پروبیوتیک؛ جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک

دکتر فریبرز رشیدی قادر – سازمان امور عشایر ایران

مقدمه:

هنگـامی‌که صـحبت از بکـارگیری مـحصولات زنده‌میکروبی در غذای دام و طیور می‌شود، هدف متاثر نمودن فعالیت میکروبی موجود در روده‌های حیوان می‌باشد، یـا بـه عبـارت دیگـر بـرای بـهبود سلامتی و رشد حیوان فعالیتهای مطلوب و خـوش خـیم میکروبهـا تـثبیت یـا تـقویت مـی‌گردد. نسـل جدیدی از محصولات میکروبی که به طور زنـده و مستقیم در غـذا بـه مـصرف مـی‌رسند، اصطلاحـاً DFM[1] نامیده می‌شوند این نوید را به ما مـی‌دهند که با استفاده از این میکروارگانیسم‌ها می‌توان نه تنها رشد و ضریب تبدیل را در دام و طیور بهبود بخشید، بـلکه بـدینوسیله مـی‌توان از اثـرات ضـد رشـد و هـمچنین بـروز بیمـاریها کـاست. در طـی ۱۵ سـال گذشته اشتیاق وافری در بین محققین، پژوهشگران و همچنین تولیدکنندگان در زمینه کشتهـای مـیکروبی زنده برای ازدیاد تولید پرورش در دام و طیور دیده شـده است. بـیشتر مـحصولات تجـاری حـاوی میکروب، تحت عـنوان «پروبیوتیک‌هـا» نـامگذاری شده‌انـد و بـه دو مـنظور مـورد بـهره بـرداری قـرار می‌گیرند:

۱- جلوگیری از رشد و تکثیر میـکروارگـانیسم‌های مولد اسهال.

۲- افزایش ضریب تبدیل غذایی و رشد.

با این وجود امروزه بدلیل کثرت عرضه میکروبهای خوراکی تولید شده، ضروری بنظر می‌رسد که بـین فـرآورده‌هـای پـروبیوتیک یـعنی آن دسـته از میکروبهایی که ممکن است از بروز عفونتها ممانعت به عمل آورند و آنهائی کـه مـوجب افـزایش رشـد مـی‌گردند، وجـوه تمـایزی قـائل شـویم. اکـثر محصولات میکروبی که برای مصرف غذایی مـورد استفـاده قـرار مـی‌گیرند از تـعداد انـدکی میکروارگانیسم تشکیل شـده‌انـد. بـه عـنوان مـثال گونه‌های لاکتوباسیل که در رأس آنها *Lactobacillus acidopilus* قـرار دارد و هـمچنین *Streptococcus Faecium*، گونـه‌هـای Bacillus و مـخمر، بـویژه گونـه‌هـای Saccharomyces، در بین ایـن گروههـا، گونه‌های لاکتوباسیل و Streptococcus. مـعمولاً نـقش میکروارگـانیسم‌های حـاضر در روده را ایـفا می‌کنند، حال آنکه گونه‌های باسیلوس و مخمر فقط بـه طـور انـفرادی در بـین مـیکروفلور روده یـافت می‌شوند. برخی از پروبیوتیکها از قبیل باکتری مولد اسید لاکتیک که بطور زنده و مستقیم در غذا مصرف می‌شوند نسبتاً شکننده هستند. این باکتریها براحتی قادر به تحمل حرارت و فشار معمولی وارد شده در فرایند تـولید غـذای دام و طـیور نـیستند: گونه‌هـای مشخصی از باسیلوس اگر به شکل اسپور (هـاگ) استفاده شوند دوام بیشتری. خواهند داشت، علاوه براین تحقیقات اخیر نشان داده است که این گونه‌ها بیش از اینکه دارای اثرات «متعادل کننده» یا «تثبیت کننده» باکتریهای مولد اسید لاکتیک باشند، اثرات فزایندهٔ رشد دارند.

استفـاده از میکروبهـا بـه عـنوان فـزایـنده (محرک) رشد

یک مـیکروفلور متعـادل و مـعمولی در روده مـی‌توانـد حـیوان را در بـرابـر هـجوم ارگـانیسمهای پاتوژن به خوبی حفاظت نماید. با وجود این نشان داده شده است کـه تأثیر کـلی مـیکروارگـانیسمهای بومی برروی رشد منفی می‌باشد، لذا جای آن دارد که تثبیت یا تقویت نقش ممانعت از بروزبیماری و کاهش اثرات تضعیف رشـد حـاصل از مـیکروفلور روده‌ای مورد آزمایش قرار گیرد.

تجویز ترکیبات ضد میکروب با میزانی کمتر از سطح درمانی موجب دستکاری و تغییر میکروفلور روده می‌شود. اکثر محققین اتفاق نظر دارند که این میزان موجب تضعیف فعـالیتهایی مـی‌شوند کـه در کاهش رشد میکروبهایی نامطلوب موثر بوده‌اند. به عبارت دیگر آنتی‌بیوتیکهـای مـحرک رشـد مـؤثری برروی میکروبهای گرم مثبت ممکن است از طرف تغییر تعادل به نـفع میکروبهـای گـرم مـنفی بـرروی عمل سد کننده میکروفلور روده اثر سـوئی داشـته، بـاشند. اسیدهـای چـرب فـرار عمدتـاً بـوسیله بـاکتریهـای گـرم مـثبت تـولید مـی‌گردند. مشـخص گردیده است که افزودن آنتی‌بیوتیکها به غـذای دام سبب کاهش غلظت لاکتوباسیلها در روده کـوچک خوکچه‌هایی که زود از شیر گرفته شده‌اند می‌گردد و همزمان بـا آن تـعداد کـلی فرمهـا افـزایش مـی‌یـابد (جـدول شمـاره ۱). داروهـائی هـمچون Flavomycine, Spiramycine و Carbadox تـولید اسید لاکتیک را در ایلیوم خوکچه‌های مورد آزمایش کـاهش داده است. تشکیل اسیدهـای چـرب فـرار مشخصـاً بـوسیله Spiramycine و Carbadox تضعیف شد. نتایج کلی حاصل از این آزمایشات در دامهـای دیگـر نـیز بـه اثبـات رسـیده است. البـته، اطلاعات تئوری بر روی نـحوه عـمل میکروبهـا در فرایندهای رشد نسبتاً پراکنده است، زیرا اولاً ایده استفاده از پروبیوتیک در غذا نسبتاً جـدید بـوده و هـنوز تـوجه بسیـاری از مـحققین را جـلب نـنموده است، ثانیاً محصولات میکروبی بوسیله شرکتهای کوچکی تولید می‌گردند که منابع گسترده تحقیقاتی در اختیارشان نیست. حال آنکه آنتی‌بیوتیکها توسط شرکتهای عظیم تولید دارو به بازار عرضه می‌شوند.

