

# 目录

一、尿肠球菌介绍 .....	3
二、尿肠球菌肠道作用机理 .....	6
三、尿肠球菌生物学特性研究 .....	8
1、尿肠球菌对热的耐受性 .....	8
耐温性实验 .....	8
高温制粒实验 .....	9
固态发酵与液态发酵尿肠球菌在 40 度烘箱中衰减实验 .....	10
2、耐胃酸和耐胆盐的特性 .....	11
人工胃液实验 .....	11
人工肠液实验 .....	12
3、尿肠球菌的抗生素敏感特性 .....	13
抗生素耐药性实验 .....	14
4、尿肠球菌在肠道的定植能力 .....	14
尿肠球菌 S03 在猪肠上皮细胞上的定植力及与其他菌种的竞争性黏附试验报告 .....	14
5、尿肠球菌的抑菌性 .....	16
固态发酵尿肠球菌体外对大肠杆菌抑菌效果进行研究实验 .....	17
6、尿肠球菌的生长特性 .....	18
四、尿肠球菌在养殖动物领域的研究 .....	19
1、猪 .....	19
a、尿肠球菌对仔猪生长性能的影响 .....	19
c、对仔猪免疫功能的影响 .....	19
d、对肠道菌群及肠粘膜结构的影响 .....	19
e、尿肠球菌对肥育猪母猪的影响 .....	20
奥姆龙软膏剂（尿肠球菌）在仔猪体内的试验 .....	20
2、家禽 .....	31
a、不同浓度尿肠球菌对家禽生长性能的影响 .....	31
b、不同浓度尿肠球菌对家禽死淘率的影响 .....	32
c、不同浓度尿肠球菌对家禽免疫器官指数的影响 .....	32
d、不同浓度尿肠球菌对家禽血清生化指标的影响 .....	32
e、不同浓度尿肠球菌对家禽肠道菌群的影响 .....	33
蛋鸡日粮中添加乳酸菌可行性的研究 .....	33
3、反刍 .....	35
a、不同浓度尿肠球菌对奶牛泌乳量的影响 .....	35
b、不同浓度尿肠球菌对奶牛表观消化率及生长性能的影响 .....	35
c、不同浓度尿肠球菌对乳体细胞数的影响 .....	35
4、水产 .....	36
a、不同浓度尿肠球菌对鱼体特异性及非特异性免疫的影响 .....	36
b、不同浓度尿肠球菌对鱼体肠道微生物菌群的影响 .....	36
固态发酵尿肠球菌在南美白对虾上的中试应用报告 .....	37
五、尿肠球菌发酵中药的应用 .....	42
1、发酵中药的特点及功能 .....	42
a、提高中药生物利用度 .....	42

b、增强肠黏膜抵抗力 .....	42
c、调理肠道微生态 .....	42
d、降低应激反应，提高免疫力 .....	42
e、改善动物营养状况 .....	43
f、降低粪便臭味，利于环境保护 .....	43
2、发酵中药在动物养殖方面的应用 .....	43
a、在鸡鸭养殖中的应用 .....	43
b、在养猪中的应用 .....	43
c、在牛羊养殖中的应用 .....	43
d、在水产养殖中的应用 .....	44
3 结语 .....	44

Aomron

# 奥姆龙高效屎肠球菌

## 一、屎肠球菌介绍

屎肠球菌是一种可以在肠道定植的乳酸菌，在欧盟和我国均批准饲用。



EFSA Journal 2012;10(5):2682

### SCIENTIFIC OPINION

#### **Guidance on the safety assessment of *Enterococcus faecium* in animal nutrition<sup>1</sup>**

**EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP)<sup>2,3</sup>**

European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy

欧盟早在 2012 年就批准了屎肠球菌 (*Enterococcus Faecium*) 在动物中的应用

Table 1. Micro-organisms authorized for the use as feed additives in the EU, Simon et al 2003.

Micro-organism	Strain	Species or category of animal
<i>Bacillus cereus</i> var. <i>toyoi</i>	NCIMB 40112/ CNCM I 10121	Chickens for fattening, laying hens, calves, cattle for fattening, breeding does, rabbits for fattening, piglets, saw.
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	NCYC sc 47	Rabbits for fattening, sow, piglets, dairy cows.
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	CBS 493.94	Calves, cattle for fattening, dairy cows.
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	CNCM I- 1079	Sows, piglets.
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	CNCM I- 1077	Dairy cows, cattle for fattening
<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC 53519	Chickens for fattening
<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC 55593	Chickens for fattening, pigs, piglets for fattening
<i>Pediococcus acidilactici</i>	CNCM MA 18/5M	Chickens for fattening, pigs for fattening, sows, cattle for fattening, piglets, calves.
<i>Enterococcus faecium</i>	NCIMB 10415	Piglets, chickens for fattening, calves.
<i>Enterococcus faecium</i>	DSM 5464	Piglets
<i>Lactobacillus farciminis</i>	CNCM MA 67/4R	Piglets, calves, chickens for fattening.
<i>Enterococcus faecium</i>	DSM 10663	Piglets, calves, chickens for fattening.
<i>Enterococcus faecium</i>	NCIMB 10415	Piglets, calves, chickens for fattening.
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	MUCL 39885	Piglets, cattle for fattening
<i>Enterococcus faecium</i>	NCIMB 11181	Calves, piglets.
<i>Enterococcus faecium</i>	DSM 7134	Calves, piglets.
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	DSM 7133	Calves, piglets.
<i>Lactobacillus casei</i>	NCIMB 30096	Calves
<i>Enterococcus faecium</i>	NCIMB 30098	Calves, piglets.
<i>Enterococcus faecium</i>	CECT 4515	Calves, piglets.
<i>Streptococcus infantarius</i>	CNCM I-841	Calves
<i>Lactobacillus plantarium</i>	CNCM I-840	Calves
<i>Bacillus licheniformis</i>	DSM 5749	Sow, piglets, pigs for fattening, chickens for fattening, turkeys for fattening, calves.
<i>Bacillus subtilis</i>	DSM 5750	Calves.
<i>Enterococcus faecium</i>	DSM 3530	Calves.

欧盟批准的饲用益生菌 2003 年批了 26 株，其中屎肠球菌（*Enterococcus faecium*）占 10 株（√标注），是最多的益生菌菌株；涵盖仔猪、仔鸡、犊牛和肉牛育肥。

### 2013 版中国饲用微生物菌种目录

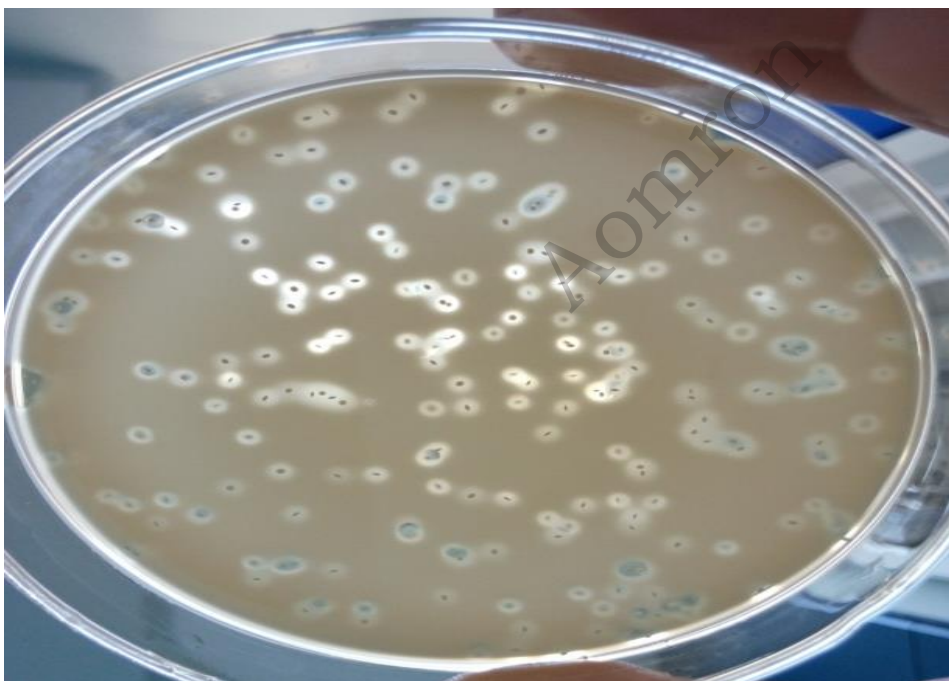
据中华人民共和国农业部 2045 号公告，屎肠球菌是我国农业部公布的可直接作为饲料添加剂的微生物菌种之一，能作为饲用益生菌在养殖动物领域使用。

表 1 中华人民共和国农业部公告 第 2045 号（部分）

菌种名称	适用动物
地衣芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、两歧双杆菌、粪肠球菌、屎肠球菌、乳酸肠球菌、嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌、德式乳杆菌酸亚种、植物乳杆菌、乳酸片球菌、戊糖片球菌、产朊假丝酵母、酿酒酵母、沼泽红假单胞菌、婴儿双歧杆菌、长双歧杆菌、短双歧杆菌、青春双歧杆菌、嗜热链球菌、罗伊氏乳杆菌、动物双歧杆菌、黑曲霉、米曲霉、迟缓芽孢杆菌、短小芽孢杆菌、纤维二糖乳杆菌、发酵乳杆菌、德氏乳杆菌保加利亚种	养殖动物
产丙酸杆菌、布氏乳杆菌	青贮饲料、牛饲料
副干酪乳杆菌	青贮饲料
凝结芽孢杆菌	肉鸡、生长育肥猪和水产养殖动物

总菌种 34 个，乳酸菌 22 个（屎肠球菌是一种特殊的乳酸菌），芽孢杆菌 6 个，真菌 4 个，其他 2 个

奥姆龙尿肠球菌，是经过多年研究，开发出的一种抗逆性强、耐常温保存、产乳酸等优点的活菌制剂。是通过微生物固态发酵、干燥粉碎和多层处理而成的活菌制剂。

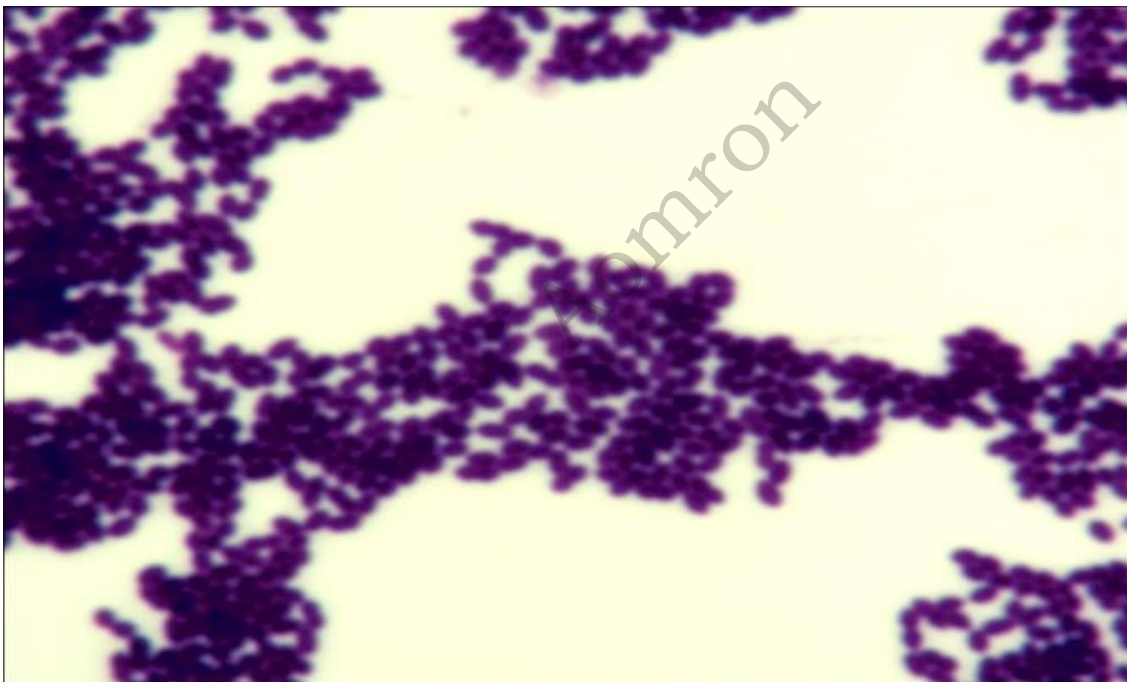


- 尿肠球菌是革兰氏阳性菌，兼性厌氧，不形成芽孢。菌落形态呈球形、卵圆形，直径 0.5-1.5um 大小的菌落，白色，不透明，边缘整齐
- 最适生长温度为 35-37℃
- 最适生长 PH 值为 6.0-7.0
- 能产生 L 型乳酸、细菌素和过氧化氢等物质，抑制有害菌的生长

## 菌落形态



菌体形态



## 二、屎肠球菌肠道作用机理

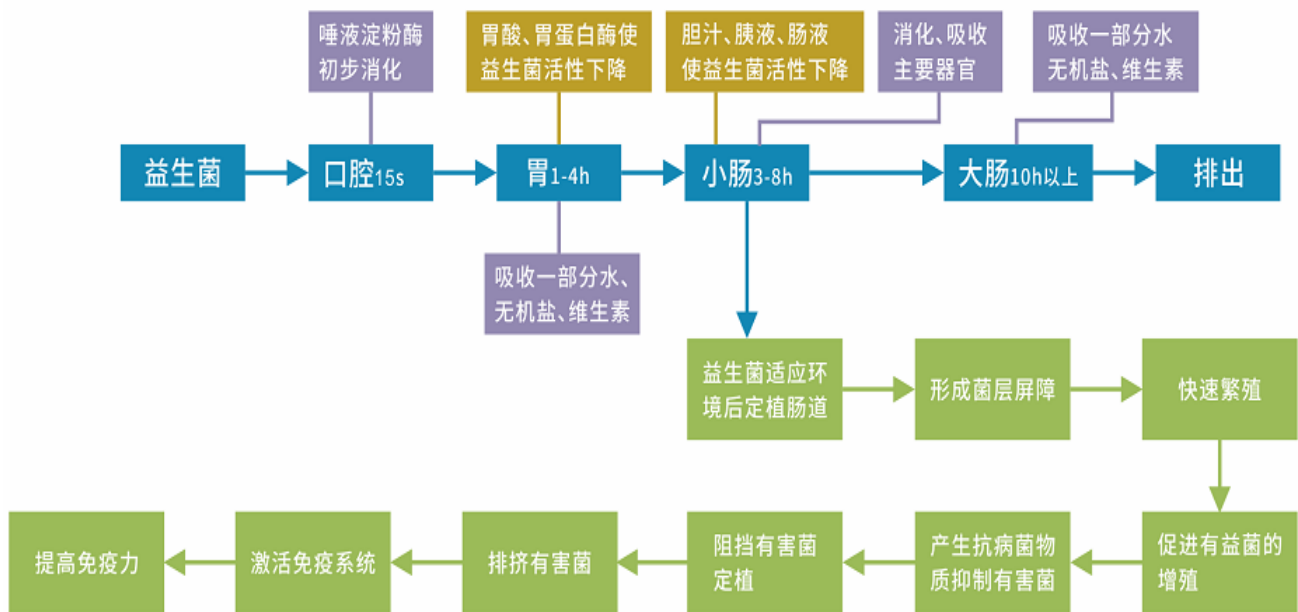
屎肠球菌进入动物肠道后，主要通过以下四个途径产生作用：

- ①快速黏附肠道黏膜。通过排阻效应抑制病原菌黏附肠道，形成肠道屏障、保护肠道健康、维持微生态平衡。
- ②代谢过程中产生乳酸、细菌素和过氧化氢等物质。可以降低肠道 pH 值、抑制动物病原菌繁殖、维持和调整肠道微生态平衡、减少肠道内毒素与尿素酶的含量、减少血液中毒素和氨的含量、促进动物器官成熟、改善动物生理状态。
- ③产生多种营养物质(维生素、氨基酸、促生长因子等)。营养物质可参与新陈代谢、促进动物生长。

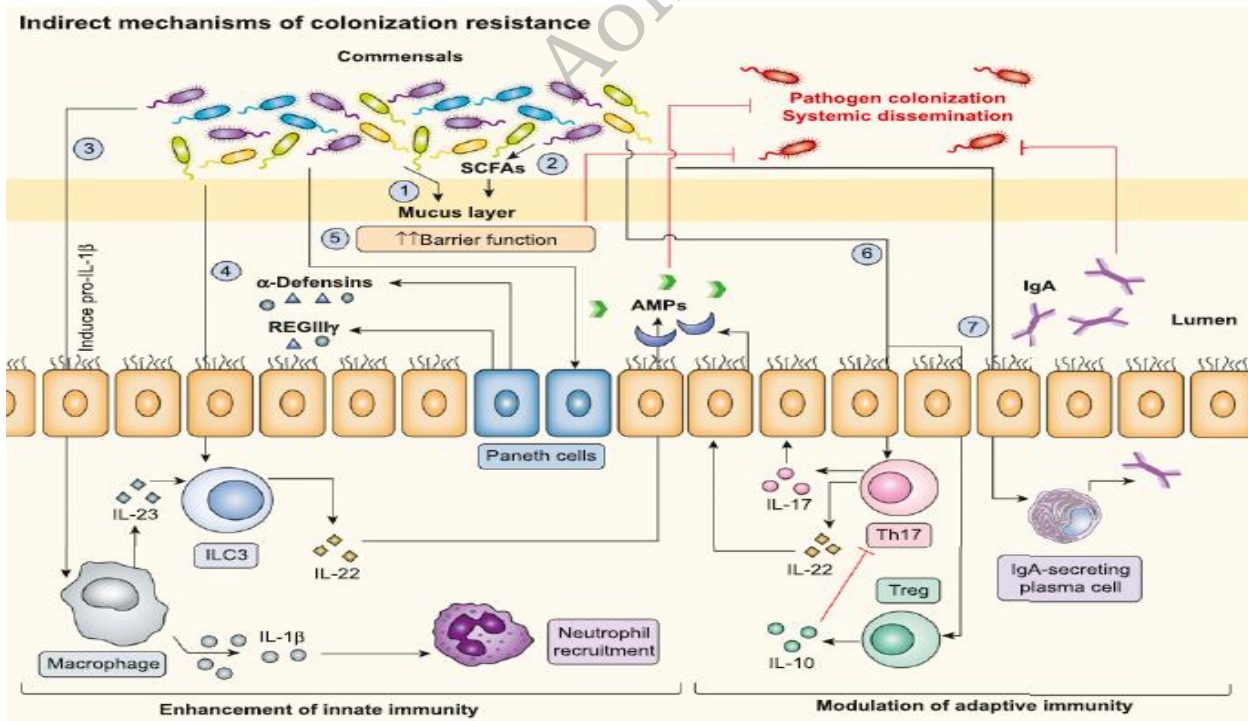


④诱导机体产生细胞因子、干扰素、白细胞介素等。可增强机体非特异性免疫、提高抗病能力、降低炎症反应、促进肠道健康。

### 益生菌在消化系统中的作用机理



### 益生菌增强机体免疫力机制



- ① 粘膜屏障
- ② 产生短链脂肪酸 SCFAs 抗菌

- ③ 白介素 IL-1 $\beta$  介导的中性粒细胞免疫
- ④ 白介素 IL-22 介导的抗菌素（如抗菌肽）
- ⑤ 刺激 T 细胞免疫
- ⑥ 刺激 B 细胞免疫

