegen verschiedene *Salmonella*-Serovaren wurde in verschiedenen Studien belegt (CAMERON et al., 1996; GUILLOT et al., 1997; STEPHAN et al., 1999).
- Broilact® wurde in Finnland entwickelt und ist seit 1987 kommerziell verfügbar (Orion Corporation). Insgesamt wurden 32 verschiedene Spezies, darunter 22 obligate Anaerobier, aus der Mischkultur isoliert. Dazu war der Einsatz von mehreren verschiedenen selektiven und nicht-selektiven Medien erforderlich. Zahlreiche Labor- und Felduntersuchungen haben die Wirksamkeit von Broilact® gegen Salmonellen gezeigt (BOLDER et al., 1992; CAMERON und CARTER, 1992; NUOTIO et al., 1992; SALVAT et al., 1992).
- Preempt™ (vorher CF3) ist eine in den USA von CORRIER et al. (1995a) entwickelte „continuous-flow (CF) culture“. Umfangreiche Studien haben die Wirksamkeit von Preempt™ unter Beweis gestellt (CORRIER et al., 1995b, 1998; DROLESKEY et al., 1995; HUME et al., 1996). 29 Stämme, einschließlich 14 obligater Anaerobier, wurden aus der CF3-Kultur isoliert. Das Präparat selbst enthält jedoch weitere Organismen, so dass Preempt™ ebenfalls als eine Kultur nicht definierter Zusammensetzung betrachtet werden muss (SCHNEITZ, 1998).

- Die Wirksamkeit von *Lactobacillus reuteri* basiert auf der Fähigkeit, Reuterin - eine antibiotisch wirkende Substanz - freizusetzen (TALARICO et al., 1988). Über den Einsatz von *Lactobacillus reuteri* als Darmflorakultur gegen Salmonellen beim Geflügel liegen nur sehr wenige Berichte vor.
- Eine weitere Darmflorakultur ist die „Mucosal Starter Culture“ („MSC oder MCE=Mucosal Competitive Exclusion“), ebenfalls eine Kultur nicht definierter Zusammensetzung, die durch anaerobe Inkubation von Schleimhautabschnitten der Blinddärme hergestellt wurde (STERN et al., 1995). Es wird über eine Wirksamkeit gegen Salmonellen (BAILEY et al., 1997) und *Campylobacter* (STERN, 1994) berichtet.
- *Saccharomyces boulardii*, eine nicht-pathogene Hefe, reduzierte die Salmonellenbesiedelung nach Verabreichung über das Futter während der Aufzucht und nach Applikation vor dem Transport der Tiere (LINE, 1997).

Zum gegenwärtigen Zeitpunkt werden Darmflorapräparate in Finnland, Dänemark, Schweden, Norwegen, Irland, den Niederlanden, Frankreich, Spanien und Großbritannien für den Einsatz beim Geflügel akzeptiert. Eine Zulassung dieser CE-Kulturen ist in Deutschland zzt. nicht möglich, da die Präparate hinsichtlich ihrer mikrobiellen Zusammensetzung nicht vollständig definiert sind. (WERNER, 1998). Da die Darmflorakulturen nicht-definierter Zusammensetzung im Rahmen von Zulassungsverfahren weder als Arzneimittel, Futterzusatzstoff oder Impfstoff eingruppiert werden können, wurde von der Weltgesundheitsorganisation vorgeschlagen, die Produktkategorie „Normal Gut Flora“ zu etablieren (WHO, 1994).

