

## 豬源嗜酸乳桿菌 LAP5 應用於禽畜下痢之防治

禽畜養殖過程，腸道菌相向來不受重視，但根據歐美的早期研究，在禽畜離乳、飼料型態的變化、換羽或運輸過程等緊迫狀況下，會使腸道的乳酸菌減少，而大腸桿菌增加，這樣的菌相改變會造成動物原本的增重減少 14% 以上 (Kenworthy and Crabb, 1963; Schulman, 1973)，因而容易導致養殖上的無形損失。

當禽畜因疾病或感染造成死亡時，常常發現其部分器官也會衰竭，其主要原因是由於腸道產生病變，原有的腸道屏障被破壞，病原菌或病毒因此很容易就通過被破壞的腸道屏障，侵入器官導致損壞；當然疾病產生的同時，身為重要免疫器官的腸道也會發生免疫反應的變化，造成動物免疫力的降低，故禽畜第一道健康防線需首重於腸道的健康，而益生菌尤其是乳酸菌可經由競爭排除害菌、調整免疫及維持腸道健康機能與屏障等功能，扮演著維持腸道健康的重要腳色。

乳酸菌(Lactobacilli)為人體或禽畜腸道中的自然微生物，其廣義的定義為可以代謝糖類，不產孢且產生 50% 以上乳酸之細菌，而許多乳酸菌被用於預防或減緩某些疾病症狀。從 1908 年，Metchnikoff 發現這些會產乳酸的乳酸菌，可預防下痢及腸道疾病(Mercenier et al., 2003)，並指出腸道菌群的變化與機體健康息息相關。最常被使用作為益生菌的嗜酸乳桿菌 (*Lactobacillus acidophilus*) 是腸道內優勢且研究相當多的乳酸菌菌種，會產生天然的抑菌素-acidophilin、lactolin 及 acidolon，或過氧化氫(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)，與菌株本身產生的乳酸結合，可有效抑制大部分病原菌的生長，且是公認可刺激先天性與後天免疫反應的重要菌株(Konstantinov et al., 2008; Liu et al., 2010; Zhang et al., 2008)，俗稱 A 菌。

早在 1975 年，Gilliland 等學者，就發現人類、豬隻或雞腸道中都有嗜酸乳桿菌的存在，額外補充嗜酸乳桿菌有助於腸道優勢好菌的建立。嗜酸乳桿菌最常應用在腸胃症狀的下痢與調節免疫方面，效果尤其顯著。Kmet 與 Lucchini 在 1999 年，發現從母豬來源的嗜酸乳桿菌，可與導致下痢的大腸桿菌產生聚集作用(Aggregation)，藉由腸道蠕動後排出體外，減少下痢症狀與發生率；當豬隻感染輪狀病毒(rotavirus)時，給予嗜酸乳桿菌可藉由調節 TGF- $\beta$  等免疫因子，維持正常的免疫平衡，或是增加 B 細胞產生免疫球蛋白，可減少輪狀病毒所引起的嚴重下痢 (Azevedo et al., 2012; Zhang et al., 2008a,b)，這些都可能是嗜酸乳桿菌可以減緩下痢的機制。Morishita 表示人源的嗜酸乳桿菌因生物與發酵特性不適合應用在雞腸道上，因此建議不同動物使用菌種也有所差異，也有學者提出並非所有的菌株都具有益生功能(Conway et al., 1987; Lee and Salminen, 1995)，作為益生菌的菌株都必須進一步做評估其特性，作為應用的方針。以下以健康豬隻來源的嗜酸乳桿菌 LAP5 本土菌株，在防治禽畜下痢與促進健康方面，加以敘述。

