

## 抗生素替代物的现状和远景（3）

丹尼·扈奇

### 6 用饲料添加剂替代抗生素

#### 6.1 抗生素改变肠道微生物区系

抗生素用做家禽、猪及其他家畜的生长促进剂已有多年。抗生素的好处包括在特定条件下降低下痢发病频率，改善体重和饲料转化率，提高存活率，以及在许多场合可改进加工性状，如由于良好的肠道健康及消化导致的胴体或胸肉产出量的增加。肠道细菌种群的变化和细菌与宿主之间的相互作用可解释抗生素的上述作用。肠道细菌与宿主间的互作包括：有益细菌及病原菌与肠道上皮组织之间的互作（例如，上皮细胞的增殖和凋亡、与黏液素形成及分泌相联系的表面覆盖层），以及它们与免疫系统之间的相互作用（例如，淋巴细胞总体的反应和免疫球蛋白的形成及分泌的反应）。Apajalahti (2003) 指出，已经定性微生物只约占微生物区系总体的 10%，也许只占肠道病原微生物的 10%。他强调，在自然界，所有的动物和植物物种都“认识到”同细菌共同生存，在多数场合都对双方有好处。即使如此，也只是在一些重大疾病（例如，禽流感）或卫生问题发生时，人们才对微生物进行讨论。

在鸡，大概还有其他禽种的嗉囊中含有的微生物群落中，占主导地位的是乳酸菌，它超过大肠菌和链球菌 (Smith, 1965)。Fuller (1977) 指出，乳酸菌附着于嗉囊上皮，为新摄入的、咽下的食物持续接种。有趣的是，虽然有些乳酸菌菌株附着在肠道上皮细胞、植入并在表面生长、形成外包被，但它们不形成菌落，最终当食物团块通过肠道时脱落。与此相反，许多致病微生物则形成菌落，能进入肠上皮绒毛而不易脱落 (Riise, 1981)。

Simon 等 (2004) 指出，在猪的胃里占主导的是乳酸菌，在小肠它同样是形成主要功能组的细菌之一。同肠球菌、链球菌（主要是无乳溶解链球菌，*Streptococcus agalactolyticus*）及较少数量的肠细菌及其他过度性细菌一道，乳酸菌在小肠前端也占主导地位。通过小肠的消化物的高速流动可限制细菌在上皮表面的生长。在后肠，限制厌氧菌如拟杆菌 (*Bacteriodes*) 及梭状芽孢杆菌的数量超过乳酸菌和其他细菌。

## 6.2 抗生素替代物的种类

2006年1月，欧盟将禁止使用剩余的4种饲用抗生素生长促进剂（AGP）。它将导致更加强调有益动物健康和性能的非药物饲料组分的开发和研究。欧盟正在引导世界向这方面努力。被经常想到的许多饲料组分是那些能通过改变肠道微生物区系来发挥影响的组分。在这些“抗生素替代物”中有益生元（prebiotics，专门为理想的细菌组提供可利用的碳水化合物）、益生菌（probiotics，在欧洲叫做‘微生物’，而在美国称‘可直接饲喂的微生物’）、有机酸和草药及香料油等（Simon等，2004）。在这个清单中可能还应加入酶、蛋的特异抗体（即蛋黄中的免疫球蛋白IgY）或喷雾干燥血浆中的免疫球蛋白，以及噬菌体等。

### 6.2.1 合生元（Synbiotics）

合生元的概念是把益生菌和益生菌的基本原理结合在一起，同时利用它们，取它们各自的优点。许多已知的微生物（主要是产生乳酸的细菌种类如肠球菌、双歧菌和乳酸菌，以及形成孢子的杆菌），还有少数的未确认的微生物培养物在当前用作“益生菌”。Simmering和Blaut（2001）概括了理想益生菌和益生菌的特性和必要的有益作用。

利用益生菌进行肉鸡圈养试验时，应包含一些应激条件并采用含有处理的试验模型，处理包括负（不添加）对照、正（添加抗生素）对照，以及可直接饲喂的微生物的组。在许多情况下，也采用抗生素同可直接饲喂的微生物结合进行处理，以便提供有关是否有不利的、附加的或协同的（好于预期的）反应生产。为使结果有用，模型应是有效的（条件应该符合负对照组鸡性能的被抑制并为试验添加物所改善）。应激源可以是高饲养密度、用过的垫料和/或趋于抑制负对照组肉鸡性能疾病攻毒，并且通常可使添加物如抗生素或可直接饲喂的微生物对肉鸡显示改善生长的反应。

