

凝结芽孢杆菌对感染肠炎沙门氏菌蛋鸡肠道形态、 抗氧化能力及沙门氏菌定植的影响

刘聪¹ 黄世猛¹ 赵丽红¹ 张建云¹ 计成¹ 马秋刚^{1*}

(中国农业大学 动物科技学院/动物营养国家重点实验室,北京 100193)

摘要 为研究凝结芽孢杆菌对感染肠炎沙门氏菌蛋鸡肠道形态、抗氧化能力及沙门氏菌定植的影响,将400只沙门氏菌阴性蛋鸡随机分成4组,每2组分在环境条件相同的2个安全隔离舍,每组设5次重复,每个重复20只鸡。对照组(I组和III组)饲喂基础饲料,试验组(II组和IV组)在基础饲料上添加 2.5×10^{10} cfu/kg 凝结芽孢杆菌。饲喂1周后,试验组连续两天定量口服沙门氏菌菌液,对照组口服等量无菌PBS溶液,饲养3周。结果表明:1)日粮添加凝结芽孢杆菌极显著增加十二指肠绒毛宽度和绒毛吸收表面积($P_{BC} < 0.01$);添加凝结芽孢杆菌可显著增加空肠绒毛长度和绒毛长度/隐窝深度比值($P_{BC} < 0.05$)。沙门氏菌极显著降低空肠隐窝深度($P_{SE} < 0.01$),显著降低绒毛宽度($P_{SE} < 0.05$),极显著增加绒毛长度/隐窝深度比值($P_{SE} < 0.01$)。2)日粮添加凝结芽孢杆菌后,沙门氏菌与凝结芽孢杆菌对血浆SOD有显著交互作用($P_{SE \times BC} < 0.05$),沙门氏菌可以显著增加血浆SOD和T-AOC($P_{SE} < 0.05$);添加凝结芽孢杆菌显著降低血浆中SOD和MDA的含量($P_{BC} < 0.05$)。3)在攻毒后第1天、第14天和第21天,日粮添加凝结芽孢杆菌可显著降低盲肠沙门氏菌拷贝数($P_{BC} < 0.05$);在整个试验过程中观察发现,凝结芽孢杆菌可显著降低盲肠沙门氏菌拷贝数($P_{BC} < 0.05$)。综上,产蛋后期蛋鸡感染肠炎沙门氏菌后,日粮添加凝结芽孢杆菌可改善肠道形态,提升其抗氧化能力,降低盲肠沙门氏菌定植数量,缓解病源性感染应激,保证了蛋鸡机体健康。

关键词 蛋鸡; 凝结芽孢杆菌; 肠炎沙门氏菌; 生产性能

中图分类号 S835

文章编号 1007-4333(2019)01-0069-07

文献标志码 A

Effects of dietary supplementation with *Bacillus coagulans* on the intestinal morphology, plasma antioxidation capacity and colonization of *Salmonella* in the caecum of *S. enteritidis* infected laying hens

LIU Cong¹, HUANG Shimeng¹, ZHAO Lihong¹, ZHANG Jianyun¹, JI Cheng¹, MA Qiugang^{1*}

(College of Animal Science and Technology/State Key Laboratory of Animal Nutrition, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract This study evaluated the effects of *Bacillus coagulans* (BC) on the intestinal morphology, plasma antioxidation capacity, pro-inflammatory cytokines and colonization of caecum salmonella in *S. enteritidis* (SE) infected laying hens. A total of 400 *Salmonella*-negative, healthy hens were randomly divided into 4 treatment groups with 100 in each group, among which every two groups were allotted to same biosafety isolated sheds. Each group consisted of 5 replicates with 20 hens per replicate. Different dietary treatments were: I, basal diet; II, basal diet + oral *Salmonella* administration; III, basal diet + 2.5×10^{10} CFU/kg *B. coagulans*, IV, basal diet + 2.5×10^{10} CFU/kg *B. coagulans* + oral *Salmonella* administration. All hens in III and IV groups were orally challenged with *Salmonella* at day 7 and day 8 after the initiation of experiment, whereas hens in other two groups were treated with the same amount

收稿日期: 2018-03-27

基金项目: 国家蛋鸡产业技术体系项目(CARS-40-K08)