### 1. LAP5 在禽畜消化道的耐受性與吸附性

乳酸菌做為益生菌，必須要能在腸道存活與定殖，最基本的兩個要素就是對胃酸與膽鹽有耐受性及吸附於腸道上皮細胞(Chou and Weimer, 1999; Hudault *et al.*, 1997; Bernet *et al.*, 1994; Chauviere *et al.*, 1992; Coconnier *et al.*, 2000)，才能發揮益生菌的效果。乳酸菌經過攝取之後，必須存在足夠菌量改善腸道環境，但從食道進入到消化道過程，對菌株最大的挑戰就是低 pH 值的胃酸與腸道前段的膽鹽水解作用，乳酸菌多半因此受到破壞或死亡。LAP5 源自豬腸道，故對於胃酸與膽鹽的耐受性高(如圖 1)。此外，對豬與雞隻消化道上皮細胞也都能產生吸附作用(圖 2、3)，表示 LAP5 可以在豬與雞隻消化道存活並定殖。

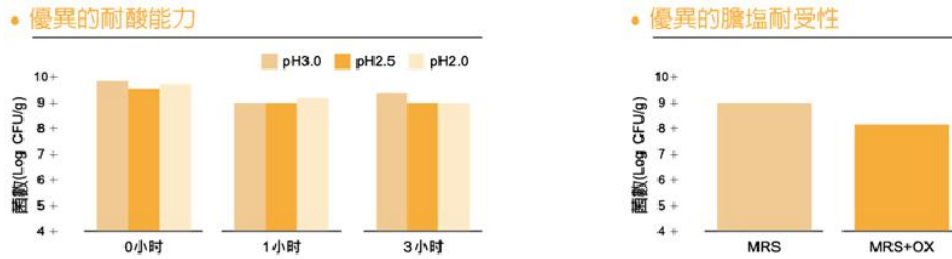


圖 1. 豬源嗜酸乳桿菌 LAP5 具有優異的耐酸耐膽鹽能力

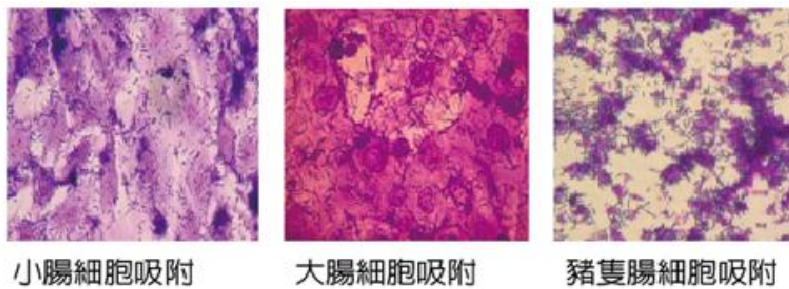


圖 2. 豬源嗜酸乳桿菌 LAP5 吸附腸道上皮細胞之觀察

無特殊病原菌(SPF)雞隻於10日齡嗉囊之掃描式電子顯微鏡圖。

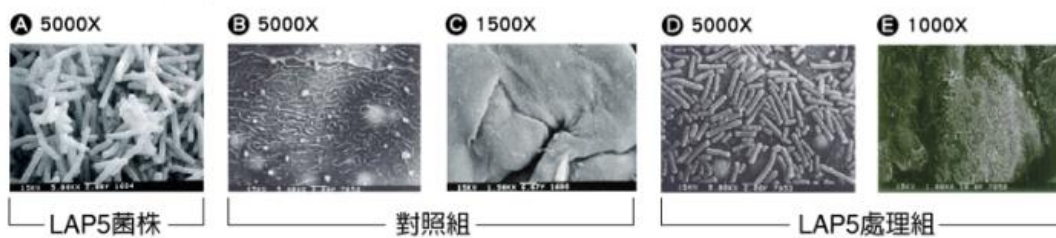


圖 3. 豬源嗜酸乳桿菌 LAP5 可吸附雞隻的消化道

## 2. LAP5 抑制禽畜消化道常見病原菌與調節免疫力

乳酸菌抑制腸道病原菌的機制，包含產生抑菌物質、競爭吸附或調解免疫等，國際研究文獻指出，專利 LAP5 具備以上功能，為國內外難得一見適合禽畜應用的益生菌。研究指出，LAP5 的優異吸附能力使其定殖在腸道，可產生有機酸將腸道維持在不利於有害菌的環境，還會產生抑菌物質抑制沙門氏菌與大腸桿菌等腸道病原菌的生長，且這種抑菌物質不受溫度與消化酵素的影響 (Lin *et al.*, 2008; Tsai *et al.*, 2005)，更可以經由菌體調節腸道的免疫反應，降低入侵肝臟、脾臟等臟器的沙門氏菌數量，減少感染機率(Lin *et al.*, 2006)。