اثرات گونه‌های مختلف باسیلوس

اگـرچـه بسیـاری از مـحصولات حـاوی میکروارگانیسم‌های زنده و خوراکی سبب تشکیل اسید لاکتیک یا مخمر می‌گردند، با این حال امروزه حداقل سه گونه باسیلوس در افزودنیهـای غـذایی تجـارتی در دسـترس مـی‌بـاشند کـه عبـارتند از: *B.licheniformis* ،*Bacillus subtilis* و *B.toyoi* ایـن ارگانیسم‌ها به شکل انـدوسپور[2] (بـاکتری در ایـن مرحله از زندگی خود به صورت خـفته در مـی‌آید) می‌باشند. اسپورهای باسیلوس در غذاهایی کـه بـه شکل پلت[3] یا آرد تهیه می‌شوند و نیز در طول عبور از محیط اسیدی معده ثابت و دوام زیـادی دارنـد. اثرات سودبخش باسیلها بستگی به سرعت زایندگی اسپورهـا در بخشهـای فوقـانی روده دارد، سـپس اسپورها به سلولهای رونده (Vegetative) که از نظر متابولیکی فعال هستند تـبدیل مـی‌گردند. در سـال ۱۹۸۵ Hendrikx و همکـارانش مطـالعاتی بـر روی زندگی و تکثیر باسیلوس در دامهایی که هـر گـرم از جیره‌شان حاوی 10^6 اسپور بود انجام دادنـد. آنـها باسیلها را با غلظتی معادل ۱۶۲۰۰۰ بـاسیل در هـر گرم از محتویات تهی روده یافتند. نسبت زایـندگی باسیلها ۵۰-۷۰٪ بـود، سـپس بـاسیلها را بـاغلظتی معادل $1/5\times10^6$ در هر گرم از مدفوع جدا نمودند که ۸۵-۹۰٪ از آنها تکثیر یافته بودند. بـر اسـاس ایـن اطلاعـات مـی‌توان دریـافت کـه دو مشـخصه قـابل توجه در مـورد اسپورهـای بـاسیلوس وجـود دارد، یکی اینکه آنها مـی‌تواننـد اسیدیته پـائین مـعده را تحمل نمایند ولی در محیط روده تکثیر نمی‌یابند و دیگر اینکه باسیلوسها بطور معمول فقط بـه تـعداد بسیـار انـدک در روده‌هـا وجـود دارنـد. مطـالعات

جدول ۱ - اثر virginiamycin و spiramycin بر روی باکتریهای موجود در معده(۱) و روده‌های کوچک(۳،۵،۷) خوکهای زود از شیر گرفته شده.

		لگاریتم CFU/g* محتویات معده یا روده			
		۱	۳	۵	۷
کلی فرمها	کنترل	۴/۳	۴/۰	۴/۵	۵/۸
	virginiamycin	۵/۴	۴/۴	۴/۷	۶/۵
	spiramycin	۴/۸	۴/۱	۴/۹	۵/۸
لاکتوباسیلها	کنترل	۸/۲	۷/۶	۷/۷	۷/۹
	virginiamycin	۶/۸	۶/۱	۶/۶	۷/۳
	spiramycin	۷/۶	۷/۲	۷/۷	۸/۰

*واحد تشکیل دهنده کلنی

نسبت مرگ لاکتوباسیلها ممکن است از ۹۰٪ نیز تجاوز کند. نسبت نابودی مخمرها در مراحل تشکیل پلت بسته به ویژگی حضور آنها در شکل محصول از کم تا زیاد متغیراست.آزمایشاتی جهت تعیین تعداد ارگانیسم‌های پروبیوتیک به عمل آمده است. به عنوان مثال تکنیکی بکارگرفته شده که یک نمونه هموژنیزه شده را برای ۳۰۰-۳۰ میکروارگانیسم زنده در هر میلی لیتر رقیق می‌کنند. سپس ۱ میلی‌لیتر از آن محلول را در ظرف کشت. حاوی ژل‌آگار قرار داده و در ۳۷-۳۰ درجه سانتی‌گراد نگه می‌داریم و کلنی‌ها را بصورت تعداد در هر گرم محصول شمارش می‌نمائیم. شمارش با این روش هزینه زیادی ندارد. برچسب روی محصولات پروبیوتیک الزاماً" می‌بایست میزان واقعی میکروارگانیسمهای موثر موجود را نشان دهد. متأسفانه در برخی از آزمایشهائی که توسط دانشکده کشاورزی Harper Adams انگلستان انجام شد، مشخص گردید که سطوح میکروبی موجود در این ترکیبات تجاری کمتر از مقادیر فرض شده می‌باشد و اسیدیته آنها نیز کاهش یافته است (اگرچه گونه‌های استرپتوتوک نسبت به لاکتوباسیلوسها، اسیدیته را سریعتر کاهش می‌دهند).