### Zusammenfassung

Die Verabreichung autochthoner Darmflora an Küken kurze Zeit nach dem Schlupf („Competitive Exclusion“) ist ein anerkanntes prophylaktisches Verfahren zur Bekämpfung der *Salmonella*-Infektion beim Geflügel. Unter diesem Verfahren versteht man die Applikation von Darmflora gesunder adulter Tiere an Küken in den ersten Lebensstunden bzw. Lebensstagen. Die Verabreichung dieser Kulturen führt zu einer beträchtlichen Erhöhung der Widerstandsfähigkeit gegen alle den Darm kolonisierenden *Salmonella*-Serovaren und zu einer reduzierten Salmonellenausscheidung durch infizierte Tiere. Eine vollständige Verhinderung der Salmonellenbesiedelung bei den Tieren bzw. die Eliminierung der Erreger aus den Geflügelbeständen kann mit der alleinigen Anwendung dieses Verfahrens jedoch nicht erreicht werden. Bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt sind nur komplexe, in der Zusammensetzung nicht definierte Kulturen in der Lage, eine ausreichend hohe und reproduzierbare Wirksamkeit zu induzieren. Effektive Präparate definierter Zusammensetzung sind noch nicht entwickelt worden, da die Kenntnisse sowohl über die Wirkungsmechanismen der natürlichen Darmflora bzw. der daraus entwickelten Kulturen als auch über die wirksamen Spezies der verschiedenen bakteriellen Gattungen nach wie vor unzureichend sind. Da die „Competitive Exclusion-Kulturen“ nicht-definierter Zusammensetzung im Rahmen von Zulassungsverfahren weder als Arzneimittel, Futterzusatzstoff oder Impfstoff eingruppiert werden können, wurde von der WHO vorgeschlagen, die Produktkategorie „Normal Gut Flora“ zu etablieren (WHO, 1994). Grundvoraussetzung für eine effektive Reduktion bzw. Eliminierung von nicht wirtsadaptierten *Salmonella*-Serovaren in den Geflügelbeständen sind die

Umsetzung und Sicherung wirksamer hygienischer Maßnahmen. Das Verfahren der „Competitive Exclusion“ stellt wie die Immunisierungsverfahren mit *Salmonella*-Lebend- und Inaktivimpfstoffen beim Geflügel ein zusätzliches prophylaktisches Verfahren dar, das direkt beim Tier zur Steigerung der Widerstandsfähigkeit gegen eine *Salmonella*-Infektion angewendet werden kann.

### Literaturverzeichnis

- BAILEY, J.S. (1987): Factors affecting microbial competitive exclusion in poultry. *Food Technol.* 41, 88-92
- BAILEY, J.S., CASON, J.A., COX, N.A. (1998): Effect of *Salmonella* in young chicks on competitive exclusion treatment. *Poultry Sci.* 77, 394-399
- BAILEY, J.S., STERN, N.J., COX, N.A. (1997): Control of salmonellae in broiler chickens using different application methods and dosage levels of mucosal starter culture. *Proceedings of the Salmonella and Salmonellosis Symposium*. Ploufragan, France, 20-22 May 1997, 487-491
- BARNES, E.M., IMPEY, C.S., COOPER, D.M. (1980): Manipulation of the crop and intestinal flora of the newly hatched chicks. *Am. J. Clin. Nutr.* 33, 2426-2433
- BARNES, E.M., IMPEY, C.S., STEVENS, B.J.H. (1979): Factors affecting the incidence and anti-salmonella activity of the anaerobic caecal flora of the young chick. *J. Hyg. (Camb.)* 82, 263-283
- BARNES, E.M., MEAD, G.C., BARNUM, D.A., HARRY, E.G. (1972): The intestinal flora of the chicken in the period 2 to 6 weeks of age with particular reference to the anaerobic bacteria. *Br. Poultry Sci.* 13, 311-326