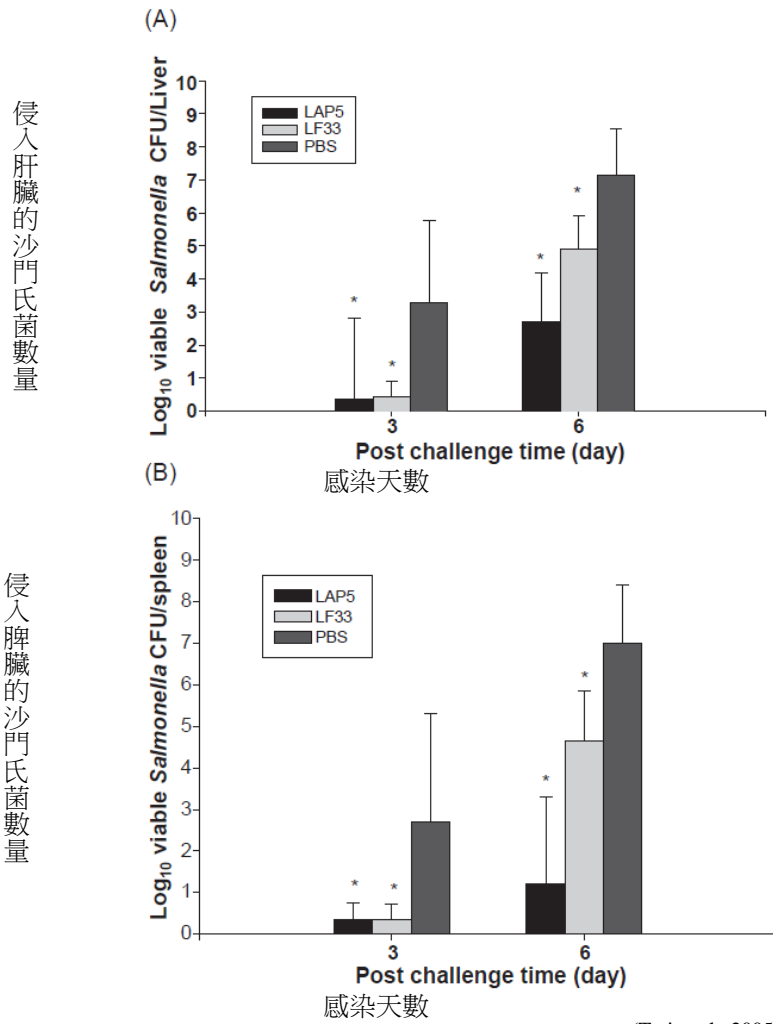


圖 4. LAP5 較其他乳酸菌能減少沙門氏菌侵入動物臟器的現象

### 3. LAP5 改善下痢程度

出生 21-28 天的哺乳仔豬，必須迅速脫離母豬的餵養，進入離乳階段，從攝食母乳變成消化率較差的固體飼料、免疫保護力喪失與環境改變等劇烈的轉換，容易使仔豬腸道結構產生非常大的破壞，比如腸絨毛的磨損、腸細胞更新速率異常或腸道菌異常發酵等現象，讓仔豬易下痢導致養殖成本的損失。根據歐盟統計，因離乳造成仔豬死亡的比例，是出生頭數的 17%，是整個養豬過程中損失最慘重的階段，故減緩下痢在仔豬飼養上變得非常重要。離乳後 14 天為仔豬整個腸道轉換的關鍵期，來自健康豬隻的腸道 LAP5，比添加減緩下痢的抗生素組別，更有效減緩哺乳仔豬在離乳關鍵期的下痢情況(如圖 5)。另外，雞隻飼養試驗與攻毒測試，LAP5 可幫助雞隻腸道建立優勢菌群，降低病原菌造成雞隻的傷害，更明顯增加了腸道絨毛的高度，增加雞隻對營養的吸收面積，有助於促進生長或其他的健康助益 (游，2006; 張，2007)。因此 LAP5 應用防治下痢與禽畜健康上有其功效，且對環境或畜體沒有負擔。

