

Gezondheidsproblemen bij jonge dieren: probiotica als antwoord?

R. Havenaar

TNO-Voeding

Inleiding

Jonge dieren in de periode tussen de geboorte tot enkele weken na het spenen zijn gevoelig voor infectieuze stoornissen in de tractus gastro-intestinalis (maag-darmkanaal) en de tractus respiratorius (ademhalingswegen). Zeker in de intensieve veehouderij (o.a. bij biggen, kalveren en konijnen) kan dit leiden tot ernstige gezondheidsproblemen en produktieverliezen. Bij een hoge bezettingsgraad van de dierverspreiding neemt de infectiedruk sterk toe, terwijl de weerstand van het dier hierbij kan afnemen. Dit heeft tot gevolg dat van oorsprong zwak pathogene micro-organismen soms tot ernstige ziekte-uitbraken leiden en/of tot een grote toename van subklinische gezondheidsstoornissen en produktieverliezen.

Ter preventie van gezondheidsstoornissen en ter bevordering van de produktieresultaten zijn optimale zoötechnische omstandigheden en een goed management onontbeerlijk. In de praktijk blijkt dit echter niet altijd haalbaar of voldoende te zijn, zodat men tracht via andere maatregelen de produktieverliezen te beperken. Gangbaar is de praktijk waarbij het rantsoen van de dieren wordt aangevuld met componenten die de bedrijfsresultaten zouden doen verbeteren door ziektepreventie en groeibevordering. Hoge koperconcentraties (bij varkens) en groeibevorderende antibiotica worden vrijwel standaard toegevoegd. Tegen deze voedingsadditieven worden steeds meer bezwaren geopperd, zoals voor koper (dat het milieu belast) en voor antibiotica (weefselresiduen en de vorming van resistentie).

De vraag is of er alternatieven bestaan voor deze additieven. De laatste jaren is de ontwikkeling en het gebruik van 'probiotica' meer en meer in de belangstelling gekomen. In het navolgende wil ik trachten een antwoord te geven op de vraag 'Wat is een probioticum en wat kan men daarvan verwachten in relatie tot het voorkomen van gezondheidsproblemen en tot het verbeteren van de produktieresultaten bij jonge dieren in de intensieve veehouderij?'

Omdat probiotica verband houden met de ecologie van de micro-organismen op lichaamsoppervlakken (zoals de darm) wordt eerst een kort overzicht gegeven van de microflora (ontwikkeling, belang en verstoreng van de microflora), alvorens nader in te gaan op probiotica.

De normale microflora

Tijdens en direct na de geboorte worden interne en externe lichaamsoppervlakken, zoals de huid, de voorste luchtwegen, de achterste urogenitale regio, de mond en het maag-darmkanaal besmet met een verscheidenheid aan micro-organismen, afkomstig van de directe omgeving. Een aantal van deze micro-organismen zullen de lichaamsoppervlakken tijdelijk of permanent koloniseren, terwijl andere typen verdwijnen. Onder normale omstandigheden ontwikkelt zich in de loop van de tijd een uitgebalanceerde microflora, die voornamelijk bestaat uit bacteriën.

De samenstelling van deze microflora is meestal zeer complex en wordt sterk bepaald door omgevingsfactoren. Deze lokale condities worden bepaald door multifactoriële, interactieve processen tussen de gastheer en de micro-organismen. Hierdoor is de samenstelling van de natuurlijke microflora diersoort-specifiek en deels ook specifiek voor een individueel dier. Diersoort-specificiteit van de microflora is in verscheidene onderzoeken aangetoond. Zo vertonen *Lactobacillus*- en *Bifidobacterium*-soorten bij mensen en verschillende diersoorten duidelijke biochemische verschillen (Mitsuoka, 1969a, 1969b). De overplaatsing van een *Lactobacillus*-soort van de ene diersoort op een andere leidt niet altijd tot kolonisatie (Tannock et al., 1982). De zogenaamde 'normalisatie' van de darmflora bij kiem-vrije dieren verloopt slecht indien de complexe darmflora van een andere diersoort wordt ingebracht (Koopman et al., 1984).

