

壳聚糖在奶牛乳腺健康中的作用及应用研究进展

王俊锋, 连慧香

(信阳农业高等专科学校 动物科学系, 河南 信阳 464000)

摘要: 乳腺炎是影响奶牛生产者经济效益的三大主要疾病之一。壳聚糖具有提高动物免疫力, 发挥类抗生素的作用, 在维护奶牛乳腺健康方面具有重要意义。为此, 综述了壳聚糖在奶牛乳腺健康中的作用及应用研究进展, 并对壳聚糖的应用前景进行了展望, 以期有效控制奶牛乳腺炎提供理论依据。

关键词: 壳聚糖; 奶牛; 乳房炎

中图分类号: S823 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2012)12-0016-04

Advance on the Applications of Chitosan in Mammary Health in Dairy Cattle

WANG Jun-feng, LIAN Hui-xiang

(Department of Animal Science, Xinyang Agricultural College, Xinyang 464000, China)

Abstract: Mastitis is one of the three main diseases that affects the profitability of dairy farmers. Chitosan has important significance in maintenance of mammary health. In view of this, the function and application of chitosan in mammary health in dairy cattle were reviewed, which provides a theoretical basis for the effective control of mastitis.

Key words: chitosan; dairy cattle; mastitis

奶牛乳房炎是一种多因素性疾病, 不仅影响奶牛产奶量, 而且还影响乳品品质, 给奶业生产带来巨大的经济损失。因此, 有效控制奶牛乳房炎对当前奶业健康快速发展具有重要的现实意义。但是到目前为止还未发现对该病有效的防治方案, 防治仍以抗生素为主^[1]。抗生素在临床上长期、大剂量使用, 导致病原微生物耐药性增强, 抗生素疗效降低, 且存在奶制品中抗生素残留严重超标等问题^[2], 这不仅给人和动物本身带来一定的危害性, 而且也为兽医工作者防治奶牛乳房炎带来了很大的困难。鉴于此, 研究和开发天然、绿色的抗生素替代品来有效防治奶牛乳房炎已引起国内外学者的关注。而壳聚糖作为自然界中唯一的高分子直链型的可溶性氨基多糖, 具有增强机体免疫力、抗菌、抗病毒及降脂等多种生物学功能^[3-4], 且不易产生耐药性, 并以安全、无残留等特点成为奶牛乳房炎防治研究的热点。鉴于此, 就近年来壳聚糖在防治奶牛乳房炎中的应用及

其可能机制综述如下, 为有效控制奶牛乳房炎提供理论依据。

1 壳聚糖在维护奶牛乳腺健康中的作用机制研究

1.1 抗菌作用

病原微生物的入侵是引发奶牛乳房炎的主要因素。因此, 杀灭已侵入乳房的病原菌, 防止新的病原菌侵入, 是防治该病的常用方法之一。许多体外试验已经证实, 壳聚糖具有较强的抑菌、杀菌活性^[5-8], 能通过多种途径作用于病原微生物, 抑制其生长繁殖或直接杀灭病原微生物, 从而达到防治疾病的目的。盛志坚等^[9]报道, 1%的几丁糖可抑制表皮葡萄球菌、金黄色葡萄球菌及大肠杆菌等, 甚至稀释达128~256倍时, 对金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌仍有抑制作用, 可见其抑菌作用甚广。罗仓学等^[10]

