

粪肠球菌的生物学特性及其在养殖业中的应用

安玉亭¹,胡浩^{2*},王智刚¹,周新秀³

(1. 江苏远山生物技术有限公司,江苏盐城 224001;2. 南京农业大学,江苏南京 210095;3. 盐城市亭湖区农业委员会,江苏盐城 224001)

摘要 粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)是乳酸菌的一类,属于链球菌科(*Streptococcaceae*)肠球菌属(*Enterococcus*),细胞呈球形,链状排列,无芽孢,兼性厌氧,为革兰氏阳性菌,是人类和动物肠道中重要菌群之一。粪肠球菌能够调节动物肠道菌群平衡,增强机体免疫力,促进肠道上皮细胞生长与修复,提高饲料转化率,促进动物体生长。该菌容易在动物肠道中定植并发挥作用,具有广阔的应用前景。
关键词 粪肠球菌;养殖业;微生物生态制剂
中图分类号 S816.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2015)27-115-03

The Biological Characteristics of *Enterococcus faecalis* and Its Application in Breeding Industry
AN Yu-ting¹, HU Hao^{2*}, WANG Zhi-gang¹ et al (1. Jiangsu Yuanshan Biological Technology Co., Ltd., Yancheng, Jiangsu 224001; 2. Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu 210095)
Abstract *Enterococcus faecalis* is a kind of lactic acid bacteria, which belongs to the Enterococcus of *Streptococcaceae*. It is spherical cells, arranged in chains, bacillus, and facultative anaerobe, gram-positive bacterium, and one of the important bacteria in the intestinal tract of human and animal. *Enterococcus faecalis* is widely used in animal breeding. It can adjust the balance of intestinal flora activate the immunity system, enhance the body immunity, promote the growth and recovery of intestinal epithelial cells, produce many kinds of enzymes, improve the feed conversion rate promote animal growth etc. *Enterococcus faecalis* can easily colonize in the animal intestines and play its roles, therefore has wide application prospects.
Key words *Enterococcus faecalis*; Breeding industry; Microecological agents

近年来,我国畜牧水产业飞速发展,提高了居民营养水平,改善了人民生活。但是,由于养殖密度大、畜禽疫病复杂多样以及监管不力等原因,普遍存在抗生素过量使用甚至滥用等问题,我国有 50% 以上的抗生素被使用在饲料中,这为养殖业的持续健康发展埋下隐患。鉴于滥用抗生素潜在的弊端和危机,许多国家和地区都禁止或限制抗生素在饲料中的添加。1986 年瑞典全面禁止在饲料中使用抗生素,1997 年世界卫生组织倡议在动物饲料中谨慎使用抗生素,2006 年欧盟全面禁止抗生素在饲料中的使用,2011 年韩国全面禁止在动物饲料中添加抗生素。因此,在饲料中禁止或控制抗生素的使用是一种趋势。

为此,许多研究者开始寻找抗生素的替代品。益生菌的出现成为抗生素替代品的最佳选择,得到国内外研究者的广泛关注。粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)作为益生菌的一种,自从 1984 年就被美国食品和药品管理局明确标定为可直接应用于动物的益生菌之一。在饲料中添加粪肠球菌,可以调节宿主胃肠道微生态系统,不仅具有提高畜禽抗病性和生产性能的作用,而且具有无残留、无污染和无耐药性等特点。粪肠球菌作为一种重要的益生菌,在欧美国家动物饲料领用已得到广泛应用。我国关于粪肠球菌的研究起步较晚,即使《饲料添加剂品种目录(2008)》允许使用的饲料级微生物菌种也包括粪肠球菌^[1],但是在畜禽上的相关研究还较少。笔者将对粪肠球菌的生物学特性及其在养殖业中的应用进行了综述。

基金项目 江苏省农业三新工程项目(SXGC[2014]164);江苏省农业科技支撑计划项目(BE2013381)。
作者简介 安玉亭(1986-),男,河北石家庄人,硕士,从事动物营养与饲料科学研究。*通讯作者,教授,博士,博士生导师,从事动物营养与饲料科学方面的研究。
收稿日期 2015-08-06

