

國立宜蘭大學農業推廣委員會 農業推廣(季刊)
 通訊總號第084號 中華民國108年06月出刊

中華民國86年3月創刊
 行政院農業委員會補助編印

發行人/陳威戎 主編/賴裕順、鄭永祥

編輯/伍芳儀

地址：260 宜蘭市神農路1段1號

電話：03-9357400#7612

傳真：03-9354152

E-Mail：fywu@niu.edu.tw

芽孢桿菌發酵物研發與動物健康養殖推廣

鄭永祥 游玉祥 花國鋒 陳威戎
 宜蘭大學生物技術與動物科學系

一、前言

近十幾年，科學家發現動物腸道菌相紊亂與許多腸道疾病有關，因此如何選擇與增加腸道益生菌，成為科學家爭相研究的議題，事實上，腸道健康對於家畜也十分重要，為減少抗生素的使用，近來宜蘭大學生物技術與動物科學系研究團隊，研究發現利用複合型芽孢桿菌發酵物能夠強化畜禽隻腸道疾病之抵抗力，預防腸道常見病毒細菌及原蟲感染症，極具替代腸道抗生素的效果。由於消化道疾病是家禽與家畜、特別是豬雞群的高發性疾病，同時是安全養殖的「隱形殺手」。傳統養殖的作法，是讓豬施打抗生素或家禽飲水或飼料添加抗生素，但這種方式卻可能會致使產生抗藥性外，藥物殘留更可能引發食安疑慮。台灣的養豬事業發達，養殖技術也相當先進，不管在品種改良或疾病抗疫上都有很好的成績。然而受限於土地資源，過度密集的飼養，加上島嶼型濕熱的氣候，擁擠的環境易讓病菌滋生，也容易使生長中的畜禽感染呼吸道或腸道的病菌。故研發相關替代抗生素之飼料添加物為當務之急。

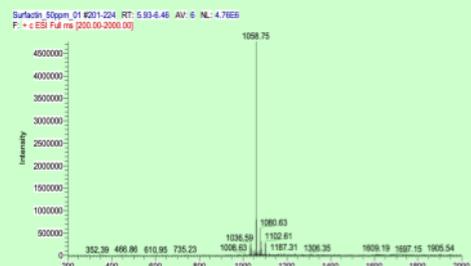
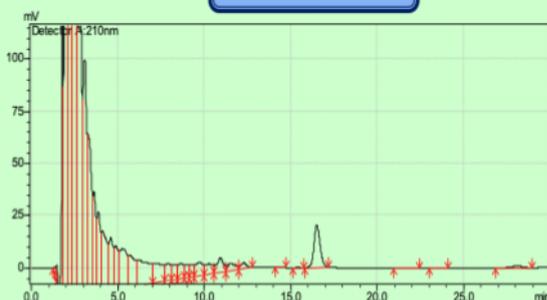
二、複合型芽孢桿菌發酵代謝物產製

2.1 代謝物定性定量分析

為了減少抗生素的使用，隨著農業科技的進程，現已有不少增強動物抵抗力的方式，特別在動物營養範疇，新型飼料添加物之開發如具有特殊功能性之微生物等乃是目前生物科技研發之主軸。本研究團隊以芽孢桿菌發酵代謝物中表面素可以進行定性定量分析與分子量檢測以利發酵製程中品管，如圖1。

如同人類的腸道，改善腸道菌相同樣也有助增強豬隻的健康，為因應全球對無抗生素殘留之畜產品需求及減少環保問題，益生菌產品作為飼料添加物藉以穩定動物體之腸道菌相、提升腸道健康以降低消化道疾病或進而增進動物體之免疫能力，好讓動物各項身體機能得到全面性之提升，達到預防保健的效果。利用芽孢桿菌發酵物亦預防醫學方式進行特定腸道疾病預防，如圖2所示。

固態發酵產物



• LC-MS analysis of surfactin level.