- BARROW, P.A., SIMPSON, J.M., LOVELL, M.A. (1988): Intestinal colonization in the chicken by food-poisoning *Salmonella* serotypes; microbial characteristics associated with faecal excretion. *Avian Pathol.* 17, 571-588
- BOLDER, N.M., VAN LITH, L.A.J.T., PUTIRULAN, F.F., JACOBS-REITSMAN, W.F., MULDER, R.W.A.W. (1992): Prevention of colonization by *Salmonella enteritidis* PT4 in broiler chickens. *Int. J. Food Microbiol.* 15, 313-317
- BOLDER, N.M., VEREIJKEN, P.F.G., PUTIRULAN, F.F., MULDER, R.W.A.W. (1995): The effect of competitive exclusion on the *Salmonella* contamination of broilers (a field study). In: *Proceedings of the 2nd annual meeting of EC COST Working Group*. Zaragoza, Spain No. 2, 89-97
- CAMERON, D.M., CARTER, J.N. (1992): Evaluation of the efficacy of Broilact in preventing infection of broiler chicks with *Salmonella* Enteritidis PT4. *Int. J. Food Microbiol.* 15, 319-326
- CAMERON, D.M., CARTER, J.N., MANSELL, P. (1996): Evaluation of Aviguard against a *Salmonella* Enteritidis infective model in broiler chickens. *Proceedings of the forty-fifth western poultry disease conference*, Cancun, Mexico, May 1-5 1996
- CAMERON, D.M., CARTER, J.N., MANSELL, P., REDGRAVE, V.A. (1997): Floor-pen efficacy study with Aviguard against *Salmonella typhimurium* DT 104 colonization in turkeys. *Proceedings of the Salmonella and Salmonellosis Symposium*. Ploufragan, France, 20-22 May 1997, 481-485
- CORRIER, D.E., BYRD II, J.A., HUME, M.E., NISBET, D.J., STANKER, L.H. (1998): Effect of simultaneous or delayed competitive exclusion treatment on the spread of *Salmonella* in chicks. *J. Appl. Poultry Res.* 7, 132-137
- CORRIER, D.E., NISBET, D.J., SCANLAN, C.M., HOLLISTER, A.G., CALDWELL, D.J., THOMAS, L.A., HARGIS, B.M., TOMKINS, T., DELOACH, J.R. (1995b): Treatment of commercial broiler chickens with a characterized culture of cecal bacteria to reduce salmonellae colonization. *Poultry Sci.* 74, 1093-1101
- CORRIER, D.E., NISBET, D.J., SCALAN, C.M., HOLLISTER, A.G., DELOACH, J.R. (1995a): Control of *Salmonella typhimurium* colonization in broiler chicks with continuous-flow characterized mixed culture of cecal bacteria. *Poultry Sci.* 74, 916-924
- COX, N.A., BAILEY, J.S., BLANKENSHIP, L.C., GILDERSLEEVE, R.P. (1992): In ovo administration of a competitive exclusion culture treatment to broiler embryos. *Poultry Sci.* 71, 1781-1784
- DROLESKEY, R.E., CORRIER, D.E., NISBET, D.J., DELOACH, J.R. (1995): Colonization of cecal mucosal epithelium in chicks treated with a continuous flow culture of 29 characterized bacteria: Confirmation by scanning electron microscopy. *J. Food Prot.* 58, 837-842
- EDENS, F.W., PARKHURST, C.R., CASAS, I.A., DOBROGOSZ, W.J. (1997): Principles of ex ovo competitive exclusion and in ovo administration of *Lactobacillus reuteri*. *Poultry Sci.* 76, 179-196
- FOWLER, N.G. (1992): Antimicrobials and competitive exclusion. *Int. J. Food Microbiol.* 15, 277-279
- GAST, R.K., BEARD, C.W. (1990): Isolation of *Salmonella enteritidis* from internal organs of experimentally infected hens. *Avian Dis.* 34, 991-993

- GHAZIKHANIAN, G.Y., BLAND, M.C., HOFACRE, C.L., FROYMAN, R. (1997): Floor-pen study to determine the effect of Aviguard application to day-old turkey poults in reduction of clinical disease and intestinal colonization by *Salmonella kedougou* infection. Proceedings of the Salmonella and Salmonellosis Symposium. Ploufragan, France, 20-22 May 1997, 531-533