1 粪肠球菌的生物学特征

粪肠球菌属于乳酸菌,革兰氏阳性菌,不产芽孢、氧化酶阴性、触酶阴性、兼性厌氧球菌,经常单个、成对或呈短链状排列^[1]。粪肠球菌作为动物肠道内主要菌群之一,还能产生细菌素等抑菌物质,抑制沙门氏菌和大肠杆菌等病原菌的生长,改善肠道微环境;能产生天然抗生素,有利于机体健康;同时,能够抑制肠道中产腐败菌和尿素酶细菌的生长,降低内毒素和肠道尿素酶的含量,改善机体血液环境。粪肠球菌能够将部分蛋白质分解成断链氨基酸和酰胺,将多种碳水化合物在无氮浸出物转化成 L 型乳酸,促进合成 L-乳酸钙,提高养殖动物对钙质的吸收能力。另外,粪肠球菌是消化道内普遍存在的一类微生物,不仅具有较强的肠黏膜定植和耐受能力,而且是一种兼性厌氧的乳酸菌,与厌氧、培养保存条件苛刻的双歧杆菌相比更具有生产和应用价值。

2 粪肠球菌的作用机理

2.1 调节肠道微生态系统平衡 微生物在动物肠道中的长期演化过程中逐渐形成一个相互依赖、相互制约、相对稳定微生态系统^[2]。肠道菌群失调会导致机体免疫力下降,从而引发各种疾病。当肠道微生态系统发生紊乱后,双歧杆菌、乳酸菌等数量显著降低,沙门氏菌和大肠杆菌等兼性厌氧菌数量则显著增加,此时给动物补充益生菌能够显著抑制致病菌的生长,增加有益菌的数量,从而建立显著的优势种群,达到维持或恢复肠道微生态平衡的目的^[3]。Lee 等^[4]发现粪肠球菌可以通过改变肠道黏液成分来抑制致病菌的黏附,同时能够通过刺激机体免疫系统来降低大肠杆菌的黏附能力。粪肠球菌作为乳酸菌的一种,能够产生细菌素、有机酸或挥发性脂肪酸等来改善肠道内环境,达到竞争有害菌的营养成分或抑制其生长及活动的效果^[5]。产生挥发性脂肪酸等抑菌物质的数量越多,抑制有害菌的能力就越强。大量研究表

明,粪肠球菌具有调整肠道微生态平衡的重要作用。

2.2 维护肠道上皮屏障的完整性 肠道上皮屏障作为机体重要的免疫屏障,能够抵制肠道内毒素和致病菌通过肠粘膜进入机体的血液、组织及器官中^[6]。粪肠球菌能够在动物肠道内形成生物薄膜附着在动物肠道粘膜上,进行正常发育、生长和繁殖,形成乳酸菌屏障,抵御外来毒素和致病菌侵入,这是芽孢杆菌和酵母菌等所没有的功能。Caballero - Franco 等^[7]研究表明粪肠球菌能够通过 MUC2 基因的表达和上调黏液素来增加鲁米那黏液素的含量,而鲁米那黏液素由许多糖蛋白、脂肪和糖脂组成,相当于一个黏液毯,能有效防止肠道内的毒素损伤上皮细胞。Chichlowskietai 等^[8]研究发现粪肠球菌的繁殖有利于分泌黏液素的杯状细胞的成熟和生长,该黏液素促进机体分泌黏附蛋白,提高细菌的黏附力,从而抑制毒素对肠道上皮细胞的侵害。Buts 等^[9]体外试验表明粪肠球菌能够保护机体免受抗炎药物副作用的影响。最新研究发现,粪肠球菌能够抑制大量毒素的增加,激活增加胞分裂蛋白激酶和抗细胞凋亡酶数量,调节细胞凋亡效应,保护肠道上皮细胞^[10]。