圖 1.代謝物高壓液相層析及質譜儀分析

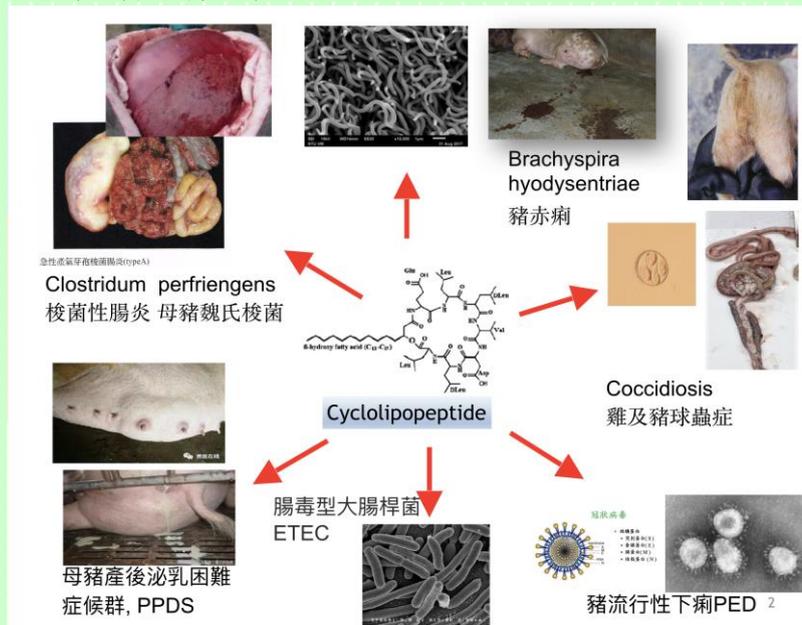


圖 2.芽孢桿菌分泌之脂肽代謝物可廣為應用於畜禽腸道特定疾病之預防

2.1 豬赤痢螺旋體預防

豬赤痢是一種會造成豬隻嚴重下痢的細菌性疾病，是由赤痢螺旋體(*Brachyspira hyodysenteriae*)這種革蘭氏陰性菌所引發的疾病，受到感染的豬隻嚴重時會有血樣便的產生，且赤痢螺旋體會分泌蛋白酶與脂多糖破壞腸道表皮細胞產生出血性潰瘍，造成豬隻無法正常吸收營養份與排便，更甚者死亡，赤痢螺旋體的生命力極強，可以存在於糞便中長達兩週，仍具有感染能力，並可由老鼠、貓、狗、蟑螂等病媒生物攜帶進而感染健康豬隻，此疾病多好發於生長肥育期的豬，因此對於養豬場的巨大損失。過去進行防治的方法是使用卡巴得(carbadox)抗生素進行，但是由於卡巴得的細胞毒性高，易造成豬隻的中毒，故農業委員會於民國 105 年 7 月 18 日農防字第 1051471970 即公告禁用卡巴得等數種抗生素，因此目前對於豬赤痢並無良好的因應手段。僅能仰賴抗生素，但飼料中添加抗生素易導致豬肉藥物殘留的困擾。透過體外試驗及田間試驗均顯示芽孢桿菌代謝物添加可以有效對豬赤痢進行殺滅與預防，如圖 3。

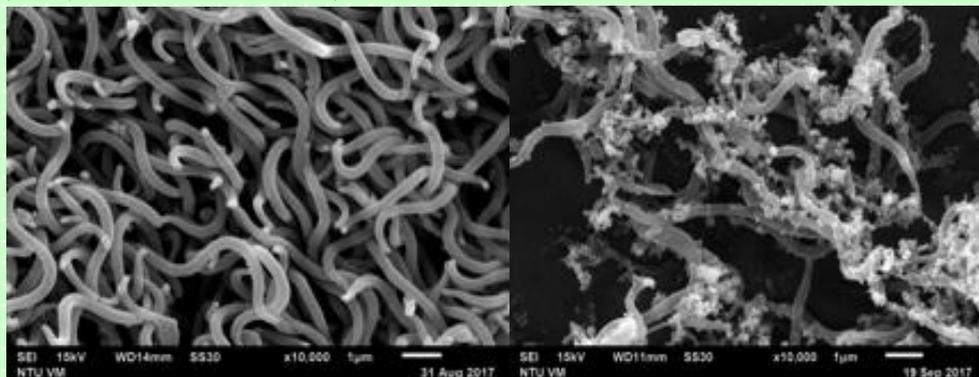


圖 3.左圖為正常豬赤痢菌，右圖可見大量菌體產生穿孔。

2.2 發酵物預防雞球蟲與梭菌

球蟲病(coccidiosis)是家禽中重要的疾病之一，每年對家禽產業造成嚴重的經濟損失，雖然良好的飼養管理可以減少疾病傳播的風險，但並不足以有效地控制球蟲病的發生，額外的預防及治療措施是必要的。目前球蟲藥被普遍用於控制球蟲病，其他方法也包括使用疫苗和天然產物。

球蟲藥又分為化學型及離子型，離子型球蟲藥為細菌發酵的副產物，藉由干擾球蟲細胞膜陽離子的運輸，使其滲透壓失衡而死亡，化學型球蟲藥則是透過抑制不同的生化途徑，而達到抑制球蟲的生長發育(Quiroz et al., 2015)。隨著時間的推移，因藥物殘留、抗藥性球蟲及環境健康危害等問題衍生，亟須尋找更為安全、有效的控制球蟲的替代物。