### 6.2.2 益生元

Gibson和Roberfroid（1995）指出，益生元是饲料的组分，它基本上不被宿主动物所消化，但可为肠道中数量有限的原籍有益细菌所消化。碳水化合物如果糖—低聚糖（FOS）、低聚—果糖（OF）、转半乳糖—低聚糖或源自菊苣根的菊糖可选择性地促进动物肠道内有益微生物的生长和活性；内源双歧杆菌增殖和丙酸盐的生产增加。特定病原菌包括大肠杆菌和产气荚膜梭状杆菌的

(*Clostridium perfringens*) 菌株不能把这些碳水化合物作为能量源利用, 因此 FOS、OF 或菊糖发酵器数量将增加。但是, 当前有报道表明, 属于肠细菌的一些菌株包括大肠菌和链球菌也能利用菊糖作为能源 (Simon, 2004)。益生元主要用于改善肠道健康, 最终达到有益地影响动物生长性能和总体健康的目的。

科罗拉多州 Coors Biotech 公司生产的名为 Neosugar 的果糖—低聚糖产品以占日粮 0.375%~0.75% 的添加量, 对肉鸡进行了广泛的试验。在体重、饲料转化率、降低腹部脂肪和胴体重方面显示出改善作用(例如, Ammerman 等, 1989)。但这个产品目前已停止销售。

Simon 等 (2004) 告诫, 益生元低聚糖在动物日粮中的典型添加量只占可用于细菌发酵碳水化合物总量的很小部分。此外, 益生元制剂常含有相当量的容易被肠道细菌利用的单体糖。添加菊糖在双歧杆菌数量和丙酸盐生产方面产生的明显差别, 只能在肉鸡生长后期才能观察到。这表明在肠道微生物群体中, 特异性状可能需要较长时间才能出现可见的差别。Ten Bruggencate 等 (2003) 表明, 在用 Wistar 大鼠做的试验中, 日粮中添加 0、3% 和 6% 的 FOS, 并且以口服方式使大鼠感染肠炎沙门氏菌, 可导致盲肠内容物和黏液中沙门氏菌的数量随添加剂量的提高而增加, 主要增加的是诱发感染下痢的细菌数量, 并且促进沙门氏菌穿过肠壁易位。这些结果与预期的相反。

### 6.2.3 甘露聚糖低聚糖 (酵母细胞外壁)

因为甘露聚糖低聚糖基本上不为宿主动物和常驻的微生物群落所消化, 因此它只能最低限度地充当益生元, 但它具有与带 1 型伞 (Type 1 fimbriae) 及能和甘露糖结合的凝集素的病原菌黏合的高功能。此外, 它也是对肠道的免疫刺激剂, 提高了对付病毒的抵抗力。在 5 个单独的中间分析 (有时是最终的完全分析) 中, 对在肉鸡、火鸡、猪和兔日粮中添加酵母细胞壁甘露聚糖低聚糖 (Bio-Mos™, 美国奥特奇生物技术公司生产的奥奇素) 的作用进行了评估, 并将其结果最近发表在学术和商业刊物上。这些单独的数据是以发表的和未发表的数据为基础, 它们包括 55 组哺乳仔猪的比较数据 (Miguel 等, 2004), 44 组肉鸡比较数据 (只有单圈试验) (Hooge, 2004a), 15 组肉鸡比较数据 (田间试验) (Hooge 和 Sefton, 2004), 27 组火鸡比较数据 (Hooge, 2004b) 和 20 组兔的比较数据 (Kocher 等, 2004)。这些数据清楚地表明, 当日粮中加入奥奇素时, 活重的增加得到明显的

改善（因畜种不同，增加的范围是 2%~4%），但饲料转化率降低 2%~5%。酵母甘露聚糖低聚糖的其他产品有法国的 LeSaffre 和英联邦的 Micron Bio-Systems。

Rosen (2003a) 指出，当比较添加和负对照日粮时，甘露聚糖低聚糖对鸡的有益作用比对猪的作用更为稳定。肉鸡、哺乳仔猪和生长一肥育猪。活重增加的改善频率分别为 79%、70%、75%和 50%，饲料转化率的改善频率分别为 79%、57%、69%和 25%。相比之下，饲喂添加抗生素的日粮的改善率为 74%，饲喂含酶制剂日粮的改善率为 75%，饲喂添加微生物日粮的改善率为 70%。