收稿日期: 2012-06-21

作者简介: 王俊锋(1977-), 男, 河南信阳人, 硕士, 主要从事动物营养与饲料研究。E-mail: junphoon@163.com

用圆滤纸片法测定了壳聚糖对大肠杆菌的抑制效果。结果表明,壳聚糖对大肠杆菌的抑制作用与壳聚糖的性质有关(如脱乙酰化度、游离氨基含量等),当壳聚糖含量为 1.2% 时,其抑制作用最强。路振香等^[11]利用圆纸片扩散试验对奶牛无乳链球菌、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌进行了体外抑菌试验,结果表明,壳聚糖对上述 4 种细菌的生长均有不同程度的抑制作用,这说明壳聚糖无论对革兰氏阳性菌,还是对革兰氏阴性菌都有一定的抑制作用。孙先明等^[12]应用水溶性壳聚糖对奶牛乳房炎主要致病菌(金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、沙门氏菌、链球菌)进行了体外抑菌活性试验,结果表明,一定浓度的水溶性壳聚糖在体外对奶牛乳房炎的主要致病菌有不同程度的抑制作用。壳聚糖对大肠杆菌和沙门氏菌的抑制作用要强于对金黄色葡萄球菌和链球菌的抑制作用,这说明壳聚糖对革兰氏阳性菌的敏感性要高于革兰氏阴性菌。然而,吴小勇等^[13]研究发现,壳聚糖对金黄色葡萄球菌的抑制作用最强,而对大肠杆菌的抑制作用相对较弱。Sudarshan^[14]则认为,低浓度的壳聚糖抑菌能力最强,因为低浓度的壳聚糖可以中和细菌细胞表面所带的负电荷,使细菌细胞胶合在一起,而高浓度的壳聚糖可能使细菌细胞表面带上一定数量的正电荷,从而使细菌细胞处于悬浮状态,而不是胶合在一起,结果降低了壳聚糖的抑菌效果。

以上研究报道结果不一致,其原因可能是各个试验中所用的壳聚糖产品差异造成的。壳聚糖的抗菌抑菌作用受壳聚糖的分子量、浓度、脱乙酰度、菌类、晶体形状、pH 值等多种因素影响^[15],所以在壳聚糖抑菌机制方面存在不同的看法。李振等^[16]研究认为,在适宜条件下,壳聚糖溶解,其分子中所带的正电荷及其聚合分子结构可与病原菌表面的鞭毛和荚膜吸附凝集,从而破坏细菌胞膜的代谢,抑制其病原菌的繁殖;而杨冬芝等^[17]的研究结果表明,壳聚糖吸附细菌后,能穿过细菌的多孔细胞壁进入到细菌细胞核内与 DNA 结合,干扰 DNA 聚合酶或 RNA 聚合酶的作用,破坏 DNA 物质的合成,从而抑制细菌的繁殖;郑连英等^[18]认为,壳聚糖分子量不同,其抗菌机制也不同。蒋玉燕等^[19]通过电镜观察到,细菌受壳聚糖作用后,壳聚糖对革兰氏阳性菌和阴性菌的抗菌机制也存在一定的差异。但有关壳聚糖确切的抑菌机制还有待进一步深入研究。

1.2 免疫作用

壳聚糖作为一种生物活性多糖,对免疫系统具有多方面的调节作用,既可有效提高非特异性免疫

功能,增强巨噬细胞的吞噬能力,也可对特异性免疫功能产生调节作用,促进细胞免疫与体液免疫功能^[20-21],但目前关于壳聚糖对奶牛免疫功能的影响报道较少。田丰等^[22]在奶牛上的试验得出,与对照组相比,奶牛日粮中添加 0.1% 的壳聚糖,血清中免疫球蛋白 IgG 和 IgM 含量均有一定的升高,说明壳聚糖能够增强奶牛机体的体液免疫功能。孙先明等^[12]用含 0.5% 的壳聚糖全混合日粮连续饲喂奶牛 35 d,结果发现,水溶性壳聚糖对奶牛机体的非特异性免疫功能及体液免疫功能均有增强作用,能不同程度地提高奶牛血清中免疫球蛋白 IgG 的含量、血液中淋巴细胞总数、淋巴细胞百分含量及淋巴细胞转化率。商常发等^[23]应用壳聚糖对患乳房炎奶牛的免疫功能进行了研究,结果表明,饲喂壳聚糖后,血液中白细胞数降低至临床健康牛的水平,活性 T 淋巴细胞数和 B 淋巴细胞数升高,中性粒细胞吞噬率和吞噬指数下降,说明壳聚糖能够抵抗炎症、清除血清循环免疫复合物、调节中性粒细胞的吞噬活性、增强机体的体液免疫和细胞免疫功能。

以上研究结果虽然证实壳聚糖具有较强的免疫活性,但是关于壳聚糖增强动物免疫活性的确切机制目前尚不完全清楚,可能是壳聚糖分子结构中有大量的中抗体的产生;另一方面,分子结构中的氨基也可能接受体内的质子,使体液的 pH 值升高,创造一个激活淋巴细胞的环境,从而提高细胞免疫、体液免疫及 NK 细胞功能,强化免疫监视作用^[24]。另外,壳聚糖也可以通过促进双歧杆菌的生长、繁殖,间接调节免疫系统,因为它是一类双歧杆菌的促生长因子。双歧杆菌能够通过刺激肠黏膜潘氏细胞,激活肠黏膜免疫系统,促进免疫球蛋白(IgA)的分泌。同时,双歧杆菌还能增强小肠上皮内淋巴细胞的杀伤活性,加强其在肠道内的免疫监视作用,由此提高机体的免疫功能^[25]。