第一作者: 刘聪, 硕士研究生, E-mail: xiaocongliu@hotmail.com

通讯作者: 马秋刚, 副教授, 主要从事家禽营养研究, E-mail: maqiugang@cau.edu.cn

of sterile PBS. The results showed that: 1) *B. coagulans* significantly increased ($P_{BC} < 0.05$) the duodenum villus width and villus surface area. Meanwhile, *B. coagulans* significantly increased ($P_{BC} < 0.05$) the jejunum villus height and VH: CD ratio. However, *Salmonella* significantly decreased ($P_{SE} < 0.01$) the jejunum crypt depth, villus width and VH: CD ratio ($P_{SE} < 0.05$). 2) *B. coagulans* significantly decreased ($P_{BC} < 0.05$) the plasma of superoxide dismutase (SOD) activity and malondialdehyde (MDA). *Salmonella* significantly increased ($P_{SE} < 0.05$) SOD activity and total antioxidant capacity (T-AOC). 3) During the post-SE-challenge period, *B. coagulans* significantly reduced ($P_{EF} < 0.05$) *Salmonella* copies at day 1, 14 and 21 post inoculation (dpi). Meanwhile, from dpi 1 to dpi 21, the *Salmonella* copies in layers fed with *B. coagulans* was lower than ($P_{EF} < 0.05$) hens fed with basal diet. It is concluded that *B. coagulans* can improve intestinal health, alleviate the oxidative stress caused by *Salmonella* infection, reduce the colonization of *Salmonella* in caecum, relieve the stress of pathogenic infection and promote the health of birds.

Keywords hen; *Bacillus coagulan*; *Salmonella enteritidis*; production

畜禽肠道内存在的致病菌以沙门氏菌 (*Salmonella enteritidis*, SE)、大肠杆菌最为突出。携带沙门氏菌的畜禽产品是引起人类沙门氏菌感染和食物中毒的重要来源之一^[1]。沙门氏菌为人畜共患病病原^[2]。沙门氏菌感染禽肉和鸡蛋可造成巨大经济损失,而且严重威胁人类健康。长期不合理使用抗生素来防治沙门氏菌感染,导致沙门氏菌耐药谱不断扩大,具有多重耐药性的沙门氏菌株成为世界范围内的肠炎流行的致病菌之一。通过提高畜禽自身抗病性来防治沙门氏菌感染,不但可减少抗生素使用,而且节约饲养成本,同时减少畜禽产品抗生素残留等^[3]。

益生菌制剂是一类能定植于动植物体内、改善微生态平衡、产生明确健康功效的微生物有机体^[4]。益生菌制剂由活体微生物制成,主要包括乳酸杆菌、芽孢杆菌类、酵母类和肠球菌^[5]。在饲料中添加益生菌可改善肉鸡盲肠微生物群落、改善肠道组织形态和提高肉鸡的料肉比^[6]。Griggs等^[7]认为益生菌通过减少致病菌在肠道定植而减少食源性感染。已有研究证实口服益生菌能有效减少沙门氏菌的入侵和降低沙门氏菌在肉鸡盲肠定植^[8-10]。芽孢杆菌 (*Bacillus coagulans*, BC) 是目前应用最为广泛的几种益生菌之一。凝结芽孢杆菌具有良好的抗逆性,很强的 PH 耐受性,可较好定植于胃肠道内,并且在胃肠道可以产生大量的乳酸、抗菌凝固素等,从而有效抑制有害菌的增殖,改善胃肠道平衡,促进肠道发育和增强肠道功能,最终提升畜禽生产效益^[11]。目前,凝结芽孢杆菌的应用研究主要是集中于肉鸡和仔猪,关于凝结芽孢杆菌在蛋鸡上的应用鲜有报道,因此,本试验拟以肠炎沙门

氏菌感染蛋鸡为模型,探究日粮添加凝结芽孢杆菌对蛋鸡肠道形态、血浆抗氧化的影响,以期凝结芽孢杆菌在畜禽生产应用提供科学的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物及饲养管理

试验地点为中国农业大学涿州试验基地。试验动物为45周龄京红1号商品代蛋鸡,将400只沙门氏菌阴性蛋鸡随机分成4组,每2组分在环境条件相同的2个安全隔离舍,每组设5次重复,每个重复20只鸡。对照组(I组和III组)饲喂基础饲料,试验组(II组和IV组)在基础饲料添加 2.5×10^{10} CFU/kg 凝结芽孢杆菌。正式饲喂试验日粮1周后,III、IV组蛋鸡在第7天、第8天灌服肠炎沙门氏菌1 mL/只, I、II组灌服等量的无菌磷酸盐缓冲液(PBS),饲养3周后屠宰取样。