Tijdens het leven zal een verdere aanpassing van de microflora plaatsvinden ten gevolge van langzame veranderingen van de omgevingsfactoren.

De diversiteit aan micro-organismen is gigantisch. Het niveau waarop verschillen tussen micro-organismen, en daarmee verschuivingen in de samenstelling van de microflora, kunnen worden waargenomen is sterk afhankelijk van de microbiologische technieken die ons ter beschikking staan. Verbeteringen in de identificatietechnieken, zoals bio-, sero- en faagtyperingen, bepalingen van samenstelling van de celwand en plasmidepatronen en DNA-DNA-hybridisatietechnieken, bieden een geweldige mogelijkheid om micro-organismen van elkaar te onderscheiden.

Belang van de normale microflora

Een gevestigde en gerijpte natuurlijke microflora op lichaamsoppervlakken is stabiel. Het binnendringen en koloniseren van nieuwe micro-organismen vanuit de omgeving of van andere dieren wordt hierdoor belemmerd. Dit fenomeen wordt met verschillende termen aangeduid. Van der Waaij et al. (1971) introduceerden hiervoor de term 'kolonisatieresistentie', Lloyd et al. (1977) de term 'competitive exclusion'.

Het belang van een natuurlijke microflora in de darm is vooral in de belangstelling gekomen naar aanleiding van experimenten met antibiotica, waarbij zich een verhoogde vatbaarheid voor pathogene kiemen ontwikkelde. Door de onderzoekers werd verondersteld dat dit werd veroorzaakt door een onderdrukking van de natuurlijke darmflora (Bohnhoff et al., 1954; Freter, 1955, 1956). Later werd door

Nurmi & Rantala (1973) het beschermende effect van een natuurlijke darmflora tegen *Salmonella infantis*-infecties vastgesteld bij kippen. Bij nadere studies is dit fenomeen van kolonisatieresistentie bevestigd voor andere *Salmonella*-serotypen (met uitzondering van de gastheer-specifieke *S. gallinarum*) en andere pathogene bacteriën, zoals *Escherichia coli*, *Campylobacter*, *Clostridium* en *Yersinia*. Dit beschermende effect wordt verkregen door eendagskuikens te besmetten met een suspensie of een anaërobe cultuur van de darminhoud van gezonde *Salmonella*-vrije volwassen kippen. Dit wordt wel aangeduid met het 'Nurmi-concept' (Mead & Impey, 1987; Mead & Barrow, 1990). Onderzoek bij grote groepen kuikens naar het effect van het Nurmi-concept was in Zweden zeer succesvol (Wierup et al., 1988), terwijl in Nederland minder gunstige resultaten werden verkregen (Goren et al., 1988).

Het mechanisme achter kolonisatieresistentie wordt vooral geacht te worden veroorzaakt doordat de natuurlijke microflora de beschikbare niches bezet houdt via (specifieke) bindingsplaatsen en/of door competitie om de voedingscomponenten en door de vorming van regulerende factoren door de natuurlijke microflora zelf, zoals de synthese van vetzuren, waterstofperoxyde en bacteriocines. Een andere belangrijke factor zou kunnen zijn dat de microflora een niet-specifieke activering van het immuunsysteem veroorzaakt, onder andere een activering van macrofagen (Roach & Tannock, 1980; Kato et al., 1983).

Naast kolonisatieresistentie heeft de darmflora nog enkele andere belangrijke functies, zoals de vertering van voedingscomponenten, de synthese van vitamines en de afbraak van antinutritionele factoren.