2.3 促进营养物质的吸收 粪肠球菌能够分泌 L 型乳酸,同时能将多种碳水化合物化合物的无氮浸出物转化为乳酸,完全被机体进行吸收利用。粪肠球菌作为益生菌,可在肠内形成微生物菌薄膜附着在肠道粘膜上,同时在肠道内生长、发育并迅速繁殖,起到保护肠道粘膜的益生作用。此外,粪肠球菌还可以分解部分蛋白质为酰胺和氨基酸,并且使饲料内的纤维变软,所以能够提高饲料的转化吸收率。荆祎^[11]研究表明粪肠球菌对氨基酸和酰胺的吸收有促进作用,能提高组织蛋白的合成作用,增强代养物质的消化吸收。席兴军等^[12]在玉米秸秆青贮饲料中添加粪肠球菌和纤维素酶后能明显改善青贮饲料的气味、质地和色泽等,丁酸质量分数降低 82%,氨态氮与总氮质量比降低 33%,干物质消失率提高 8%,同时使酸性洗涤纤维和中性洗涤纤维含量分别降低 7% 和 10%,因此明显提高了饲料品质。李笑樱等^[13]发现饲料中添加 0.01% 粪肠球菌,在产蛋后期可以显著提高饲料中钙、磷消化率及精氨酸、亮氨酸、半胱氨酸的消化率;在饲料中添加 0.03% 复合微生态制剂(芽孢杆菌和粪肠球菌)可以显著提高蛋鸡日粮粗蛋白质、代谢能、干物质、钙和磷消化率以及精氨酸、谷氨酸、丝氨酸等氨基酸的消化率。

2.4 增强机体免疫力 粪肠球菌能够显著增强巨嗜细胞的活性,促进免疫器官的发育,提高动物的免疫反应能力,促进抗体的产生及细胞因子的分泌,从而增强机体的免疫力^[14]。张日俊等^[15]研究表明用含有乳酸杆菌的复合微生物制剂饲喂肉仔鸡,该产品能够显著刺激胸腺、法氏囊和脾脏等免疫器官的发育,加强免疫 T 细胞和 B 细胞对各种应激反应的刺激性。Gill 等^[16]研究也表明粪肠球菌和嗜酸乳酸杆菌能明显提高脾脏细胞对 T 细胞与 B 细胞的增殖反应能力,增加血液中血清抗体及 INF- γ 的含量。Huang 等^[17]研究发现饲料中添加粪肠球菌后在 30 日龄肉仔鸡血清中 IgG 和 IgA 含量显著高于对照组。Perdigon 等^[18]研究发现在小白鼠食用添

加粪肠球菌或嗜酸乳酸杆菌发酵的乳制产品 8 d 后,体内巨噬细胞的吞噬能力明显增强。杭柏林等^[19]给肉鸡饲喂添加类链球菌和植物乳杆菌的试验日粮后,其血液中白细胞吞噬率较对照组分别提高 15.47% 和 16.10%。

3 粪肠球菌在养殖业中的应用效果

3.1 在生猪健康养殖中的应用 目前,粪肠球菌的应用研究普遍存在于生猪健康养殖过程中。在猪生长过程中不同生理阶段,添加粪肠球菌等益生菌的目的也有所不同。在哺乳仔猪期,以建立优势菌群、提前抢占结合位点、抑制病原菌繁殖为主要目的;对于断奶仔猪,则以预防、控制腹泻、提高自身免疫功能为目的;在猪的生长育肥阶段,以提高饲料利用率和日增重和改善猪肉品质为主要目的;对于妊娠母猪,以提高胚胎存活率、增加受孕率、改善母猪的生产力和延长母猪生产年限为主要目的;对于哺乳母猪,以提高采食量、增强泌乳能力、增加哺乳仔猪免疫力为主要目的。Zeyner 等^[20]研究表明,当仔猪出现腹泻时,饲喂粪肠球菌不仅制止养殖场仔猪腹泻情况的蔓延,同时可以降低仔猪腹泻率,进而能提高日增重。Guerra 等^[21]发现给断奶仔猪饲喂中添加粪肠球菌的饲料后,粪便中大肠杆菌的数量明显降低,与 Taras 等^[22]的研究结果相一致。魏清甜等^[23]研究表明饲料中添加 200 g/t 的粪肠球菌可以显著改善仔猪保育前期腹泻率、料肉比、日增重和保育后期的日采食量,同时增强机体免疫能力,减少体内大肠杆菌数量。