جایگزینی برای آنتی بیوتیکها و هورمونها در نشخوارکنندگان

پیشرفتهای بیوتکنولوژی، ابزارهای جدیدی را به منظور افزایش تولید شیر و گوشت دام در اختیار دامداران قرار داده است، در حالی‌که بسیاری از تولیدکنندگان و پژوهشگران این پیشرفتها را تحسین می‌کنند، برخی از تولید کنندگان و مصرف کنندگان در مورد استفاده از هورمونهای صنعتی و آنتی بیوتیکها در غذا تردید دارند. این گفته به ویژه در مورد کشورهای جامعه اروپایی صادق است زیرا آنها واردات گوشتهایی که با استفاده از هورمون تولید می‌شوند، را تحریم نموده‌اند.

دو جانشین برای هورمونها و آنتی‌بیوتیکها وجود دارد که عبارتند از: میکروبهای خوراکی و فراورده‌های حاوی آنزیم.

ابتکار استفاده مستقیم از میکروبها در غذا

میکروفلورهای موجود در مجاری گوارشی حیوانات اهلی را می‌توان به دو دسته تقسیم نمود. دسته اول: میکروبهای سودمند یا مطلوب می‌باشند که در سطوح روده تجمع نموده و با میزبان ارتباط همزیستی دارند. دسته دوم: میکروبهای ناخواسته یا نامطلوب هستند که بالقوه پاتوژن بیماریزا می‌باشند. در شرایط معمولی ارگانیسم‌های مفید غالب هستند. وجود آنها برای اعمال فیزیولوژیک حیوان از جمله مواد غذایی برای میزبان، کمک به هضم این مواد و رقابت با پاتوژنها ضروری می‌باشد. حیوانات عاری از عفونت که از طریق جراحی استریل به دنیا آمده و در محیط‌های استریل پرورش یافته‌اند نسبت به حیواناتی که بطور معمولی پرورش یافته‌اند دارای سیستم ایمنی ضعیف‌تری می‌باشند. این حیوانات عاری از عفونت در غذای خود به ویتامین K نیاز دارند. این ویتامین بطور طبیعی بوسیله چندین باکتری سنتز می‌شود. این حیوانات بیشتر مستعد ابتلا به عفونتهای باکتریایی می‌باشند چرا که پاتوژنها مجبور نیستند با میکروفلور طبیعی (که در آنها فعال نیست) مقابله نمایند.

درمان با آنتی بیوتیک، استرس، حمل و نقل، محیطهای جدید، تغییرات غذایی، حرارتی و ازدحام می‌تواند اثر معکوس بر روی تعادل موجود بین میزان طبیعی میکروفلور روده داشته باشد. این امر ممکن است به اسهال، تورم معده و روده یا کاهش مصرف غذا مألاً" افت و تولید منجر شود. ایده اصلی تغذیه مقادیر زیادی از میکروبهای سودمند در حقیقت مقابله با اثرات منفی استرس می‌باشد.

نسل کنونی میکروبهای خوراکی حاصل از انتخاب ژنتیکی برای ایجاد تعدادی از توانایی‌های ارثی می‌باشد این توانائی‌ها عبارتند از:

۱-تولید ترکیبات ضد باکتریایی
۲- ایجاد شرایط ناسازگار با رشد پاتوژن (رقابت با مکان و مواد غذایی آنها)
۳- تولید آنزیمهای هضم کننده
۴- تحریک سیستم ایمنی
۵- دفع مسمومیت ناشی از سموم پاتوژنیک (جدول ۴).

باکتریهای خوراکی

آمارهای منتشره در مورد نتایج باکتریهایی خوراکی در نشخوارکنندگان عمدتاً" بر روی گوسالهای در حال از شیرگیری و گاوها در حین حمل و نقل متمرکز شده است. وقوع اسهال در گوساله‌هایی که از لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس تغذیه نموده بودند کاهش یافت و در شمارش، تعداد کلی فرمهای روده آنها نیز کاهش ایجاد شده بود Berger گزارش داد، که در گوساله‌های پرواری که میکروبهای خوراکی تجارتی مصرف نموده بودند بازدهی ۳۳٪ و میزان مصرف خوراك آنها ۱۲٪ بیشتر از حیوانات شاهد بود. خلاصه‌ای از آمارهای بیش از ۳۰ آزمایش بر روی گوسالهای پرواری به ترتیب افزایش متوسط وزن روزانه‌ای معادل ۱۰/۷٪ و بازدهی غذایی معادل ۵/۴٪ را نشان می‌دهد، در همین راستا Botts و Lee در سال ۱۹۸۸ گزارش دادند که مصرف منقطع و سپس تغذیه دائم از میکروبهای خاصی موجب بهبود قابل توجه افزایش وزن متوسط روزانه در گوساله می‌گردد. گزارشهائی که نشانگر اثر باکتریهای خوراکی بر روی شیردهی باشد اندك است. Jaquette و همکارانش در سال ۱۹۸۸ افزایش چشمگیری را در تولید شیر (۳۰/۹ در مقابل ۲۹/۱ کیلوگرم در روز) ماده‌هایی که از لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس تغذیه کرده بودند، گزارش دادند. همچنین Ware و همکارانش ۱۹۸۸ گزارش نمودند که در گاوهای شیری که به میزان ۲×۱۰^{۹} واحد تشکیل دهنده کلنی (CFU) لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس مصرف نموده بودند، افزایش تولید شیر (۳۳/۶ در برابر ۳۱/۸ کیلوگرم در روز) مشاهده گردید. هنگامی که به چند تلیسه در موقع زایش شکم اول و دوم، به میزان ۳۰ گرم میکروب در روز خوراندند، افزایش ۱/۳۶ کیلوگرم شیر را در روز مشاهده نمودند، اما در مطالعه دیگر ظاهراً" فقط دامهای پیرتر به این روش پاسخ می‌دهند.