1.3 抗氧化作用

奶牛乳房炎是病原菌入侵乳腺之后发生的一种炎症反应,在整个炎症反应期间,某些类型的免疫细胞就会引入相当数量的自由基来援助这些细胞杀死病原菌。因此,在正常情况下,机体内自由基的产生、利用、清除三者处于动态平衡,而且在很大程度上,自由基直接或间接地发挥着有益的生物学效应。但在病理状态下,机体内自由基产生过多,清除自由基的能力减弱或二者兼而有之,结果都造成自由基过剩,从而导致机体的脂质过氧化作用,破坏生物膜结构,使乳腺感染的严重程度增加。所以,维持体内正常的自由基水平有利于乳腺健康。据研究发

现,壳聚糖具有增强动物机体抗氧化能力的功能^[26],但目前关于壳聚糖在提高奶牛机体抗氧化能力方面的研究不多。商常发等^[27]通过测定谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)等的活性以及一氧化氮(NO)、丙二醛(MDA)含量,研究了其对奶牛血清自由基代谢的影响。结果表明,壳聚糖具有抗氧化功能,可调节奶牛机体自由基水平,并促进奶牛乳腺炎症的康复。任海军^[28]试验结果表明,在奶牛日粮中添加 0.1%的壳聚糖可刺激奶牛的抗氧化功能,改善健康状况,降低乳汁中体细胞数,减少了乳腺组织感染乳腺炎的可能。

关于壳聚糖提高动物机体抗氧化能力的确切作用机制目前还不清楚,可能是由于壳聚糖使机体内有益菌增殖,双歧杆菌、乳酸杆菌分解寡糖的代谢产物提供了质子,使之与体内自由基结合,来清除体内过量的自由基以避免生物大分子损伤,并能抑制细胞色素 P450 参与亲电子代谢物的形成^[26];另外,也可能与壳聚糖结构单元上的 2 个羟基及氨基(部分乙酰氨基)有关^[29],具体作用机制还有待进一步研究。

2 壳聚糖在奶牛乳腺健康中的应用研究

2.1 壳聚糖与隐性乳房炎

奶牛隐性乳房炎病因复杂,其与病原微生物的感染、环境卫生及奶牛机体抵抗力降低有关,因此,对该病的防治主要坚持“以防为主,防治结合”的原则。研究表明,壳聚糖在奶牛隐性乳房炎的防治中发挥着巨大的作用,不仅能提高奶牛的泌乳性能,而且还可有效预防奶牛隐性乳房炎。孙先明等^[12]试验结果显示,投喂壳聚糖 6 周,奶牛隐性乳房炎乳区阳性率显著降低($P < 0.05$),乳汁中体细胞数可以降至标准以下。这一结果说明,应用壳聚糖防治奶牛隐性乳房炎具有较好的临床疗效。商常发等^[30]试验结果表明,壳聚糖可以预防奶牛隐性乳房炎,提高产奶量,添加 2~6 g/d 即有一定效果,但以饲用 6 g/d 更好。田丰等^[31]试验结果表明,日粮中添加 0.1%的壳聚糖,可提高奶牛的产奶量,并显著降低牛乳中体细胞数,说明壳聚糖能够降低乳腺被感染的可能性。

2.2 壳聚糖与临床型乳房炎

对于临床型乳房炎,其治疗原则应坚持“以治为主”,杀灭侵入乳房的病原菌和消除炎症症状。据以上研究表明,壳聚糖能够抑制多种细菌的生长与活性,具有广谱抗菌素的作用,与其他多糖一样,表现出类抗生素的特征。因此,壳聚糖可以用来治疗临

床型奶牛乳房炎。但迄今为止,关于壳聚糖在临床型奶牛乳房炎治疗中的临床应用疗效研究报道不多。孙先明等^[12]通过壳聚糖的临床治疗试验,发现壳聚糖对奶牛临床型乳房炎具有较好的疗效,其治愈率达 80%,但这种效果在与敏感抗生素合用时更为明显;另外还发现,水溶性壳聚糖在奶牛上应用具有较高的安全性,即使以十倍于正常用量的壳聚糖对奶牛也无任何不利的影响。然而,有关壳聚糖与其他添加剂,如酶制剂和益生菌等联合使用来治疗奶牛乳房炎,目前还未见报道,因此,关于壳聚糖对奶牛临床型乳房炎的治疗剂量及壳聚糖与抗生素、酶制剂和益生菌等添加剂对奶牛乳房炎的交互作用等还需进一步研究。