### 三、屎肠球菌生物学特性研究

#### 1、屎肠球菌对热的耐受性

益生菌是对动物生长和生产都有很大帮助的菌类,可以调节胃肠道的菌群平衡,使优势菌占优势,调节动物肠道生理功能,提高动物的免疫力,提高饲料的利用率。在饲料加工的过程中,有益菌能否耐受制粒时的温度将是检验有益菌是否有经济价值的重要因素。大多乳酸菌在饲料加工的过程中死亡殆尽,或者活性降低很多。优良的益生菌的选择,温度是至关重要的方面。

奥姆龙筛选出屎肠球菌经 60℃湿热处理 15min 存活达 90%以上;在 100℃干热处理 15min 存活率达 80%以上;在饲料制粒实验中,经饲料高温制粒后大多数乳酸菌会死亡,在小猪料制粒温度较低 85 度,制粒后存活率 50%,实验表明该菌有较强的耐热性。

同时实验结果表明奥姆龙固态发酵的屎肠球菌在常温保存中相较于液态酵的屎肠球菌存活率更高,更易于存储。

#### 耐温性实验

### 耐温性实验

实验方案: 1、分别取屎肠球菌于各温度的水浴中,分为 4 组,以 37 为参照,于 50 度、60 度、80 度中水浴 15min,取出冷却,活菌计数。

2、分别取屎肠球菌于各温度的干燥箱中,分为 4 组,以 37 为参照,于 50 度、70 度、100 度干燥箱 15min,取出冷却,活菌计数

表 1: 水浴温度实验

批号/温度	原菌数 (亿/g)	37 °C	50 °C	60 °C	80 °C
2018032	190	195	190	185	2
20171201	180	182	181	174	0

表 2: 干燥箱温度实验 (干热温度)

批号/温度	原菌数 (亿/g)	37 °C	50 °C	70 °C	100 °C
20180324	190	193	196	192	162



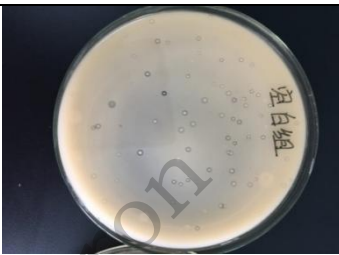

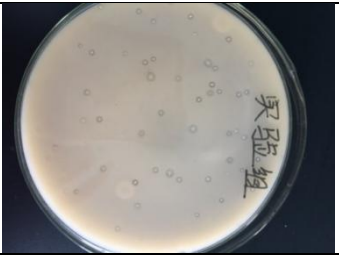
20171201	180	185	179	181	146
----------	-----	-----	-----	-----	-----

总结：奥姆龙屎肠球菌在水浴 37-60 度水浴中 15min，损失率小于 5%，在 37-70 度的干燥箱中 15min 几乎不损失，在 100 度的干燥箱中 15min，损失约 20%。

2018 年 4 月 13 日  
微生物实验室

## 高温制粒实验

### 1、屎肠球菌高温制粒结果统计

样品名称	标准添加量	活菌数	平皿	分析
空白组 饲料未添加屎肠球菌	0	800 万杂菌， 无屎肠球菌		屎肠球菌在拌料混合未制粒前都没有损失，在经过高温制粒后屎肠球菌在 $10^{-5}$ 时未检出。
混合组 饲料添加屎肠球菌未制粒前	2500 万/g 屎肠球菌	2500 万/g 屎肠球菌		
实验组 饲料添加屎肠球菌制粒后	2500 万/g 屎肠球菌	800 万杂菌， <b>未检出屎肠球菌</b>		

闽雄制粒小试：经高温制粒后未检出

2、样品信息：采用 8 月 15 日包被好的乳酸菌（60 亿/g）在闽雄饲料厂进行高温制粒。1.5 千克乳酸菌添加至 1 吨母猪料中。

小试制粒日期	样品名称	乳酸菌实际添加量	乳酸菌实际检测菌数	杂菌	损失率	水分
2017 年 08 月 24 日	混合后（粉末）	900 万/g	700 万/g	800-1000 万/g	22.2%	12.0%

	制粒后		小于 9 万/ g	600 万/ g	大于 99%	12.0%
2017 年 09 月 23 日	混合后 ( 粉末 )		400 万/ g	500 万/ g	55.5%	12.0%
	制粒后		小于 10 万/ g	300 万/ g	大 于 99%	12.0%

结果简述:通过这两次的小试结果看,包被后的乳酸菌在和母猪料混合后就已经损失 22%-55%,制粒后损失率达 99%。

### 3、益发制粒小试结果 采用包被后的乳酸菌 (60 亿/g) 进行高温制粒

名称	实际检测 乳酸菌数	其它菌	水分
乳酸菌标准添加量	900 万/ g	/	/
混合后 ( 粉末 )	300-450 万/ g	300 万/ g	9.8%
制粒后	200-300 万/ g	300 万/ g	7.4%

结果简述:采用包被后的乳酸菌 (60 亿/g) 进行高温制粒, 1、在混合后菌量损失严重

### 4、闽雄制粒小试 (小猪料)

名称	基础菌数	混合后菌数/损失率	制粒后菌数/损失率
菌数	1500 万/g	1000 万/g / 30%	400-500 万/g / 50%

小结:小猪料制料温度较低 85 度,制粒后损失率 50%

## 固态发酵与液态发酵屎肠球菌在 40 度烘箱中衰减实验

### 实验一、自制固态乳酸菌与强 A\*液态乳酸菌在 40 度烘箱中的对比实验(亿/g)

名称	原 菌 数	1 天	2 天	3 天	6 天	9 天	14 天	23 天	36 天	44 天
强 A*液态发酵乳酸菌	279	265	200	190	145	130	100	60	60	40
006 批次颗粒状乳酸菌	230	200	233	210	200	180	200	190	170	130
006 批次粉碎后乳酸菌	210	200	200	180	180	165	145	170	150	130

小结：从实验结果可看出 A 公司液态发酵屎肠球菌在 40 度烘箱中存放 44 天后存活率为 14.3%。而我司固态发酵的屎肠球菌存活率为 56.5%以上。说明我司固态发酵的屎肠球菌在对抗 40 度高温时具有更强的抗逆性。

## 2、耐胃酸和耐胆盐的特性

肠球菌发挥益生作用的先决条件是能够顺利通过胃酸并在肠道定植。益生菌只有在肠道生存下来，并生长繁殖才能发挥益生作用。畜禽胃内 PH 值一般在 3.0 左右，食物在胃内停留时间一般为 1-2h，因此益生菌必须对胃酸和胆盐有较强的耐受性才能顺利通过胃到达肠道。

通过实验总结奥姆龙固态屎肠球菌在人工胃液中 (PH2.0-4.0) 3 小时存活率为 60%；在人工胃液中 (PH2.0-3.0) 3 小时存活率为 20%；在人工肠液中耐受存活率为 80%。奥姆龙屎肠球菌能够顺利通过胃酸及胆盐并在肠道定植生存下来。同时通过实验结果也可看出奥姆固态发酵的屎肠球菌比液态发酵的屎肠球菌在人工胃液及人工肠液中的抗逆性更强，屎肠球菌的存活率更高。

### 人工胃液实验

人工胃液：取稀盐酸 16.4mL 至 1000ml 容量瓶中，加水 500ml，加氯化钠 0.2%。然后参考 GB/T 17811-1999 相关方法，加入生化级胃蛋白酶 (0.2%) (pepsin, sigma) (蛋白酶浓度为 20IU/ml)，充分溶解后，加水至 1000ml。用孔径 0.45 μm 微孔滤膜过滤除菌，即为人工胃液。(参考中国药典)(配制好后测 PH 值 1.4-1.6)

方法 1: 取 3g 样品到 100ML 人工胃液中(3g 样品至 100ml 人工胃液中后 PH 值会有所上升 ph2.0-4.0 范围) 振摇 2min 后 37 度静置 3h，再振摇 2min 检测。

	名称	原菌数 (亿/g)	3h 人工胃液 (亿/g)	存活率%
奥姆龙 固态发 酵	0321 批试样 A	118	66	56%
	0321 批试样 B	118	71	60%
	0225 批试样 A	152	102	67%
	0225 批试样 B	152	93	61%
	0421 批	215	127	59%
液态发 酵	强 A*	3000	1069	35.6%
	强 B*	4000	1290	32.25%
	科 A*	1000	368	36.8%

实验小结：奥姆龙固态屎肠球菌在人工胃液中 (PH2.0-4.0) 3 小时存活率约为 60%；液态发酵的屎肠

球菌存活率约为 35%；说奥姆龙固态发酵的屎肠球菌在人工胃液中的抗逆性更强。

方法 2: 取 2g 样品到 100ML 人工胃液中(2g 样品至 100ml 人工胃液中后 PH 值会有所上升 pH2.0-3.0 范围) 振摇 2min 后 37 度静置 3h, 再振摇 2min 检测。

名称		原菌数 (亿/g)	3h 人工胃液(亿/g)	存活率%
奥姆龙固态发酵	0321 批试样 A	118	24	20.0%
	0321 批试样 B	118	27	22.8%
	0225 批试样 A	152	30	19.7%
	0225 批试样 B	152	32	21.0%
	0421 批	215	47	21.8%
液态发酵	强 A*	3000	186	6.2%
	强 B*	4000	421	10.5%
	科 A*	1000	86	8.6%

实验小结: 奥姆龙固态屎肠球菌在人工胃液中 (PH2.0-3.0) 3 小时存活率为 20%; 液态发酵的屎肠球菌存活率约为 8.0%; 说奥姆龙固态发酵的屎肠球菌在人工胃液中的抗逆性更强。屎肠球菌能通过胃酸顺利到达肠道才能发挥他的益生作用。

## 人工肠液实验

人工肠液: a 液 b 液以 2: 1 混合(PH8.0-8.5)

a. 胰液: NaHCO<sub>3</sub>1.1%、NaCl 0.2%、胰蛋白酶 (Trypsin, sigma)0.1%, 调整 pH 为 8.0 后, 过滤除菌备用。

b. 胆汁: Bile Salts (Difco)1.2%, 调整 pH 为 8.0 后, 过滤除菌备用。

方法: 取 2g 样品至 100ml 人工肠液振摇 2min 后 37 度静置 2h、4h, 再振摇 2min 检测

名称		原菌数 (亿/g)	2h (亿/g)	4h (亿/g)	4h 存活率
奥姆龙固态发酵	0319001 前车	200	178	168	84%
	0319001 后车	350	310	301	86%

	0219 批	300	258	249	83%
	0432 批	120	105	99	82.5%
液态发 酵	强 A*	3000	2812	2245	74.8%
	强 B*	4000	3270	2884	72.1%
	科 A*	1000	895	775	77.5%

小结：奥姆龙固态发酵屎肠球菌在人工肠液中 4h 存活率为 80%，液态菌存活率为 75%，说明屎肠球菌能够在肠道中存活下来，对胆盐有较强的耐受性，适应肠道后繁殖生长，发挥益生作用。

### 3、屎肠球菌的抗生素敏感特性

屎肠球菌具有对广谱抗生素的耐药性，对饲料添加剂中大多数常用抗生素都具有耐药性。

我司与龙岩学院签订协议测定我司屎肠球菌的抗生素耐药性，实验结果表明，对饲料添加剂中大多数常用抗生素都具有耐药性，同时对万古霉素、强力霉素等抗生素又有高度的敏感。

# 抗生素耐药性实验

## 龙岩学院动物医学研究所 检验（测）报告书

送检单位：福建奥姆龙动物药业有限公司

送检样品：乳酸菌菌种


检验类别：直接送检

送检时间：2016年7月21日

联系电话：13062213073

### 一、诊断检验（测）项目

检测项目	检测方法	检测份数	检测日期
药敏试验	纸片法	1	

检验：黄思琼      审核：戴爱玲      批准：

### 二、诊断检验（测）结果记录表

乳酸菌药敏结果：

序号	药品名	抑菌圈（单位：mm）	结果判定
1	红霉素	15	I
2	万古霉素	22	S
3	磺胺	0	R
4	林可霉素	14	I
5	四环素	22	S
6	强力霉素	24	S
7	环丙沙星	23	S
8	恩诺沙星	24	S
9	大观霉素	19	I
10	头孢唑林	18	I
11	阿莫西林	30	S
12	青霉素	25	S
13	氨苄西林	28	S
14	链霉素	12	I
15	卡那霉素	0	R
16	庆大霉素	0	R
17	杆菌肽	0	R

判定标准：S代表高度敏感，抑菌圈直径 $\geq 20$ mm；  
I代表中度敏感， $20 >$  抑菌圈直径 $\leq 10$ mm；  
R代表耐药，抑菌圈直径 $< 10$ mm

## 4、屎肠球菌在肠道的定植能力

屎肠球菌在肠道中生长繁殖的根本所在就是对胃肠道上皮细胞的较强吸附力，也就是与病原菌竞争定植位点，屎肠球菌通过占领定植位点进而病原菌在肠道定植受到抑制，达到在肠道内减少病原菌的数量，肠道菌群进一步优化，这是屎肠球菌发挥生物功能的必要条件。

我司委托龙岩学院研究屎肠球菌 S03 在猪肠上皮细胞上的定植力及与其他菌种的竞争性黏附试验结果表明 1、奥姆龙屎肠球菌 S03 能在小肠上皮细胞内定植，黏附定植力为  $6.871 \pm 0.428$  单位： $\text{Log}_{10}$  (CFU/孔) 2、奥姆龙屎肠球菌 S03、A/B 公司屎肠球菌均能在猪小肠上皮细胞上定植，奥姆龙屎肠球菌 S03 定植力高于 A/B 公司屎肠球菌 3、奥姆龙屎肠球菌 S03 和大肠杆菌均能在猪小肠上皮细胞上定植，奥姆龙屎肠球菌 S03 不能排完全排除有害菌（大肠杆菌）在猪小肠上皮细胞上的定植，但有一定的抑制力。

## 屎肠球菌 S03 在猪肠上皮细胞上的定植力及与其他菌种的竞争性黏附试验报告

### 1、奥姆龙屎肠球菌 S03 在猪肠上皮细胞上的黏附值(定植力)

表 1      单位： $\text{Log}_{10}$  (CFU/孔)



名称	奥姆龙屎肠球菌 S03 组
在细胞上黏附的细菌总数	6.871±0.428

结果表明奥姆龙屎肠球菌 S03 在猪小肠上皮细胞上有很好的黏附定植能力，黏附值为 6.871±0.428 单位：Log<sub>10</sub> (CFU/孔)

## 2、不同厂家屎肠球菌在猪小肠上皮细胞上的定植能力

表 2 单位：Log<sub>10</sub> (CFU/孔)

名称	奥姆龙屎肠球菌 S03 组	A 公司屎肠液态球菌组	B 公司屎肠液态球菌组
在细胞上黏附的细菌总数	6.871±0.428	6.004±0.631	6.115±0.521

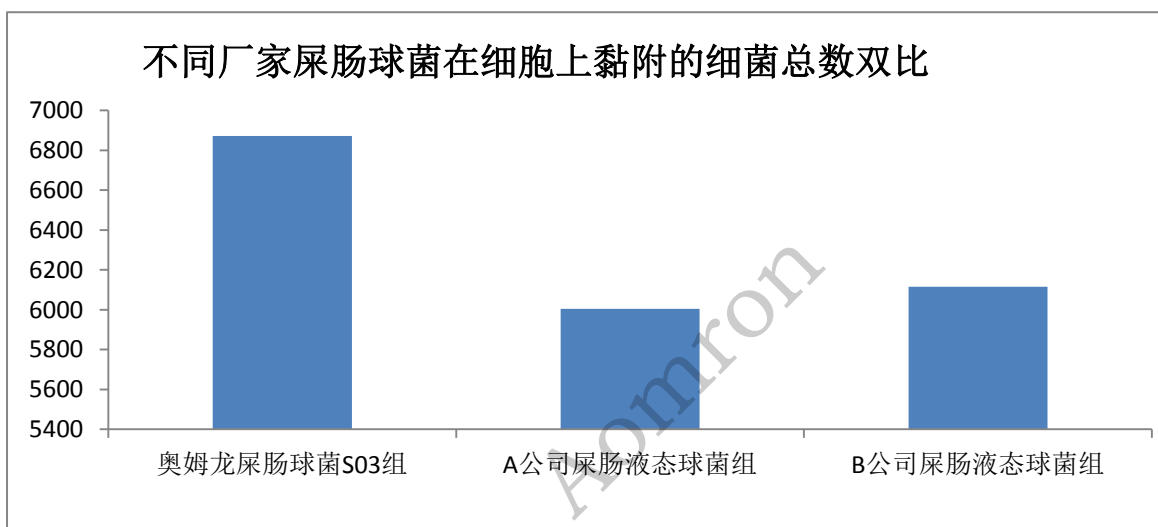


图 1 不同厂家屎肠球菌在 10 个猪小肠上皮细胞上的定植能力

表 2 和图 1 结果表明奥姆龙屎肠球菌 S03 和 A\B 公司屎肠球菌均能定植于猪小肠上皮细胞，两者定植能力差异显著，奥姆龙屎肠球菌 S03 的定植力更强。

## 3、屎肠球菌与大肠杆菌在猪小肠细胞上的竞争性黏附

表 3 屎肠球菌与大肠杆菌在猪小肠细胞上的竞争性黏附

单位：Log<sub>10</sub> (CFU/孔)

项目	大肠杆菌组	屎肠球菌 S03+大肠杆菌组	屎肠球菌 S03-大肠杆菌组	大肠杆菌-屎肠球菌 S03 组
屎肠球菌	—	6.803±0.236	6.758±0.616	6.755±0.043
大肠杆菌	6.472±0.342	6.015±0.238	5.953±0.351	6.125±1.361