鸡舍采用封闭式全阶梯式笼养,光照时间16 h,光照强度20 lx,自动控温、通风,鸡舍温度保持在18~27 °C,相对湿度50%~90%,纵向负压通风。自由采食干粉料,每天喂料2次,喂料时根据鸡的采食情况适当增减料和匀料,以刺激蛋鸡食欲,每天早上清粪1次,乳头式饮水器自由饮水。

1.2 饲料设计

试验基础日粮以玉米-豆粕为主要原料,参考美国NRC(1994)需要和我国《鸡饲养标准》(NY/T33-2004),结合京红1号商品代蛋鸡饲养手册确定饲料营养水平,日粮组成及营养水平见表1。I组和III组饲喂基础日粮;II组和IV组饲喂在基础日粮中添加 2×10^8 CFU/g 凝结芽孢杆菌杆菌。

表 1 基础饲料组成及营养水平(风干基础)

Table 1 Composition and nutrition in the basal diet (air-dry basis)

原料 Ingredient	配比/% Ratio	营养水平 Nutrient level ^③	含量 Content
玉米 Corn	65.00	粗蛋白质/% CP	15.95
去皮豆粕 De-hulled soybean meal	24.25	禽代谢能/(MJ/kg) ME	11.25
石粉 Limestone	8.20	钙/% Ca	3.79
磷酸氢钙 CaHPO ₄	1.70	总磷/% TP	0.60
食盐 NaCl	0.30	非植酸磷/% NPP	0.40
DL-蛋氨酸 DL-methionine	0.12	蛋氨酸+半胱氨酸/% D-Met+Cys	0.52
氯化胆碱 Choline chloride	0.10	可利用蛋氨酸+可利用半胱氨酸/% D-Met+ D-Cys	0.48
复合多维 Multi-vitamins ^①	0.03	蛋氨酸/% Met	0.25
复合微量元素 Trace elements ^②	0.30	可利用蛋氨酸/% D-Met	0.23
		赖氨酸/% Lys	0.83
		可利用赖氨酸/% D-Lys	0.74

注:①维生素预混料为每 kg 饲料提供:维生素 A 1 700 IU,维生素 D₃ 3 600 IU,维生素 E 21 IU,维生素 K₃ 4.2 mg,维生素 B₁ 3 mg,维生素 B₂ 10.2 mg,叶酸 0.9 mg,泛酸钙 15 mg,烟酸 45 mg,维生素 B₆ 5.4 mg,维生素 B₁₂ 0.024 mg,生物素 0.15 mg。②微量元素预混料为每 kg 饲料提供:铜(硫酸铜) 6.8 mg,铁(硫酸亚铁) 66 mg,锌 83 mg,锰(硫酸锰) 80 mg,碘(碘化钾) 1 mg,硒(亚硒酸钠) 0.3 mg。③代谢能为计算值,其余营养水平为实测值。

Note:①, the multi-vitamins premix provided the following per kg of diets: VA 1 700 IU, VD₃ 3 600 IU, VE 21 IU, VK₃ 4.2 mg, VB₁ 3 mg, VB₂ 10.2 mg, folic acid 0.9 mg, Ca-pantothenic acid 15 mg, nicotinic acid 45 mg, VB₆ 5.4 mg, VB₁₂ 0.024 mg, biotin 0.15 mg。②, the trace elements premix provided the following per kg of diets: Cu (copper sulfate) 6.8 mg, Fe (ferrous sulfate) 66 mg, Zn 83 mg, Mn (manganese sulfate) 80 mg, I (potassium iodide) 1 mg, Se (sodium selenite) 0.3 mg。③, ME is calculated value and the rest are measured values.