استفاده از مخمر و قارچ به عنوان پروبیوتیک

استفاده از عصاره و کشت قارچهای *Aspergillus oryzae* یا *A.niger* و مخمر *Saccharomyces cerevisiae* در گاوهای شیری طرفداران زیادی در بین دامداران کشورهای اروپای غربی و آمریکای شمالی پیدا کرده است. فکر افزودن مخمر یا قارچ با باکتری متفاوت می‌باشد.(جدول ۵)

مخمر و قارچ، آنزیمهایی چون آمیلاز، پروتئاز، لیپاز، وسلولاز را تولید نموده و همچنین منابع سرشاری از ویتامینهای گروه B می‌باشند. مع‌ذالك معلوم نیست که آیا آنزیمها در شکمبه ترشح و فعال می‌شوند یا نه؟ در هر صورت تعیین اثرات مستقیم ناشی از ارگانیسمهای زنده مشکل می‌باشد زیرا برخی محصولات همچنین حاوی عوامل رشد و ترکیبات ناشناخته‌ای می‌باشند که موجب تغییر در الگوهای تخمیری شکمبه می‌گردد.

در آزمایشهای مختلفی افزایش تولید شیر یا تولید شیر پر چربی بدنبال افزودن قارچ و مخمر به جیره‌ها بررسی شده است اما برخی آنرا تأیید ننمودند. اینکه چگونه مخمر موجب افزایش تولید شیر می‌گردد بدرستی معلوم نیست. قارچها سبب تجمع ذرات فیبر غذای موجود در شکمبه شده و به هضم سلولز کمك می‌کنند، اما شواهد مستقیمی دال بر اینکه مخمر افزوده شده نیز همین عمل را انجام می‌دهد وجود ندارد.

برخی از دانشمندان که مخمر، تعداد باکتریهای هضم کننده سلولز در شکمبه را افزایش می‌دهد علاوه براین مخمر ممکن است از طریق تعدیل افت ناگهانی اسیدیته شکمبه بدنبال تغذیه اثری بافری در درون شکمبه داشته باشد. اخیراً" گزارش شده که عصاره ناشی از تخمیر مخمر جذب لاکتات توسط کشت‌های خالص *Selenomonas ruminatium* را تحریك می‌نماید.

Williams در سال ۱۹۸۷ این فرضیه را مطرح نمود که مخمر ممکن است یک شکل آلترناتیو یا جایگزینی از انتقال هیدروژن (به غیر از متان) ارائه نماید، چرا که دیواره‌های سلولی مخمر توانایی بالائی از جهت ایجاد بافر با پروتون دارند. Frumholtz و همکارانش در سال ۱۹۸۹ گزارش نمودند که عصاره‌های کشت *Aspergillus oryzae* از طریق کاهش تولید متان، قدرت تخمیر شکمبه را افزایش دهد، البته این نتیجه را درون آزمایشگاه (in vitro) بر روی کشت‌های متوالی میکروارگانیسمهای مختلط شکمبه بدست آوردند.

تهیه آنزیم

تکنیکهای پیشرفته تولید آنزیم و خالص نمودن آنها موجب افزایش توجه دست‌اندرکاران به افزودن آنزیم در جیره حیوانات اهلی گردیده است. بااینحال آنزیمها ممکن است استفاده محدودی در جیره نشخوارکنندگان داشته باشند، زیرا توسط میکروبهای شکمبه تجزیه گردیده و از ارزش آنها

کاسته می‌گردد. استفاده از آنها در نشخوارکنندگان نابالغ (که سیستمهای آنزیمی آنها بطور کامل توسعه نیافته است) ممکن است مفیدتر باشد. Kopecny و همکارانش در سال ۱۹۸۷ در طی گزارشی اعلام نمودند که کمپلکس آنزیم Cellulase- Trichoderma viride بسرعت توسط پروتئاز باکتریهای شکمبه تجزیه می‌گردد. درآزمایشگاه تأثیری بر روی هضم فیبر نداشت نتایج منتشر نشده‌ای از سوی Kung این یافته‌ها را تائید می‌نماید. Kmet و Bara در سال ۱۹۸۷ اعلام داشتند که تهیه آنزیم پکتیناز - سلولاز[7] در تغییر تخمیر شکمبه بره‌هایی که به تازگی از شیر گرفته شده‌اند مؤثر بوده ولی در دام بالغ که دارای میکروفلور شکمبه فعالی هستند اثری ندارد.

مصرف میکروبهای خوراکی

محصولات حاوی میکروبهای خوراکی به اشکال گوناگونی مثل پودر، خمیر، بولوس، کپسول و آشامیدنی در دسترس می‌باشند. برخی محصولات را می‌توان با جانشین شونده‌های شیر یا آب آشامیدنی مخلوط نمود، با اینحال بسیاری از فرآورده‌های باکتریایی را با اندکی پیش از مصرف با غذا کاملا" مخلوط شود و یا اینکه در سطح غذا پخش گردد. لاکتوباسیلها، بیفدوباکتریوم و استرپتوکوکوس ممکن است بوسیله گرمای موجود در موقع تشکیل پلت تخریب گردد. ولی باسیلوس و برخی مخمرها و آنزیمها می‌توانند فعالیت خود را در آن مراحل حفظ نمایند. محصولات باکتریایی ممکن است با آنتی بیوتیکهای متداول سازگار باشند، به عبارت دیگر مصرف توأم آنها با هم مجاز باشد و کلا" این اطلاعات می‌بایست از سوی شرکت سازنده در اختیار مشتریان قرار گیرد. دوام میکروبهای خوراکی در چند سال اخیر افزایش یافته است با این وجود شایسته است که پیشنهادات در مورد نحوه ذخیره و انبار کردن آنها را رعایت نمائیم. هیچگونه تاریخ انقضایی برای هیچیک از محصولات میکروبی یا آنزیمی وجود ندارد. بدلیل تنوع میکروبهای خوراکی، تولید کنندگان ممکن است حتی تحت شرایط کاملا" یکسان با محصولات دیگر(بدلیل منابع میکروبی متفاوت) نتیجه مطلوب و رضایت بخشی از فراورده‌های خود نداشته باشند.