Verstoring van de natuurlijke microflora

Belemmering van de kolonisatie met natuurlijke micro-organismen en maturatie van de microflora kan verschillende oorzaken hebben. In de moderne intensieve veehouderij kan vooral het verlies van contact met de ouderdieren een belangrijke rol spelen. Door het kunstmatig uitbroeden van eieren komen kuikens in het geheel niet in contact met de microflora van de ouderdieren of hun normale omgeving. Door het vroeg spenen van kalveren, biggen en konijnen kan de microflora zich waarschijnlijk onvoldoende ontwikkelen.

Een slecht gekoloniseerde microflora zal gemakkelijk verstoord kunnen raken. Daarbij komt dat ten gevolge van vroeg spenen tevens abrupte veranderingen optreden van de externe factoren (voedselwisselingen, transport), die op hun beurt weer stress opwekken bij de jonge dieren. Dit complex van storende invloeden kan tot gevolg hebben dat kolonisatieresistentie van de natuurlijke microflora teniet wordt gedaan, waardoor potentieel pathogene micro-organismen zich makkelijk kunnen vestigen. Gezondheidsstoornissen bij jonge dieren kunnen daarbij in ernstige mate en met een hoge incidentie optreden of kunnen leiden tot subklinische stoornissen die produktieverliezen veroorzaken.

De gedachte achter de toepassing van probiotica ligt vooral in het feit dat hierdoor de ontwikkeling en stabiliteit van de microflora, zoals in de darm, kan worden verbeterd. Hierdoor zou de weerstand van het dier tegen infectieziekten

worden verhoogd, zodat minder gezondheidsstoornissen optreden en een verhoogde productie (groei) tot stand komt.

Wat zijn probiotica?

De term 'probiotics' werd door Lilly & Stillwell (1965) geïntroduceerd voor groeibevorderende factoren, geproduceerd door bacteriën. Parker (1974) gebruikte de term voor organismen en substanties met een gunstig effect voor dieren door beïnvloeding van de darmflora. Fuller (1989) verbond aan een probioticum de eis dat het betrekking moet hebben op een levend micro-organisme dat, toegediend via het voer, de ecologie van de darmflora gunstig moet beïnvloeden. Probiotica behoeven echter niet beperkt te blijven tot toediening via het voer of tot de darmflora, maar zouden wellicht ook kunnen worden toegepast via capsules, drinkwater, sprays of lokale applicatie ten behoeve van versterking van de micro-ecologie in de voorste luchtwegen of de achterste urogenitale wegen.

Een probioticum kan worden omschreven als een mono- of mengcultuur van levende micro-organismen die, toegediend aan mens of dier, de gastheer gunstig beïnvloeden door verbetering van de eigenschappen van de natuurlijke microflora.

Deze omschrijving houdt tevens in dat een probioticum naast versterking van de kolonisatieresistentie en bevordering van de groei van landbouwhuisdieren ook gunstige eigenschappen kan hebben die vooral voor de gezondheid van de mens van belang zijn, zoals eigenschappen die geclaimd worden voor *Lactobacillus* (bijvoorbeeld verlaging van de serumcholesterolspiegel en antitumor-activiteit (Gilliland, 1990)).

De probiotica die thans het meest in de belangstelling staan of reeds op de markt zijn gebracht, bevatten één of meer bacteriestammen van het genus *Lactobacillus*, *Enterococcus* (enterale streptococci) of *Bacillus*; sommige producten bevatten gistcellen van het genus *Saccharomyces*. Voor toepassing bij dieren betreft het meestal gedroogde, poedervormige of fijnkorrelige producten die door het voer kunnen worden gemengd; voor toepassing bij de mens bestaan ook capsules en tabletten.