- GOREN, E. (1993): Termination of *Salmonella enteritidis* shedding and carriage by treatment with enrofloxacin followed by application of intestinal microflora. Proceedings of the forty-second Western Poultry Disease Conference, 72-73
- GOREN, E., DE JONG, W.A., DOORNENBAL, P., BOLDER, N.M., MULDER, R.W.A.W., JANSEN, A. (1988): Reduction of *Salmonella* infection of broilers by spray application of intestinal microflora: a longitudinal study. *Vet. Quarterly* 10, 249-255
- GOREN, E., DE JONG, W.A., DOORNENBAL, P., KOOPMAN, J.P., KENNIS, H.M. (1984): Protection of chicks against *Salmonella* infection induced by spray application of intestinal microflora in the hatchery. *Vet. Quarterly* 6, 73-79
- GUILLOT, J.F., SALMON, A., MOULINE, C., DELAPORTE, J., MAGNIN, M. (1997): Effect of a gut microflora (Aviguard) against controlled *Salmonella enteritidis* contamination in chickens. Proceedings of the Salmonella and Salmonellosis Symposium. Ploufragan, France, 20-22 May 1997, 521
- HAKKINEN, M., SCHNEITZ, C. (1996): Efficacy of a commercial competitive exclusion product against a chicken pathogenic *Escherichia coli* and *E. coli* O157:H7. *Vet. Rec.* 139, 139-141
- HIRN, J., NURMI, E., JOHANSSON, T., NUOTIO, L. (1992): Long-term experience with competitive exclusion and salmonellas in Finland. *Int. J. Food Microbiol.* 15, 281-285
- HOLT, P.S., MACRI, N.P., PORTER, R.E. Jr. (1995): Microbiological analysis of the early *Salmonella enteritidis* infection in molted and unmolted hens. *Avian Dis.* 39, 55-63
- HUME, M.E., HOLLISTER, A.G., NISBET, D.J., CORRIER, D.E., DELOACH, J.R. (1996): Effect of a characterized continuous-flow culture of cecal bacteria on *Salmonella typhimurium* crop colonization in broiler chicks. *Avian Dis.* 40, 391-397
- HUMPHREY, T.J., BASKERVILLE, A., CHART, H., ROWE, B., WHITEHEAD, A. (1991): *Salmonella enteritidis* PT4 infection in specific pathogen free hens: influence of infecting dose. *Vet. Rec.* 129, 482-485
- IMPEY, C.S., MEAD, G.C., GEORGE, S.M. (1982): Competitive exclusion of salmonellas from chick caecum using a defined mixture of bacterial isolates from the caecal microflora of an adult bird. *J. Hyg. (Camb.)* 89, 479-490
- IMPEY, C.S., MEAD, G.C., GEORGE, S.M. (1984): Evaluation of treatment with defined and undefined mixtures of gut microorganisms for preventing *Salmonella* colonization in chicks and turkey poults. *Food Microbiol.* 1, 143-147
- JOHNSON, C.T. (1992): The use of an antimicrobial and competitive exclusion combination in *Salmonella*-infected pullet flocks. *Int. J. Food Microbiol.* 15, 293-298
- KALDHUSDAL, M., SCHNEITZ, C., HOFSHAGEN, M., SKJERVE, E. (1997): Broilact (r) reduces the incidence of necrotic enteritis in broiler chickens. COST Action 97-Pathogenic micro-organisms in poultry and eggs. 6. Safe chickens for the next century, Helsinki, Finland, 9 and 10 June 1997, 85-90
- KNIVETT, V.A., STEVENS, W.K. (1971): The evaluation of a live vaccine in mice and chickens. *J. Hyg. (Camb.)* 69, 233-245
- KODAMA, H., SATO, G., MIKAMI, T. (1976): Age dependent resistance of chickens to *Salmonella* in vitro: phagocytic and bactericidal activities of splenic phagocytes. *Amer. J. Vet. Res.* 37, 1091-1094