注：屎肠球菌 S03+大肠杆菌组表示两者同时孵育 1h；屎肠球菌 S03-大肠杆菌组表示先加屎肠球菌 S03 孵育 1h，PBS 洗涤后加大肠杆菌孵育 1h；大肠杆菌-屎肠球菌 S03 组表示先加大肠杆菌孵育 1h，PBS 洗涤后加屎肠球菌 S03 孵育 1h。

以上结果表明 1、大肠杆菌也能在猪小肠上皮细胞定植，但屎肠球菌 S03 与大肠杆菌无论是同时孵育还是先后孵育，两者在猪小肠上皮细胞上都能定植。2、在添加屎肠球菌后，大肠杆菌的定植能力有所减弱，但差异不显著（原因：定植孵育时间太短，屎肠球菌

还没有代谢出抑菌物质。)

### 3 结论

- 1、奥姆龙屎肠球菌 S03 能在小肠上皮细胞内定植，黏附定植力为  $6.871 \pm 0.428$  单位： $\text{Log}_{10}$  (CFU/孔)
- 2、奥姆龙屎肠球菌 S03、A/B 公司屎肠球菌均能在猪小肠上皮细胞上定植，奥姆龙屎肠球菌 S03 定植力高于 A/B 公司屎肠球菌
- 3、奥姆龙屎肠球菌 S03 和大肠杆菌均能在猪小肠上皮细胞上定植，奥姆龙屎肠球菌 S03 不能排完全排除有害菌（大肠杆菌）在猪小肠上皮细胞上的定植，但有一定的抑制力。

实验单位：龙岩学院

2018 年 07 月 15 日

## 5、屎肠球菌的抑菌性

屎肠球菌的抑菌作用主要是因为有机酸（如乳酸）的分泌，此外，屎肠球菌所分泌的细菌素、类细菌素和过氧化氢等物质对其他微生物产生一定的抑制作用。研究表明屎肠球菌能很好的抑制大肠杆菌的生长，屎肠球菌对大肠杆菌的抑制主要是其产生的乳酸导致。屎肠球菌能分泌一种蛋白质属性的细菌素，使得该菌株不仅对李斯特菌、金黄色葡萄球菌等革兰氏阳性菌有抑制作用，大肠杆菌、沙门氏菌、副溶血性杆菌等革兰氏阴性菌也有较好的抑制作用。

上海交通大学（唐晔盛等）试验证明用屎肠球菌 JT1701 与人体肠系有害菌（大肠杆菌、产气荚膜梭菌、脆弱拟杆菌）和人体肠系益生菌（婴儿双歧杆菌、嗜酸乳杆菌）分别及共同培养发现，屎肠球菌对这些菌均有抑制作用。它能抑制这些菌氨的产生，降低培养基的 pH。其原因是，屎肠球菌与氨产生相关的尿酶、氨基酸脱氨酶的种类少，酶活性亦低；而与  $\text{NH}_4^+$  同化相关的谷氨酸脱氢酶、谷氨酸合酶、谷酰氨合成酶的活性要高得多。表明屎肠球菌对人体肠系菌群具有调控作用。

鉴于屎肠球菌的抑菌作用，我司于 2021 年 4 月与中国科学院亚热带农业生态研究所签订协议，对我司生产的固态发酵屎肠球菌体外对大肠杆菌抑菌效果进行研究。

# 固态发酵屎肠球菌体外对大肠杆菌抑菌效果进行研究实验

## 技术开发结题报告

项目名称：固态发酵屎肠球菌体外对大肠杆菌抑菌效果研究

委托方（甲方）：福建奥姆龙生物工程有限公司

受托方（乙方）：中国科学院亚热带农业生态研究所

签订时间：2021年4月20日

签订地点：湖南省长沙市

负责团队：印遇龙院士团队

技术指导：印遇龙院士

联系人：李铁军研究员、尹杰教授

联系电话：15974274650

2021.6.17

## 奥姆龙屎肠球菌制剂体外对大肠杆菌抑菌效果研究


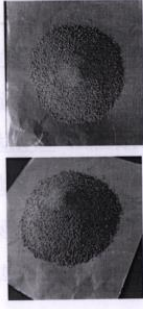
一、开发项目的要求

- 1、技术目标：固态发酵屎肠球菌制剂体外对大肠杆菌抑菌效果
- 2、技术内容：（1）抑菌圈直径的测量；（2）最小抑菌浓度（MIC）测定

二、实验材料与方法

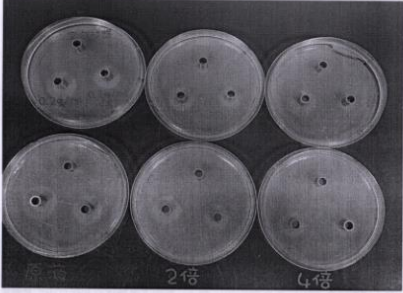
1、菌种

大肠杆菌：Escherichia coli；固态发酵屎肠球菌制剂

样品图

第二次实验结果：



0.1/ml 菌液抑菌圈直径 D (mm)

项目	原液	2倍	4倍
D <sub>1</sub>	20.16	17.68	13.35
D <sub>2</sub>	19.88	18.12	13.37
平均值	20.02	17.90	13.36

0.2g/ml 菌液抑菌圈直径 D (mm)

项目	原液	2倍	4倍
D <sub>1</sub>	22.82	19.24	18.87
D <sub>2</sub>	22.69	20.69	18.92
平均值	22.76	19.97	18.90

两个浓度抑菌圈平均值对照 (mm)

	原液	2倍	4倍
0.1g/ml	20.02	17.90	13.36
0.2g/ml	22.76	19.97	18.36

所有数据均在实验误差之内，分析可知：当原液浓度一定时，稀释倍数越大，抑菌圈直径越小，即固态发酵屎肠球菌制剂对大肠杆菌的抑制效果越弱；但稀释倍数相同时，在一定范围内，原液浓度越大，即样品的量越多，抑菌圈直径越大，固态发酵屎肠球菌制剂对大肠杆菌的抑制效果越好。在稀释倍数为4时，抑菌圈很淡，初步判断最小抑菌浓度为0.025g/ml。

四、结论

奥姆龙固态发酵屎肠球菌制剂具有明显抑菌作用，浓度越高抑菌效果越好，其最小抑菌浓度（MIC）为0.025g/ml。综上，奥姆龙屎肠球菌制剂可用于畜禽动物抑制病原菌生长、促进肠道健康。

项目完成人：李铁军

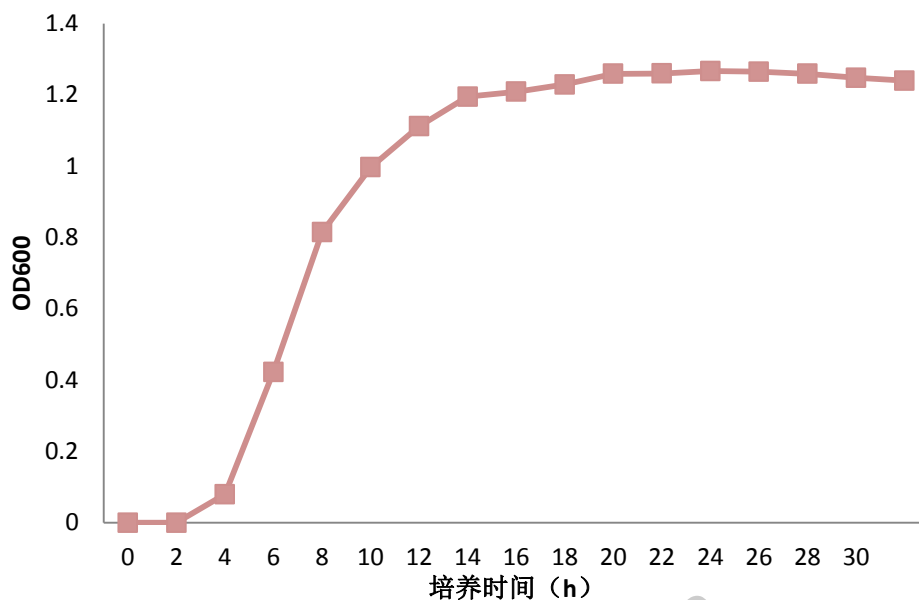
项目审核：李铁军

中国科学院亚热带农业生态研究所  
项目负责人签字  
尹杰

中科院研究结果表明固态发酵的屎肠球菌对大肠杆菌具有明显的抑制作用，浓度越高抑菌效果越好，其最小抑菌浓度（MIC）为0.025g/mL。综上，奥姆龙固态发酵屎肠球菌制剂可用于畜禽动物抑制病原菌生长、促进肠道健康。

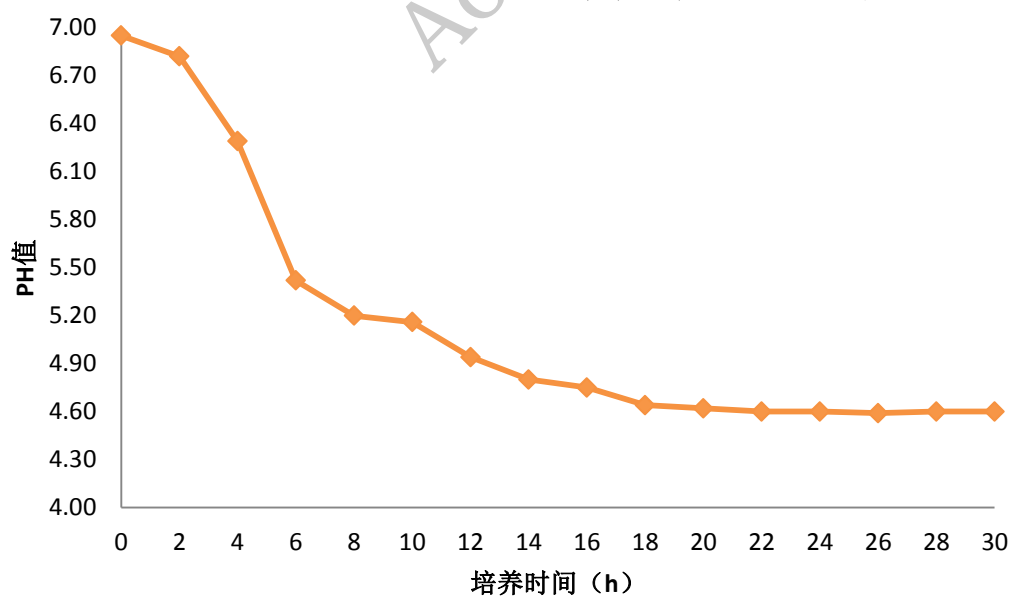
## 6、屎肠球菌的生长特性

图A：屎肠球菌的生长曲线



小结：此为摇床的数据，从时间轴数据分析，该菌 0-2h 生长延滞；2-8h 呈对数生长，繁殖 12h 趋于稳定；26h 后，受自身代谢产酸影响，生长有一定抑制。

图B：屎肠球菌的产酸曲线



小结：该结果与上图生长曲线结果相符，对数生长期，产酸能力强，pH 值下降快；12h 后，pH 下降放缓，最终 pH 在 4.5 左右。

# 四、屎肠球菌在养殖动物领域的研究

## 1、猪

屎肠球菌是人类和动物体内的正常菌群之一，是仔猪生产中常用的益生菌之一，维持仔猪肠道菌群平衡、调节小肠绒毛发育、促进养分吸收、增强抗病能力等都有重要作用。屎肠球菌通常在动物肠道内正常存在，不会引起宿主动物发生疾病；但是假如宿主的机体免疫力和营养状况下降，会导致机体产生病变，常会引起机体创伤感染及腹腔感染，发菌血症等，免疫力低下、过量使用抗生素或各种病原混合感染的机体中可致败血症、心内膜炎、脑炎等，亡率达 21.0-27.5%。

有大量的研究数据表明屎肠球菌对仔猪的影响，以下是在中国知网查阅的各文献资料

### a、屎肠球菌对仔猪生长性能的影响

有试验表明在仔猪日粮中添加屎肠球菌(CECT410)显著提高断奶后 28d 仔猪的体重( $P<0.05$ )。英国利兹大学(University of Leeds)初步研究表明，在日粮中添加屎肠球菌能改善断奶后一周仔猪的生长性能。Maeng 等(1989)认为，在小猪日粮中一直添加屎肠球菌(SF68)到 4 个月，能增加小猪体重、采食量及提高饲料转化率。张振斌等(2004)试验表明，肠球菌组显著提高断奶后两周仔猪的采食量，有提高仔猪日增重的趋势。但 Broom 等(2006)试验表明，在仔猪日粮中添加屎肠球菌对断奶仔猪的生长性能没有显著影响，这与 Taras 等(2007)结果一致但是屎肠球菌能使饲料转化率有所改善。

### b、屎肠球菌对断奶仔猪腹泻率的影响

Taras 等(2007)试验证明肠球菌可减少大肠杆菌的量，进而减少仔猪腹泻的发生率( $P<0.05$ )，这与他以前所报道的结果相同(Taras 等, 2006)。Nelson 等(2007)试验证实在断奶仔猪日粮中添加筛选具有一定抗逆性的四种潜在乳酸菌(包括肠球菌)可以增加仔猪采食量，提高日增重及饲料转化率，并可以显著的减少粪便中大肠杆菌的数量( $p<0.05$ )，降低腹泻率。禹慧明等(2000)试验表明，含肠球菌的活菌制剂用于 0~28 日龄仔猪，可使腹泻次数减少 35.6%。张振斌等(2004)试验表明，在断奶后两周内肠球菌制剂有降低仔猪腹泻率的趋势。Foulquié-Moreno 等(2006)报道屎肠球菌(*E.faecium* SF68)用作益生菌防治抗生素相关性腹泻，在临床上认为是有效的。

### c、对仔猪免疫功能的影响

肠道菌群不仅影响散布于消化道淋巴组织(GALT)中免疫细胞的机能，还可以影响全身的免疫系统(Travnicek 等, 1989)。还有一些研究表明，不同菌群效应可激活免疫系统。另外，肠道菌群对营养抗原类物质的免疫耐受具有诱导和维持作用。益生菌在改善动物健康和防御病原体方面发挥了重要的作用，如双歧杆菌和其它乳酸菌可以增加肠道的 IgA (Takahashi 等, 1998; Vitini 等, 2000)；干酪乳杆菌具有免疫佐剂活性 (Perdigon 等, 1991) 及植物乳杆菌促进感染大肠杆菌的小鼠抗体的产生(Herias 等, 1999)。Viola Stropfová等(2006)试验表明，添加屎肠球菌(EK13)分别在 7d 和 14d 后极显著或显著提高新生仔猪血清总蛋白浓度( $P<0.01$ ;  $P<0.05$ )；能降低血清胆固醇( $P<0.01$ ;  $P<0.05$ )；能提高血红蛋白、血细胞比值和白细胞数量( $P<0.01$ ;  $P<0.01$ ;  $P<0.05$ )；能提高红细胞数量( $P<0.01$ )、粒性白细胞的吞噬活性指数( $P<0.01$ )、血钙水平( $P<0.01$ )及血清谷胱甘肽过氧化物酶浓度( $P<0.05$ )。也有报道表明,在日粮中添加屎肠球菌(SF68)对断奶后 6d 仔猪的血清 IgG 及肠内 IgG 无影响,但有降低断奶后 20 d 仔猪血清 IgG 浓度的趋势( $P<0.01$ )。细胞因子是宿主全身免疫系统的重要调节者。由于散布在消化道淋巴组织(GALT)上抗原(益生菌)与淋巴样细胞的相互作用，促使细胞因子的释放，这些细胞因子能调节机体全身的免疫系统。因此，添加屎肠球菌(SF68)有降低仔猪血清 IgG 的趋势，这就提示了屎肠球菌可作为一种免疫调节剂。

### d、对肠道菌群及肠粘膜结构的影响

Stropfova 等(2009)试验证明屎肠球菌 EK13 可以显著降低仔猪粪便中大肠杆菌的数量。Nelson Pérez Guerra 等(2007)试验发现，添加屎肠球菌(CECT410)显著降低断奶仔猪粪便中大肠杆菌的活菌数量( $P<0.05$ )，这与



Viola Stropfová等(2006)结果一致。说明在日粮中添加屎肠球菌能有效促进有益菌的增殖，减少有害细菌的数量，从而改善肠道内环境。也有报道表明，添加屎肠球菌(SF68)对断奶后 6 d 仔猪小肠内厌氧菌或乳酸菌无影响，这与 Scharek 等(2005)结果相似，出现的不同研究结果可能与所添加的屎肠球菌的菌株不同，其到达肠道中发挥作用的数量不同造成的。大量研究表明，采食水平高低与仔猪小肠粘膜绒毛高度及隐窝深度有关，高采食水平可促进小肠粘膜的发育(Pluske 等, 1996; VanBeers Schreurs 等, 1998; McCracken 等, 1999)。张振斌等(2004)试验发现，添加肠球菌制剂能改善断奶后两周末仔猪小肠粘膜绒毛高度及绒毛高度与隐窝深度比值，且断奶后两周内仔猪采食量显著增加；因此，外源添加屎肠球菌通过提高仔猪采食量促进小肠粘膜的发育，从而增进对营养物质的消化吸收功能。

## e、屎肠球菌对肥育猪母猪的影响

肥育猪和母猪胃酸一般较仔猪 pH 低，约在 1~3，鉴于屎肠球菌的耐酸范围，在 pH 小于 3 的情况下，通过胃后活菌的数量会减少很多，存活下来的活菌数量不是很多。针对于包被型的屎肠球菌，其受胃酸的影响较小，通过胃后活菌的数量会较多，因此在使用上没有太大的影响。到目前国内外鲜有对屎肠球菌在肥育猪和母猪上的使用报道，屎肠球菌代谢过程中产生乳酸的量较多，可以在肥育猪上使用，测其生长性能及饲料转化效率。在母猪上的使用，可以减少粪便中大肠杆菌和沙门氏菌的含量，在保证母猪体内微生态平衡的情况下，保持保育舍中的微生态平衡，减少环境中有害菌的含量，保证乳猪生活在一有害菌少的环境中，减少摄入体内有害菌的量。鉴于屎肠球菌的良好抑菌性能，同时可以减少哺乳母猪乳房炎及其它炎症的发生率。

鉴于屎肠球菌在仔猪上的各种应用效果，我司于 2018 年 7 月与福建龙岩学院签订协议，对我司生产的固态发酵屎肠球菌软膏剂（御康源）在仔猪体内的试验效果进行研究。