Rosen (2005) 对所有发表的 31 篇有关甘露聚糖低聚糖（奥奇素 R）文章中所有的猪试验数据进行了完全分析。添加甘露聚糖低聚糖试验猪与负对照猪相比，平均活重每日增加 145g (3.58%)，日采食量增加 7.5g (0.99%)，饲料转化率降低 0.0526 (3.07%)。甘露聚糖低聚糖的添加范围为 0.12~4.00g/kg 饲料（平均为 1.94g/kg 饲料）。饲养试验是从 1996 年至 2002 年在 10 个国家进行的，共用了日龄为 10~131d（平均为 41.4d）的猪 3 778 头。

#### 6.2.4 益生菌

Rosen (2003b) 指出，能被普遍接受的益生菌定义并不存在。他建议，益生菌是“抗病原微生物的抗菌素和被感染有机体的益生菌”。美国食品和药品管理局 (FDA) 建议，益生菌应该称为可直接饲喂的微生物 (DFM)，或微生物培养物并将其定义为“活的（有活力的）、天然存在的微生物源”，包括细菌、真菌和酵母。FDA 列出了 42 种这类有益微生物。

Allnut 和 Harel (2003)，把更喜欢厌氧条件的细菌（其中包括兼性厌氧微生物）混入饲料中，为摄入饲料的动物提供有利条件。当通过肠道时，厌氧细菌能存活但只是暂时具有活性，或在肠道中生成菌落，顶替有害细菌，分泌特殊物质（如酶、抗菌的或供生物活性化合物），黏合或螯合有害的微生物或化合物，或提高有益的物理作用。例如，嗜酸乳酸杆菌可生产天然的抗生素、嗜酸菌素、乳醇菌素和嗜酸乳菌素，嗜酸乳酸杆菌 2181 具有抗大肠杆菌、鼠伤寒沙门氏菌、金黄色葡萄球菌和产气荚膜梭状芽孢杆菌的抗生素活性。有益微生物对抗病原菌如大肠杆菌的作用，可能是抑菌的或杀菌的 (Riise, 1981)。在应用粪肠球菌制

剂进行的研究中发现，在仔猪小肠里的大肠菌的菌落形成单位（CFU）显著减少（Simon 等，2004）。在可直接饲喂的微生物中，一些最常利用的微生物列于表 1。

表 1 可直接饲喂微生物中一些最常利用的细菌

|                                |                       |
|--------------------------------|-----------------------|
| 有机酸生产的                         | 杆菌孢子                  |
| 嗜酸乳酸杆菌                         | 地衣芽孢杆菌                |
| <i>Lactobacillus johnsonii</i> | 枯草芽孢杆菌                |
| <i>Lactobacillus reuterii</i>  | <i>Bacillus toyoi</i> |
| 保加利亚乳杆菌                        |                       |
| 芽孢乳杆菌                          | 真菌                    |
| 干酪乳杆菌                          | 米曲霉                   |
| 粪链球菌（肠球菌）                      |                       |
| 乳链球菌                           | 酵母                    |
| 嗜热链球菌                          | 酿酒酵母                  |
| 乙酸乳酸双链球菌                       | 拟球（串状）酵母              |
| 双歧杆菌                           |                       |

由于它们具有广泛的发酵能力，乳酸菌可生产大量的代谢产物包括乙酸、甲酸和乳酸，它们对病原菌的低 pH 抑制作用是公认的。一些有益细菌迅速繁殖并以消耗必需营养和引起营养缺乏而与之竞争拮抗，有效地抑制病原微生物的生长。有益细菌应是耐胆液的，这样才能在消化道中存活下来（Riise, 1981）。水溶性微生物制品可在饮水中使用，具有促进幼雏生长作用，有时也用于预防疾病或用来治疗出现下痢或肠炎综合症的不论是笼养垫料地面或板条地面平养的鸡群。

有益细菌也能在没有活力的状态下添加，就像它们在赖以生长的培养物中处于杀死的状态下。这些添加的细菌为动物提供它们在培养时预先形成的化合物如酶、生物活性物质或高分子物质。重组的厌氧细菌可用于任何上述目的。饲料中可含有无保护的细菌、孢子；为了保持活性或有效功能的稳定性，也可添加处理过的细菌，如包胶囊的、涂层的，或冷冻干燥的细菌（Allnutt 和 Harel, 2003）。