1.3 材料及样品采集

1.3.1 材料

本试验采用 qPCR 试剂与仪器:QIAamp 粪便 DNA 提取试剂盒(德国 QIAGEN 公司),离心机(3K15,Sigma),电泳仪,电泳槽(电泳槽 JY-SPFT,电泳仪为 JY300C,北京君意东方电泳设备有限公司),凝胶成像系统(JY04S-3C,北京君意东方电泳设备有限公司),NanoVue Plus(超微量分光光度计,英国通用电气医疗集团),定量 PCR 仪(Mx3000P, Stratagene),引物由上海英潍捷基(Invitrogen)贸易有限公司合成。

1.3.2 试验菌种与样品采集

试验标准菌株为肠炎沙门氏菌亚种(CVCC3377),购于中国国家兽医微生物菌种保藏管理中心。攻毒后第 1 天、第 7 天、第 14 天和第 21 天分别采集样品,每个重复随机选择体重相近的试

鸡,禁食 12 h,肝素钠抗凝管采集蛋鸡翅静脉血液,静置离心吸取上清液,-20 °C 保存。蛋鸡断颈屠宰,采集十二指肠和空肠各取 1 cm,4%多聚甲醛溶液固定,避光保存。无菌采集盲肠食糜,立即液氮速冻,-80 °C 保存。

1.4 测定指标及方法

1.4.1 肠道组织形态学检测

将固定的标本经水洗,透明,浸蜡,包埋等处理后,制成 3~5 μm 的切片,经 HE(苏木精-伊红)染色后,在光学显微镜(40×)下选择典型视野(绒毛完整、走向平直)观察肠道形态,每个肠段样品制 5 张切片,每张切片中至少选 5 个视野进行观察测量,采用 DigiLab II-C 图像分析软件测量十二指肠和空肠的绒毛高度、隐窝深度和绒毛宽度,按下列公式计算绒隐比(绒毛高度/隐窝深度)和绒毛吸收表面积:

绒毛吸收表面积 = $2\pi \times (\text{绒毛宽度}/2) \times \text{绒毛长度}$

1.4.2 血浆抗氧化检测

总超氧化物歧化酶(T-SOD)、丙二醛(MDA)含量和总抗氧化能力(T-AOC)采用 SpectraMax M5 多功能酶标仪测定,试剂盒购于南京建成生物工程研究所。

1.4.3 盲肠食糜沙门氏菌数量

将收集的盲肠样品按照 QIAamp 粪便 DNA 提取试剂盒说明书进行提取 DNA,并用核酸浓度测定仪测定总 DNA 浓度, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。盲肠食糜 DNA 样进行荧光定量检测,根据标准曲线计算拷贝数,最后得出提取每毫克中盲肠食糜沙门氏菌拷贝数。

1.5 数据处理分析

试验数据采用 Excel 软件整理,试验结果以用“平均值”表示,沙门氏菌采用拷贝数的 log 对数值表示,结果采用 SPSS 18.0 软件分析,采用 GLM 多变量模块进行分析,两两比较检验采用 Duncun 氏法进行多重比较,以 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 分别作为差异显著和差异极显著性判断标准。

2 结果与分析

2.1 凝结芽孢杆菌对感染肠炎沙门氏菌蛋鸡十二指肠、空肠组织形态的影响

日粮中添加凝结芽孢杆菌对感染沙门氏菌蛋鸡十二指肠和空肠的组织形态的影响测定结果见表 2。对于十二指肠,沙门氏菌与凝结芽孢杆菌的交互作用无显著性差异($P_{SE \times BC} > 0.05$);沙门氏菌对组织学形态的影响不显著($P_{SE} > 0.05$);添加凝结芽孢杆菌可以显著增加绒毛宽度、绒毛吸收面积($P_{BC} < 0.05$)。

对于空肠,沙门氏菌与凝结芽孢杆菌对隐窝深度有极显著交互作用($P_{SE \times BC} < 0.01$);沙门氏菌极显著降低隐窝深度($P_{SE} < 0.05$),显著降低绒毛宽度($P_{SE} < 0.05$),增加绒毛长度/隐窝深度比值($P_{SE} < 0.05$);添加凝结芽孢杆菌显著增加绒毛长度和绒毛长度/隐窝深度比值($P_{BC} < 0.05$)。

2.2 凝结芽孢杆菌对感染肠炎沙门氏菌蛋鸡血浆抗氧化水平的影响

日粮中添加凝结芽孢杆菌对感染沙门氏菌蛋鸡血浆抗氧化水平的影响测定结果见表 3。对于血浆中总超氧化物歧化酶(T-SOD)、丙二醛(MDA)含量和总抗氧化能力(T-AOC),沙门氏菌与凝结芽孢