3.2 在家禽健康养殖中的应用 粪肠球菌在家禽养殖过程中的应用也较为广泛。Hamid 等^[24]给蛋鸡饲喂粪肠球菌和双歧杆菌混合微生物制剂,在 7、14、21 d 分别测抗体免疫应答反应,发现试验组在接种破伤风毒素后,显著增加 IgA 和 IgG 在肠道中的含量。司振书等^[25]将粪肠球菌等复合益生菌加入肉鸡饲料中,保证每千克饲料添加复合益生菌不少于 2×10^9 CFU/g,21 日龄后分别测定红细胞免疫复合物花环 (E-ICR) 率和红细胞 C3b 受体花环 (E-C3bR) 率,结果表明试验组比对照组分别高 19.93% 和 16.24%,总花环率试验组比对照组高 17.61%;测定 10 日龄、17 日龄肉鸡胸腺 T 细胞百分数,结果发现其分别比对照组高 19.40% 和 9.17%,试验组肉鸡免疫力明显提高。吕英等^[26]给 1 日龄雏鸡饮用水中添加含粪肠球菌的微生态水剂,然后于 1、7、18 d 取免疫器官脾脏和法氏囊,然后测定脾脏、法氏囊中 IgG (免疫球蛋白 G)、IgM (免疫球蛋白 M) 和 IgA (免疫球蛋白 A) 生成细胞数量,结果表明在试验进行到 18 d 后,试验组均比对照组有不同程度增加;在饲喂 10 d 后,免疫器官 IgG 抗体生成细胞数量达到最大值,IgM、IgA 生成细胞数量在饲喂 7 d 后达到最大值。

3.3 在反刍动物健康养殖中的应用 粪肠球菌在反刍动物养殖中的应用研究也较多,其主要作用是提高反刍动物瘤胃微生物的活性,改善瘤胃的环境,增加益生菌的数量,从而提高其生理性能。于萍等^[27]采用分子生物学方法研究粪肠球菌对断奶犊牛胃肠道纤维分解菌数量的影响,结果表明粪肠球菌对黄色瘤胃球菌、琥珀酸丝状杆菌、溶纤维丁酸弧菌、脂解厌氧弧菌和白色瘤胃球菌在犊牛消化道中的生长和定植

有显著促进作用。叶峰等^[28]研究表明在犊牛饲料中添加粪肠球菌等复合微生态制剂,30 d 后试验组增重率与对照组相比提高 18%,60 d 后增重率提高 13.39%。

3.4 在水产健康养殖中的应用 微生态制剂在水产养殖业的应用研究起步较晚,主要是由于水质的恶化和疾病的爆发,化学药物的应用已经不能有效控制,因此微生态制剂的应用得到水产界的广泛关注。张涛等^[29]将粪肠球菌添加于仿刺参的饲料中,30 d 后测定其肠道内溶菌酶、蛋白酶、淀粉酶、氧化物歧化酶等的活性。研究表明,食用含有粪肠球菌的饲料,能够增强仿刺参消化酶的活性,尤其是淀粉酶和蛋白酶,同时对提高机体免疫力也有一定的积极作用。黄海燕等^[30]研究表明饲料中添加粪肠球菌进行饲喂能够显著提高奥尼罗非鱼抗嗜水气单胞菌感染能力和免疫抗氧化能力,并且显著鱼体内免疫细胞数量。

4 存在问题及展望

粪肠球菌在农业生产中的益生功效较为明显,它能够提高畜禽生产性能,改善养殖环境,降低养殖成本等,这些已经得到大量试验的验证。但是,粪肠球菌风味非致病菌和致病菌,其筛选来源也很复杂。因此,在分离上不仅要保证其来源于健康的动物或未被污染的环境,同时还要经过严格的科学鉴定,否则将危及动物的健康,甚至导致食品安全问题。