Wetenschappelijke basis voor probiotica

Er is reeds veel geschreven over de (mogelijke) effecten van de toepassing van levende micro-organismen en fermentatieproducten in relatie tot de gezondheid van mens en dier. Hiertussen zitten echter vele rapporten waarbij onvoldoende inzicht wordt gegeven in de experimentele opzet of waarbij het aantal variabelen voor de vergelijking van controle- en proefgroepen groter is dan alleen het probioticum. Dit laatste betreft vooral de variabelen in voedersamenstelling: met en zonder antibiotica en voedingszuren, hoge of lage kopergehalten, enz. Daarbij komt dat de verschillen in bijvoorbeeld groei en voederconversie tussen de groepen vaak klein zijn ten opzichte van de spreiding. Dit maakt het moeilijk om de resultaten van bepaalde onderzoeken op hun juiste waarde te schatten. Vele producten zijn op de markt

gebracht met folders die veelal meer betrekking hadden op de eisen waaraan een probioticum zou moeten voldoen dan op de resultaten van grondig onderzoek met het betreffende probioticum. Dit heeft er mede toe bijgedragen dat velen sceptisch staan ten opzichte van de claims van probiotica. Er is behoefte aan voorwaarden waaraan een probioticum zou moeten voldoen, aan de hand waarvan tevens kan worden onderzocht in gedegen studies, zowel in vitro als in vivo, of een bepaald probioticum aan deze eisen voldoet.

Indien een probioticum gezondheidsstoornissen bij (jonge) dieren ten gevolge van infectieuze agentia moet tegengaan, kan dit worden bereikt door de afweer tegen (potentieel) pathogene micro-organismen te verhogen. Dit zou kunnen door de kolonisatieresistentie van het dier te verhogen en/of door de immunologische activiteit te stimuleren.

Effect van probiotica op de kolonisatieresistentie

Zoals in de eerste paragrafen werd beschreven, levert de natuurlijke microflora een belangrijke bijdrage aan de afweer tegen pathogene micro-organismen. In sommige gevallen weten deze pathogenen echter de natuurlijke weerstand te doorbreken door een hoge virulentie, door een grote infectiedruk of door een (tijdelijk) verminderde weerstand van de gastheer. In verscheidene studies bij mensen en dieren is onderzocht of de toepassing van bepaalde micro-organismen kan leiden tot een verhoogde kolonisatieresistentie en tot genezing of preventie van infectieziekten. Dit betreft zowel het maag-darmkanaal als de ademhalingswegen en de urogenitale wegen.

Bij mensen zijn goede resultaten gepubliceerd over de toepassing van vaginale applicatie van *Lactobacillus*-preparaten ter bestrijding en voorkoming van urineweginfecties (Reid & Sobel, 1987; Bruce & Reid, 1988; Reid et al., 1988, 1990). Hoewel dit voor toepassing bij jonge dieren niet van belang is, bieden deze studies meer inzicht in de mogelijkheden en werkingsmechanismen van probiotica. Interessant in dit opzicht zijn de aanwijzingen dat competitieve aanhechting aan uro-epitheliale cellen een belangrijke rol speelt (Reid & Sobel, 1987) en dat een optimaal effect pas wordt bereikt indien het probioticum aanzet tot een uitgebalanceerde natuurlijke flora (Herthelius et al., 1989).

Bij couveusekinderen is onderzoek uitgevoerd naar de mogelijkheid om de kolonisatieresistentie van de voorste luchtwegen te verhogen door het inbrengen van α -hemolytische streptococci in de nasopharynx. De resultaten laten zien dat er normalisatie optrad van de verstoorde microflora (Sprunt & Leidy, 1988). Dit type onderzoek kan ook waardevol zijn bij de preventie van luchtweginfecties bij jonge dieren. Tot nu toe is daarover bij landbouwhuisdieren niets bekend.