- LINE, J.E. (1997): Administration of *Saccharomyces boulardii* to reduce salmonellae colonization in poultry. Proceedings of the Salmonella and Salmonellosis Symposium. Ploufragan, France, 20-22 May 1997, 475-479
- MEAD, G.C., BARROW, P.A. (1990): *Salmonella* control in poultry by competitive exclusion or immunization. *Lett. Appl. Microbiol.* 10, 221-227
- MEAD, G.C., IMPEY, C.S. (1986): Current progress in reducing *Salmonella* colonization of poultry by competitive exclusion. *J. Appl. Bacteriol., Symposium Suppl.*, 67S-75S
- MEAD, G.C., IMPEY, C.S. (1987): The present status of the Nurmi concept for reducing carriage of food-poisoning salmonellae and other pathogens in live poultry. In: Smulders, F. J. M. (ed.), Elimination of pathogenic organisms from meat and poultry. Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam, The Netherlands, 57-77
- MEAD, G.C., BARROW, P.A., HINTON, M.H., HUMBERT, F., IMPEY, C.S., LAHELLEC, C., MULDER, R.W.A.W., STAVRIC, S., STERN, N.J. (1989): Recommended assay for treatment of chicks to prevent *Salmonella* colonization by competitive exclusion. *J. Food Prot.* 52, 500-502
- MEAD, G.C., SCOTT, M.J., HUMPHREY, T.J., MCALPINE, K. (1996): Observations on the control of *Campylobacter jejuni* infection of poultry by competitive exclusion. *Avian Pathol.* 25, 69-79
- MEIJERHOF, R., HULET, R.M. (1997): In ovo injection of competitive exclusion culture in broiler hatching eggs. *J. Appl. Poultry Res.* 6, 260-266
- METHNER, U., BARROW, P.A., BERNDT, A., STEINBACH, G. (1999): Combination of vaccination and competitive exclusion to prevent *Salmonella* colonization in chickens: experimental studies. *Int. J. Food Microbiol.* 49, 35-42
- METHNER, U., BARROW, P.A., KEILING, S., MARTIN, G., MEYER, H. (1996): Zum Hemmphanomen von *Salmonella*-Impf- und Wildstammen bei Eintagsküken. 51. Fachgespräch über Geflügelkrankheiten der DVG/WVPA, Hannover, 31.10.-1.11.1996, 47-59
- METHNER, U., BARROW, P.A., MARTIN, G., MEYER, H. (1997): Comparative study of the protective effect against *Salmonella* colonisation in newly hatched SPF chickens using live, attenuated *Salmonella* vaccine strains, wild-type *Salmonella* strains or a competitive exclusion product. *Int. J. Food Microbiol.* 35, 223-230
- METHNER, U., KOCH, H., MEYER, H. (1995): Modell zur experimentellen Wirksamkeitsprüfung von Bekämpfungsmaßnahmen gegen *Salmonella*-Infektionen beim Huhn. *Dtsch. tierärztl. Wschr.* 102, 225-228
- METHNER, U., STEINBACH, G. (1997): Wirksamkeit maternaler *Salmonella*-Antikörper gegen eine orale Testinfektion von Küken mit *Salmonella enteritidis*. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 110, 373-377
- METHNER, U., STEINBACH, G., MEYER, H. (1994): Untersuchungen zur Wirksamkeit einer *Salmonella*-Immunsierung von Broilerelterntieren auf die *Salmonella*-Besiedelung dieser Tiere und deren Nachkommen nach experimenteller oraler Testinfektion. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 107, 192-198
- MILNER, K.C., SHAFFER, M.F. (1952): Bacteriologic studies of experimental *Salmonella* infections in chicks. *J. Infect. Dis.* 90, 81-96
- NEWMAN, K. E., SPRING, P. (1996): Effect of a commercial competitive exclusion culture (AviFree) on *Salmonella typhimurium* concentration in broiler chicks. 12th Annual Symposium on Biotechnology in the Feed Industry (Poster), Enclosure Code AVI 2.1