目前,粪肠球菌的研究仅仅涉及其生物学特性和实际使用的效果方面,但其作用机理和作用方式尚不明确。此外,提高粪肠球菌的抗病毒作用和抗感染能力,加强粪肠球菌制剂的稳定性等方面将是今后研究的重要课题。在养殖生产实际应用中,只能采用拌料或饮水来添加粪肠球菌,因此在此过程中很难保证不被其他有害菌污染,并且无法保证其安全稳定性。在颗粒型饲料中,粪肠球菌不能耐受制粒过程中的高温蒸汽挤压处理,给加工颗粒料工艺带来很多的不便。因此,利用生物技术手段开发高生产性能的粪肠球菌菌种,来改善粪肠球菌微生态制剂的制造工艺和饲喂效果,同时研发含有粪肠球菌的复合微生物制剂,如与寡聚糖、中草药等联用都将是今后的发展趋势。

参考文献

- [1] SCHLEIFER K H, KILPPER-BALZ R. Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. nov. [J]. Journal of the entomological research society, 1984, 34: 31–34.
- [2] RICKE S C, WOODWARD C L, KWON Y M, et al. Limiting avian gastrointestinal tract *Salmonella* colonization by cecal anaerobic bacteria, and a potential role for methanogens [M]//BEIER R C, PILLAI S D, PHILLIPS T D, et al. Preharvest and postharvest food safety: Contemporary issues and future directions. Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing, 2004: 141–150.
- [3] MODESTO M, DAIMMO M R, STEFANINI I, et al. A novel strategy to select *Bifidobacterium* strains and probiotics as natural growth promoters in newly weaned pigs [J]. Livestock science, 2009, 122(2/3): 248–258.
- [4] LEE Y K, LIM C Y, TENG W L, et al. Quantitative approach in the study of adhesion of lactic acid bacteria to intestinal cells and their competition with enterobacteria [J]. Applied and environmental microbiology, 2000, 66(9): 3692–3697.
- [5] RICKE S C. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials [J]. Poultry science, 2003, 82: 632–639.
- [6] 吴国豪. 肠道屏障功能 [J]. 肠外与肠内营养, 2004, 11(1): 444.
- [7] CABALLERO-FRANCO C, KELLER K, SIMONE D C, et al. The VSL#3

