文章编号: 1003-8701(2002)01-0050-04

益生菌作用机理的研究进展

王旭明, 陈宗泽, 袁毅

(中国人民解放军军需大学农副业生产系, 吉林 长春 130062)

摘要: 益生菌是一种通过改善肠道菌群平衡而对动物施加有利影响的活的微生物饲料添加剂。其主要作用方式包括: 有利于动物消化道正常微生物区系的建立, 提高免疫和消化吸收功能, 以及防止毒性胺的合成等。

关键词: 益生菌; 作用机理; 动物; 微生物饲料添加剂

中图分类号: S852.6

文献标识码: A

1 前言

益生菌是指一种通过改善肠道菌群平衡而对动物施加有利影响的活的微生物饲料添加剂。与之相近的术语还包括微生态制剂(Microecologics)、微生物生长促进剂(Microbial growth promoters)、直接饲喂微生物(Direct-fed microbials, DFM)等。益生菌应用于动物生产只有 20 多年的历史, 近 10 年来发展较快, 是动物营养学的一个研究热点。其主要作用是通过动物消化道生物的竞争排斥作用, 帮助动物建立有利于宿主的胃肠道微生物区系, 预防腹泻, 促进生长, 提高饲料利用率, 生产无污染、无公害的畜禽产品。因此, 益生菌对于建立一个可持续的生态畜牧业具有广阔的应用前景。国内外学者对益生菌进行了很多研究和介绍, 但多数只局限于它的使用效果上, 对其作用机理缺少系统而深入的总结, 本文拟从这一方面加以综述。

2 益生菌的作用机理

1989 年, 美国食品和药物管理局(FDA)以及美国饲料监察协会(AAFCO)公布了 41 种可用于饲料的安全菌株。我国农业部于 1994 年公布的可用于动物的益生菌菌种有: 乳酸杆菌、粪链球菌、双歧杆菌等乳酸细菌和芽胞杆菌、酵母菌等。尽管益生菌对畜禽增产、抗病有一定的作用, 但其作用机理仍然所知甚少, 这是限制益生菌广泛应用的主要原因。现将文献中报道的各种可能的作用机制归纳如下。

2.1 有利于建立消化道正常的微生物区系

动物的胚胎处于无菌状态, 出生后不久, 在胃肠道便有细菌定居。在野生状态下, 初生动物主要从母体和与母体相联系的周围环境获得肠道菌群。最后在胃肠道定居的菌群不但能稳定存在, 而且数量庞大, 约含 400 种 10^{14} 个微生物, 它们能耐受种种逆境及抗菌物质。正

收稿日期: 2001-07-23

作者简介: 王旭明(1971-), 男(满族), 辽宁锦县人, 硕士, 主要从事微生物学及微生态工程方面的教学和科研。

常的胃肠道菌群由宿主和微生物本身所决定,是微生物与其宿主在共同的历史进化过程中形成的生态系。在这种平衡的状态下,正常的胃肠道菌群对宿主是有益的。例如:只需10个肠炎沙门氏菌就可以杀死一只无菌小鼠,而100万个肠炎沙门氏菌才能杀死一只常规小鼠。肠道菌群失调,动物将不可避免地发生病害。现代畜牧业限制了新生畜禽与母体的接触,因而妨碍其肠道内特征菌群的建立。在这一点上,鸡是个最典型的例子。种蛋被放入干净的孵化机内孵化,因而雏鸡无法接触母体,这样就限制了雏鸡正常肠道微生物区系的建立。虽然哺乳动物这种情况很少见,但仍有这种趋势。

应激能破坏已建立的正常的肠道微生物区系。在应激情况下,乳酸菌趋于减少,大肠杆菌增加。其他因素如过度卫生、口服抗生素等也对肠道微生物区系产生不良影响。益生菌能调整由各种原因造成的肠道菌群失调,其作用方式包括以下几个方面:

2.1.1 与致病菌竞争消化道上皮的附着位点

胃肠道的原籍菌群能抑制其他外来微生物在肠道内的定植或增殖,这被称为“竞争排斥”(Competitive exclusion)作用,或“定植抗力”(Colonization resistance)。这种定植抗力的产生是因为体内微生物与致病菌竞争肠道上皮的吸附位点而产生的。如果这些吸附位点被较多的有益微生物所占据,病原微生物就会被排斥。

研究表明,乳杆菌能定植于鸡和猪的肠道上皮,与动物体建立一种共生关系,调节肠道菌群的组成,并能有效地防止肠道致病菌如沙门氏菌对动物的感染。Ofek等的研究表明,存在于肠道上皮过量的糖类物质可能充当某些致病菌的特异受体,而Oyofu等发现,乳糖的存在能显著减少沙门氏菌在肠道上皮的吸附,这是因为乳糖能促进乳杆菌的大量增殖,从而抑制沙门氏菌在肠道上皮的吸附。

2.1.2 产生抑菌物质

乳杆菌能产生细菌素、类细菌素物质和其他的拮抗物,如过氧化氢和某些有机酸等,但这些拮抗物在肠道内的作用还不清楚。惟一的例外就是有机酸的作用已被实验所证实,它能降低肠道pH值,从而抑制致病菌。Gibson等报道,双歧杆菌能产生一种未知的广谱抗菌物质,具有抑制沙门氏菌、志贺氏菌、霍乱弧菌等病原菌的活性。罗特氏乳杆菌(*Lactobacillus reuteri*)在鸡肠道内能分泌抗菌物质reuterin,在15~30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的浓度下就可杀死沙门氏菌、大肠杆菌等致病菌;在60~150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的浓度下,乳酸菌包括罗特氏乳杆菌本身也被抑制。至于乳酸菌为何更耐reuterin,原因至今不清楚。Reuterin经分离纯化,被鉴定为3-羟基丙醛(3-HPA)的二聚体和单体的复合物。罗特氏乳杆菌是惟一的能产生reuterin的细菌。

2.1.3 与有害菌竞争营养物质

通过体外连续培养的方法可以发现肠道固有菌群与外来菌之间对营养物质的竞争现象。但在肠道内是否有这种竞争营养的作用并没有直接的实验证据。有人认为,这种竞争并不起多大作用,但是在某种物质如生物素成为有害菌的限制因素时,这种抑菌作用就会表现出来。

2.1.4 生物夺氧学说

在肠道微生态系中,厌氧菌是优势种群。利用非致病的耗氧微生物暂时在肠道定植,使局部环境的氧分子浓度降低,氧化还原电势下降,促进厌氧微生物的生长,达到提高定植抗力,恢复生态平衡的目的。这是好氧和兼性厌氧芽胞杆菌的作用机理之一。但在动物体内是否存在“生物夺氧”作用,还有待进一步研究。

2.2 提高免疫功能

拥有完整肠道菌群的常规动物比无菌动物有更高的巨噬细胞活性和免疫球蛋白水平。乳杆菌能提高巨噬细胞的活性,并能防止肿瘤的生长。王立生等报道,青春型双歧杆菌可激活巨噬细胞产生 IL-1 以及 IL-6,它们在调节机体免疫反应中可能起到一定的作用。Sekine 等证实了双歧杆菌细胞壁中的完整肽聚糖可使小鼠腹腔巨噬细胞的 IL-1 和 IL-6 等细胞因子的 mRNA 的表达增多。葛凤霞等也证实了乳酸杆菌具有较强的活化巨噬细胞的能力。张国龙等在日粮中添加 0.2% 益微制剂(一种蜡质芽胞杆菌的产品),可使仔猪血清 SOD 酶活性增加 35%。SOD 酶是生物体内清除超氧自由基的重要酶类。这一结果表明,益生菌有增强机体非特异性免疫力的作用。汪琳仙等证实了益微制剂能显著提高鸡血浆中的 IgG 水平。潘康成等应用地衣芽胞杆菌饲喂家兔,能明显加快家兔免疫器官的生长速度,而且血液中的白细胞总数和外周血 T 淋巴细胞酸性 α 醋酸萘酯酶活性 (ANAE) 阳性率均显著高于对照组。