杆菌对超氧化物歧化酶有显著交互作用($P_{SE \times BC} < 0.05$);沙门氏菌可显著增加血浆超氧化物歧化酶和总抗氧化能力($P_{SE} < 0.05$);添加凝结芽孢杆菌显著降低血浆中超氧化物歧化酶和丙二醛的含量($P_{BC} < 0.05$)。

2.3 凝结芽孢杆菌对感染肠炎沙门氏菌蛋鸡盲肠沙门氏菌定植的影响

日粮中添加凝结芽孢杆菌对感染沙门氏菌蛋鸡血浆盲肠沙门氏菌定植的影响测定结果见表 4。攻毒后第 1 天、第 14 天和第 21 天,凝结芽孢杆菌可以显著降低蛋鸡盲肠中沙门氏菌拷贝数($P_{BC} < 0.05$),从攻毒后的 21 天整体观察,凝结芽孢杆菌可显著降低蛋鸡盲肠沙门氏菌拷贝数($P_{BC} < 0.05$)。

3 讨论与结论

肠道形态的完整不仅为机体提供先天性的屏障结构,抵御外来有害物质的入侵,也是保证饲料中营养成分完全消化和吸收的先决条件。肠绒毛是营养物质消化、吸收的主要场所,其中绒毛高度、隐窝深度及绒毛比等是衡量小肠消化吸收功能的主要指标^[12]。

孙焕林等^[13]发现日粮中添加凝结芽孢杆菌可增加肉鸡小肠绒毛高度,降低隐窝深度,表明凝结芽孢杆菌能较好促进小肠绒毛发育。罗丽萍等^[14]研究结果表明日粮中添加屎肠球菌可以显著提高感染沙门氏菌肉鸡空肠绒毛高度,利于缓解沙门氏菌感染引发的损伤,增强营养物质消化吸收能力。本研究表明,凝结芽孢杆菌与沙门氏菌在空肠隐窝具有显著交互作用,其他指标无显著差异;沙门氏菌感染显著降低空肠绒毛宽度,然而凝结芽孢杆菌显著增加十二指肠绒毛宽度和吸收表面积,显著增加绒毛长度和绒毛长度/隐窝深度比值。上述研究结果说明凝结芽孢杆菌可以显著促进绒毛发育,改善肠道健康,缓解沙门氏菌感染引发的肠道应激。

机体中 T-AOC、SOD 和 MDA 含量是反映机体抗氧化功能的重要指标;T-AOC 是衡量机体抗氧化功能的综合性指标,反映机体对外来刺激的代偿能力及机体自由基代谢状况^[15];SOD 是特异性消除超氧自由基的抗氧化酶类,主要防御过氧化作用引起的组织损伤^[16];MDA 是脂质过氧化作用的产物,其含量反映了机体脂质过氧化程度,间接反映细胞损伤程度^[15-16]。另外还可引起肠道内细菌和毒素移位,加重机体氧化应激^[15]。

表 2 凝结芽孢杆菌对感染肠炎沙门氏菌蛋鸡十二指肠、空肠组织形态的影响
Table 2 Effects of dietary supplementation with *Bacillus coagulans* on the intestinal morphology of duodenum, jejunum in laying hens infected by caecum *Salmonella enteritidis*