غذاهای آینده

باکتریهای مولداسیدلاکتیک ترکیبات ضد میکروبی را ایجاد می‌کنند که می‌توانند به عنوان نگهدارنده‌های «طبیعی» عمل کنند. این ترکیبات توجه متخصصین و محققین تغذیه انسانی را به سوی خود جلب نموده‌اند همچنین می‌توان از باکتریهایی استفاده نمود که در طول تخمیرسیلو لیزین ترشح می‌نمایند تا بدینوسیله ارزش اسیدآمینه ذرت را افزایش دهند، یا ارگانیسمهای را در نظر گرفت که بتوانند فاکتورهای رشد نظیر سوماتوتروپین را ترشح نمایند. بنابراین با این کار عوارض نگرانی ناشی از تزریق هورمونهای پروتئینی بر طرف می‌گردد. در گذشته تقریبا" همه بررسی‌ها در مورد میکروارگانیسمهای خوراکی، در محدوده باکتریهای غیر شکمبه‌ای متمرکز می‌شد، زیرا کشت ارگانیسمهای شکمبه دشوار است. با این وجود در آینده می‌توان تأکید بسیاری را بر روی میکروارگانیسمهای شکمبه معمول داشت زیرا آنها قادر به متابولیزه نمودن توکسینهای مختلف هستند. تعیین ارگانیسمهای طبیعی که قادر به دفع مسمومیت ناشی از سلول چون میوتوکسین‌ها[8] باشند، مفید خواهد بود، بویژه اگر بتوان این میکروبها را به حیوانات دیگر نیز تلقیح نمود. مثال بارز این عمل، کاری بود که بر روی «میموزین[9]» (ترکیب سمی که موجب بیماری شبه گواتر می‌گردد) انجام پذیرفت. این ماده تأثیر مفید «لوکنا[10]» (نوعی سبزی متعلق به مناطق حاره‌ای) روی نشخوارکنندگان را محدود می‌نماید. نشخوارکنندگان هاوایی نسبت به نشخوارکنندگان استرالیا پیش از مسمومیت می‌توانند مقادیر بیشتری لوکنا مصرف نمایند. Jones و همکارانش باکتری را جداکردند که قادر به دفع سم میموزین درگله‌هایی از بز و گوسفند بودند. این دامها قبلا" با این ارگانیسمها تلقیح گردیده بودند. بنابراین می‌توانند از این سبزی به میزان بیشتری استفاده نمایند.

Patterson در سال ۱۹۸۹ فعالیتهای بالقوه متابولیک میکروارگانیسمهای شکمبه که ممکن است با دستکاری ژنتیکی به منظور افزایش تولید دام تغییر یابند را خاطر نشان نمود. به عنوان مثال میکروبهای شکمبه را می‌توان برای مقاصد زیر تغییر داد:۱- افزایش میزان هضم غذا ۲- کنترل تولید اسید لاکتیک به منظورکاهش وقوع اسیدوز ۳- تغییر میکروارگانیسم‌ها برای پائین نگه داشتن اسیدیته که به حفظ سطح چربی شیر در جیره‌های حاوی کنسانتره زیاد کمک می‌کند یا ۴- دفع انواع متابولیتهایی که اثر نهایی فقدان آنها موجب افزایش تولید دام گردد.

در آینده، ارگانیسمهای شکمبه و خوراکهای متداول دام ممکن است از طریق ژنتیکی (از طریق تکنولوژی Recombinant DNA) تغییر و تحول یابند. برای مثال ارگانیسمها ممکن است از طریق مهندسی ژنتیک وادار به ترشح اسیدهای آمینه یا سطوح بالای آنزیمهای هضم کننده و یا عوامل رشد شوند. آنها همچنین ممکن است قادر به دفع سموم مهلکی که ممکن است در ترکیبات غذایی موجود باشد، گردند. تجربه بیشتری لازم است تا بتوان سه پارامتر ذیل راتعیین نمود: محدودیتهای تکنیکی، نسبت مقاومت ارگانیسمها و قوانین مربوط به مصرف ارگانیسمهایی که از طریق ژنتیکی تغییر نیافته‌اند. در آینده محققین غیر از تعیین نحوه عمل میکروارگانیسم می‌بایست شرایط مناسب و مطلوبی که موجب تأثیر بیشتر آنها می‌گرددرا بیابند. برای اثبات تأثیر پروبیوتیکها، شایسته است صنایع غذایی و دامی کشور ما اقدام به کنترل دقیق و خوب و آزمایشات کامل محصولات وارداتی یا ساخته شده در داخل نمایند.

مصرف مخمر در تولید شیر

هرگونه پیشنهاد برای استفاده از مخمر در غذای گاوهای شیری می‌بایست جذب و هضم غذای اصلی را به حداکثر و استفاده ازکنسانتره را به حداقل برساند. کنسانتره باید شامل افزودنیهای غذایی باشد که رشد و متابولیسم میکروبی شکمبه را تحریک نماید. این امر می تواند میزان اسیدهای چرب فرار متشکله را افزایش دهد. در نتیجه انرژی قابل متابولیزه شدن را فراهم ساخته و سنتز پروتئین در شکمبه راتحریک نماید. اثر خالص آن افزایش تولید اسیدهای آمینه برای غدد شیری و بنابراین افزایش میزان پروتئین شیر می باشد.