- NUOTIO, L., SCHNEITZ, C., HALONEN, U., NURMI, E. (1992): Use of competitive exclusion to protect newly-hatched chicks against intestinal colonization and invasion by *Salmonella enteritidis* PT4. *Br. Poultry Sci.* 33, 775-779
- NURMI, E., NUOTIO, L. (1995): Present status and research needs of competitive exclusion and vaccination. COST Action 97-Pathogenic microorganisms in poultry and eggs. 1. Protection of poultry from foodborne pathogens, Budapest/Bábolna, Hungary, 12 and 13 June 1995, 145-147
- NURMI, E., RANTALA, M. (1973): New aspects of *Salmonella* infection in broiler production. *Nature* 241, 210-211
- PIVNICK, H., NURMI, E. (1982): The Nurmi Concept and its role in the control of *Salmonella* in poultry. In: Davies, R. (ed.) Developments in food microbiology - 1. Applied Science Publishers Ltd, Barking, Essex, England, 41-70
- REYNOLDS, D.J., DAVIES, R.H., RICHARDS, M., WRAY, C. (1997): Evaluation of combined antibiotic and competitive exclusion treatment in broiler breeder flocks infected with *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *Avian Pathol.* 26, 83-95
- RIGBY, C., PETTIT, J., ROBERTSON, A. (1977): The effects of normal intestinal flora on the *Salmonella* carrier state in poultry with special reference to *Salmonella thompson* and *Salmonella typhimurium*. In: Barnum, D. A. (ed.), Proceedings of International Symposium on Salmonella and Prospects for Control, Univ. of Guelph, Canada, 263
- SADLER, W.W., BROWNELL, J.R., FANELLI, M.J. (1969): Influence of age and inoculum level on shed pattern of *Salmonella typhimurium* in chickens. *Avian Dis.* 13, 793-803
- SALVAT, G., LALANDE, F., HUMBERT, F., LAHELLEC, C. (1992): Use of a competitive exclusion product (Broilact(r)) to prevent *Salmonella* colonization of newly hatched chicks. *Int. J. Food Microbiol.* 15, 307-311
- SAVAGE, D.C. (1977): Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Annu. Rev. Microbiol.* 31, 107-133
- SAVAGE, D.C. (1987): Factors influencing biocontrol of bacterial pathogens in the intestine. *Food Technol.* 41, 82-87
- SCHNEITZ, C. (1998): Competitive exclusion of salmonella: Defined or undefined products. *Poultry International*, 18-20
- SCHNEITZ, C., KIISKINEN, T., TOIVONEN, V., NÄSI, M. (1997): Effect of Broilact(r) on the physicochemical conditions and nutrient digestibility in the gastrointestinal tract of broilers. *Poultry Sci.* 77, 426-432
- SCHNEITZ, C., NUOTIO, L., MEAD, G., NURMI, E. (1992): Competitive exclusion in the young bird: challenge models, administration and reciprocal protection. *Int. J. Food Microbiol.* 15, 241-244
- SHARMA, J.M. (1997): The structure and function of the avian immune system. *Acta Vet. Hungarica* 45, 229-238
- SILVA, F.N., SNOEYENBOS, G.H., WEINACK, O.M., SMYSER, C.F. (1981): The influence of native gut microflora on the colonization and infection of *Salmonella gallinarum* in chickens. *Avian Dis.* 25, 68-73
- SNOEYENBOS, G.H., SOERJADI, A.S., WEINACK, O.M. (1982): Gastrointestinal colonization by *Salmonellae* and pathogenic *Escherichia coli* in monoxenic and holoxenic chicks and poults. *Avian Dis.* 26, 566-575