De effectiviteit van probiotica om de kolonisatieresistentie van het maag-darmkanaal te verbeteren is in verscheidene overzichtsartikelen besproken (Stavric et al., 1987; Fox, 1988; Sissons, 1989; Fuller, 1986, 1989; Mead & Barrow, 1990). De meeste studies zijn verricht bij proefdieren, landbouwhuisdieren en pluimvee, slechts enkele zijn gedaan bij mensen. De publikaties over probiotica bij landbouwhuisdieren hebben vaak alleen betrekking op de verbetering van groei en voeder-

conversie, zonder microbiologisch onderzoek. Het aantal publikaties in wetenschappelijke tijdschriften waarin de overleving en/of kolonisatie van de probioticumbacteriën in het maag-darmkanaal en het effect hiervan op de kolonisatieresistentie bij conventionele dieren is beschreven, is uiterst klein. In vitro-studies met betrekking tot de onderdrukking van de groei van potentieel pathogene bacteriën door probioticumstammen moeten eveneens kritisch worden bekeken. Veelal wordt de beschreven groeiremming veroorzaakt door verschillen in groeisnelheid, met de daarmee gepaard gaande zuurvorming door de probioticumbacteriën. Extrapolatie naar de in vivo-situatie is hierdoor sterk beperkt. Specifieke remstoffen gevormd door melkzuurbacteriën worden echter de laatste tijd in toenemende mate in overtuigende publikaties aangetoond (Lindgren & Dobrogosz, 1990).

Microbiologisch onderzoek naar het effect van *Bacillus toyoi* in de darm van biggen toonde aan dat deze bacterie zich in de darm niet koloniseert en vermeerdert (Spriet et al., 1987). Bovendien had dit probioticum geen enkele invloed op de samenstelling van de darmflora, op bacteriële metaboliëten en de verteerbaarheid van eiwitten.

Er bestaan wel aanwijzingen dat melkzuur producerende bacteriën jonge dieren zouden kunnen beschermen tegen infecties en diarreeverschijnselen, zoals *Lactobacillus acidophilus* bij pasgeboren biggen (Kohler & Bohl, 1964), *Bifidobacterium* bij biggen (Kimura et al., 1983) en *Enterococcus faecium* bij konijnen (Wadstrom, 1984). Gorbach et al. (1987) slaagden erin *Clostridium difficile*-infecties bij mensen te onderdrukken met een *Lactobacillus*-stam.

Dit betekent niet dat *Lactobacillus*-stammen gemakkelijk koloniseren in de darm. Zo is Jonsson (1985) er in een serie experimenten niet in geslaagd *Lactobacillus*-stammen blijvend te koloniseren in de darm van jonge biggen. Epitheliale aanhechtingsfactoren en diersoort-specificiteit van de bacteriestammen worden van belang geacht voor een goede vestiging van *Lactobacillus* in de darm. Daarbij komt dat bepaalde *Lactobacillus*-stammen verdwijnen en andere opkomen bij het ouder worden van jonge dieren. Dit is aan de hand van plasmidepatronen vastgesteld voor *Lactobacillus* bij biggen (Tannock et al., 1990) en bij kuikens (Havenaar et al., niet gepubliceerd). Dit kan betekenen dat voor de selectie van de juiste probioticumstammen rekening moet worden gehouden met diersoort en leeftijd-specifieke factoren.

Effect van probiotica op het immuunsysteem

Het maag-darmkanaal is een belangrijk orgaan voor de immunologische afweer van de gastheer tegen pathogene micro-organismen. Verondersteld wordt dat immuuncompetente cellen in de darm kunnen worden geactiveerd, om vervolgens te worden getransporteerd naar de mucosa van verschillende organen, zoals de luchtpijp. GALT ('gut-associated lymphatic tissue') speelt hierin een belangrijke rol (Naukkarinen & Syrjänen, 1986).