در بین افزودنیهای غذایی بیولوژیکی، کشتهای زنده مخمر *saccharomyces cerevisiae* اهمیت خاصی دارند. این چنین کشتهای مخمر می‌توانند فعالیت شکمبه را به چهار طریق زیر افزایش دهند:

۱- نسبت تخمیر میکروبی
۲- برهم ریختن ترکیب پروتئین میکروب
۳- تبادل یون هیدروژن
۴- متابولیسم کربوهیدراتهای سهل‌الحل

جدول شماره ۴-لیست چند ارگانیسم متداول که در ترکیبات باکتریایی خوراکی وجود دارد و نحوه عمل احتمالی آنها را در حیوان میزبان نشان می‌دهد.

باکتری	مکانیسم عمل پیشنهادی
Bacillus subtilus	Amylase
Bacillus subtilus	Protease
Bifidobacterium bifidum	Lactic and Formic acid
Bifidobacterium bifidum	Glycosidase
Bifdobacterium bifidum	Urease
Lactobacillus acidophilus	Acidophilin
Lactobacillus acidophilus	Glycosidase
Lactobacillus acidophilus	Lactic acid
Lactobacillus casei	Oxidation/reduction potential
Lactobacillus lactis	Amylase
Lactobacillus lactis	Hydrogen peroxide
Lactobacillus lactis	Protease
Streptococcus diacetyllactis	Acetic acid
Streptococcus diacetyllactis	Diacetyl,bile transformation

در نتیجه به قابلیت حل کربوهیدراتهای ساختمانی و غیرخام افزوده شده و سبب افزایش مصرف غذا بویژه غذاهای پایه علوفه می‌گردد. در یک آزمایش، محققین آلمانی ۱۰۰ گاو پر شیر را با جیره معمولی سیلوی ذرت و علوفه، همراه با کنسانتره «نگهدارنده یا متعادل کننده» و برای تولید بیش از ۱۴ کیلوگرم شیر در روز، کنسانتره «تولید» تغذیه نمودند. گروهی ازگاوها که در جیره‌شان افزودنی حاوی کشت مخمر وجود داشت افزایش تولید و همچنین افزایش پروتئین شیری معادل ۲۰/۷۵ کیلوگرم را در طول دوره شیردهی نشان دادند (جدول شماره ۶).

جدول ۵- اثر ناشی از تغذیه کشت *Aspergillus oryzae* بر روی تولید شیر (Kg/d از شیر ۳/۵٪ چربی)

روزهای شیردهی	کنترل	*Aspergillus oryzae*
۴۰-۹۰	۳۵/۶	۳۸/۹
۹۱-۱۲۰	۳۶/۱	۳۸/۲
۱۲۱-۱۵۰	۳۳/۳	۳۴/۷

نقش تویوسرین[11] در بهبود سلامتی و افزایش تولید

میکروفلور دستگاه گوارش حیوانات نقش مهمی در

تولید دام داشته و بعلاوه تأثیرات مستقیم و مثبتی بر روی تشکیل و جذب ویتامینها دارد. فلور دست نخورده همچنین عمل حمایت از بدن در مقابل عفونت را به عهده دارد. بنابراین میکروارگانیسمها اثر تعیین کننده‌ای بر روی وضعیت سلامتی حیوانات دارند. اخیراً" از تثبیت کننده‌های روده (gut stabilizers) بطور فزاینده‌ای در تغذیه دام و طیور برای کنترل این میکرفلور استفاده می‌شود. این افزودنیها که به نامهای پروبیوتیک، بیورگولاتور یا میکروبهای محرک رشد نامیده می‌شوند، ابتدا در سال ۱۹۷۴ بوسیله پارکر Parker به عنوان ارگانیسمها و موادی که به حفظ تعادل میکروبی روده کمک می‌کنند، معرفی شدند امروزه عمدتا" پروبیوتیکها را ارگانیسمهای زنده‌ای می‌دانند که به شکل افزودنیهای غذایی از طریق بهبود تعادل میکروبی روده اثرات مطلوبی بر روی دام میزبان می‌گذارد و استفاده از تویوسرین می‌تواند شیوه تأثیر پروبیوتیکها را روی دام وتولید آنها نشان دهد.

درشرایط عادی انواع مختلفی از باکتریها در فلور روده‌ای به حالت تعادل قرار دارند که این حالت را اُبیوزیس[12] می‌نامند. مشخصات این حالت یک فلور اولیه می‌باشد که ۹۰٪ کل فلور را تشکیل می‌دهد و عمدتا" حاوی باکتریهای مولد اسید لاکتیک و باکتری میله‌ای شکلی می‌باشد که اسیدهای چرب فرار را تولید می‌کند. فلور ثانویه عمدتا" حاوی انتروکوکوسها و *E. coli* می باشد که کمتر از ۱٪ فلور را تشکیل می‌دهد. باکتریهای دیگر مثل کلستریدیومها، استافیلوکوک، قارچها و گونه‌های پروتئوس، باقیمانده فلور را تشکیل می‌دهند. هر گونه تغییر در تعادل به نفع فلور ثانویه یا باقیمانده، بویژه در ابتدای روده کوچک سبب افزایش استرس، کاهش رشد، کاهش ضریب تبدیل و بالطبع کاهش تولید می‌گردد. در موارد متعددی انحراف شدید فلور ا ز حالت تعادل می‌تواند منجر به اسهال و افزایش خطر مرگ شود.(جدول ۷).