Avi-Lution (伊利诺斯州昆西 Prince Agri Products 公司) 含有从生产乳酸的细菌筛选出的菌株 (基于用接种伤寒沙门氏菌小鼠做的室内研究) 和 *boulardii* 酿酒酵母。饲料级产品是包被的, 经过制粒后, 有约 97% 的存活率。进行了 4 个肉鸡圈养试验, 试用期为 42~56d, 饲养在增厚垫料地面上, 在一些情况下采用适度的高密度饲养。肉鸡体重和饲料转化率始终与杆菌肽-MD 或弗吉尼亚霉素相等或好于它们, 但对死亡率没有任何显著的影响。在圈养试验中, 处理与对照日粮相比, 平均改善为: 体重增加 0.104kg 或 增加 4.0% (2.702 对 2.598kg), 饲料转化率降低 0.118 或 提高 5.59% (1.993 对 2.111)。对整个消化道或盲肠内容物进行的微生物分析表明, 大肠菌、沙门氏菌和弯曲杆菌的总数明显的少 (Hooge, 2001b)。

在蛋鸡试验中, 对照与处理组相比, 母鸡只日产蛋率 (90.38% 对 91.95%)、饲料/12 枚蛋重 (2.753lb 对 2.672 lb)、母鸡只日产蛋重 (51.42g 对 51.83g) 均得到改善, 但蛋重稍有降低 (56.89g 对 56.37g), 每千克鸡蛋的饲料费用从 32.08 美分降至 31.82 美分。

#### 1) 活酵母 (*boulardii* 酿酒酵母)

在每个 *boulardii* 酵母细胞上可黏着约 200 个大肠菌, 与此相似, 也可黏着其他带有 1 型伞 (吸附甘露糖的凝集素) 的病原菌如沙门氏菌株, 使这些细菌无法在肠壁形成菌落和生产毒素。在用含有 *boulardii* 酵母的日粮进行的鸡饲养试验中 (Preston 等, 1999; Line 等, 1998; Line 等, 1997; Bradley 等, 1994), 可观察到的效益是: 体重增加、伤寒沙门氏菌菌落减少和 21 日龄回肠内容物黏度下降。因为 *boulardii* 酵母在试验上可产生破坏芽孢杆菌毒素 A 的蛋白酶 (Castagliuolo 等, 1996), 所以, 对肉种鸡的进一步措施, 可利用活的 *boulardii* 酵母同甘露糖低聚糖 (酵母细胞外壁) 一起使用以获得最佳的肠道健康。

#### 2) 枯草杆菌 (*Bacillus subtilis*) 孢子

芽孢杆菌的孢子是家禽饲料中可直接饲喂微生物中强有力的新兴种类中的一种, 它经济、可蒸气制粒、可在肠道中生长、消耗氧气、造成更有利于原籍乳酸菌和双歧杆菌的厌氧环境。然后, 这些原籍的、能在肠黏膜生成菌落的有益细菌繁殖、产生有机酸抑制病原菌如弯曲杆菌、产气荚膜梭状芽孢杆菌、大肠杆菌及沙门氏菌, 并保护肠道健康和改善鸡的生存性能。对鸡高度有效的商业产品有:

含有枯草杆菌 C-3102 的 Calsporin(日本的 Calpis 公司 )和含枯草杆菌 DSM-17299 的 Gallipro(威斯康星州密尔沃基的 Chr. Hansen 公司.)。Calpis 公司产品 Calsporin' s 具有增加笼养蛋鸡蛋壳厚度的独特能力。根据专利申请中的信息(美国专利 6,660,294; 2003 年 12 月 9 日),在几年以前的试验里,蛋壳厚度平均增加 52%。最近美国的田间试验表明蛋壳厚度提高 2%~3%,可能由于蛋鸡在蛋壳厚度的遗传性能有所提高。在美国进行的数个肉鸡试验以及一个火鸡试验都表明枯草杆菌 C-3102 的孢子提高了体重与饲料转换率但不影响死亡率;降低垫草中的含氮量与空气中的氨气浓度;减少加工胴体上的病原体并可提高胸肉产量(Fritts 等,2000; Hooge 等,2004; Blair 等,2004)。Bio-Plus 2B(Chr. Hansen 公司)含有枯草杆菌和地衣芽孢杆菌(Bacillus licheniformis)或 Calsporin,作为猪饲料有益于改善它们的生存性能。

(未完待续)

(参考文献略)