De microflora in de darm speelt een belangrijke rol in de immunologische status van de gastheer (van der Waaij, 1984). Levende micro-organismen of hun antigenen kunnen de epitheliale barrière van de darmwand passeren (bacteriële translocatie;

Berg, 1983) en via de produktie van suppressor- of helpercellen de differentiatie van lymfocyten stimuleren. Bacteriën van de natuurlijke microflora zoals *Lactobacillus* kunnen zodoende de fagocytose activeren (Perdigon et al., 1986; de Simone et al., 1989; Ma et al., 1990) en een bijdrage leveren aan de preventie van gezondheidsstoornissen bij jonge dieren. Zo waren muizen die vooraf *Lactobacillus casei* of *L. salivarius* via het voer kregen toegediend, beschermd tegen een infectie met *Salmonella typhimurium*, in tegenstelling tot muizen die vooraf *L. acidophilus* of *L. delbrueckii* kregen toegediend (Perdigon et al., 1990). Praktijkgericht onderzoek bij landbouwhuisdieren zou deze veronderstellingen moeten onderbouwen. Tot op heden is dit niet gebeurd.

Conclusie

Aangetoond is dat levende bacteriën kunnen bijdragen aan de opbouw en stabiliteit van de natuurlijke flora op verschillende in- en uitwendige lichaamsoppervlakken. Verondersteld wordt dat specifieke micro-organismen, met name melkzuurvormende bacteriën, een relevante rol spelen in de stabiliteit van de micro-ecologie van het maag-darmkanaal. Deze bacteriën kunnen daardoor bijdragen aan de gezondheid van mens en dier door de weerstand tegen pathogene micro-organismen te vergroten. In combinatie met goede zoötechnische omstandigheden zullen hierdoor gezondheidsstoornissen bij jonge dieren sterk kunnen worden teruggedrongen. De vraag is echter hoe specifiek bepaalde bacteriestammen zijn voor een bepaalde diersoort en een bepaald deel van het lichaam en op basis van welke te testen selectiecriteria deze stammen moeten worden gekozen. Dit vraagt om gedegen onderzoek met een multidisciplinaire aanpak.

De toekomst naar het aanbrengen van genetische veranderingen in geselecteerde bacteriestammen staat daarbij eveneens nog open (McCarthy et al., 1988; Tannock, 1988).

Literatuur

- Berg, R.D., 1983. Translocation of indigenous bacteria from the intestinal tract. In: D.J. Hentges (ed.), Human intestinal microflora in health and disease, pp. 335 – 352. Academic Press, New York.
- Bohnhoff, M., Drake, B.L. & Miller, C.P., 1954. Effect of streptomycin on susceptibility of the intestinal tract to experimental *Salmonella* infection. Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine 86: 132 – 137.
- Bruce, A.W. & Reid, G., 1988. Intravaginal installation of lactobacilli for prevention of recurrent urinary tract infections. Canadian Journal of Microbiology 34: 339 – 343.
- De Simone, C., Salvadori, B.B., Di Fabio, S., Tzantzoglou, S., Bitonti, F. & Trinchieri, V., 1989. Yoghurt and lactobacilli in the regulation of immunity. I. In: Proceedings of the Symposium 'Fermented Milk and Health', pp. 125 – 130. NIZO, Ede.
- Fox, S.M., 1988. Probiotics: intestinal inoculants for production animals. Veterinary Medicine 9: 806 – 810, 823 – 830.
- Freter, R., 1955. The fatal enteric cholera infection in the guinea pig achieved by inhibition of normal enteric flora. Journal of Infectious Diseases 97: 57 – 67.
- Freter, R., 1956. Experimental enteric *Shigella* and *Vibrio* infection in mice and guinea pigs. Journal of Experimental Medicine 104: 411 – 418.