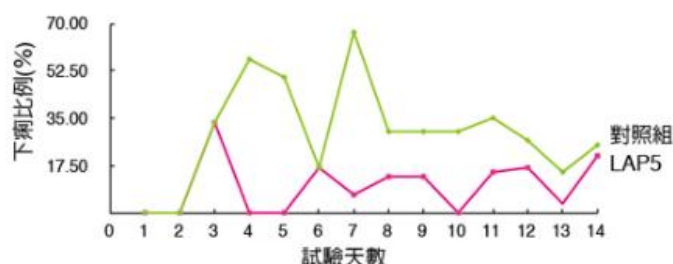
試驗動物：48頭28日齡之離乳仔豬

對照組：一般飼糧添加 0.114 % 抗生素 STP-500

(Chlortetracycline 88gm /kg、Sulfamethazine 88gm/kg及  
Procaine Penicillin G 44 gm/kg)

LAP5組：一般飼糧添加 0.1 %之LAP5 菌末 (  $10^9$  CFU/Kg )

觀察離乳後14天的下痢狀況



台灣研發 禽畜專用益生菌株-嗜酸乳桿菌 *Lactobacillus acidophilus* LAP5

LAP5 為國立中興大學與弘光科技大學共同研發，從豬腸道所篩選出具耐胃酸、膽鹽及優異的腸道吸附性之嗜酸乳酸菌。LAP5 具有抑制病原菌侵入、減緩下痢、改善免疫防禦力及提高育成率，讓農戶照料容易，獲益更高。這些完整的研究成果已經發表於各大國際期刊，為防治下痢的專利菌株。

## 參考文獻:

- 游明惠。2006。豬隻腸道分離之乳酸桿菌 *Lactobacillus acidophilus* LAP5 菌株作為益生菌之探討。碩士論文。國立中興大學。
- 張憶如。2007。乳酸桿菌 *Lactobacillus acidophilus* LAP5 菌株作為益生菌之評估。碩士論文。國立中興大學。
- Azevedo, M. S., W. Zhang, K. Wen, A. M. Gonzalez, L. J. Saif, A. E. Yousef, and L. Yuan. 2012. *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus reuteri* modulate cytokine responses in gnotobiotic pigs infected with human rotavirus. *Benef. Microbes*. 3:33-42.
- Bernet, M.F., Brassart, D., Neeser, J.R., Servin, A.L., 1994. *Lactobacillus acidophilus* LA1 binds to cultured human intestinal cell lines and inhibits cell attachment and cell invasion by enterovirulent bacteria. *Gut*. 35: 483– 489.
- Chauviere, G., Coconnier, M.H., Kerneis, S., Darfeuille-Michaud, A., Joly, B., Servin, A.L., 1992. Competitive exclusion of diarrheagenic *Escherichia coli* (EHEC) from enterocyte-like Caco-2 cells in culture. *FEMS. Microbiol. Lett.* 91: 213–218.
- Chou, L.S., Weimer, B., 1999. Isolation and characterization of acid- and bile-tolerant isolates from strains of *Lactobacillus acidophilus*. *J. Dairy Sci.* 82:23–31.
- Coconnier, M.H., Lievin, V., Lorrot, M., Servin, A.L. 2000. Antagonistic activity of *Lactobacillus acidophilus* LB against intracellular *Salmonella enterica* serovar Typhimurium infecting human enterocyte-like Caco-2/TC-7 cells. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 1152– 1157.
- Conway, P. L., S. L. Gorbach, and B. R. Goldin. 1987. Survival of lactic acid bacteria in the human stomach and adhesion to intestinal cells. *J. Dairy Sci.* 70:1-12.
- Gilliland, S. E., M. L. Speck, and C. G. Morgan. 1975. Detection of *Lactobacillus acidophilus* in feces of humans, pigs, and chicken. *Appl. Microbiol.* 30:541-545.
- Konstantinov, S. R., H. Smidt, W. M. de Vos, S. C. Bruijns, S. K. Singh, F. Valence, D. Molle, S. Lortal, E. Altermann, T. R. Klaenhammer, and Y. van Kooyk. 2008. S layer protein A of *Lactobacillus acidophilus* NCFM regulates immature dendritic cell and T cell functions. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*. 105:19474-19479.
- Hudault, S., Lievin, V., Bernet-Camard, M.-F., Servin, A.L., 1997. Antagonistic activity exerted in vitro and in vivo by *Lactobacillus casei* (strain GG) against *Salmonella typhimurium* C5 infection. *Appl. Environ. Microbiol.* 63:513–518
- Kenworthy, R. and W. E. Crabb. 1963. The intestinal flora of young pigs with reference to early weaning *Escherichia coli* and scours. *J. Comp. Pathol.* 73:215.
- Kmet, V., and F. Lucchini. 1999. Aggregation of sow lactobacilli with diarrhoeagenic *Escherichia coli*. *Zentralbl. Veterinarmed. B.* 46:683-687.
- Lee, Y. K., and S. Ilminen. 1995. The coming of age of probiotics. *Trend. Food Sci.* 6:241-245.
- Lin, C. K., H. C. Tsai, P. P. Lin, H. Y. Tsen, C. C. Tsai. 2008. *Lactobacillus acidophilus* LAP5 able to inhibit the *Salmonella choleraesuis* invasion to the human Caco-2 epithelial cell. *Anaerobe*.