器官 Organ	项目 Item	未感染 Uninfected				感染 Infected				标准误 SEM			P 值 P-value		
		I	II	III	IV	I	II	III	IV	P_{SE}	P_{BC}	$P_{SE \times BC}$	$P_{沙门氏菌}$	$P_{凝乳芽孢杆菌}$	$P_{沙门氏菌 \times 凝乳芽孢杆菌}$
十二指肠 Duodenum	绒毛长度/ μm Villus height	1 134.94	1 203.75	1 136.74	1 202.25	29.75	0.05	0.14	0.05	0.05	0.14	0.05	0.05	0.14	0.05
	隐窝深度/ μm Crypt depth	82.69	79.30	85.73	83.57	1.39	0.30	0.19	0.06	0.30	0.19	0.06	0.30	0.19	0.06
	绒毛长度：隐窝深度 VH : CD ratio	13.74	15.29	13.27	14.38	0.48	0.09	0.21	0.05	0.09	0.21	0.05	0.09	0.21	0.05
	绒毛宽度/ μm Villus width	210.22	241.02	206.06	235.32	5.14	0.51	<0.01	0.92	0.51	<0.01	0.92	0.51	<0.01	0.92
	绒毛吸收面积/ mm^2 Villus surface area	0.75	0.91	0.74	0.89	0.03	0.76	<0.01	0.81	0.76	<0.01	0.81	0.76	<0.01	0.81
空肠 Jejunum	绒毛长度/ μm Villus height	1 075.97	1 200.79	1 105.49	1 271.72	30.38	0.32	0.02	0.67	0.32	0.02	0.67	0.32	0.02	0.67
	隐窝深度/ μm Crypt depth	87.46 a	82.35 a	72.55 b	80.92 a	1.39	<0.01	0.33	<0.01	<0.01	0.33	<0.01	<0.01	0.33	<0.01
	绒毛长度：隐窝深度 VH : CD ratio	12.52	14.59	15.25	15.71	0.48	<0.01	0.04	0.15	<0.01	0.04	0.15	<0.01	0.04	0.15
	绒毛宽度/ μm Villus width	215.83	242.26	184.26	209.96	5.87	0.03	0.07	0.98	0.03	0.07	0.98	0.03	0.07	0.98
	绒毛吸收面积/ mm^2 Villus surface area	0.76	0.92	0.64	0.83	0.12	0.22	0.05	0.83	0.22	0.05	0.83	0.22	0.05	0.83

注：同列数据后无字母或有相同小写字母表示差异不显著 ($P > 0.05$)，不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)，下表同。
Note: In the same column, values with no letter or the same letters mean no significant differences ($P > 0.05$), while with different small letters mean significant differences ($P < 0.05$). The same below.

表3 凝结芽孢杆菌对感染肠炎沙门氏菌蛋鸡抗氧化水平的影响

Table 3 Effects of dietary supplementation with *Bacillus coagulans* on the plasma antioxidation capacity in laying hens infected by caecum *Salmonella enteritidis*

项目 Item	未感染 Uninfected		感染 Infected		标准误 SEM	P 值 P-value		
	I	II	III	IV		P_{SE}	P_{BC}	$P_{SE \times BC}$
	超氧化物歧化酶/(U/mL) SOD	667.14 a	626.08 b	677.81 a		677.91 a	6.86	<0.01
丙二醛/(nmol/mL) MDA	4.10	3.06	3.53	2.94	0.17	0.20	<0.01	0.20
总抗氧化能力/(U/mL) T-AOC/	5.28	5.65	6.01	6.43	0.17	0.03	0.21	0.40

表4 凝结芽孢杆菌对感染肠炎沙门氏菌蛋鸡盲肠沙门氏菌定植的影响

Table 4 Effects of dietary supplementation with *Bacillus coagulans* on *Salmonella* colonization in laying hens infected by caecum *S. enteritidis*

攻毒后天数/d DPI	对照组 Control group	益生菌添加组 Probiotics group	标准误 SEM	P 值 P-value
0	10.79 a	6.32 b	2.86	<0.05
7	6.32	5.91	0.54	0.49
14	7.74 a	5.27 b	1.32	0.03
21	12.76 a	7.07 b	3.25	0.02
平均 Average	8.92 a	6.28 b	1.61	0.01

林丽花等^[17]研究表明添加凝结芽孢杆菌可增强 SOD 和 CAT 活性,提升机体的抗氧化能力,从而有效保护机体免受氧化应激。Rajput 等^[18]发现,在绍兴鸭饲料中添加枯草芽孢杆菌,能显著提高血清中 SOD、T-AOC 活性,增强机体抗氧化能力。本试验结果表明,凝结芽孢杆菌与沙门氏菌对血浆 SOD 具有显著交互作用,但对 MDA、T-AOC 无显著差异。沙门氏菌感染可引起蛋鸡的氧化应激,通过添加凝结芽孢杆菌,改善 SOD 和 T-AOC 活性,使机体脂质过氧化产物 MDA 显著减少,缓解氧化损伤。