產氣莢膜梭狀桿菌(*Clostridium perfringens*)為一種厭氧、艱難環境下可形成芽孢的革蘭氏陽性細菌，可引起臨床和亞臨床壞死性腸炎(necrotic enteritis, NE)，產氣芽孢梭菌，為革蘭氏陽性菌，可產生 α 及 β

毒素，依據 Petlt 等人於 1999 年提出報告指出 β 毒素又可純化並分為 $\beta 1$ 及 $\beta 2$ 兩種。造成之腸炎最常見於三日齡左右哺乳豬感染，亦會發生在 7 日齡以上至 4 週齡之哺乳仔豬，常造成高死亡率之壞死性腸炎。其致病機制為經口感染 *Clostridium perfringens* type C 產氣芽孢梭菌，病菌再由空腸黏膜細胞間隙侵入仔豬，在小腸基底膜上增殖並分泌毒素引起絨毛壞死與脫落，壞死區可延伸至腺窩、黏膜基層、黏膜下層。有時會侵犯至肌層造成氣腫。由於 β 毒素容易被胰蛋白酶 (trypsin) 分解，而剛初生小豬腸道尚未能分泌 trypsin，若母豬乳頭沾到含梭菌及母乳中含高抗 trypsin 物質，當小豬受到感染時 β 毒素無法分解加上細菌增殖破壞細胞，使得剛初生小豬容易有嚴重臨床症狀而造成經濟損失。

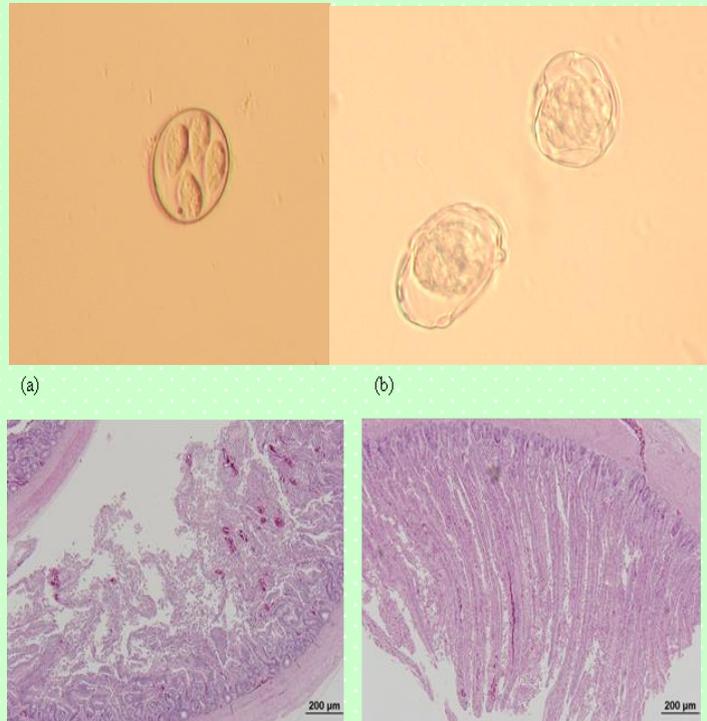


圖 3. 左上圖為球蟲正常孵化為具有感染能力卵囊，右上圖可見抑制卵囊破裂
左下圖為梭菌導致絨毛脫落，右上圖芽孢桿菌發酵物有效恢復長絨毛型態

本研究團隊經由球蟲或梭菌攻毒肉雞模式，確認芽孢桿菌發酵物可有效替代治療用抗生素用於預防球蟲及梭菌感染預防，如圖 3。

2.3 芽孢桿菌發酵物降低母豬產後泌乳困難綜合症

世界重要豬肉出口國之每頭母豬繁殖之年可供上市肉豬的頭數都很高，如美國約 20 頭，丹麥為 25 頭；而台灣每頭母豬繁殖可供上市肉豬數平均僅 16 頭，為養豬成本偏高原因之一。台灣豬隻育種不斷追求商用品系的母豬在生產性能的提升，更多的窩仔數、更高泌乳量；讓母豬在生產過程和產後都面臨極端的生理壓力。其中產後泌乳困難綜合症 (postpartum dysgalactia syndrome, PDS 或稱為 MMA) 是母豬最常見疾病，依國外統計的發病率為 6.0% 至 48.2%。由於 PDS 的發病機制複雜，尚未闡明。由於乳腺炎，子宮炎和無乳症和大腸桿菌性乳腺炎均可導致無乳症，但這些疾病複合被認為是 PDS 綜合症更容易觀察到乳成分改變。母豬 PDS 早期發病很難發現，常以母豬發生直腸溫度升高之前和分娩後發現死胎率增加是 PDS 可靠的指標之一，但由於直腸溫度受代謝狀態，胎次，晝夜節律和產後天數的影響，故直腸測量值的解釋溫度並不客觀。當以體溫 39.5°C 的閾值溫度最常用作截斷值配合其他臨床症狀，例如厭食、乳房炎，活動力下降以及仔豬行為與直腸溫度結合使用來識別母豬 PDS。此部分動物試驗仍進行中但透過母豬糞便細菌群分析可以了解。