14:251-255.

- Lin, W. H., B. Yu, C. K. Lin, W. Z. Hwang, and H. Y. Tsen. 2006. Immune effect of heat-killed multistrain of *Lactobacillus acidophilus* against *Salmonella typhimurium* invasion to mice. *J. Appl. Microbiol.* 102:22-31.
- Liu, F., G. Li, K. Wen, T. Bui, D. Cao, Y. Zhang, and L. Yuan. 2010. Porcine small intestinal epithelial cell line (IPEC-J2) of rotavirus infection as a new model for the study of innate immune responses to rotaviruses and probiotics. *Viral. Immunol.* 23:135-149.
- Mercenier, A., S. Pavan, and B. Pot. 2003. Probiotics as biotherapeutic agents: present knowledge and future prospects. *Current Pharmaceutical Design.* 9:175-191.
- Morishita, Y., T. Mitsuoka, C. Kaneuchi, S. Yamamoto, and M. Ogata. 1971. Specific establishment of lactobacilli in the digestive tract of germ-free chicken. *Jpn. J. Microbiol.* 15:531-538.
- Schulman, A. 1973. Effect of weaning on pH changes of the contents of the piglet's stomach and duodenum. *Nord. Vet. Med.* 25:220.
- Tsai C. C., H. Y. Hsieh, H. H. Chiu, Y. Y. Lai, J. H. Liu, B. Yu and H. Y. Tsen. 2005. Antagonistic activity against *Salmonella* infection in vitro and in vivo for two *Lactobacillus* strains from swine and poultry. *Int. J. Food Microbiol.* 102:185-194.
- Zhang, W., M. S. P. Azevedo, K. Wen, A. Gonzalez, L. J. Saif, G. Li, A. E. Yousef, and L. Yuan. 2008a. Probiotic *Lactobacillus acidophilus* enhances the immunogenicity of an oral rotavirus vaccine in gnotobiotic pigs. *Vaccine.* 26:3655-3661.
- Zhang, W., M. S. Azevedo, A. M. Gonzalez, L. J. Saif, T. Van Nguyen, K. Wen, A. E. Yousef, and L. Yuan. 2008b. Influence of probiotic Lactobacilli colonization on neonatal B cell responses in a gnotobiotic pig model of human rotavirus infection and disease. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 122:175-181.