- Fuller, R., 1986. Probiotics. *Journal of Applied Bacteriology* 63, suppl.: 1S – 7S.
- Fuller, R., 1989. Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology* 66: 365 – 378.
- Gilliland, S.E., 1990. Health and nutritional benefits from lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews* 87: 175 – 188.
- Gorbach, S.L., Chang, T.-W. & Goldin, B.R., 1987. Successful treatment of relapsing *Clostridium difficile* colitis with lactobacillus GG. *Lancet*: 1519.
- 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. *Veterinary Quarterly* 10: 249 – 255.
- Herthelius, M., Gorbach, S.L., Mollby, R., Nord, C.E., Pettersson, L. & Winberg, J., 1989. Elimination of vaginal colonization with *Escherichia coli* by administration of indigenous flora. *Infection and Immunity* 57: 2447 – 2451.
- Jonsson, E., 1985. Lactobacilli as probiotics to pigs and calves; a microbiological approach. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden.
- Kato, I., Yokokura, T. & Mutal, M., 1983. Macrophage activation by *Lactobacillus casei* in mice. *Microbiology and Immunology* 27: 611 – 618.
- Kimura, N., Yashikane, M., Kobayashi, A. & Mitsuoka, T., 1983. An application of dried bifidobacteria preparation to scouring animals. *Bifidobacteria and Microflora* 2: 41 – 55.
- Kohler, E.M. & Bohl, E.M., 1964. Prophylaxis of diarrhoea in newborn pigs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 144: 1794 – 1797.
- Koopman, J.P., Kennis, H.M., Hectors, M.P.C., Lankhorst, A., Stadhouders, A.J. & de Boer, H., 1984. Reciprocal 'normalization' of intestinal parameters by indigenous intestinal microflora of the rat and the mouse. *Zeitschrift für Versuchstierkunde* 26: 289 – 295.
- Lilly, D.M. & Stillwell, R.H., 1965. Probiotics: Growth promoting factors produced by microorganisms. *Science* 147: 747 – 748.
- Lindgren, S.E. & Dobrogosz, W.J., 1990. Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations. *FEMS Microbiology Reviews* 87: 149 – 163.
- Lloyd, A.B., Cumming, R.B. & Kent, R.D., 1977. Prevention of *Salmonella typhimurium* infection in poultry by pretreatment of chickens and poult with intestinal extracts. *Australian Veterinary Journal* 53: 82 – 87.
- Ma, L., Deitch, E., Specian, E., Steffen, E. & Berg, R., 1990. Translocation of *Lactobacillus murinus* from the gastrointestinal tract. *Current Microbiology* 20: 177 – 184.
- McCarthy, D.M., Lin, J.H.-C., Rinckel, L.R. & Savage, D.C., 1988. Genetic transformation in *Lactobacillus* sp. strain 100-33 of the capacity to colonize the non-secreting gastric epithelium in mice. *Applied and Environmental Microbiology* 54: 416 – 422.
- 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: F.J.M. Smulders (ed), *Elimination of pathogenic organisms from meat and poultry*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam.
- Mead, G.C. & Borrow, P.A., 1990. Salmonella control in poultry by 'competitive exclusion' or immunization. *Letters in Applied Microbiology* 10: 221 – 227.
- Mitsuoka, T., 1969a. Vergleichende Untersuchungen über die Laktobazillen aus den Faeces von Menschen, Schweinen und Hühnern. *Zentralblatt für Bacteriologie, Microbiologie und Hygiene* [A] 210: 32 – 51.
- Mitsuoka, T., 1969b. Vergleichende Untersuchungen über die Bifidobakterien aus dem Verdauungstrakt von Mensch und Tier. *Zentralblatt für Bacteriologie, Microbiologie und Hygiene* [A] 210: 52 – 64.
- Naukkarinen, A. & Syrjänen, K.J., 1986. Immunoresponse in the gastrointestinal tract. In: K. Rozman & O. Hänninen (ed.), *Gastrointestinal toxicology*, pp. 213 – 245. Elsevier, Amsterdam.
- Nurmi, I.E. & Rantala, M., 1973. New aspects of *Salmonella* infection in broiler production. *Nature* 241: 210 – 211.
- Parker, R.B., 1974. Probiotics, the other half of the antibiotic story. *Animal Nutrition and Health* 29: 4 – 8.
- Perdigon, G., De Macias, M.E.N., Alvarez, S., Oliver, G. & De Ruiz Holgado, A.A.P., 1986. Effect of perorally administered lactobacilli on macrophage activation in mice. *Infection and Immunity* 53: 404 – 410.