## 奥姆龙软膏剂（屎肠球菌）在仔猪体内的试验

### 一、软膏剂对哺乳仔猪生产性能、肠道发育及肠道菌群的影响（体内）

#### 试验 1

通过记录不同日龄对照组与实验组仔猪的体重，测量小肠的长度和称量免疫器官重量以及计算免疫器官指数，了解乳酸菌软膏剂（御康源）对哺乳仔猪生长性能和免疫器官的影响。

#### 试验 2

采用常规微生物平板菌落计数法，测定仔猪 1g 肠道内容物所含的大肠杆菌和乳酸菌的菌落数，了解乳酸菌软膏剂（御康源）对哺乳仔猪肠道菌群的影响，以评价乳酸菌软膏剂（御康源）对猪肠道菌群建立和维持菌群平衡的能力。

#### 试验 3

采用 HE 染色法，镜检观察并测量小肠不同小肠肠段肠绒毛的高度、隐窝深度、宽度和绒毛表面积，了解乳酸菌软膏剂（御康源）对哺乳仔猪肠道生长发育的影响。

#### 试验 4

通过对不同日龄对照组与实验组仔猪血清免疫球蛋白的检测，了解乳酸菌软膏剂对哺乳仔猪免疫球蛋白的影响（血液委托金域检验中心检测）。

### 奥姆龙软膏剂（屎肠球菌）在小猪体内的试验结果



## 数据处理

所得的数据采用 SPSS20.0 统计软件 ANOVA 过程中单因素方差分析进行分析, LSD 检验法进行各组间的多重比较, 结果采用 (平均值±标准差) 表示。

### 1、乳酸菌软膏剂 (御康源) 对仔猪生长性能和免疫器官的影响

表 1 乳酸菌软膏剂 (御康源) 对仔猪生长性能和免疫器官的影响

项目	7 日龄组		14 日龄组		21 日龄组		28 日龄组		35 日龄组	
	对照组	实验组	对照组	实验组	对照组	实验组	对照组	实验组	对照组	实验组
体重 (kg)	2.833± 0.153 <sup>A</sup>	2.833± 0.306 <sup>A</sup>	3.567± 0.945 <sup>A</sup>	3.433± 0.321 <sup>A</sup>	7.067± 0.862 <sup>B</sup>	7.033± 0.153 <sup>B</sup>	7.200± 0.985 <sup>B</sup>	7.233± 0.945 <sup>B</sup>	9.700± 0.400 <sup>C</sup>	9.400± 1.510 <sup>C</sup>
十二指肠长度 (cm)	395.667± 28.024 <sup>Aa</sup>	364.667± 6.658 <sup>A</sup>	491.333± 81.709 <sup>acc</sup>	402.000± 107.406 <sup>Aa</sup>	764.333± 43.501 <sup>Bbc</sup>	784.333± 139.235 <sup>Bc</sup>	687.000± 147.299 <sup>Bb</sup> c	578.667± 96.718 <sup>b</sup>	817.333± 166.296 <sup>B</sup>	796.667± 26.502 <sup>Bc</sup>
胸腺重量 (g)	2.333± 1.002 <sup>AaC</sup>	2.700± 1.044 <sup>A</sup>	1.433± 0.808 <sup>A</sup>	2.667± 0.586 <sup>Aa</sup>	10.467± 2.203 <sup>Bc</sup>	7.567± 1.531 <sup>Bb</sup>	5.833± 2.350 <sup>Bc</sup>	5.767± 2.079 <sup>b</sup>	7.000± 0.700 <sup>Bb</sup>	7.533± 1.801 <sup>Bb</sup>
胸腺指数 (g/kg)	0.814± 0.322 <sup>AaC</sup>	0.952± 0.344	0.383± 0.134 <sup>AbcA</sup>	1.098± 0.226 <sup>B</sup>	1.474± 0.161 <sup>B</sup>	1.258± 0.283	0.792± 0.225 <sup>AaC</sup>	0.936± 0.377	0.724± 0.096 <sup>AC</sup>	0.895± 0.110
脾脏重量 (g)	5.200± 1.825 <sup>A</sup>	4.667± 0.416 <sup>a</sup>	5.300± 2.458 <sup>A</sup>	10.133± 5.398	13.333± 0.777 <sup>B</sup>	11.367± 2.237	12.200± 3.601 <sup>aB</sup>	15.933± 6.172 <sup>b</sup>	16.333± 0.416 <sup>Bb</sup>	17.033± 7.060 <sup>b</sup>
脾脏指数 (g/kg)	1.818± 0.539	1.666± 0.294 <sup>a</sup>	1.492± 0.544	4.087± 2.065 <sup>b</sup>	1.896± 0.120	1.890± 0.409 <sup>a</sup>	1.671± 0.267	2.652± 1.327	1.685± 0.050	1.972± 0.467 <sup>a</sup>

注: 同行肩标小写字母不同者表示差异显著 ( $P<0.05$ ), 大写字母不同者表示差异及显著 ( $P<0.01$ ), 字母相同者或无字母者表示差异不显著 ( $P>0.05$ ), 下同。

黑色上标: 表示分别以对照组和实验组为参照, 分析不同日龄间的显著性, 下同。

红色上标: 表示以日龄为参照, 分析对照组与实验组间的显著性, 下同。

从表 1 可知:

#### (1) 仔猪体重

不同日龄对对照组相比, 21 日龄、28 日龄和 35 日龄组仔猪体重均极显著高于 7 日龄和 14 日龄组 ( $P<0.01$ ); 35 日龄组仔猪体重极显著高于 21 日龄和 28 日龄组 ( $P<0.01$ )。

不同日龄实验组相比, 21 日龄、28 日龄和 35 日龄组仔猪体重均极显著高于 7 日龄和 14 日龄组 ( $P<0.01$ ); 35 日龄组仔猪体重极显著高于 21 日龄和 28 日龄组 ( $P<0.01$ )。

同一日龄, 对照组与实验组仔猪体重差异均不显著 ( $P>0.05$ ), 14 日龄、21 日龄、28 日龄和 35 日龄实验组仔猪体重均低于对照组。

以上结果表明在仔猪出生灌服适量的乳酸菌软膏剂 (御康源) 没有明显增加仔猪的体重, 对仔猪生长性能促进作用。

#### (2) 十二指肠长度

不同日龄对对照组相比, 21 日龄、28 日龄和 35 日龄组仔猪十二指肠长度极显著高于 7 日龄组 ( $P<0.01$ ); 14 日龄组仔猪十二指肠长度极显著低于 35 日龄组 ( $P<0.01$ ), 显著低于 21 日龄组差异显著 ( $P<0.05$ )。

不同日龄实验组相比, 21 日龄和 35 日龄组仔猪十二指肠长度均极显著高于 7 日龄仔猪、14 日龄组 ( $P<0.01$ ); 28 日龄组仔猪十二指肠长度与 7 日龄、14 日龄、21 日龄和 35 日龄组差异显著 ( $P<0.05$ )。

同一日龄, 对照组与实验组仔猪十二指肠长度差异均不显著 ( $P>0.05$ )。

以上结果表明在仔猪出生灌服适量的乳酸菌软膏剂 (御康源) 没有明显增长仔猪十二指肠长度。

#### (3) 胸腺重量

不同日龄对对照组相比, 35 日龄仔猪胸腺重量极显著高于 7 日龄、14 日龄 ( $P<0.01$ , 如图 1); 21 日龄仔猪胸腺重量极显著高于 7 日龄、14 日龄和 28 日龄组 ( $P<0.01$ ), 与 35 日龄组差异显著 ( $P<0.05$ ); 28 日龄组仔猪胸腺重量极显著高于 14 日龄组 ( $P<0.01$ , 如图 2); 与 7 日龄组差异显著 ( $P<0.05$ )。

不同日龄实验组相比，21日龄和35日龄组仔猪胸腺重量均极显著高于7日龄和14日龄组 ( $P<0.01$ ，如图3)；21日龄、28日龄和35日龄组仔猪胸腺重量显著高于14日龄组 ( $P<0.05$ )。

同一日龄，对照组与实验组仔猪胸腺重量差异均不显著 ( $P>0.05$ )。

以上结果表明在仔猪出生灌服适量的乳酸菌软膏剂（御康源）对仔猪胸腺的增重无明显影响。

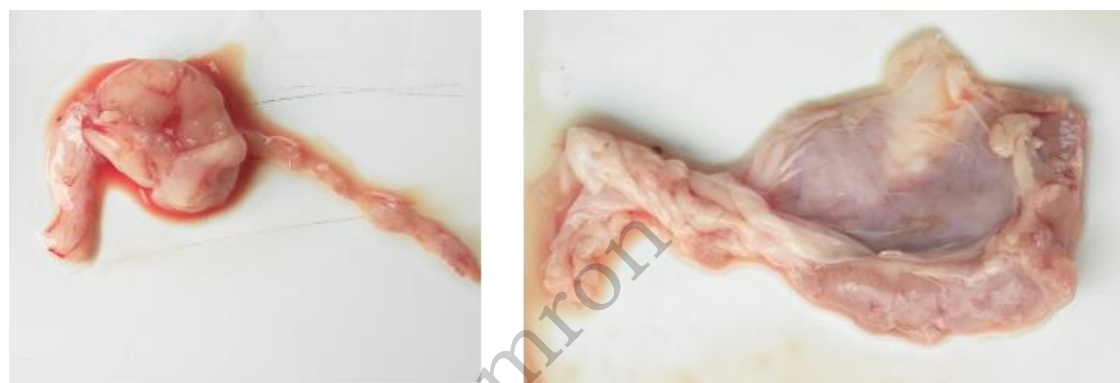


7日龄对照组仔猪胸腺

14日龄对照组仔猪胸腺

35日龄对照组仔猪胸腺

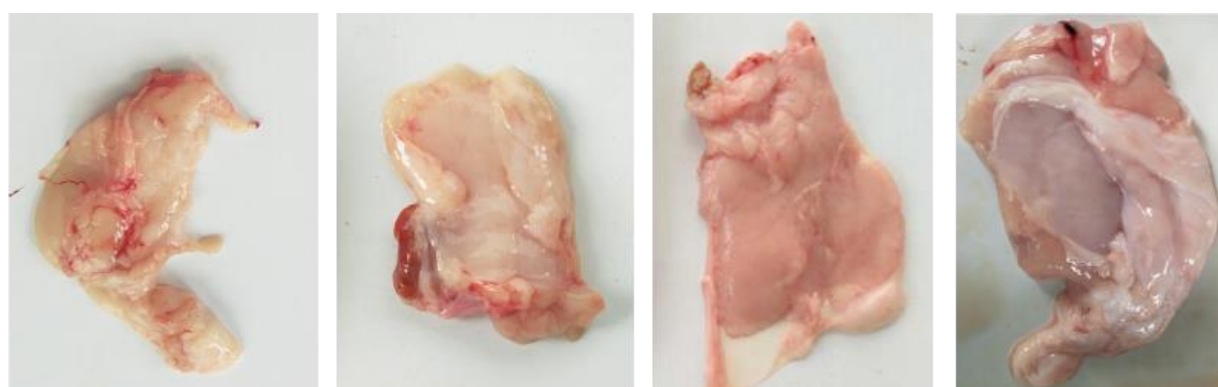
图 1



14日龄对照组仔猪胸腺

28日龄对照组仔猪胸腺

图 2



7日龄实验组  
仔猪胸腺

14日龄实验组  
仔猪胸腺

21日龄实验组  
仔猪胸腺

35日龄实验组  
仔猪胸腺

图 3

#### (4) 胸腺指数

不同日龄对照组相比，21日龄组仔猪胸腺指数极显著高于其余各组 ( $P<0.01$ )，14日龄组仔猪胸腺指数显著低于7日龄和28日龄组 ( $P<0.05$ )。

不同日龄实验组相比，各日龄组仔猪胸腺指数差异均不显著 ( $P>0.05$ )。说明仔猪出生灌服适量的乳酸菌软膏剂（御康源）对胸腺指数没有影响。

同一日龄对照组与实验组相比，只有14日龄的实验组仔猪胸腺指数差异极显著高于对照组 ( $P<0.01$ )，其余各组之间差异均不显

著 ( $P>0.05$ )。

以上结果表明在仔猪出生灌服适量的乳酸菌软膏剂(御康源),虽然能提高28日龄和35日龄仔猪的胸腺指数,但与对照组相比无明显差异。

#### (5) 脾脏重量

不同日龄对照组相比,21日龄、28日龄、35日龄组仔猪脾脏重量均极显著高于7日龄和14日龄组( $P<0.01$ ,如图4);35日龄组仔猪脾脏重量显著高于28日龄组( $P<0.05$ )。

不同日龄实验组相比,28日龄和35日龄组仔猪脾脏重量均显著高于7日龄组( $P<0.05$ ,如图5)。

同一日龄,对照组与实验组仔猪脾脏重量差异均不显著( $P>0.05$ )。

以上结果表明在仔猪出生灌服适量的乳酸菌软膏剂(御康源),虽然28日龄和35日龄仔猪的脾脏重量高于与对照组,但差异不明显。



图4

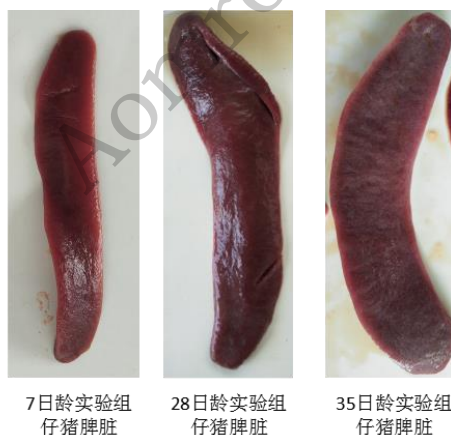


图5

#### (6) 脾脏指数

不同日龄对照组相比,各日龄组仔猪脾脏指数差异均不显著( $P>0.05$ )。不同日龄实验组相比,14日龄仔猪脾脏指数显著高于7日龄、21日龄和35日龄( $P<0.05$ ),其余各日龄组之间差异均不显著( $P>0.05$ )。同一日龄,对照组与实验组仔猪脾脏指数差异均不显著( $P>0.05$ )。

以上结果表明在仔猪出生灌服适量的乳酸菌软膏剂(御康源),虽然28日龄和35日龄仔猪的脾脏指数高于与对照组,但差异不明显,且35日龄实验组仔猪脾脏指数低于28日龄实验组仔猪脾脏指数。

## 2、乳酸菌软膏剂（御康源）对仔猪肠道菌群的影响

表 2 乳酸菌软膏剂（御康源）对仔猪小肠肠道菌群的影响

单位：Log<sub>10</sub>（CFU/g）

项目	肠段	7 日龄组		14 日龄组		21 日龄组		28 日龄组		35 日龄组	
		对照组	实验组	对照组	实验组	对照组	实验组	对照组	实验组	对照组	实验组
乳酸菌类	十二指肠	8.886±	12.000	7.009±	10.202	8.902±	10.554	7.927±	9.227±	8.767±	9.831±
	肠	0.507 <sup>a</sup>	±1.000	0.577	±0.423 <sup>a</sup>	0.622 <sup>b</sup>	±0.943	0.210	0.954 <sup>b</sup>	0.225 <sup>a</sup>	0.684 <sup>a</sup>
	空肠	8.888±	12.043	7.235±	10.065	9.401±	10.408	6.358±	8.627±	7.628±	10.841
		0.438	±	0.758	±	0.352	±	2.963	0.172 <sup>Bc</sup>	0.462	±
			0.293 <sup>Aa</sup>		0.726 <sup>Aa</sup>		0.673 <sup>Abc</sup>				0.337 <sup>Bc</sup>
大肠杆菌	回肠	9.166±	11.929	7.749±	9.88±	9.045±	10.974	6.790±	9.979±	7.851±	8.967±
		0.880 <sup>a</sup>	±	0.985 <sup>a</sup>	0.084 <sup>AaB</sup>	0.420 <sup>a</sup>	±	0.329	0.590 <sup>Cc</sup>	0.035 <sup>ba</sup>	0.291 <sup>AaC</sup>
			0.853 <sup>AaC</sup>				0.630 <sup>Bb</sup>				<sup>b</sup>
	十二指肠	7.134±	6.948±	7.169±	5.050±	7.045±	6.686±	9.930±	6.311±	8.635±	7.389±
	肠	0.125	1.204 <sup>ac</sup>	1.665	0.385 <sup>Ab</sup>	0.227	0.594 <sup>C</sup>	0.675 <sup>aA</sup>	0.543 <sup>aBB</sup>	0.562 <sup>b</sup>	0.000 <sup>aB</sup>
空肠		8.750±	6.136±	6.293±	4.796±	8.318±	7.477±	7.061±	7.148±	9.546±	6.164±
		0.424	1.090 <sup>Aac</sup>	2.761	0.467 <sup>Aa</sup>	0.319	1.162 <sup>Bb</sup>	2.352	1.02 <sup>c</sup>	1.599	0.196 <sup>Bb</sup>
		9.412±	7.406±	9.608±	5.583±	8.841±	7.955±	8.559±	6.572±	9.936±	6.365±
		0.221	3.403	1.375	0.891	1.868	1.165	1.075	1.025	0.127	0.681

从表 2 可知：

### (1) 对仔猪十二指肠肠道菌的影响

不同日龄对照组相比，21 日龄组仔猪十二指肠乳酸菌类数量显著高于 7 日龄和 35 日龄组（ $P<0.05$ ），其余各组仔猪十二指肠乳酸菌类数量差异不显著（ $P>0.05$ ）。35 日龄仔猪十二指肠大肠杆菌数量显著高于 28 日龄（ $P<0.05$ ），其余各日龄组仔猪大肠杆菌数量差异不显著（ $P>0.05$ ）。（35 日龄有轻微腹泻现象）

不同日龄实验组相比，7 日龄和 21 日龄组仔猪十二指肠乳酸菌类数量均显著高于 28 日龄组（ $P<0.05$ ）；14 日龄组仔猪十二指肠大肠杆菌数量显著低于其余各日龄组（ $P<0.05$ ），而 28 日龄和 35 日龄组仔猪十二指肠大肠杆菌数量极显著高于 14 日龄组（ $P<0.01$ ），显著高于 21 日龄组（ $P<0.05$ ）。说明仔猪出生灌服适量的乳酸菌软膏剂（御康源）能增加仔猪十二指肠有益菌（乳酸菌类）的数量。

同一日龄，对照组与实验组仔猪十二指肠乳酸菌类数量差异显著（ $P<0.05$ ），各日龄实验组仔猪十二指肠乳酸菌数量显著高于对照组。实验组大肠杆菌数量显著低于对照组。

以上结果表明在仔猪出生灌服适量的乳酸菌软膏剂（御康源）能增加仔猪十二指肠有益菌的数量，同时能够减少仔猪十二指肠有害菌的数量。

### (2) 对仔猪空肠肠道菌的影响

不同日龄对照组相比，各日龄组之间仔猪空肠乳酸菌类数量和大肠杆菌数量差异均不显著（ $P>0.05$ ）。

不同日龄实验组相比，7、35 日龄组仔猪空肠乳酸菌类数量显著高于各日龄组（ $P<0.01$ ），说明仔猪出生灌服适量的乳酸菌软膏剂（御康源）能增加仔猪空肠中有益菌（乳酸菌类）的数量。14 日龄组仔猪空肠大肠杆菌数量极显著低于。