- probiotic formula induces mucin gene expression and secretion in colonic epithelial cells [J]. American journal of physiology-gastrointestinal and liver physiology, 2007, 292: 315–322.
- [8] CHICHLAWSKI M, CROOM W J, MCBRIDE B W, et al. Micro-architecture and spatial relationship between bacteria and ileal, cecal and colonic epithelium in chicks fed a direct-fed microbial and salinomycin [J]. Poultry science, 2007, 86: 1121–1132.
- [9] BUTS J, DE KEYSER N, STILMANT C, et al. *Saccharomyces boulardii* enhances N-terminal peptide hydrolysis in suckling rat small intestine by endoluminal release of a zinc-binding metalloprotease [J]. Pediatric research, 2002, 51: 528–534.
- [10] YAN F, CSO H W, COVER T L, et al. Soluble proteins produced by probiotic bacteria regulate intestinal epithelial cell survival and growth [J]. Gastroenterology, 2007, 132: 562–575.
- [11] 荆伟, 李光玉, 刘哈璐, 等. 不同乳酸杆菌添加剂对水貂生长性能营养物质消化率氮平衡及血清生化指标的影响 [J]. 动物营养学报, 2013, 25(9): 2160–2167.
- [12] 席兴军, 韩鲁佳, 原慎一郎, 等. 添加乳酸菌和纤维素酶对玉米秸秆青贮饲料品质的影响 [J]. 中国农业大学学报, 2003, 8(2): 21–24.
- [13] 李笑樱, 范或, 马秋刚, 等. 微生态制剂对产蛋后期蛋鸡饲料营养物质消化率的影响 [J]. 中国饲料, 2011(20): 20–23.
- [14] 章文明, 汗海岭, 刘让新. 乳酸杆菌益生作用机制的研究进展 [J]. 动物营养学, 2012, 24(3): 389–396.
- [15] 张日俊, 潘淑媛, 白永义, 等. 微生物饲料添加剂益生康对肉仔鸡营养代谢与免疫功能的调控机理 [J]. 中国农业大学学报, 2005, 10(3): 40–47.
- [16] GILL H S. Enhancement of natural and acquired immunity by *Lactobacillus rhamnosus* (HN001), *Lactobacillus acidophilus* (HN017) and *Bifidobacterium lactis* (HN019) [J]. Journal of nutrition, 2000, 83: 167–176.
- [17] HUANG M K, CHOI Y J, HOUEDE R, et al. Effects of *Lactobacilli* and an *acidophilus* fungus on the production performance and immune responses in broiler chickens [J]. Poultry science, 2004, 83(5): 788–795.
- [18] PERDIGON G, MACIAS M E, ALVAREZ S, et al. Systemic augmentation of the immune response in mice by feeding fermented milks with *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus acidophilus* [J]. Immunology, 1998, 63(1): 17–23.
- [19] 杭柏林, 胡建和, 刘丽艳, 等. 乳酸菌株植物乳杆菌和粪链球菌对肉鸡免疫性能的影响 [J]. 广东农业科学, 2008(11): 80–83.
- [20] ZEYNER A, BOLDT E. Effects of a probiotic *Enterococcus faecium* train supplemented from birth to weaning on diarrhoea patterns and performance of piglets [J]. Journal of animal physiology and animal nutrition, 2006, 90(2): 25–31.
- [21] GUERRA N P, BERNARDEZ P F, MANDEZ J, et al. Production of four potentially probiotic lactic acid bacteria and their evaluation as feed additives for weaned piglets [J]. Animal feed science and technology, 2007, 134(1): 89–107.
- [22] TARAS D, VAHJEN W, MACHA M, et al. Performance diarrhea incidence and occurrence of *Escherichia coli* virulence genes during long-term administration of a probiotic *Enterococcus faecium* strain to sows and piglets [J]. Journal of animal science, 2006, 84(3): 608–617.
- [23] 魏清甜, 李平华, 汪涵, 等. 粪肠球菌替代抗生素对保育仔猪生长性能腹泻率体液免疫指标和肠道微生物数量的影响 [J]. 南京农业大学学报, 2014, 37(6): 143–148.
- [24] HAGHIGHI H R, GONG J H, GYLES C L, et al. Modulation of antibody-mediated immune response by probiotics in chickens [J]. Clin Diagn Lab Immunol, 2005, 12(12): 1387–1392.
- [25] 司振书, 牛钟相. 微生态制剂对肉鸡体液免疫和细胞免疫的影响 [J]. 中国饲料, 2007(10): 9–11.
- [26] 吕英, 刘家福, 郑世民. 雏鸡应用益生菌后免疫器官体液免疫动态变化 [J]. 中国预防兽医学报, 2009, 31(4): 305–309.
- [27] 于萍, 王加启, 卜登攀, 等. 日粮添加纳豆芽孢杆菌对断奶后犊牛胃肠道纤维分解菌的影响 [J]. 中国农业大学学报, 2009, 14(1): 112–116.
- [28] 叶峰, 程九岷, 孙素艳, 等. 微生态制剂: 犊牛康对犊牛生长发育的试验研究 [J]. 中国奶牛, 2004, 3: 31–32.
- [29] 张涛, 白岚, 李蕾, 等. 不同添加量的益生菌组合对仿刺参消化道和免疫指标的影响 [J]. 大连水产学院学报, 2009(24): 64–68.
- [30] 黄燕华, 周晓波, 王国霞, 等. 5 种乳酸菌对奥尼罗非鱼免疫和抗病力的影响 [J]. 水产科学, 2014, 33(10): 601–605.