目前我們正利用母豬飼料進行添加芽孢菌發酵物，以矯正腸道菌相以降低 PDS 發生率，國外相關試驗結果已可見其正面效果。

2.4 芽孢桿菌對抗仔豬流行性下痢症

豬流行性下痢，是一種極具重大破壞力與高傳染性的腸道性疾病，好發於冬季，俗稱冬季下痢症。可感染所有年齡豬隻，主要徵狀為水樣性下痢，亦會伴隨嘔吐、脫水、食慾減退等問題，此疾病於冬季時最為嚴重。其潛伏期為病毒感染後 12 小時內出現臨床症狀，感染最多僅需 5 天，此疾病主要爆發於哺乳仔豬週齡哺乳仔豬死亡率介於 50-90%，最高達 100%，仔豬常於腹瀉後內因脫水致死。本研究團隊與台大

獸醫系老師進行仔豬 PEDV 攻毒試驗結果顯示可有效預防 PEDV 對腸道危害。

下痢情況實際照片

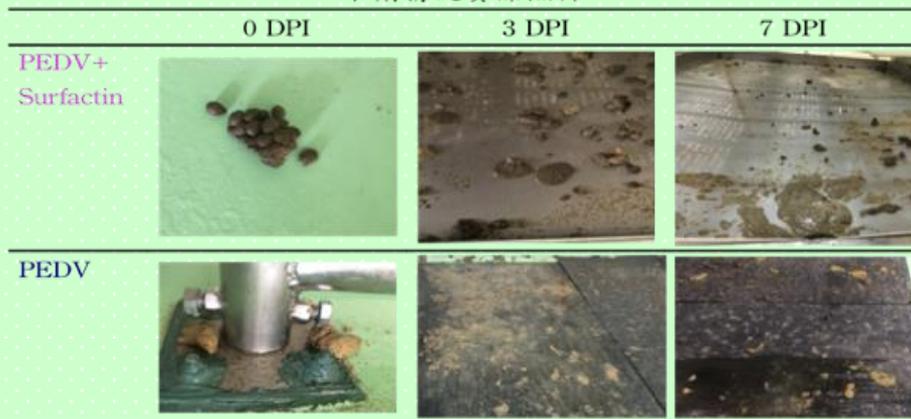


圖 4.使用 PED 攻毒後，飼料添加芽孢桿菌發酵物可以有效緩解下痢情形

離乳豬在國際與國內常規用來降低仔豬離乳後下痢添加之氧化鋅添加量也由原先使用的 3000ppm 降為 130ppm，法令的修改主要針對環境與食品安全為考量，更宣示了這波抗生素與氧化鋅替代物在畜禽養殖應用的趨勢。宜蘭大學生物技術與動物科學系研究團隊，自 2014-2018 年透過申請農委會及科技部整合型計畫研提「利用複合型芽孢桿菌發酵代謝物強化豬隻腸道疾病之抵抗力」研究，同步開發複合桿菌發酵物做為氧化鋅替代物，解決仔豬離乳下痢問題，同時也控制仔豬新型 PED 疫情，降低封套病毒的感染，並完成取代抗生素以控制仔豬病原腸道下痢症，增加仔豬存活率與雞隻腸道保健，也確保畜產品安全。



圖 5.芽孢桿菌發酵物於實驗室進行發酵情形

三、產學攜手技轉加速開發與掌握市場商機

綜合研究成果顯示，桿菌發酵物使用時比對照組顯著改善離乳仔豬四週齡體增重外，PEDV+脂肽組較 PEDV 組臨床症狀較輕微、每日排毒量輕微減少，IgG 及糞便菌相中乳酸桿菌群均以複合桿菌顯著較高量氧化鋅使用組為佳。目前研究成果已技轉生百興業公司。團隊著眼於加速產業化開發進程，已規劃在五結三生園區裝置發酵試量設備，將擴大田間試驗，以便將微生物製劑廣泛應用於畜禽健康養殖模式，為消費者提供更多安全、放心的畜禽產品。