3 问题和展望

综上所述,壳聚糖在防治奶牛乳房炎方面已取得长足的进步,积累了大量有用的资料,并显示出其广阔的开发前景。但同时也必须看到,还有一些问题有待进一步完善和解决。因此,今后对奶牛乳房炎的防治主要应从以下几个方面开展研究:

(1) 大力开展壳聚糖质量控制标准的研究。目前,壳聚糖缺乏统一的质量标准,使其生理功能也有很大的差异。因此,首先应该严格把握检验关,加强壳聚糖的质量控制,完善其生产工艺;其次,根据壳聚糖的脱乙酰度及分子量大小对其进行质量控制,使其具有比较稳定的生理功效。

(2) 大力开展壳聚糖最适添加剂量的研究。在奶牛生产中,由于引发乳房炎的病原菌种类繁多,病因复杂,因此对不同类型的乳房炎进行防治时的最适剂量难以确定,在选择壳聚糖添加剂量时,往往要反复尝试。因此,在生产中应根据奶牛乳房炎的类型,来确定预防隐性乳房炎的最佳预防剂量及治疗临床型乳房炎的最佳治疗剂量,故有关这方面的研究有待进一步深化。

(3) 开展药理学、免疫学以及临床兽医学等多学科协作研究,对壳聚糖的抑菌、免疫的确切机制深入了解,为其在乳房炎防治中的应用奠定理论基础。

(4) 开发防治奶牛乳房炎的壳聚糖饲料添加剂。壳聚糖作为一种天然活性产物,具有多种生物活性,不仅可以抑菌、增强机体免疫力,而且还可以提高奶牛产奶量,改善牛奶品质;此外,壳聚糖还具有无耐药性、安全、无残留等优点,因而,对壳聚糖及其衍生物的饲料添加剂的开发研究是有效防治奶牛乳房炎的重要途径之一。

(5) 从毒理学方面开展壳聚糖在防治奶牛乳房

炎中应用的安全性研究。大量毒理学上的试验表明,壳聚糖无明显毒副作用或几乎无毒,口服壳聚糖是安全的。但近些年又有研究者提出,分子量小于 2 Ku 的水溶性低分子量壳聚糖对试验鼠的肾组织存在明显毒性^[32]。至于经化学改性后的壳聚糖衍生物的使用安全性研究报道还不多见,尤其是在奶牛乳房炎的治疗方面更少。因此,关于壳聚糖在防治奶牛乳房炎中应用的安全性研究还需进一步深入研究。