益生菌对免疫系统的影响表明:它不仅能改善肠道微生态环境,而且能防止远离肠道的其他组织的病变。

2.3 提高消化吸收功能

益生菌饲喂动物后,能促进动物对营养物质的吸收。有益微生物在体内可产生各种消化酶,从而提高饲料转化率。如芽胞杆菌具有很强的蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶活性,还能降解植物性饲料中某些较复杂的碳水化合物。闫凤兰等用枯草芽胞杆菌饲喂 0~3 周龄肉仔鸡,能显著提高空肠内容物 α -淀粉酶活性。此外,有些微生物如乳酸菌还能合成维生素、有机酸供动物体吸收,有机酸能加强肠的蠕动,促进常量及微量元素如钙、铁、锌等的吸收。有些酵母和细菌还具有富集微量元素的作用,使之由无机态形式变成动物更易消化吸收的有机态形式,提高动物对微量元素的利用效率。

目前,通过扫描电镜已经证实有些益生菌能够维持和加强动物小肠绒毛的结构和功能,从而促进营养物质的吸收和利用。董克苏等通过产酸型活菌制剂对新生仔猪小肠绒毛形态影响的观察得出:饲喂活菌制剂的仔猪各肠段绒毛发育普遍好于对照组。王长文等以犊牛为材料也得出了相同的实验结果。Edens 等证实了罗特氏乳杆菌能显著改善鸡回肠绒毛的长度和隐窝深度,并能使由于应用庆大霉素而变短的回肠绒毛恢复正常。

2.4 防止毒性胺的合成

动物肠道的大肠杆菌、变形杆菌、铜绿色假单胞菌等对氨基酸具有脱羧作用,以致产生有毒的胺。尽管在体内胺的毒性有待进一步证实,但断奶仔猪肠道内胺的增加,常常伴随着下痢。有些微生物如乳杆菌、双歧杆菌等几乎不分解氨基酸,当这些不分解氨基酸的细菌饲喂动物后,能防止毒性胺在体内的合成。Scheuermann(1993)报道,益生菌制剂 Paciflor(有效成分为芽胞杆菌的芽胞,法国生产)能减少生长猪血液中 NH_3 的浓度。安永义等用芽胞杆菌、EM 和乳杆菌分别饲喂肉仔鸡,能使粪便 NH_3 产生量显著减少。这可能是由于氨基酸在肠内脱 NH_3 减少或者肠道结合 NH_3 能力提高,或者是由于益生菌通过分泌多种酶,使日粮蛋白质消化率提高,因而减少了体外细胞发酵产 NH_3 的底物,但其详细机制还有待进一步研究。

3 结 语

现在研制益生菌都是通过动物试验鉴定某种菌是否有效,带有很大的盲目性,而且效率极低。如果我们知道了益生菌的作用机理,就可以在实验室条件下,选择那些具有特征生化

属性的菌株用于动物试验,还可以应用遗传工程的方法改造现有菌株,生产出更有效的益生菌。因此,应加强益生菌作用机理的研究。

有关益生菌的作用机理,很多结论只是初步的或是推测,而且各菌种的作用也不能一概而论,有些只是体外试验的结果,并不一定代表动物体内的真实情况。因此,研究中不应只局限于微生物学中“纯培养”的固有观念,还需应用微生态学与悉生生物学的观点和方法,把益生菌与宿主及宿主体内的其他微生物作为一个整体,研究它们之间相克相生的关系,这样才能全面揭示有益微生物的作用,而且还能克服益生菌在研制开发过程中存在的盲目性和低效率,以及应用中效果不稳定等问题,为益生菌在畜牧业上的广泛应用提供理论依据。

参考文献:

- [1] Fuller R·A review probiotics in man and animal·J·appl·Bact·1989, 66;265—378.
- [2] Jones F T·Use of direct-fed microbials not new; way they work still not clear·Feedstuff·January 28, 1991·31—34.
- [3] 顾宏伟,李德发·动物营养研究进展[M]·北京:中国农业科技出版社,1994·248—254.
- [4] 蔡辉益,霍启光·动物营养研究进展[M]·北京:中国农业科技出版社,1994·239—247.
- [5] Sogaard H·et al·Microbials for feed beyond lactic acid bacteria·Feed International·1990, 11(4); 32—28.
- [6] 王丽娟·益生菌的研究及应用进展[J]·饲料博览, 1999, 11(1); 15—18.
- [7] Sissons J W·Potential of probiotic organisms to prevent diarrhoea and promote digestion in farm animals·A review·J·Sci·Food·Agric·1989, 49; 1—13.
- [8] 杨彩霞,胡保国·益生菌在畜牧养殖业中的应用[J]·饲料研究, 1997, (3); 15—17.
- [9] Stavric S & Korngay E T·Microbial probiotics for pigs and pultry·In Biotechnology in Animal Feeds and Animal feeding (Wallace·R·J·and Chesson·A·ed·) Weinheim·New York·1995, 205—231.
- [10] Hentyes D J·Gut flora in disease resistance·In Probiotics·The Scientific Basis(R·Fuller, ed)·Chapman and Hall, London, UK·1992.
- [11] Barrow P A·et al·The attachment of bacteria to the gastric epithelium of the pig and its importance in the microecology of the intestine·Journal of Applied Bacteriology·1980, 48; 147—154.
- [12] Pedersen K·et al·Colonization of the porcine gastrointestinal tract by lactobacili·Appl·Environ·Microbiol·1989, 55(2); 279—283.
- [13] Stavric S·et al·Role of adhering microflora in competitive exclusion of *Salmonella* from young chicks·Journal of Food Protection·1987, 50(11); 928—932.
- [14] Ofek I·et al·Surface sugars of animal cells as a determinant of recognition in bacterial adherence·Trends Biochem·Sci·1978, 3.
- [15] Oyofa B A·et al·Effect of carbohydrates on *Salmonella typhimurium* colonization in broiler chickens·Avian Dis·1989, 33.
- [16] Gibson G R and Wang X·Regulatory effects of bifidobacteria on the growth of other colonic bacteria·Journal of Applied Bacteriology·1994, 77; 412—420.
- [17] Chung T C·et al·In vitro studies on reuterin by *Lactobacillus reuteri*·Microb·Ecol·Hith·Dis·1989, 2; 137—144.
- [18] Talarico T L·et al·Purification and characterization of glycerol dehydratase from *Lactobacillus reuteri*·Appl·Environ·Microbiol·1990, 56; 1195—1197.
- [19] Edens F W·et al·Principles of ex ovo competitive exclusion and in ovo administration of *Lactobacillus reuteri*·Poultry Science·1997, 76(1); 179—196.
- [20] Rolfe R D·Population dynamics of the intestinal tract·In colonization control of human bacterial enteropathogens in poultry (Blankenship·L·C·ed)·Academic press, Inc·San Diego, CA·1991; 59—75.
- [21] 闫凤兰,卢 峥,等·肉仔鸡饲喂枯草芽孢杆菌效果的研究[J]·动物营养学报, 1996, 8(4); 34—38.
- [22] 王立生,潘令嘉,等·双歧杆菌对裸鼠腹腔巨噬细胞产生 IL-1 及 IL-6 的影响[J]·中国微生态学杂志, 1998, 10(3).
- [23] Sekine K·et al·Analysis of antitumor properties of effector cells stimulated with a cell wall preparation(WPG) of *Bifidobacterium infantis*·Biol·Pham·Bull·1995, (18); 148—153.
- [24] 葛凤霞,袁小林,等·乳酸杆菌对小鼠腹腔巨噬细胞活化作用及细胞毒作用的初步研究[J]·中国微生态学杂志, 1998, 10(1); 45—46.