- SNOEYENBOS, G.H., WEINACK, O.M., SMYSER, C.F. (1978): Protecting chicks and poults from salmonellae by oral administration of „normal“ gut microflora. *Avian Dis.* 22, 273-286
- SOERJADI, A.S., LLOYD, A.B., CUMMING, R.B. (1978): Streptococcus faecalis, a bacterial isolate which protects young chickens from enteric invasion by salmonellae. *Aust. Vet. J.* 54, 549-550
- SOERJADI, A.S., RUFNER, R., SNOEYENBOS, G.H., WEINACK, O.M. (1982): Adherence of salmonellae and native gut microflora to the gastrointestinal mucosa of chicks. *Avian Dis.* 26, 576-584
- SOERJADI-LIEM, A.S., SNOEYENBOS, G.H., WEINACK, O.M. (1984): Establishment and competitive exclusion of *Yersinia enterocolitica* in the gut of monoxenic and holoxenic chicks. *Avian Dis.* 28, 256-260
- STAVRIC, S., GLEESON, T.M., BLANCHFIELD, B. (1991): Efficacy of undefined and defined bacterial treatments in competitive exclusion of *Salmonella* from chicks. In: L. C. Blankenship (Ed.), *Colonization control of human bacterial enteropathogens in poultry*. Academic press, San Diego, 323-330
- STAVRIC, S., GLEESON, T.M., BLANCHFIELD, B., PIVNICK, H. (1985): Competitive exclusion of *Salmonella* from newly hatched chicks by mixtures of pure bacterial cultures isolated from fecal and cecal contents of adult birds. *J. Food Prot.* 48, 778-782.
- STEPHAN, B., GIBSON, S.A., JOHNSON, A.C., REYNOLDS, D.J., FROYMAN, R. (1999): Factors influencing the measurement of efficacy of competitive exclusion products with a recommended assay. *Proceedings of the Forty-Eighth Western Poultry Disease Conference 1999*, Vancouver, Canada, 24-27 April 1999, 20-22
- STERN, N.J. (1994): Mucosal competitive exclusion to diminish colonization of chickens by *Campylobacter jejuni*. *Poultry Sci.* 73, 402-407
- STERN, N.J., BAILEY, J.S., COX, N.A., BLANKENSHIP, L.C. (1995): Mucosal competitive exclusion flora. *United States Patent* 5, 451, 400
- TALARICO, T.L., CASAS, I.A., CHUNG, T.C., DOBROGOSZ, W.J. (1988): Production and isolation of reuterin, a growth inhibitor produced by *Lactobacillus reuteri*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 32, 1854-1858
- WERNER, E. (1998): The legal framework for registration and use of vaccines in Europe and points for consideration concerning CE products. *WHO Consultation on Vaccination and Competitive Exclusion*, Jena, Germany, 4-8 October 1998
- WIERUP, M., WAHLSTRÖM, H., ENGSTRÖM, B. (1992): Experience of a 10-year use of competitive exclusion treatment as part of the *Salmonella* control programme in Sweden. *Int. J. Food Microbiol.* 15, 287-291
- WIERUP, M., WOLD-TROELL, M., NURMI, E., HAKKINEN, M. (1988): Epidemiological evaluation of the salmonella-controlling effect of a nationwide use of a competitive exclusion culture in poultry. *Poultry Sci.* 67, 1026-1033
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (1994): Unpublished report of the WHO-FEDES-FEP workshop on competitive exclusion, vaccination and antimicrobials in salmonella control in poultry, WHO/CDS/VPH/94. 134 (Geneva, WHO), Obernkirchen, Germany, 29 August-1 September 1994

Dieser Beitrag wurde bereits in der *Dtsch. tierärztl. Wschr.*, 107, 402-408, 2000 abgedruckt

Anschrift des Verfassers:

Dr. Ulrich Methner  
Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz  
und Veterinärmedizin, Bereich Jena  
Naumburger Str. 96 a,  
07743 Jena