فلور روده بویژه در حیوانات جوان یک سیستم نسبتا" ناپایدار را نشان می‌دهد. عوامل استرس‌زایی از قبیل تغییر غذا و مکان، محیط و شرایط نگهداری پائین‌تر ازسطح معمول، تعداد متنابهی باکتری یا «دارو درمانی» می‌تواند تعادل را بر هم بزند و سبب افزایش نسبت فلور ثانویه بویژه باکتری *E. coli* گردد (شکل ۳). هنگامی که درصد بیشتری از این باکتریها در روده کوچک یعنی جائی که بطور طبیعی و (آنهم به مقدار کم) یافت می‌شوند، مستقر می گردند، یک مرحله بحرانی بوجود می‌آید. بدلیل افزایش آمونیاک، آمین‌ها و توکسینهای بیوژنیک حاصل از این باکتریها، دیوارهٔ روده تحت استرس بیشتری قرار می‌گیرد. این حالت مألا" منجر به تورم دیوارهٔ روده و تخریب بخشی از پرزهای روده‌ای، ضخیم شدن دیواره روده، افزایش نشت آب به درون مجاری روده و تشدید حرکات دودی می‌شود. عدم تعادل فلور جدا از اثرات زیان بار محصولات زائد حاصل از گونه‌های نامطلوب باکتری، موجب قوام ضعیف محتویات مدفوع نیز می‌گردد. به منظور جلوگیری یا تضعیف این قبیل اختلافات و عوارض، تثبیت کننده‌های فلور روده همچون تویوسرین مورد استفاده قرار می‌گیرد.

تویوسرین، فراورده‌ای تخمیری از شرکت ژاپنی Togo Jozo Ltd. می‌باشد که در آن میکروب باسیلوس تویویی *Bacillus.Toyoi* به شکل گسترده به میزان استاندارد شده‌ای وجود دارد. پس از طی مراحل تخمیر، اسپورها از میکروارگانیسمهای رونده یا رویان (vegetative) جدا می‌شوند. استاندارد اسپورهای شسته شده و خشک شده ممکن است تحت تأثیر کربنات کلسیم موجود در غذا رسوب نموده و تغییر نمایند.

برخلاف سایر پروبیوتیکهای رونده، محصولات حاوی اسپور این مزیت رادارند که غلاف پیرامون اسپور جرم درون خود را در برابر عوامل نامساعد فیزیکی و شیمیایی محافظت می‌نماید. بنابراین باعث افزایش متفاوت اسپور در طول تولید، انبار وتهیه مواد غذایی می‌گردد. به همین دلیل باکتری *B. toyoi* در تویوسرین منحصرا" به شکل اسپور عرضه می‌گردد و حرارت بالا و اسیدیته کم و زیاد هیچگونه تأثیری بر دوام آن نمی‌گذارند. به دلیل تحمل منحصر به فرد نسبت به حرارت زیاد، اسپورهای *B. toyoi* در غذاهایی که به صورت پلت تهیه می‌شوند به مصرف می‌رسد. پس از آنکه *B. toyoi* از طریق خوراک به مصرف دامها رسید، تحت تأثیر رطوبت روده، اسپورها جوانه زده به عنوان بخشی از فلور روده قد علم نموده و بر علیه باکتریهای پاتوژن فلورثانویه به مقابله بر می‌خیزد. تاکنون به درستی مشخص نگردیده است که آیا هنگامی که میکروبهای تحمیل شده به فلور به سادگی جایگزین باکتریهای نامطلوب می‌گردند یا نقاط مورد تهاجم *E. coli* بوسیله اشغال سلولهای جفت شونده (coupling cells) ویژه در مخاط دوازده کاهش می‌یابند و یا اسیدهای چرب فرار تولید می‌شوند. تیپ‌های خاصی از باکتریها بطور انتخابی مهار می‌شوند یا نه؟ با آزمایشهای انجام شده بر روی باکتری *B. toyoi* استریل می‌توان استنباط نمود که حداقل بخشی از اثر تویوسرین صرف تشکیل اسیدهای چربی می‌گردد که *E. coli* و برخی دیگر از باکتریها نسبت به آن حساس می‌باشند.

برای تضمین دائم اثر تثبیت کننده در داخل روده می‌بایست باکتریهای *B. toyoi* را بطور مداوم و مستمر از طریق غذا به مصرف دام رساند. ۷۲ ساعت پس از استفاده، باکتری را در مجرای روده و نه در مدفوع حیوان می‌توان مشاهده و ردیابی نمود (جدول ۸).

جدول ۶- مصرف خوراک و تولید شیر با استفاده ازکشت مخمر.

*خوراک مصرفی(کیلوگرم)	کنترل(کیلوگرم)	***کشت مخمر(کیلوگرم)
سیلوی ذرت	۵/۱۵	۵/۲۰
سیلوی علف	۷/۲۵	۷/۳۰
کنسانتره نگهداری	۲/۶۴	۲/۶۴
کنسانتره تولید	۶/۴۰	۶/۷۰
کل خوراک مصرفی	۲۱/۴۴	۲۱/۸۴
**تولید		
تولید شیر	۲۷/۹۰	۳۰/۰۳
تولید شیر کم چربی	۲۹/۳۶	۳۴/۲۷
چربی شیر تولیدی	۱/۱۷	۱/۳۷
پروتئین شیر تولیدی	۰/۹۱	۱/۰

*مصرف متوسط روزانه به ازاء ۱۵۰ روز شیردهی **تولید متوسط روزانه به ازاء ۱۵۰ روز شیردهی ***کشت مخمر از Alltech Inc.