同一日龄，对照组与实验组仔猪空肠乳酸菌类数量差异显著（ $P<0.05$ ），各日龄实验组仔猪空肠乳酸菌数量显著高于对照组。实验组大肠杆菌数量显著低于对照组。

以上结果表明在仔猪出生灌服适量的乳酸菌软膏剂能增加仔猪空肠有益菌的数量，同时能够减少小猪空肠有害菌的数量。

### (3) 对仔猪回肠肠道菌的影响

不同日龄对照组相比，7 日龄和 21 日龄组仔猪回肠乳酸菌类数量均显著高于各日龄组（ $P<0.05$ ）；各日龄组仔猪回肠大肠杆菌数量差异均不显著（ $P>0.05$ ）。

不同日龄实验组相比，7 日龄和 21 日龄组仔猪回肠乳酸菌类数量均显著高于各日龄组（ $P<0.05$ ）。14 日龄组仔猪回肠大肠杆菌数量显著低于其余各日龄组（ $P<0.05$ ），其余各日龄组仔猪回肠大肠杆菌数量差异均不显著（ $P>0.05$ ）。说明在仔猪出生灌服适量的乳酸菌软膏剂能增加 7 日龄 21 日龄仔猪回肠的乳酸菌类数量。

同一日龄对照组与实验组相比，各日龄实验组仔猪回肠乳酸菌数量显著高于对照组。实验组大肠杆菌数量显著低于对照组。

以上结果表明在仔猪出生灌服适量的乳酸菌软膏剂，能增加仔猪十二指肠、空肠、回肠乳酸菌类的数量，同时减少仔猪十二指肠、空肠、回肠大肠杆菌的数量。

从表 2 可知

#### 4、乳酸菌软膏剂对仔猪小肠黏膜形态结构的影响

表 3 仔猪小肠各肠段黏膜形态结构的变化

项目	肠段	7 日龄组		14 日龄组		21 日龄组		28 日龄组		35 日龄组	
		对照组	实验组	对照组	实验组	对照组	实验组	对照组	实验组	对照组	实验组
绒毛高度 (mm)	十二指肠	19.025± 3.786	23.255± 8.311	22.035± 17.586	27.387± 8.158 <sup>a</sup>	20.516± 9.628	22.779± 3.167 <sup>b</sup>	16.814± 6.055	17.807± 3.258	12.617± 1.340	16.631± 3.546 <sup>b</sup>
	空肠	21.341± 2.782 <sup>a</sup>	24.958± 10.827	22.647± 6.140 <sup>Aa</sup>	23.192± 6.363	17.539± 2.204	23.414± 11.442	11.766± 4.044 <sup>Bb</sup>	18.224± 4.209	12.943± 2.885 <sup>b</sup>	15.598± 3.122
	回肠	25.819± 11.093 <sup>a</sup>	20.368± 7.750	25.605± 10.894 <sup>ac</sup>	22.738± 4.184	18.766± 4.044 <sup>bc</sup>	21.224± 4.209	10.876± 4.562 <sup>bc</sup>	16.584± 4.211	12.017± 2.685 <sup>c</sup>	14.690± 1.982
隐窝深度 (mm)	十二指肠	7.299± 2.709 <sup>a</sup>	6.800± 1.153 <sup>Aa</sup>	6.508± 1.522 <sup>a</sup>	7.225± 2.166 <sup>Aa</sup>	12.919± 3.393 <sup>a</sup>	14.713± 5.766 <sup>b</sup>	14.515± 5.796 <sup>b</sup>	12.572± 4.794 <sup>b</sup>	20.252± 1.414 <sup>A</sup>	17.907± 4.047 <sup>Bb</sup>
	空肠	6.851± 4.417 <sup>Aa</sup>	4.983± 0.019 <sup>Aa</sup>	3.794± 0.576 <sup>A</sup>	5.517± 2.571 <sup>A</sup>	11.174± 2.095	10.641± 4.791 <sup>Bcc</sup>	14.771± 4.484 <sup>Bbc</sup>	10.944± 3.486 <sup>b</sup>	19.443± 6.255 <sup>C</sup>	16.432± 4.468 <sup>Cc</sup>
	回肠	8.400± 2.242 <sup>A</sup>	10.125± 10.424	12.824± 2.490	12.293± 1.440	8.231± 2.486 <sup>A</sup>	8.222± 1.023	15.714± 3.953 <sup>B</sup>	12.320± 2.660	18.918± 1.747	12.039± 5.338
绒腺比 值 (mm)	十二指肠	2.607± 0.909	3.420± 0.921 <sup>Aa</sup>	3.386± 2.285	3.791± 1.943 <sup>A</sup>	1.588± 0.628	1.548± 0.321 <sup>Bb</sup>	1.158± 0.907	1.416± 0.381 <sup>Bb</sup>	0.623± 0.093	0.929± 0.395 <sup>B</sup>
	空肠	3.162± 2.957 <sup>a</sup>	5.000± 5.399 <sup>A</sup>	5.969± 2.747 <sup>A</sup>	4.204± 1.317 <sup>B</sup>	1.570± 0.581 <sup>B</sup>	2.200± 0.994 <sup>B</sup>	0.797± 0.760 <sup>B</sup>	1.665± 1.242 <sup>B</sup>	0.666± 0.272 <sup>Bb</sup>	0.949± 0.075 <sup>B</sup>
	回肠	3.079± 0.931 <sup>Aa</sup>	2.013± 1.728	1.997± 0.321 <sup>Abc</sup>	1.850± 0.444	2.280± 0.687 <sup>Bc</sup>	2.581± 0.555	0.692± 0.338 <sup>Bc</sup>	1.346± 0.294	0.635± 0.090 <sup>Bc</sup>	1.220± 0.775

从表 3 可知：

##### (1) 绒毛高度

同一日龄，对照组与实验组仔猪十二指肠、空肠和回肠肠绒毛高度在 7 日龄、14 日龄、21 日龄时差异不显著 ( $P>0.05$ )，在 28 日龄、35 日龄后实验组绒毛高度显著高于对照组，说明仔猪出生灌服适量的乳酸菌软膏剂对仔猪在 28 日龄后有增加小肠肠绒毛高度。

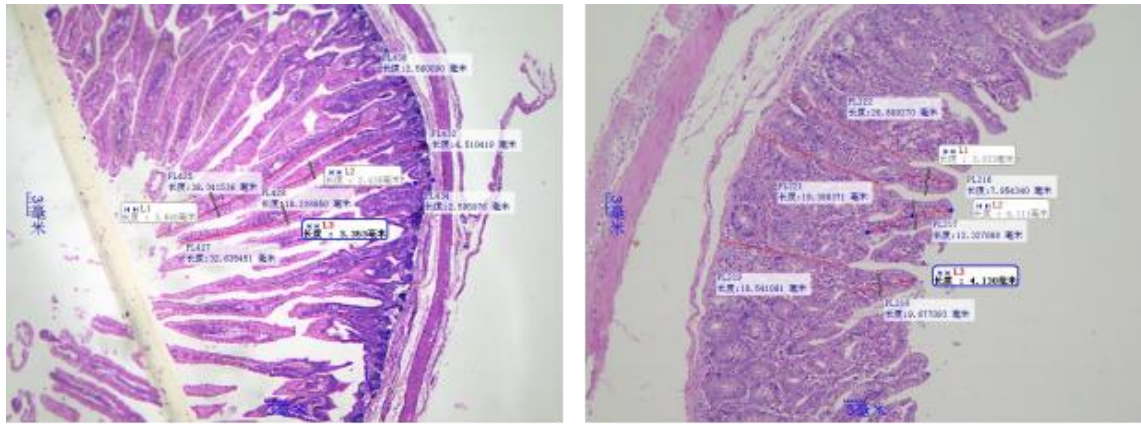
不同日龄对照组相比，各日龄组仔猪十二指肠、空肠和回肠肠绒毛高度在 21 日龄前显著高于 28 日龄及 35 日龄。( $P<0.01$ ，如图 6)。

不同日龄实验组相比，7 日龄、14 日龄、21 日龄仔猪十二指肠空肠回肠肠绒毛高度显著高于 28 日龄和 35 日龄 ( $P<0.05$ ，如图 7)。

同一日龄，对照组与实验组相比，仔猪十二指肠、空肠和回肠肠绒毛高度在 7 日龄、14 日龄、21 日龄时差异不显著 ( $P>0.05$ )，在 28 日龄、35 日龄后实验组绒毛高度显著高于对照组，说明仔猪出生灌服适量的乳酸菌软膏剂对仔猪在 28 日龄后有增加小肠肠绒毛高度。

以上结果表明在仔猪出生灌服适量的乳酸菌软膏剂（御康源）对仔猪在 28 日龄后有增加小肠各肠段肠绒毛高度肠绒毛高度。（发现仔猪在 21 日龄后肠绒毛高度降低，有受损现象，可能原因，在后期有对仔猪添加饲料）

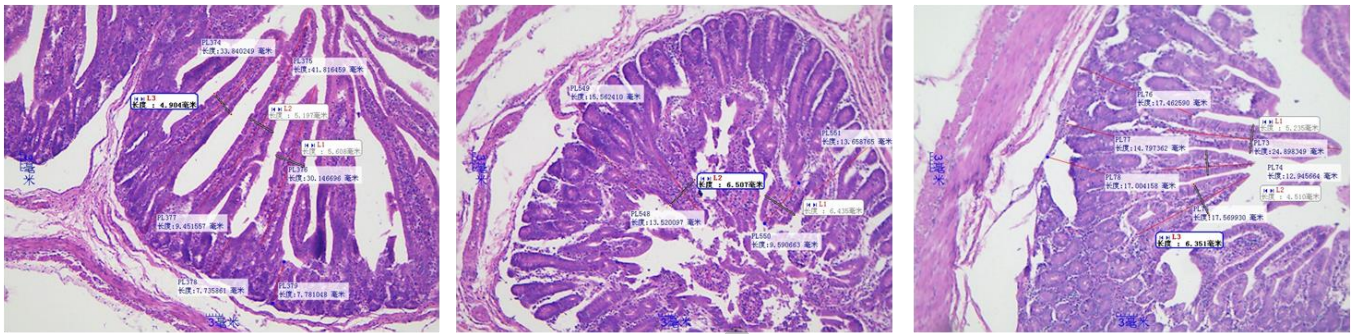




14日龄对照组仔猪空肠

28日龄对照组仔猪空肠

图 6



14日龄实验组仔猪十二指肠

21日龄实验组仔猪十二指肠

35日龄实验组仔猪十二指肠

图 7

## (2) 隐窝深度

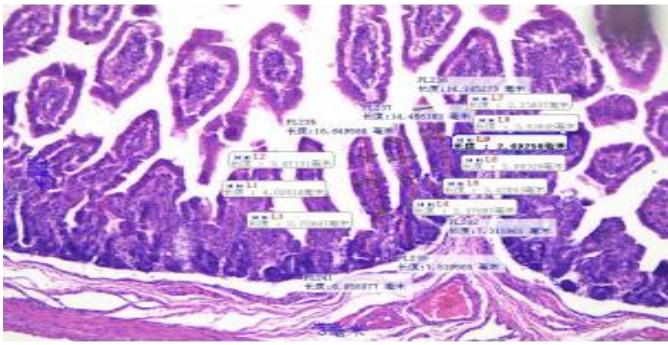
不同日龄对照组相比，28日龄组仔猪十二指肠隐窝深度显著高于7日龄、14日龄和21日龄组 ( $P < 0.05$ ，如图8)，其余各日龄组仔猪十二指肠的隐窝深度差异均不显著 ( $P > 0.05$ )；7日龄组仔猪空肠隐窝深度极显著低于35日龄组，显著低于28日龄组，14日龄组仔猪空肠隐窝深度极显著低于28日龄和35日龄组；28日龄组仔猪回肠隐窝深度极显著高于7日龄和21日龄组 ( $P < 0.05$ )。

不同日龄实验组相比，7日龄和14日龄组仔猪十二指肠隐窝深度均极显著低于35日龄组 ( $P < 0.01$ ，如图9)，显著低于21日龄和28日龄组 ( $P < 0.05$ )，说明实验组仔猪十二指肠隐窝深度随日龄增长而逐渐加深；7日龄和14日龄组仔猪空肠隐窝深度均极显著低于21日龄和35日龄组 ( $P < 0.01$ ，如图)；各日龄组仔猪回肠的隐窝深度差异均不显著 ( $P > 0.05$ )。

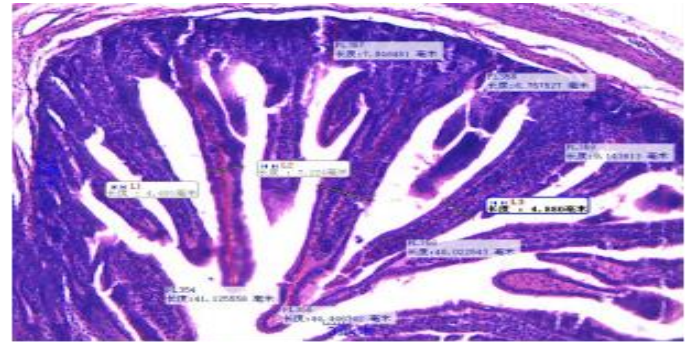
同一日龄，对照组与实验组相比：仔猪十二指肠、空肠和回肠隐窝深度在7日龄、14日龄、21日龄时差异不显著 ( $P > 0.05$ )，在28日龄、35日龄实验组隐窝深度显著低于对照组，说明仔猪出生灌服适量的乳酸菌软膏剂对仔猪在28日龄后有降低小肠隐窝深度。

以上结果表明在仔猪出生灌服适量的乳酸菌软膏剂在21日龄前期对仔猪小肠隐窝深度没有显著影响；但在28日龄后有降低小肠各肠段隐窝深度。

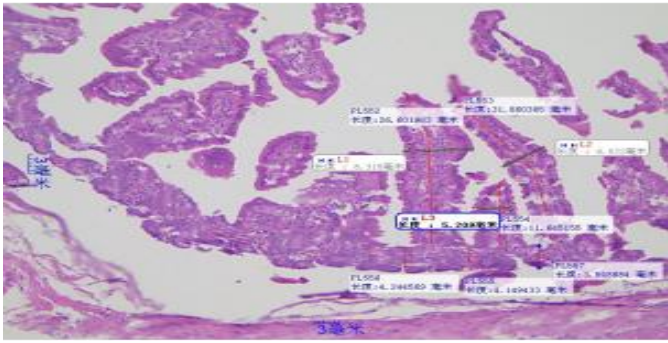




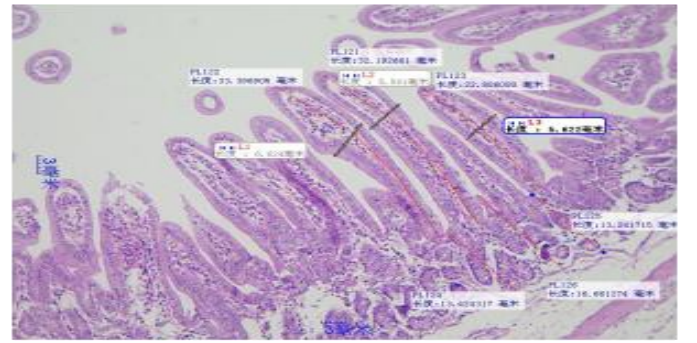
7日龄对照组仔猪十二指肠



14日龄对照组仔猪十二指肠

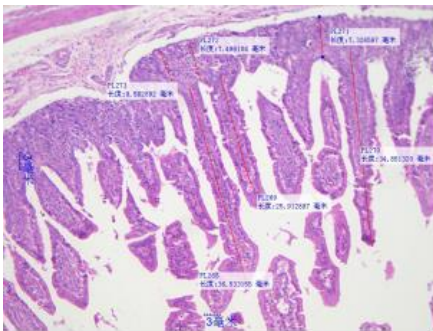


21日龄对照组仔猪十二指肠

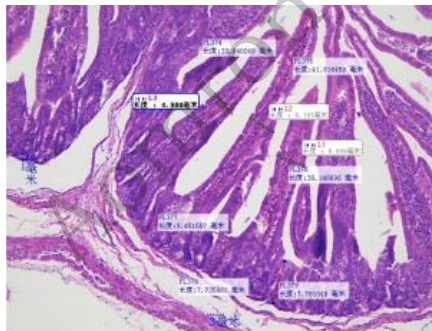


28日龄对照组仔猪十二指肠

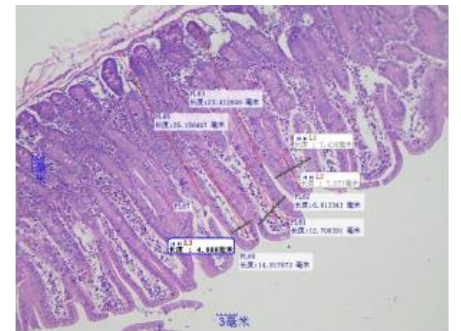
图 8



7日龄实验组仔猪十二指肠

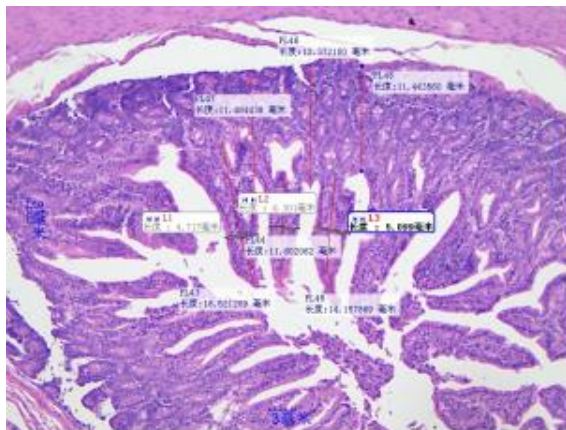


14日龄实验组仔猪十二指肠

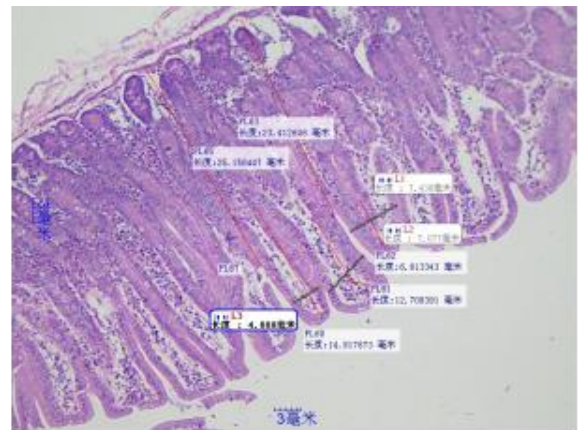


35日龄实验组仔猪十二指肠

图 9



35日龄对照组仔猪十二指肠



35日龄实验组仔猪十二指肠

图 10

(3) 绒毛比值 (绒毛比值升高, 表示消化吸收的功能增强; 绒毛比值降低, 表示消化吸收的功能减弱)