据报道超过 75% 的人类感染沙门氏菌病病例是由于食用了被其污染的禽产品^[19]。刚孵化的仔鸡免疫系统发育不完全,肠道微生物区系还没有完全形成及稳定,此时较易感染沙门氏菌,并引发全身系统疾病^[2]。健康成年鸡感染沙门氏菌并不表现临床症状,给家禽养殖及疾病诊断带来困难。研究发现益生菌可通过消耗肠道内的氧气,降低肠道内氧化还原电势,创造有利于厌氧菌生长的环境,从而增加有益菌增殖,平衡肠道菌群结构,起到抗菌防病的作用^[20]。

孙焕林等^[13]研究结果也表明添加凝结芽孢杆菌可以降低肉鸡肠道内沙门氏菌数量。凝结芽孢杆

菌作为一种益生菌,可建立鸡肠道微生物区系和维护鸡肠道健康,从而改善肠道健康。本试验结果表明,蛋鸡被感染沙门氏菌后的第 1 天,第 14 天,第 21 天以及在全试验阶段,日粮添加凝结芽孢杆菌可显著降低盲肠内容物中沙门氏菌拷贝数,这说明凝结芽孢杆菌可以提升蛋鸡清除沙门氏菌的能力,改善肠道微生物区系,提升蛋鸡抗病能力。

本研究发现供试鸡感染沙门氏菌后,添加凝结芽孢杆菌可增强机体抗氧化能力,降低脂质过氧化物 MDA 含量,缓解氧化应激;显著降低盲肠沙门氏菌拷贝数,抑制盲肠沙门氏菌的定植,调节微生物区系,改善肠道健康。因此,产蛋后期供试鸡感染沙门氏菌,添加凝结芽孢杆菌通过改善了其肠道形态,增强了营养物质消化、吸收。

参考文献 References

- [1] Hooper L V, Littman D R, Macpherson A J. Interactions between the microbiota and the immune system[J]. *Science*, 2012, 336(6086):1268-1273
- [2] Barrow P A, Lovell M A. Experimental infection of egg-laying hens with *Salmonella enteritidis* phage type 4[J]. *Avian*