- Perdigon, G., De Macias, M.E.N., Alvarez, S., Oliver, G. & De Ruiz Holgado, A.A.P., 1990. Prevention of gastrointestinal infection using immunobiological methods with milk fermented with *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Dairy Research* 57: 255 – 264.
- Reid, G. & Sobel, J.D., 1987. Bacterial adherence in the pathogenesis of urinary tract infections; a review. *Reviews of Infectious Diseases* 9: 470 – 487.
- Reid, G., McGroarty, A., Angotti, R. & Cook, R.L., 1988. *Lactobacillus* inhibitor production against *Escherichia coli* and coaggregation ability with uropathogens. *Canadian Journal of Microbiology* 34: 344 – 351.
- Reid, G., McGroarty, A., Dominique, P.A.G., Chow, A.W., Bruce, A.W., Eisen, A. & Costerton, J.W., 1990. Coaggregation of urogenital bacteria in vitro and in vivo. *Current Microbiology* 20: 47 – 52.
- Roach, S. & Tannock, G.W., 1980. Indigenous bacteria that influence the number of *Salmonella typhimurium* in the spleen of intravenously challenged mice. *Canadian Journal of Microbiology* 26: 408 – 411.
- Sissons, J.W., 1989. Potential of probiotic organisms to prevent diarrhoea and promote digestion in farm animals – a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 49: 1 – 13.
- Spriet, S.M., Decuypere, J.A. & Hendrickx, H.K., 1987. Effect of *Bacillus toyoi*, Toyocerin on the gastro-intestinal microflora, concentration of some bacterial metabolites, digestibility of the nutrients and the small intestinal mean retention time in pigs. *Mededelingen van de Faculteit der Landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit Gent* 52: 1673 – 1683.
- Sprunt, K. & Leidy, G., 1988. The use of bacterial interference to prevent infection. *Canadian Journal of Microbiology* 34: 332 – 338.
- Stavric, S., Gleeson, T.M., Blanchfield, B. & Pivnick, H., 1987. Role of adhering microflora in competitive exclusion of *Salmonella* from young chicks. *Journal of Food Protection* 50: 928 – 932.
- Tannock, G.W., 1988. Molecular genetics: a new tool for investigating the microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Microbial Ecology* 15: 239 – 256.
- Tannock, G.W., Fuller, R. & Pedersen, K., 1990. *Lactobacillus* succession in the piglet digestive tract demonstrated by plasmid profiling. *Applied and Environmental Microbiology* 56: 1310 – 1316.
- Tannock, G.W., Szylit, O. & Raibaud, P., 1982. Colonization of tissue surfaces in the gastrointestinal tract of gnotobiotic animals by lactobacillus strains. *Canadian Journal of Microbiology* 28: 1196 – 1198.
- Van der Waaij, D., 1984. The immunoregulation of the intestinal flora: experimental investigations on the development and the composition of the microflora in normal and thymusless mice. *Microecology and Therapy* 14: 63 – 74.
- Van der Waaij, D., Berghuis-De Vries, J.M. & Lekkerkerk-Van der Wees, J.E.C., 1971. Colonization resistance of the digestive tract in conventional and antibiotic-treated mice. *Journal of Hygiene* 69: 405 – 411.
- Wadstrom, T., 1984. *Streptococcus faecium* M74 in control of diarrhoea induced by a human enterotoxigenic *Escherichia coli* strain in an infant rabbit model. *Zentralblatt für Bacteriologie, Microbiologie und Hygiene A257*: 357 – 363.
- Wierup, M., Wold-Troell, M., Nurmi, E. & Hakkinen, M., 1988. Epidemiological evaluation of the salmonella-controlling effect of nationwide use of a competitive exclusion culture in poultry. *Poultry Science* 67: 1026 – 1033.