不同日龄对照组相比, 各日龄组仔猪十二指肠绒毛比值差异均不显著 ( $P>0.05$ ); 14日龄组仔猪空肠绒毛比值极显著高于21日龄、



28 日龄和 35 日龄组 ( $P<0.01$ ), 7 日龄组仔猪空肠绒毛比值显著高于 35 日龄组 ( $P<0.05$ ); 7 日龄组仔猪回肠绒毛比值极显著高于 21 日龄、28 日龄和 35 日龄组 ( $P<0.01$ ), 14 日龄组仔猪回肠绒毛比值极显著高于 28 日龄组, 显著低于 7 日龄组 ( $P<0.05$ )。说明对照组仔猪的消化吸收功能随日龄增长在降低。

不同日龄实验组相比, 14 日龄组仔猪十二指肠绒毛比值极显著高于 21 日龄、28 日龄和 35 日龄组 ( $P<0.01$ ), 7 日龄组仔猪十二指肠绒毛比值显著高于 21 日龄和 28 日龄组 ( $P<0.05$ ); 7 日龄组仔猪空肠绒毛比值极显著高于各日龄组 ( $P<0.01$ ); 各日龄组仔猪回肠绒毛比值差异均不显著 ( $P>0.05$ )。说明仔猪出生灌服适量的乳酸菌软膏剂 (御康源) 没有增强仔猪各肠段的消化吸收功能。

同一日龄, 各对照组与实验组仔猪十二指肠、空肠和回肠绒毛比值差异均不显著 ( $P>0.05$ )。

以上结果表明在仔猪出生灌服适量的乳酸菌软膏剂 (御康源) 对仔猪各肠段的消化吸收功能无明显改善作用。

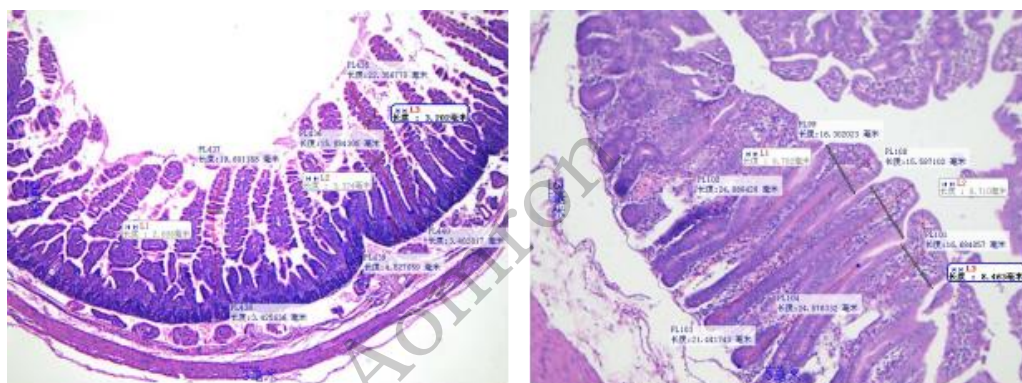
#### (4) 绒毛宽度

不同日龄对照组相比, 各日龄组仔猪十二指肠绒毛宽度差异均不显著 ( $P>0.05$ ); 35 日龄组仔猪空肠绒毛宽度显著高于 14 日龄组 ( $P<0.05$ , 如图 11), 其余各日龄组仔猪空肠绒毛宽度差异均不显著 ( $P>0.05$ ); 14 日龄组仔猪回肠绒毛宽度显著高于 21 日龄组 ( $P<0.05$ ), 其余各日龄组仔猪回肠绒毛宽度差异均不显著 ( $P>0.05$ )。

不同日龄实验组相比, 21 日龄组仔猪十二指肠绒毛宽度极显著高于 7 日龄组 ( $P<0.01$ , 如图 12), 7 日龄和 21 日龄组仔猪十二指肠绒毛宽度均显著高于 14 日龄、28 日龄和 35 日龄组 ( $P<0.05$ ); 各日龄组仔猪空肠绒毛宽度差异均不显著 ( $P>0.05$ ); 35 日龄组仔猪回肠绒毛宽度显著高于 14 日龄组 ( $P<0.05$ , 如图 13), 其余各日龄组仔猪回肠绒毛宽度差异均不显著 ( $P>0.05$ )。说明仔猪出生灌服适量的乳酸菌软膏剂 (御康源) 对 35 日龄实验组仔猪回肠绒毛宽度的增宽有一定影响, 但对其他日龄仔猪小肠肠段无影响。

同一日龄, 各对照组与实验组仔猪十二指肠、空肠和回肠绒毛宽度差异均不显著 ( $P>0.05$ )。

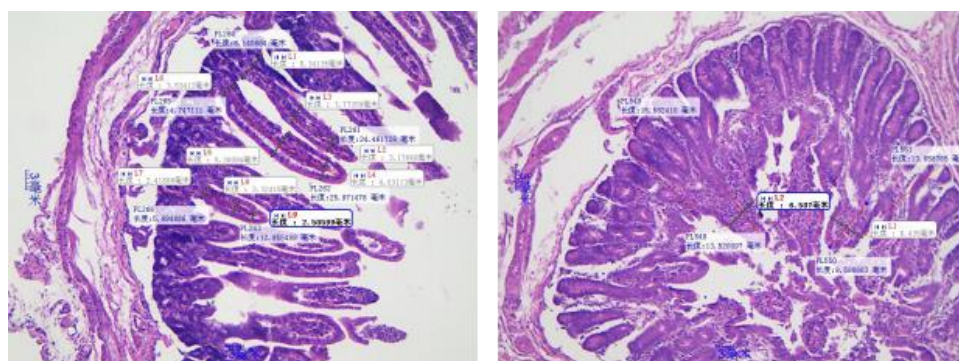
以上结果表明在仔猪出生灌服适量的乳酸菌软膏剂 (御康源) 对仔猪小肠各肠段肠绒毛的宽度无影响。



14日龄对照组仔猪空肠

35日龄对照组仔猪空肠

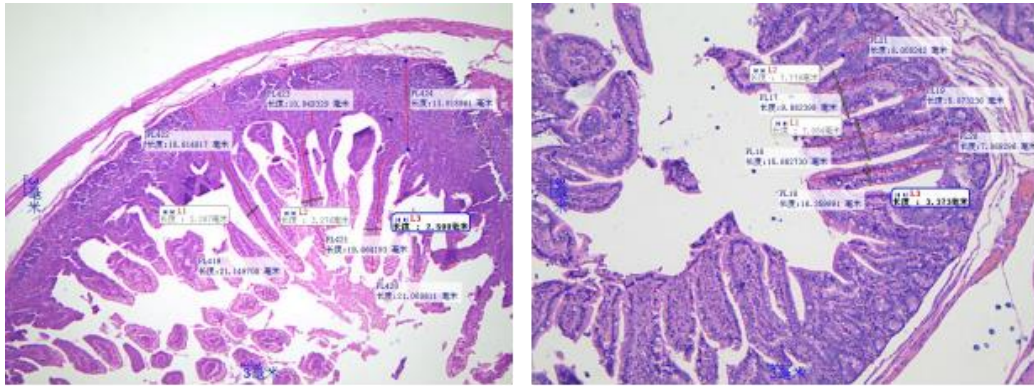
图 11



7日龄实验组仔猪十二指肠

21日龄实验组仔猪十二指肠

图 12



14日龄实验组仔猪回肠

35日龄实验组仔猪回肠

图 13

### (5) 绒毛表面积

不同日龄对照组相比, 21 日龄组仔猪十二指肠绒毛表面积显著高于 14 日龄和 28 日龄组 ( $P<0.05$ ), 其余各日龄组仔猪十二指肠绒毛表面积差异均不显著 ( $P>0.05$ ); 各日龄对照组仔猪空肠绒毛表面积差异均不显著 ( $P>0.05$ ); 7 日龄和 14 日龄组仔猪回肠绒毛表面积均显著高于 21 日龄、28 日龄和 35 日龄组, 其余各日龄组仔猪回肠绒毛表面积差异均不显著 ( $P>0.05$ )。

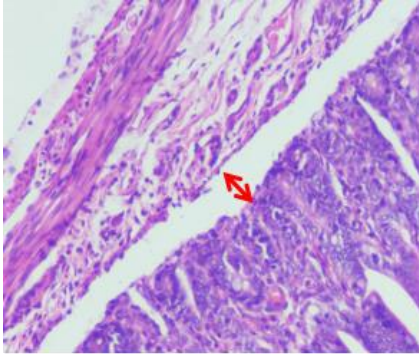
不同日龄实验组相比, 28 日龄组仔猪十二指肠绒毛表面积极显著低于 7 日龄和 21 日龄组 ( $P<0.01$ ), 显著低于 35 日龄组 ( $P<0.05$ ); 7 日龄组仔猪十二指肠绒毛表面积显著高于 35 日龄组 ( $P<0.05$ ); 实验组各日龄组仔猪空肠和回肠绒毛表面积差异均不显著 ( $P>0.05$ )。

同一日龄, 各对照组与实验组仔猪十二指肠和空肠绒毛表面积差异均不显著 ( $P>0.05$ ); 14 日龄对照组仔猪回肠绒毛表面积显著高于实验组 ( $P<0.05$ ), 同一日龄其余各对照组与实验组仔猪回肠绒毛表面积差异均不显著 ( $P>0.05$ )。

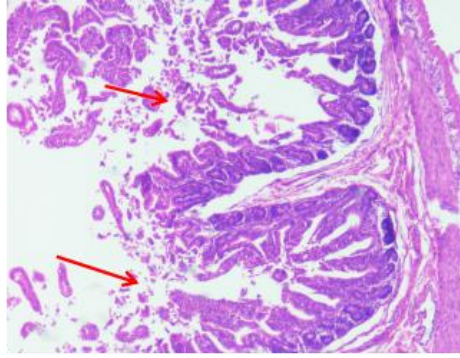
以上结果表明在仔猪出生灌服适量的乳酸菌软膏剂 (御康源) 没有增加仔猪小肠各肠段绒毛表面积, 因而对仔猪肠道的消化吸收功能无促进作用。

不同日龄仔猪小肠各肠段 HE 染色图片 (部分)

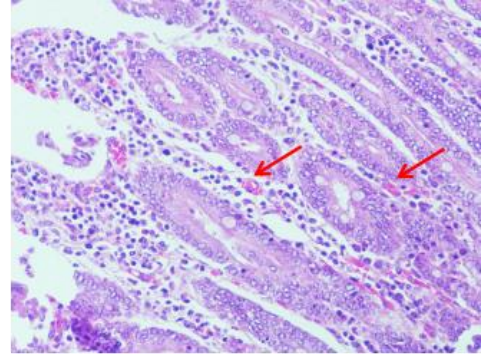




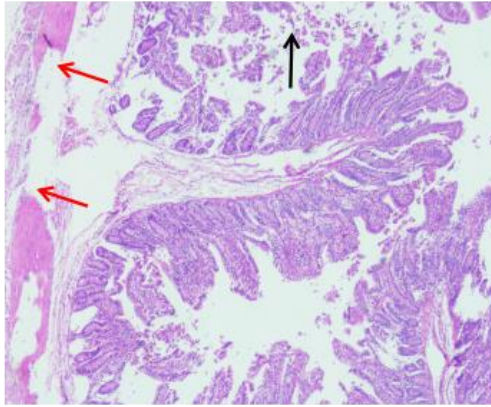
7日龄实验组仔猪回肠  
黏膜肌层充血



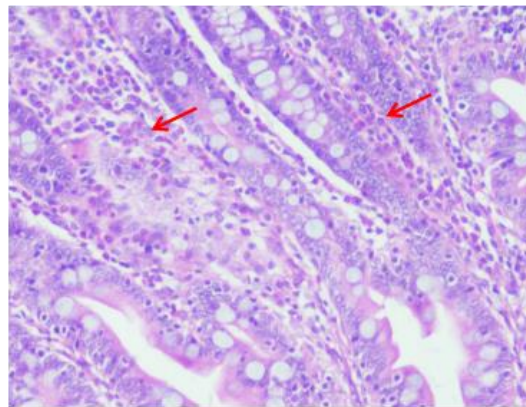
14日龄对照组仔猪十二指肠  
肠绒毛脱落



21日龄对照组仔猪十二指肠  
肠绒毛出血



28日龄实验组仔猪空肠  
肠绒毛脱落 (黑色箭头)  
黏膜肌层断开 (红色箭头)



35日龄对照组仔猪回肠  
肠绒毛有嗜酸性粒细胞浸润

Aomr.com

#### 4、屎肠球菌软膏剂对断奶仔猪血液免疫指标的影响（血清委托金城检验中心检测）。

名称/项目	对照组（单位 g/L）			实验组（单位 g/L）		
	IgA	IgG	IgM	IgA	IgG	IgM
7 日龄平均值	0.02	4.57	0.16	0.07	4.71	0.24
14 日龄平均值	0.01	3.78	0.08	0.00	3.54	0.00
21 日龄平均值	0.15	3.15	0.48	0.00	3.41	0.13
28 日龄平均值	0.19	2.98	0.58	0.01	3.49	0.58
35 日龄平均值	0.00	2.03	0.26	0.01	2.80	0.27

由上表可知，IgA、IgM 含量，实验组与对照组之间没有显著差异（ $P>0.05$ ）。这可能是由于仔猪日龄过低，肠道相关的淋巴组织对仔猪 IgA 分泌不足，导致在本试验条件下检测出的 IgA 含量过低，从而使屎肠球菌对 IgA 含量的促进作用在本试验条件下未能相应的体现。

IgG 含量，实验组与对照组之间，在 7 日龄、14 日龄、21 日龄时差异不显著（ $P>0.05$ ），在 28 日龄、35 日龄实验组 IgG 含量高于对照组，说明仔猪出生灌服适量的乳酸菌软膏剂对仔猪在 28 日龄后有提高 IgG 含量水平。

#### 总结

1、在仔猪出生灌服适量的乳酸菌软膏剂在仔猪后期可以提高 ADG，降低仔猪腹泻率和死淘率，证明屎肠球菌对断奶仔猪的生长有促进作用。

2、在仔猪出生灌服适量的乳酸菌软膏剂在仔猪后期显著降低了仔猪空肠和结肠中大肠杆菌数量；显著增加了仔猪回肠、盲肠和结肠乳酸菌的数量，证明屎肠球菌在进入仔猪肠道以后可以起到改善仔猪肠道微生态平衡的作用。

3、在仔猪初生灌服适量的乳酸菌软膏剂在仔猪后期显著增加了仔猪空肠绒毛高度，提高空肠绒腺比；添加屎肠球菌可显著降低回肠隐窝深度，证明屎肠球菌可以改善仔猪肠道组织形态，增强仔猪对营养物质的吸收能力。

4、在仔猪出生灌服适量的乳酸菌软膏剂在仔猪后期显著增加 IgG 水平，证明屎肠球菌起到了增强仔猪免疫力的作用。

实验单位：龙岩学院

## 2、家禽

### a、不同浓度屎肠球菌对家禽生长性能的影响

屎肠球菌在动物的胃肠道内可以大量定植，帮助动物进行食物的消化代谢，进机体更好的吸收利用营养物质，同时，屎肠球菌还可与肠道内的致病菌竞争，有效降低其对动物生长发育的影响，而起到营养保健的作用。彭众等（2018）在基础日粮中分别添加 50、100、200mg/kg 屎肠球菌（ $1.0 \times 10^{10}$  CFU/g）或 0.1% 金霉素，考察其对 AA 肉鸡生产性能的影响，结果表明，与对照组相比，添加屎肠球菌或抗生素试验组的 ADFI、ADG 及 F/G 均无显著差异，但试验全期来看，添加加抗生素或屎肠球菌试验组的 F/G 表现出下降趋势。赵旭（2014）研究表明，日粮中添加  $2.0 \times 10^9$  CFU/kg 屎肠球菌 LAB12(CGMCC4847)对 1-42 日龄肉鸡生长性能无显著影响，但显著改善后期料重比。刘光辉（2013）研究发现，饮水中添加 250mg/L 屎肠球菌（ $5.0 \times 10^8$  CFU/g）能显著提高肉鸡的生长性能，低疾病发生率和死亡率。秦欢蕾等（2012）研究饮水中添加屎肠球菌及酸化剂对肉鸡饮水及采食的影响，研究结果表明，水中添加屎肠球菌对肉鸡的饮水量和采食量没有负面影响，且有提高肉鸡日增重的趋势，可有效的降低肉鸡腹泻率，高肉鸡的生产性能。武如娟等（2008）在 327 日龄海兰褐蛋鸡日粮中添加 200mg/kg 屎肠球菌（ $1.0 \times 10^{10}$  CFU/g），试验结果显示，屎肠球菌组产蛋率较对照组提高 1.74%（ $P>0.05$ ），破蛋率降低 25.93%（ $P<0.05$ ），料蛋比降低 2.10%

( $P<0.05$ ), 表明屎肠球菌能够有效提高蛋鸡产蛋率、降低低破蛋、改善料蛋比, 有效提高饲料利用率; 品质方面, 与对照组相比, 屎肠球菌组有提高蛋重、蛋壳强度、蛋壳厚度和哈氏单位的趋势。曲鹏等(2012)在蛋鸡日粮中添加 0.1%复合微生态制剂(含屎肠球菌), 结果显示, 平均产蛋率提高 4.79% ( $P<0.05$ ), 料蛋比降低 4.72% ( $P<0.05$ ), 鸡蛋的蛋壳厚度、蛋壳强度和哈氏单位以 0.1%复合微生态制剂组为最好, 较对照组分别提高 4.88%、3.53%和 3.32%, 且差异均显著 ( $P<0.05$ )。K.C. Mountzouris 等(2007)认为, 屎肠球菌显著提高肉鸡生长性能的作用机理是其对肠道形态的有益作用。G.T. Cao (2013) 研究结果显示, 屎肠球菌可促进对大肠杆菌感染的肉鸡肠道形态, 尤其是对绒毛高度和隐窝深度。而 P.A.Barrow (1992) 推测, 肠道微生物和营养物质的互作有可能是屎肠球菌促进肉鸡机体生长发育的主要原因。A. Zheng 等(2016)对采食了屎肠球菌肉鸡的肝蛋白质组学进行了分析, 认为屎肠球菌很有可能通过改变肉鸡的营养物质分配来促进机体的最佳养分利用, 进而促进肉鸡的生长性能的提升。