- Pathology. 1991, 20(2):335-348
- [3] Gyles C L. Antimicrobial resistance in selected bacteria from poultry[J]. *Animal Health Research Reviews*, 2008, 9(2): 149-158
- [4] 王人悦, 郑琳琳, 佟永薇. 益生菌制品的应用及前景展望[J]. *食品研究与开发*, 2013, 34(11): 128-130
- Wang R Y, Zheng L L, Tong Y H. Application and prospect of probiotic products[J]. *Food Research and Development*. 2013, 34(11):128-130(in Chinese)
- [5] 赵朋超, 王建华, 权春善, 范圣第. 枯草芽孢杆菌抗菌肽生物合成的研究进展[J]. *中国生物工程杂志*, 2010, 30(10):108-113
- Zhao P C, Wang J H, Quan S C, Fan S D. Progress on biosynthesis of antimicrobial peptides from *Bacillus subtilis* [J]. *China Biotechnology*, 2010, 30(10):108-113(in Chinese)
- [6] 罗建杰. 日粮添加不同益生菌对肉仔鸡益生作用分子机制研究[D]. 中国农业科学院硕士学位论文, 2013
- Luo J J. The probiotic mechanism of several dietary probiotics on broiler [D]. *Chinese Academy of Agricultural Sciences*, 2013 (in Chinese)
- [7] Samli H E, Dezcan S, Koc F, Ozduven M L, Okur A A, Senkoylu N. Effects of *Enterococcus faecium* supplementation and floor type on performance, morphology of erythrocytes and intestinal microbiota in broiler chickens[J]. *British Poultry Science*, 2010, 51(4):564-568
- [8] Chen C Y, Tsen H Y, Lin C L, Yu B, Chen C S. Oral administration of a combination of select lactic acid bacteria strains to reduce the *Salmonella* invasion and inflammation of broiler chicks[J]. *Poultry Science*, 2012, 91(9):2139-2147
- [9] Higgins J P, Higgins S E, Wolfenden A D, Henderson S N, Torresrodriguez A, Vicente J L, Hargis B M, Tellez G. Effect of lactic acid bacteria probiotic culture treatment timing on *Salmonella enteritidis* in neonatal broilers [J]. *Poultry Science*, 2010, 89(2):243-247
- [10] Menconi A, Wolfenden A D, Shivaramaiah S, Terraes J C, Urbano T, Kuttel J, Kremer C, Hargis B M, Tellez G. Effect of lactic acid bacteria probiotic culture for the treatment of *Salmonella enterica* serovar Heidelberg in neonatal broiler chickens and turkey poults [J]. *Poultry Science*, 2011, 90(3): 561-565
- [11] 赵树平, 包维臣, 高鹏飞, 姚国强, 郭霄, 张和平. 凝结芽孢杆菌的特性及研究进展[J]. *家畜生态学报*, 2014, 35(2):6-11, 20.
- Zhao S P, Bao W C, Gao P F, Yao G Q, Guo X, Zhang H P. Study on characteristics of *Bacillus coagulans* [J]. *Acta Ecologiae Animalis Domastici*, 2014, 35(2): 6-11, 20 (in Chinese)
- [12] Kernéis S, Bogdanova A, Kraehenbuhl J P, Pringault E. Conversion by Peyer's patch lymphocytes of human enterocytes into M cells that transport bacteria[J]. *Science*. 1997, 277(5328):949-952
- [13] 孙焕林, 刘艳丰, 王品, 许追, 侯广田, 赵洁. 凝结芽孢杆菌对黄羽肉鸡生长性能、肠道功能及肉品质的影响[J]. *石河子大学学报*, 2014, 32(3): 307-312
- Sun H L, Liu Y F, Wang P, Xu Z, Hou G T, Zhao J. Effect of *Bacillus coagulans* on growth performance, intestinal function and its meat quality of Yellow-Feathered chicken[J]. *Journal of Shihezi University*, 2014 (in Chinese)
- [14] 罗丽萍. 屎肠球菌对感染沙门氏菌肉鸡生产性能、肠道形态和微生物数量的影响[D]. 中国农业大学硕士学位论文, 2015
- Luo L P. Influences of *Enterococcus faecium* with *Salmonella typhimurium* infection on broilers' performance, intestinal morphology and gut microflora [D], *China Agricultural University*, 2015 (in Chinese)
- [15] 王全溪, 林滢, 贾洪强, 张志霆, 王长康. 乳酸菌素对肉鸡血清生化指标和抗氧化功能的影响[J]. *动物营养学报*, 2012, 24(01): 131-136
- Wang Q X, Lin H, Jia H Q, Zhang Z T, Wang C K. Effect of *Lactobacillin* on serum biochemical indices and antioxidant function in broilers [J], *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2012, 24(1):131-136 (in Chinese)
- [16] 丁贤, 唐维可, 张善夫, 李卓佳, 林黑着, 杨铿. 芽孢杆菌对草鱼消化酶活性及血清生化指标的影响[J]. *广东农业科学*, 2012, 39(17):121-124.
- Ding X, Tang W K, Zhang S F, Li Z J, Lin H Z, Yang J. Effects of *Bacillus subtilis* on digestive enzymes activities and serum biochemical indices of *Ctenopharyngodon idellus* [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2012, 39(17): 121-124 (in Chinese)
- [17] 林丽花, 柯芙蓉, 詹滢滢, 许丽惠, 王全溪, 王长康, 黄树文. 凝结芽孢杆菌对黄羽肉鸡生产性能、血清生化指标及抗氧化功能的影响[J]. *动物营养学报*, 2014, 26(12): 3806-3813
- Lin L H, Ke F R, Zhan T T, Xu L H, Wang Q X, Wang C K, Huang S W. Effect of *Bacillus coagulans* on performance, serum biochemical indices and antioxidant function of yellow broilers [J], *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2014, 26(12): 3806-3813 (in Chinese)
- [18] Rajput I R, Li W F, Li Y L, Jian L, Wang M Q. Application of probiotic (*Bacillus subtilis*) to enhance immunity, antioxidation, digestive enzymes activity and hematological profile of Shaoxing duck [J]. *Pakistan Veterinary Journal*, 2013, 33(1):69-72
- [19] Bialka K L, Demirci A, Knabel S J, Patterson P H, Puri V M. Efficacy of electrolyzed oxidizing water for the microbial safety and quality of eggs [J]. *Poultry Science*, 2004, 83(12):2071-2078
- [20] Dunkley K D, Callaway T R, Chalova V I, McCreynolds J L, Hume M E, Dunkley C S, Kubena L F, Nisbet D J, Ricke S C. Foodborne *Salmonella*, ecology in the avian gastrointestinal tract [J]. *Anaerobe*, 2009, 15(1-2):26-35