(6)从药物剂型学方面和不同动物的给药方案 2 个方面开展壳聚糖在防治奶牛乳房炎中应用的研究。虽然已证实壳聚糖与头孢噻肟合用对奶牛乳房炎具有较佳的临床疗效,但关于壳聚糖与其他抗生素、酶制剂和益生生素等添加剂对奶牛乳房炎防治的交互作用的研究还未见报道,今后有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 卜仕金,陈杖榴,冯汉辉. 奶牛乳房炎的抗菌药物防治[J]. 兽药与饲料添加剂,1999,4(3):14-16.
- [2] 王晓丽,夏兴霞,施秋艳. 中草药方剂治疗奶牛隐性乳房炎疗效试验[J]. 中兽医杂志,2003(6):5-6.
- [3] 朱立贤,宋志刚,林海等. 壳聚糖对肉仔鸡生长与免疫功能的影响研究[J]. 中国饲料,2003(4):15-17.
- [4] 周小杰,车向荣,于菲. 壳聚糖的生物学功能及其在家禽生产中的应用[J]. 畜禽业,2005(1):16-19.
- [5] Kim C H, Kim S Y, Choi K S. Synthesis and antibacterial activity of water-soluble chitin derivatives [J]. Polym Adv Technol,1997(8):319-325.
- [6] Liu X F, Guan Y L, Yang D Z, et al. Antibacterial action of chitosan and carboxy-methylated chitosan[J]. Appl Polym Sci,2000,79(7):1324-1335.
- [7] 宋献周,沈月新. 不同分子量的壳聚糖的抑菌作用[J]. 上海水产大学学报,2000,9(2):27-28.
- [8] 乔彦良. 新型绿色饲料添加剂保健药物——甲壳素[J]. 中国禽业导刊,2002,19(12):7-9.
- [9] 盛志坚,侯春林. 几丁糖抑制细菌生长的实验研究[J]. 中国修复重建外科杂志,1994,8(2):81-82.
- [10] 罗仓学,吕嘉枋,陈雪峰. 壳聚糖对大肠杆菌抑制效果的研究[J]. 西北轻工业学院学报,2000(2):98-99.
- [11] 路振香,商常发,宋长静,等. 壳聚糖对奶牛乳房炎病原菌的体外抑菌试验[J]. 中国奶牛,2009(1):39-41.
- [12] 孙先明,刘思当,季云峰,等. 水溶性壳聚糖对奶牛乳房炎防治效果的研究[D]. 泰安:山东农业大学,2005:25-26.
- [13] 吴小勇,曾庆笑. 不同脱乙酰度和分子质量的壳聚糖的抑菌性能[J]. 华南理工大学学报:自然科学版,2006,34(3):58-62.
- [14] Sudarshan N R. Continuous-flow cultures as *in vitro* models of the ecology of large intestinal flora[J]. Food Biotechnol,1992(2):257-272.
- [15] 冯小强,李小芳,杨声,等. 壳聚糖抑菌性能影响因素、机理及其应用研究进展[J]. 中国酿造,2009(1):19-20.
- [16] 李振,陈现伟. 绿色饲料添加剂——壳聚糖[J]. 江西畜牧兽医杂志,2004(2):18-20.
- [17] 杨冬芝,刘晓非. 壳聚糖抗菌活性的影响因素[J]. 应用化学,2000,17(6):598-602.
- [18] 郑连英,朱江峰. 壳聚糖的抗菌性能研究[J]. 饲料科学与工程,2000,70(2):18.
- [19] 蒋玉燕,毕忆群. 聚氨基葡聚糖的体外抗菌活性[J]. 中国抗生素杂志,1996,21(1):54-56.
- [20] Shibata Y, Foster L A, Metzger W J, et al. Alveolar macrophage priming by intravenous administration of chitin particles, polymers of N-acetyl-D-glucosamine, in mice[J]. Infect Immun,1997,65(5):1734-1741.
- [21] Rementeria A. Resistance to candidiasis and macrophage activity in chitin-treated mice[J]. FEMS Immunol Med Microbiol,1997,19(3):223-230.
- [22] 田丰,任海军,史彬林,等. 壳聚糖对奶牛产奶性能、乳体细胞数及血清免疫球蛋白的影响[J]. 饲料工业,2009,30(5):31-33.
- [23] 商常发,陈会良,顾有方,等. 壳聚糖对乳房炎奶牛免疫功能的影响[J]. 中国牛业科学,2006,32(6):45-49.
- [24] Tokura S, Tamura H, Azuma I. Immunological aspects of chitin and chitin derivatives administered to animals[J]. EXS,1999,87:279-292.
- [25] 陈文学,史俊华. 双歧杆菌的研究进展[J]. 中国微生态学杂志,2000(12):298-300.
- [26] Newman K E, Sping P. Effect of thermal treatment the ability of mannaneroligisaccharide to absorb enteric bacteria[J]. Animal Science,1995,73:325.
- [27] 商常发,陈会良,金光明,等. 壳聚糖对乳房炎奶牛血清自由基代谢的影响[J]. 中国草食动物,2006,26(3):44-46.
- [28] 任海军. 壳聚糖对奶牛产奶性能和免疫功能影响的研究[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学,2008:25-26.
- [29] 蒋煊,薛培华,陈世明,等. 壳聚糖超氧阴离子自由基和亚油酸脂类自由基的抑制作用[J]. 科学通报,2002,47(3):182.
- [30] 商常发,刘世清. 壳聚糖对奶牛隐性乳房炎的预防效果[J]. 中国奶牛,2005(4):42-43.
- [31] 田丰,任海军,史彬林,等. 壳聚糖对奶牛产奶性能、乳体细胞数及血清免疫球蛋白的影响[J]. 饲料工业,2009,30(5):31-33.
- [32] 刘安军,詹伟,朱振元. 水溶性低分子量壳聚糖致鼠脱毛的毒理性研究[J]. 天津科技大学学报,2007,22(4):20-23.