## b、不同浓度屎肠球菌对家禽死淘率的影响

影响肉鸡死淘率的因素很多, 包括饲养管理、生态环境、营养水平及健康水平等, 其中肠道的健康和免疫水平最为重要。动物肠道健康影响饲料的转化和营养物质的吸收, 机体免疫水平的提高则可减少动物疾病。彭众等(2018)在肉鸡饲养前期添加 50 和 100mg/kg 屎肠球菌 ( $1.0\times 10^{10}$ CFU/g) 可在一定程度上降低肉鸡死亡率; 在肉鸡饲养后期添加 200mg/kg 屎肠球菌可大幅降低肉鸡的死淘率, 效果优于 0.1%金霉素, 而在肉鸡饲养全期, 100 和 200mg/kg 屎肠球菌均可在一定程度上降低死淘率。夏锴等(2016)研究报道, 屎肠球菌作为非特异性免疫调节因子, 可黏附在肠道黏膜表面, 形成生物菌层, 增强肠道的非特异性免疫能力, 从而增强动物机体的免疫力, 将低死淘率, 提高经济效益。

## c、不同浓度屎肠球菌对家禽免疫器官指数的影响

彭众等(2018)研究显示, 与对照组及 0.1%金霉素添加组相比, 100mg/kg 屎肠球菌 ( $1.0\times 10^{10}$ CFU/g) 组鸡群胸腺指数显著提高, 而脾脏指数表现出上升趋势。文静等(2011)研究表明, 屎肠球菌作为一种益生菌, 可辅助性的增强动物机体的免疫力, 有效地提高自主的特异性免疫和非特异性免疫功能。吕远蓉等(2017)研究表明, AA 肉鸡日粮中添加复合微生态制剂可显著提高胸腺指数。李可等(2015)研究表明, 屎肠球菌可显著提高肉仔鸡的脾脏指数, 本试验结果相近。李颖等(2014)报道屎肠球菌可通过物质代谢产生具有抑制病原菌的有机酸、过氧化氢、细菌素等杀菌物质, 而提高机体免疫力。以上研究表明, 屎肠球菌可促进机体免疫器官的发育, 提高机体的免疫力, 增加其疾病抵抗能力, 且屎肠球菌在一定程度上, 可有效地替代金霉素等抗生素在肉鸡生产中的使用, 保证肉鸡正常的生长发育。

## d、不同浓度屎肠球菌对家禽血清生化指标的影响

彭众等(2018)研究显示, 饲养前期与 0.1%金霉素组相比, 200mg/kg 屎肠球菌添加组血清总蛋白指标有显著提高的趋势。而在饲养后期, 与对照组相比, 屎肠球菌或抗生素添加组血清总蛋白均有不同程度上升, 说明在日粮中添加屎肠球菌可提高机体蛋白质代谢。申杰等(2016)研究表明, 含屎肠球菌的复合微生态制剂可显著提高 42 日龄肉鸡血清中总蛋白含量。李晓丽等(2015)报道添加微生态制剂提高鸡血清总蛋白含量可能是因为微生态制剂在胃肠道代谢的有益成分更有利于促进机体内的蛋白质合成。血清中总甘油三酯(TG)和总胆固醇(TC)是血脂的主要成分, TG 参与机体能量代谢, TC 主要用于合成细胞浆膜、类固醇激素和胆汁酸, 反映机体脂类代谢状况。高密度脂蛋白(HDL)和低密度脂蛋白(LDL)是血脂在血液内转运的载脂蛋白, 其中 LDL 转运内源性胆固醇, 脂类由肝脏向外周转运, 而 HDL 可逆向转运胆固醇, 脂类由外周转运至肝脏分解代谢, 是平衡内源性血脂和外源性血脂的重要蛋白。彭众等(2018)在肉鸡日粮中添加不同浓度屎肠球菌, 其血清 LDL、TG、TC 的含量降低, HDL 提高, 表明屎肠球菌有降低血脂的作用, 可能由于屎肠球菌提高血清中 HDL 的含量, 抑制细胞对 LDL 的摄取, 阻碍胆固醇在细胞中的堆积, 将多余的胆固醇以脂的形式转运出去, 从而降低血脂水平。



## e、不同浓度屎肠球菌对家禽肠道菌群的影响

屎肠球菌可通过增加肉鸡肠道中有益菌的种类，减少有害菌的数量来调节肉鸡肠道微生物菌群种类和多样性。单春乔等（2017）针对屎肠球菌体外抑菌试验显示，屎肠球菌 M 74 对致病性大肠杆菌和沙门氏菌有很好的抑制作用，共同培养 36 h 后，酵液中检测不到致病菌。J.W. Park 等（2016）研究发现，蛋鸡饲喂屎肠球菌后，其粪便中大肠杆菌的数量有显著的减少，粪便中菌群的变化伴随着体内营养物质吸收能力的提高和粪便中氨气含量的低。但 M.M. Gheisar 等（2016）研究结果显示，日粮添加屎肠球菌对肉鸡粪便中大肠杆菌和乳酸菌的数量没有发生显著变化。此前的试验结果发现，屎肠球菌可增加肉鸡盲肠中有益微生物乳酸菌和双歧杆菌的数量，降低大肠杆菌的数量（LUO,2013; CAO,2013;J.W.Park, 2016）。龚琪等（2014）在 1 日龄白羽雏鸡科宝 500 日粮中添加 300mg/kg 屎肠球菌（ $3.0 \times 10^9$  CFU/g）研究显示，屎肠球菌可以显著降低 21 日龄雏鸡盲肠中大肠杆菌的数量，增加 42 日龄鸡中盲肠乳酸菌的数量（ $P < 0.05$ ）。

## 蛋鸡日粮中添加乳酸菌可行性的研究

**摘要：**本试验选用 22 周龄海兰蛋鸡 6000 只，随机分为对照和试验 2 个组，每个组 3 个重复，每个重复 1000 只蛋鸡。试验期为 10 周。试验组在蛋鸡基础日粮中添加乳酸菌使其达到 10 亿/千克饲料，研究其对 22—32 周龄海兰蛋鸡产蛋性能的影响。

研究结果表明：乳酸菌添加组 29—21 周龄产蛋率明显高于对照组（ $p < 0.05$ ），平均蛋重明显高于对照组（ $p < 0.05$ ）试验组畸形蛋率明显低于对照组（ $p < 0.05$ ），料蛋比试验组比对照组减少 0.08，差异显著（ $p < 0.05$ ）；死淘率试验组显著低于对照组低（ $p < 0.05$ ）。结果表明：在蛋鸡日粮中添加乳酸菌可显著提高其生产性能，降低死淘率，值得在蛋鸡养殖中推广应用。

**关键词：**乳酸菌 海兰蛋鸡 生产性能 死淘率 成本 可行性

### 1、试验材料与方法

1.1 试验目的：研究乳酸菌对海兰蛋鸡生产性能 如产蛋率、料蛋比、畸形蛋率的影响以及对蛋鸡死淘率的影响等。

1.2 试验材料：乳酸菌（屎肠球菌），福建奥姆龙生物工程有限公司生产，每  $g \geq 100$  亿活菌数。

1.3 试验动物：选择健康的 22 周龄海兰蛋鸡 6000 只，三层笼养，每笼 3 只，按常规进行饲养管理。

1.4 试验设计：采用随机单因子设计。试验分 2 组，每组设 3 个重复，每个重复 1000 只蛋鸡。对照组饲喂基础日粮，试验组在基础日粮基础上按每千克日粮添加 10 亿乳酸菌。试验期为 70 天。

附：表 1 基础日粮组成和营养成分

日粮成分	含量（%）	营养成分	
玉米	60	代谢能	2.6kcal/kg
豆粕	20	粗蛋白	16.9%
菜粕	5	钙	3.7%
棉粕	4	总磷	0.55%
石粉	8	蛋氨酸	0.7%
预混料	3		

1.5 测试指标及方法：试验开始和结束时，分别以重复组为单位计算耗料量、产蛋数、产蛋率、料蛋比、畸形蛋（砂皮、软壳、破损）率、死淘率。

1.6 试验地点：在山东省青岛市平度市某蛋鸡养殖厂进行，该厂养殖规模为 50 万只蛋鸡。

### 2、结果与分析

乳酸菌对蛋鸡产蛋率和平均蛋重的影响见表 2

表 2 乳酸菌对蛋鸡产蛋率和平均蛋重的影响

周龄	试验组		对照组	
	平均产蛋率 (%)	平均重 (g)	平均产蛋率 (%)	平均蛋重 (g)
22	55.01±0.32	44.8±0.14	54.98±0.15	44.8±0.15
23	61.02±0.16	50.1±0.31	61.02±0.36	50.0±0.16
24	67.53±0.42	51.2±0.17	67.48±0.53	51.1±0.18
25	69.65±0.47	51.4±0.06	69.34±0.19	51.7±0.63
26	74.83±0.46	52.3±0.14	74.85±0.18	52.2±0.62
27	80.16±0.33	53.2±0.35	80.05±0.42	53.1±0.36
28	84.36±0.17	54.8±0.61	54.17±0.31	54.6±0.52
29	90.65±0.31	56.7±0.72	88.34±0.56	54.9±0.06
30	92.58±0.72	59.3±0.54	89.44±0.08	56.1±0.17
31	95.67±0.84	62.5±0.67	91.33±0.18	58.4±0.32

数理统计结果表明,海兰蛋鸡饲料中添加乳酸菌 7 周后,即 29、30、31 周龄试验组产蛋率显著高于对照组 ( $p<0.05$ ),29、30、31 周龄试验组平均蛋重显著高于对照组 ( $p<0.05$ )。

表 3 乳酸菌对蛋鸡料蛋比、畸形蛋率和死淘率的影响

组别	料蛋比	畸形蛋率 (%)	死淘率 (%)
试验组	2.01±0.16	4.56±0.03	0.42±0.02
对照组	2.09±0.15	6.41±0.06	0.86±0.19

### 3、结论:

3.1 乳酸菌对产蛋鸡生产性能的影响,从 29 周龄开始,即乳酸菌进入鸡体 7 周后,均匀分布于蛋鸡肠道和输卵管中,对蛋鸡营养物质消化和吸收都起到了促进作用,从而保证试验组 29、30、31 周龄产蛋率,平均蛋重都明显高于对照组 ( $p<0.05$ )。29、30、31 周龄试验组料蛋比显著低于对照组 ( $p<0.05$ ) 则表明,试验组肠道单位表面积吸收率明显高于对照组 ( $p<0.05$ )。而试验组畸形蛋率显著低于对照组则表明,试验组输卵管菌群分布,对蛋壳形成的物质如钙、磷的分泌优于对照组。

3.2 乳酸菌对蛋鸡死淘率的影响 试验组死淘率显著低于对照组则表明,乳酸菌进入鸡体后,在肠道和输卵管都形成了定植抗力,减少外来病源入侵,从而减少其肠炎、腹泻和输卵管炎发生,使试验组死淘率显著低于对照 ( $p<0.05$ )。

3.3 乳酸菌进入鸡体后的起效时间 从 29 周龄开始,试验组的一些指标才渐渐开始优于对照组,表明海兰蛋鸡从该日龄开始可能存在着生理上的差别,或表明乳酸菌进入鸡体后,需要一定时间的分布、定植、起效,这有必要进一步研究。

3.4 关于本试验的一点说明,本试验只为研究试验的一个区间,后续的研究仍在进行,至于乳酸菌是否能延长蛋鸡产蛋高峰期,显著增加每只蛋鸡的产蛋数量,有待于进一步研究证实。

3.5 蛋鸡饲料中添加乳酸菌成本核算 从蛋鸡一日龄开始至蛋鸡淘汰,每只蛋鸡需用乳酸菌费用约 0.5 元,即每只蛋鸡每 10 天费用 0.01 元,与乳酸菌提升蛋鸡生产性能和降低其死淘率相比,具有极大的经济效益,希望广大蛋鸡养殖户积极参与效果验证。

### 3、反刍

#### a、不同浓度屎肠球菌对奶牛泌乳量的影响

已有研究表明，屎肠球菌在代谢过程中可以产生乳酸，瘤胃内的埃氏巨球形菌可以利用乳酸来产生挥发性脂肪酸，其中的乙酸是乳脂合成的前体物质。另外，尿酸杆菌可将乳酸发酵成丙酸，而丙酸是早期泌乳奶牛糖异生作用的主要前体物质，丙酸成量增高可使肝葡萄糖生成量增高，进而为乳糖的合成提供更多原料。增加瘤胃丙酸产量或增加瘤胃内可吸收葡萄糖含量均可提高对动物的葡萄糖供给量，葡萄糖是乳糖合成的前体，而乳糖是乳的主要渗透压物质，增加对泌乳动物的葡萄糖供给可以通过促进乳糖合成而提高泌乳量。Beauchemin 和 Chorbani 等研究发现屎肠球菌有利于瘤胃丙酸和乙酸浓度的增加。Gomez-Basauri 发现复合乳酸菌对泌乳量有一定的促进作用，产奶量增加 0.73kg/d，乳成分上也有一定程度改善。刘彩娟等在研究饲料中添加复合益生菌对奶牛瘤胃发酵及纤维素酶活性的影响中发现，添加复合益生菌有利于氨态氮 (NH<sub>3</sub>-N)、挥发性脂肪酸(VFA)、乙酸浓度、微生物粗蛋白(MCP)的提高，同时显著提高瘤胃内羧甲基纤维素酶、水杨苷酶和木聚糖酶活性。Nocek 等 (2006) 研究表明，牛产犊前后在其饲料中补充含有屎肠球菌和酵母菌的复合微生态制剂能够提高采食量和产奶量。姜艳美等 (2008) 在奶牛试验中发现，屎肠球菌液添加组比对照组显著提高了瘤胃液的乙酸与总挥发性脂肪酸浓度；后续采用人工瘤胃法研究屎肠球菌对瘤胃发酵的影响，结果表明，肠球菌能显著提高瘤胃 NH<sub>3</sub>-N 浓度(P < 0.01)，添加 1.25×10<sup>6</sup>/mL 屎肠球菌液显著提高了瘤胃液的乙酸与总挥发性脂肪酸浓度 (P < 0.05)。庞德公等 (2014) 研究表明，奶牛添加屎肠球菌、枯草芽孢杆菌、产朊假丝酵母可提高 MCP 含量和 VFA 生产量，使瘤胃微生物乙酸发酵类型转向为丙酸发酵类型，泌乳量及乳脂含量上升。由此可见，屎肠球菌可能通过调节瘤胃发酵、促进瘤胃饲料中碳水化合物的消化，促进挥发性脂肪酸生成而提高泌乳量。

#### b、不同浓度屎肠球菌对奶牛表观消化率及生长性能的影响

对单胃动物的研究表明，肠球菌能够快速黏附肠道黏膜并在动物肠道内大量定殖，生乳酸、细菌素、过氧化氢等物质降低肠道 pH、抑制病原菌、改善胃肠内环境，持微生态平衡。袁霞等 (2017) 在泌乳奶牛日粮中添加 30、60g/(d\*头) 屎肠球菌 (1.0×10<sup>10</sup> CFU/g)，结果表明，屎肠球菌能够提高日粮粗脂肪的消化率，其可能的原因包括，有益菌在瘤胃内生长繁殖能够促进维生素、氨基酸及促生长因子等营养物质的产生，刺激瘤胃内微生物分泌各种消化酶，从而有利于饲料脂肪的消化。此外，益菌群在肠道所造成的酸性环境与一般肠道内消化酶的最适 pH 相符合，分泌的有机酸可促进肠道分泌消化液和肠道的蠕动，进而有利于养分的消化吸收而提高其消化率 (Coington, 1990)。陈斌玺等 (2012) 研究含屎肠球菌的复合乳酸菌制剂青贮对肉牛影响时发现，合乳酸菌制剂可以有效的提高肉牛的日增重，低料重比，高肉牛的生产性能。

#### c、不同浓度屎肠球菌对乳体细胞数的影响

SCC 在维持乳腺健康以及被动免疫转移等方面发挥着重要作用。SCC 的数量主要是中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、单核细胞、淋巴细胞和少量乳腺组织脱落的上皮细胞。健康奶牛会因品种、年龄胎次等原因引起 SCC 数量在一定范围内波动，稳定在 20-30 万个/ml。当奶牛乳腺被大肠杆菌、金黄色葡萄球菌等外源致病菌感染时，奶体细胞的组成种类以及数量会在短时间内发生巨大变化，主要是由于自身免疫防御机制的启动，目的是抗炎的防御作用。胡良净等 (2017) 在泌乳奶牛日粮分别添加 30、60g/(d\*头) 屎肠球菌 (1.0×10<sup>10</sup>CFU/g)，试验奶牛乳中 SCC 相对于对照组显著降低，维持在健康范围之内。

## 4、水产

尿肠球菌等乳酸菌类益生菌在水产养殖中，以起到抑制有害微生物、净化水质、改善水产动物生态环境、提高免疫力、促进生长的作用。

### a、不同浓度尿肠球菌对鱼体特异性及非特异性免疫的影响

非特异性免疫系统是鱼类的基本防御屏障，抗病力上比特异性免疫系统更重要。碱性磷酸酶和过氧化物酶在水产动物体内的抗氧化酶系统中起着重要的作用。鞠安琪（2018）在鲤鱼日粮中分别添加 3 种不同浓度（ $1 \times 10^7$ 、 $1 \times 10^8$ 、 $1 \times 10^9$  CFU/g）尿肠球菌，结果表明， $1 \times 10^8$  CFU/g 组碱性磷酸酶和过氧化物酶活力显著提升，此推测尿肠球菌在相对高浓度时对碱性磷酸酶和过氧化物酶活力具有促进作用，其与刘小玲等（2013）研究乳酸菌对吉富罗非鱼非特异性免疫酶活性结果相似。Wang 等（2008）研究发现，罗非鱼饲喂从仔猪肠道中分离出的尿肠球菌 Z14 后，非鱼免疫反应得到增强，且生长性能良好。溶菌酶是鱼体内重要的非特异性免疫因子，鱼体生理防御水平的重要标志、衡量免疫功能及机体状态的重要指标。鞠安琪（2018）研究表明饲料中添加尿肠球菌浓度过高或不足都会影响这一指标， $1 \times 10^8$  CFU/g 浓度下效果最明显并随时间效果趋于稳定并分别在首次免疫后第 28 和 35 天达到峰值，其与张丽敏等（2009）研究红笛鲷血清中溶菌酶含量结果有差异，可能与实验方法及动物试验等条件不同有关。血清中抗体质量浓度的高低可直观反映出机体的免疫力或抵抗细菌的能力。IgM 是硬骨鱼体液免疫系统的主要成分之一，要参与机体内的细菌、毒素及病毒的吞噬反应，控制调节中和反应等免疫应答，鱼类体内重要的免疫效应分子。鞠安琪（2018）研究表明，尿肠球菌对 IgM 生成起积极作用，浓度过高或不足也会出现抑制作用，在  $1 \times 10^8$  CFU/g 浓度下，IgM 质量浓度最高。Zhao 等（2012）通过口服免疫鲤鱼益生菌后，诱导机体产生全身性免疫应答并观察到较高 IgM。

### b、不同浓度尿肠球菌对鱼体肠道微生物群的影响

杨红玲等（2010）分离鱼体内尿肠球菌进行抑菌特性研究发现，能够很好地抑制如金黄色葡萄球菌、哈维氏弧菌和梅氏弧菌等细菌生长。BOGUT（2013）进一步将含有尿肠球菌的饲料投喂给六须鲶后发现，肠道内有害菌群如致病性大肠杆菌、金黄色葡萄球菌等的数量有所下降。

# 固态发酵屎肠球菌在南美白对虾上的中试应用报告

NO: (2021) 0831001

## 结 题 报 告

### TEST REPORT

项目名称  
Name of project: 固态发酵屎肠球菌在南美白对虾上的中  
试应用报告

委托单位  
Consigner: 福建奥姆龙生物工程有限公司

报告日期  
Date: 20210831

集美大学水产学院  
厦门市饲料检测与安全评价重点实验室  
Fisheries college, Jimei University  
Xiamen Key Laboratory of Feed Quality Testing and Safety Evaluation

地址 (Add): 福建省厦门市集美区印斗路43号 (43Yindou Road, xiamen, fujian, P.R. of China)  
电话 (Tel): 05926181420, 传真 (Fax): 05926181420, 邮政编码 (Post Code): 361021



## 固态发酵屎肠球菌在南美白对虾上的中试应用报告

### 一、 实验背景

南美白对虾是世界三大虾类养殖品种之一，近年来在我国养殖规模逐年扩大，然而在实际养殖过程中，由于缺乏规范化的管理、对虾种质参差不齐等因素影响，导致养殖水质恶化、南美白对虾抗病力下降，虾病频频发生。研究表明，屎肠球菌 (*Enterococcus Faecium*) 具有抑制肠道病原菌的粘附、维持肠道微生态平衡、改善动物生理状态，促进动物生长等功能。同时屎肠球菌具有生长繁殖性能较好，且抗逆性强，具有无污染、无残留、无毒等特点。本实验将福建奥姆龙生物工程有限公司固态发酵生产的屎肠球菌（每克产品中屎肠球菌含量为 100 亿）拌料到南美白对虾配合饲料中，探究屎肠球菌在南美白对虾养殖中的应用效果。

### 二、 实验目的

评估拌料添加固态发酵屎肠球菌对南美白对虾生长、抗氧化和免疫功能、肠道健康的影响，确定固态发酵屎肠球菌对南美白对虾养殖中的应用效果。

### 三、 实验方法

#### 1、实验对象

选择南美白对虾为试验动物，初均重 1.0 g。

#### 2、实验组别

对照组饲喂商品虾料，实验组在商品虾料基础上，按照每公斤商品虾料中拌料添加 1 g 固态发酵屎肠球菌产品（每克产品中屎肠球菌含量为 100 亿），拌料后每克饲料中含屎肠球菌  $1 \times 10^7$  个，每个处理 3 个重复，每个重复 40 尾虾，实验周期 8 周

#### 3、养殖管理

(1) 养殖地点为福建省东山某对虾养殖场。

(2) 养殖水泥池为 18 平方米，起始放虾约 6000 尾。

(3) 水温 27-33℃ 天然海水。

(4) 每天 8 点、12 点、16 点投喂饲料，并观察其进食情况，及时调整饲喂量。

(5) 观察各池虾健康状况并记录死亡情况。

#### 4、结果测定

(1) 生长指标测定：

增重率 = (末重 - 初重) / 初重  $\times 100\%$

(2) 肠道组织结构。利用切片法进行分析。

(3) 高通量测序分析对虾肠道菌群。

#### 5、结果统计：

运用 SPSS23.0 进行统计分析，结果以平均值  $\pm$  标准差表示。

## 四、 实验结果及分析

### 1、生长性能指标

如表 1 所示，实验组末重和增重率与对照组相比差异均不显著，但实验组末重和增重率与对照组相比分别提高了 10.1% 和 11.6%。可见，拌料添加固态发酵屎肠球菌提高了南美白对虾的生长性能。

表 1 对虾生长指标

项目	组别	
	对照组	实验组
末重 (g)	8.29 $\pm$ 0.88	9.13 $\pm$ 1.68
增重率 (%)	728.57 $\pm$ 88.10	812.88 $\pm$ 167.56

## 2、血清生化指标

如表 2 可知，与对照组相比，实验组对虾血清 PO 和 LZM 活性均有一定提升，但无显著差异 ( $P>0.05$ )。

表 2 血清生化指标

项目 Items	组别 Groups	
	实验组	对照组
酚氧化酶 PO (ng/mL)	6.95±0.72	6.26±0.30
溶菌酶 LZM (ng/mL)	11.64±2.47	10.19±1.01

## 3. 肝胰脏生化指标

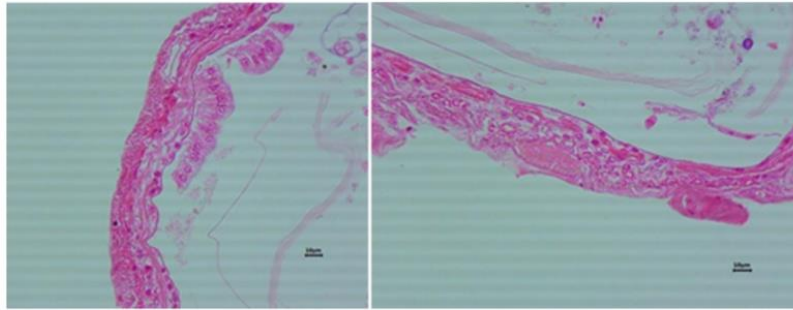
如表 3 可知，实验组肝胰脏 AKP 活力显著高于对照组 ( $P<0.05$ )，实验组 MDA 含量有所降低，而 ACP 活力没有显著性影响 ( $P>0.05$ )。

表 3 肝胰脏生化指标

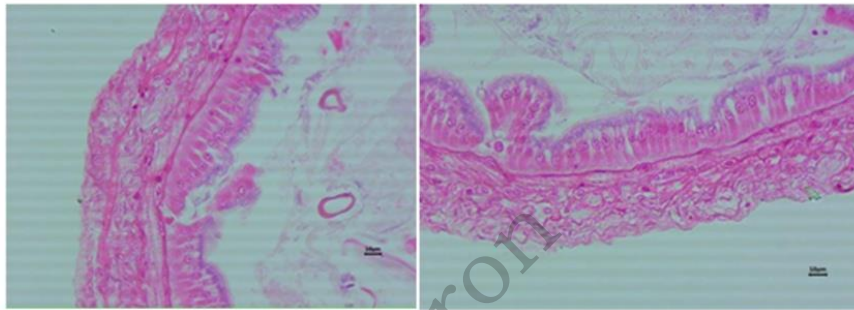
项目 Items	组别 Groups	
	实验组	对照组
ACP 活力 (金氏单位 /gprot)	0.29±0.02	0.28±0.07
AKP 活力 (金氏单位 /gprot)	0.34±0.05 <sup>a</sup>	0.19±0.07 <sup>b</sup>
MDA 含量 (nmol/mgprot)	2.41±0.61	2.51±0.52

## 4. 南美白对虾肠道组织结构

由图 1 可以看出，对照组对虾肠道绒毛与基层层存在分离现象，提示对照组对虾肠道存在损伤；实验组的肠道绒毛排列紧密，与基层层紧密贴合，且肠壁厚度和肠绒毛高度均明显高于对照组。可见，拌料添加固态发酵屎肠球菌改善了南美白对虾肠道组织结构。



对照组



实验组

图 1 对虾肠道组织结构 (400×)

## 5. 南美白对虾肠道菌群

由图 2 可知, 在门水平, 各组对虾肠道的优势菌为变形菌门、厚壁菌门、拟杆菌门、放线菌门、酸杆菌门等, 试验组变形菌门、厚壁菌门丰度略高于对照组。在属水平, 试验组光合细菌丰度明显上升, 而弧菌属细菌明显下降。PCoA 分析和 $\beta$ -多样性显著性分析 (图 3) 均表明, 试验组与对照组对虾肠道菌群 $\beta$ -多样性存在显著差异。可见, 饲料中添加屎肠球菌对对虾肠道菌群结构产生了明显的调节作用 (有益菌增加, 有害菌下降)。

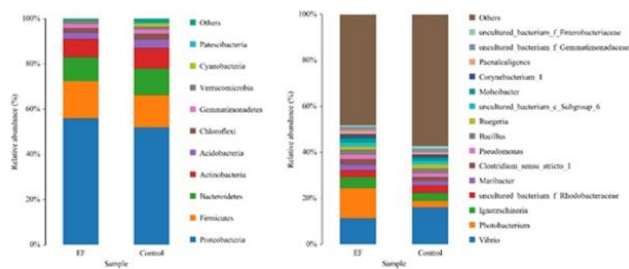


图2 屎肠球菌对对虾肠道菌群丰度的影响  
EF, 屎肠球菌; Control, 对照。

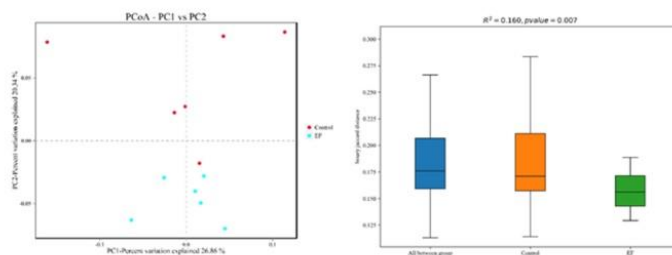


图3 对虾肠道菌群 PCoA 和β-多样性显著性分析分析（属水平）  
EF, 屎肠球菌; Control, 对照。

#### 四、 实验结论

中试条件下，商品饲料中伴喂 $1 \times 10^7$  CFU/g 固态发酵屎肠球菌（福建奥姆龙生物工程有限公司生产）能调节肠道菌群结构，改善对虾肠道健康和免疫功能，对虾生长性能提升10%以上。

## 实验结论

中试条件下，商品饲料中伴喂  $1 \times 10^7$  CFU/g 固态发酵屎肠球菌（福建奥姆龙生物工程有限公司生产）能调节肠道菌群结构，改善对虾肠道健康和免疫功能，对虾生长性能提升10%以上。

# 五、屎肠球菌发酵中药的应用

发酵中药是指通过益生微生物的作用将中药原料进行发酵处理，以期得到提高药物生物利用度和药效，加速疾病康复的一类中药制剂。发酵中药在兽医临床已经开始应用，中药的多功能性、天然性等优势可在动物的疾病防治和提高生产性能方面得到充分发挥，尤其是无抗养殖的概念提出和国家对兽药抗生素残留的监管力度加大后，发酵中药更是深受广大养殖场的欢迎。

## 1、发酵中药的特点及功能

### a、提高中药生物利用度

发酵中药中的微生物可分泌一些纤维素酶、半纤维素酶、果胶酶等，以促进植物细胞壁的分解。分解后的植物细胞壁对胞浆内有效物质溢出的阻碍作用降低，其中的苷类、皂甙类、有机酸、挥发油、微量元素、多糖、小肽等药用价值较高的成分溢出会更多，药物的生物利用度也会更高，尤其是采用半固体发酵的中药，益生菌活力强，产酶量大，加上中药在湿度较大的环境中，植物纤维韧性下降，变得更易酶解，最终能获得提高药物生物利用度的目的。

### b、增强肠黏膜抵抗力

发酵中药的有益菌在代谢过程中产生的代谢产物可修复肠壁细胞，使肠黏膜保持高度完整性，抵抗有害微生物的侵入。当动物处于应激状态时，过多的由氧化作用产生的“自由基”会破坏黏膜细胞，而发酵中药能快速清除这些自由基，使细胞保持较强的活力，对饲料的消化和吸收作用增强。

### c、调理肠道微生态

肠道微生态的平衡依靠有益菌将有害菌抑制而实现，只有有害菌被抑制了，有益菌才能成为优势菌，使整个微生态体系处于平衡状态。经常使用发酵中药的动物群，其肠道内每天都在进入有益菌，不但在数量上使有益菌一直处于优势地位，而且这些有益菌还能定植粘附在肠壁内表面，通过占位效应使有害菌无法和肠壁细胞相结合，从而促进微生态平衡。如果发酵中药中含有酵母菌，则产品中含有的酵母细胞壁是低聚甘露寡糖的重要来源，甘露寡糖在动物体内具有促进内生性有益菌繁殖的作用，对条件致病性有害菌有抑杀功能。

### d、降低应激反应，提高免疫力

应激反应是很多种疾病的诱发因素，尤其是规模化生产的养殖场，常见的应激反应有天气突变、饲料变更、长途运输、环境长期高温高湿、动物间打斗、通风不良、饲养密度过大等。应激一方面使机体的内环境突然改变而失衡，进而动物出现水和电解质平衡紊乱，代谢机能下降，食欲减退，精神萎靡等症状。另一方面机体需要更多的维生素、蛋白质、矿物微量元素等营养物质来满足需要。经常使用发酵中药的动物，其肠道对环境应激的抵抗力会提高，降低应激对机体的影响，同时，有益菌对肠壁也能起到刺激黏膜免疫的作用，从而促进生产性能的恢复和增强。



## e、改善动物营养状况

发酵中药本身由微生物和中药两部分组成,微生物在代谢过程中可产生 VB1、VB2、VB6、VB12、VK、烟酸、叶酸以及多种氨基酸。而且,乳酸菌类的益生菌能分泌乳酸,拿产蛋鸡的饲料来讲,日粮中含有约 8%的石粉,乳酸能促进石粉中钙离子的溶出,从而促进吸收,使产蛋期的母鸡获得足够的钙,蛋壳厚度增加,骨密度也加大。对于猪、牛、羊等哺乳动物,乳酸能提高饲料的适口性,有助于提升采食量。另外,酸性环境不利于大肠杆菌、沙门氏菌、魏氏梭菌等病原微生物的繁殖,减少腹泻性疾病的发生。中药作为微生物生长的基质环境,本身细胞中都含有多种维生素、矿物质、糖类、蛋白、多肽等物质,发酵后这些物质更充分释放,为机体提供营养。

## f、降低粪便臭味,利于环境保护

降低粪便臭味的作用机理表现在两方面。一方面是发酵中药中的益生菌将粪便中的有害菌抑制后,有害菌数量大大降低,而粪便之所以发臭,主要还是由于大肠杆菌、沙门氏菌、魏氏梭菌等为代表的有害菌代谢过程中释放出的有害气体,这些有害菌被抑制后,臭味自然会降低。另一方面是中药对肠道有一定的调理作用,能促进饲料中的营养更充分地被消化和吸收,如饲料蛋白中的含硫氨基酸被吸收更充分后,转化为硫化氢气体的量就降低,氨基酸总体吸收率提高后,有害微生物的利用就减少,无法转变为氨气而释放,自然臭味就会下降。有害气体的减少有利于环境保护,有些离村庄较近的养殖场村民的投诉量也会减少,利于养殖场的长期运营。

## 2、 发酵中药在动物养殖方面的应用

### a、 在鸡鸭养殖中的应用

李宗杰等人研究表明,在肉鸡饮用水里加入多种益生菌发酵复合中药粉,其成活率高达 96%,料重比和日龄体重均优于对照组,新城疫和 H9 抗体也较高 ( $P<0.05$ ),目前证实发酵中药在肉鸡养殖中具有较高的应用价值,对提高产量和防治疫病有较好效果。申红春研究证实,对天府肉鸭在每日基础饲料中添加不同剂量益生菌发酵的复方中草药制剂,可以提高其生长性能,还可提高肉鸭盲肠菌落数,保护肠胃,证实发酵中药在肉鸭养殖中亦具有良好的保健作用。

### b、在养猪中的应用

研究表明,在饲料中添加复方发酵中药制剂可有效提高断奶仔猪的生产能效,提高仔猪的免疫力,表现为血清总蛋白、球蛋白以及白蛋白的含量增高。中药发酵比单纯中草药更能提高日均采食量,降低料重比,血清炎性因子水平得到较大改善。李汝等人发现,在饲料中添加多种益生菌发酵的中草药,可有效提高育肥猪前期生长性能,改善肠道微生物菌群分布,提高免疫力,有效减少病死情况发生,但对中后期育肥猪的生长性能并无较大影响。乔宏兴等人将屎肠球菌和植物乳杆菌发酵的黄芪加入仔猪的日常饲料中,有效提高了其平均日采食量和日增重,降低其料肉比。

### c、在牛羊养殖中的应用

有研究表明,在常规饲料里添加发酵中药制剂后,泌乳奶牛的日均产奶量、乳液 pH、乳蛋白率、乳液体细胞数与对照组相比均有所改善,对奶牛采用日常饲料加混合发酵复方中药喂养,可提高奶牛的产奶量,还可有效预防奶牛乳房炎的发生。对围产期母羊采用饲料加发酵中

药混合喂养后，可明显增加羊羔日体重比和窝重比，其患病率也明显低于单纯喂养饲料的对照组，出生羔羊腹泻率大幅度降低。

#### d、在水产养殖中的应用

谢炎福以黄河鲤作为实验对象，喂以植物乳酸菌、枯草芽孢杆菌、米曲霉、产朊假丝酵母的发酵复方中药粉，当中药粉添加量为 0.3% 时，黄河鲤饵料系数提高了 8.1%，体重增长率与对照组（中药组）比提高了 11.7%。发酵中药与普通中药相比，更能促进黄河鲤的生长，还可刺激其非特异性免疫，保护鱼类肝脏。李泽鑫等人研究了 10 种中药发酵制剂对石斑鱼肝细胞氧化损伤的保护作用程度，其中甘草与银杏叶发酵制剂可有效保护过氧化氢诱导的石斑鱼肝细胞氧化损伤。因此，水产养殖中应用发酵中药可保护鱼类肝脏，促进生长，提升水产体重增长率和水产品质量。

### 3 结语

目前发酵中药在养殖生产中已经开始推广，尤其是对抗生素检查严格的蛋品领域、猪肉领域、奶制品领域等，可以起到替代抗生素防治疾病的作用。为了最大化发挥发酵中药的效果，建议产品不但在保质期内使用，还要尽早使用。

Aomron