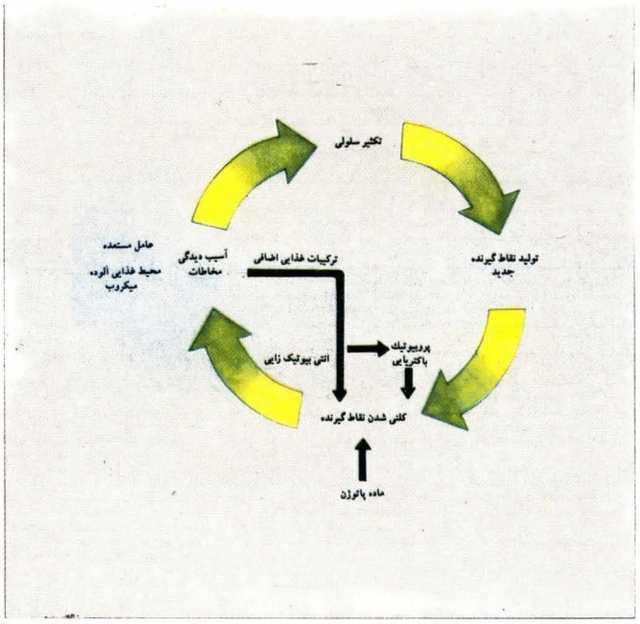
جدول ۷ - ۳۰۰ میلی‌گرم تویوسرین به ازای هر خوک ماده در روز در طول دوره شیردهی

اختلاف	نسبت مرگ و میر(درصد)		تعدادآزمایشات
	تویوسرین	کنترل	
-۲/۵	۱۱/۱	۱۳/۶	۱۲ مجموع
			طبقه‌بندی براساس مرگ و میر
+۰/۸	۷/۹	۷/۱	۳ کمتراز۱۰٪
-۲/۶	۱۰/۲	۱۲/۸	۵ ۱۰-۱۵٪
-۴/۷	۱۴/۷	۱۹/۴	۴ بیش از ۱۵٪

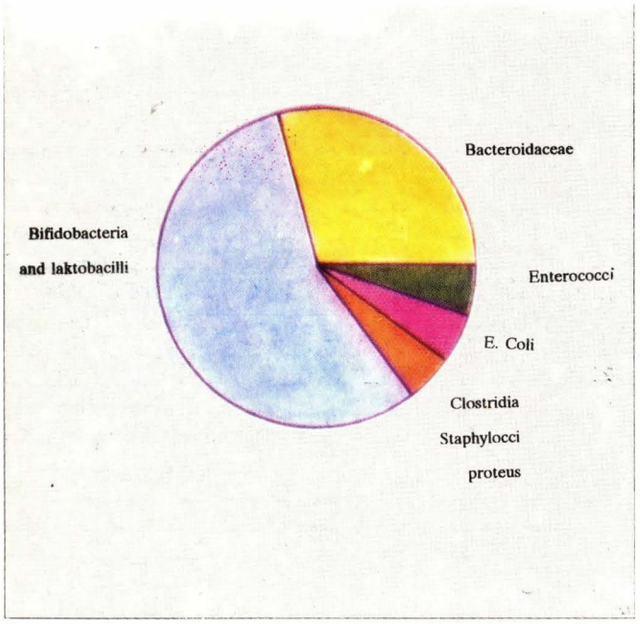
جدول ۸- اثر تویوسرین همراه با ویرجنیاماسین (VGN) بر روی نسبت مرگ و میر و قوام مدفوع خوکچه‌های تحت آزمایش

تویوسرین + VGN	تویوسرین	VGN	گروه
۵۰+۱۰۰ppm	۱۰۰ppm	۵۰ppm	دزاژ
۹۷	۹۸	۹۶	تعداد خوکچه‌ها
۹۶۴	۹۴۰	۱۰۰۵	تعداد خوکچه‌های متولد شده
۹۱۰	۸۸۰	۸۹۲	تعداد خوکچه‌های فروخته شده
***۵۴	**۶۰	۱۱۳	کل مرگ و میر
***۵/۶۰	**۶/۳۸	۱۱/۲۴	مرگ و میر(درصد)
			مبتلایان به اسهال
***۳۰	**۳۰	۴۴	در دوره شیردهی
***۳۰	**۶۰	۸۷	در دوره پرورش

** =p<0/01 ***=p<0/001



شکل ۲- ترکیب فلور روده در وضعیت یوبیوزیس



شکل ۳ - سلسله اتفاقاتی که بدنبال رشد بیش از حد *E.Coli* در روده کوچك و نهایتاً توسعه اسهال بوجود می‌آید.

پاورقی:

1-DFM = Direct Fed Microbial
2-Endospore
3-Pellet
4- Pedicocci
5-Leuconostoc
6-Bifidobacterium
7-Pectinase-Cellulase
8-Myotoxin
9-Mimosine
10-Leucaena
11-Toycerin
12-Eubiosis

منابع مورد استفاده:

1-Chesson, A., Use of Bacteria in Disease Control and Growth Promotion in Pigs and Poultry, Summaries of seminar Lectures on Antibacterials and Bacteria (SSLAB) ,Hanover, Germany, 1991.

2-Daeschel, M, A., Antimicrobial Substances from Lactic acid Bacteria for Use as food Preservatives food. Technol. 43:164,1989.

3-Fox.S., Probiotics: Intestinal inoculants for Production Animals. vet. Med. P. 806.August, 1988.

4-Kahrs, D,. Improving the Health and Performance of Sows and Piglets with Toyocerin, (SSLAB), Hanover,Germany, 1991.

5-Kung, L. Jr. Microbes and Enzymes, feed International.P.10-16. August 1990.

6-Lee, R. W. and Botts, R. L., Evaluation of single Oral Dosing and Continuous Feeding of Str. faceium M74 on the Performance of Incoming feedlot Cattle, J. Anim. Sci. 66.460 1988.

7-Mulder, R. W. A. W. Keeping Salmonella out of poultry End Products, Misset World Poultry vol.7 No.6. pp. 24-25,1991.

8-Mulder, R. W.A. W , Probiotics as a tool Against Salmonella Contamination, Misset World Poultry vol. 7, No. 3, pp. 36- 37, 1991.

9-Nguyen, T. H., Probiotics, A Nutritional Bioregulator, Misset World Poultry,vol.7 No.2, P.37, 1991.

10-Roberton, J.L., Compatibility Between Antibiotic and Probiotic, (SSLAB) Hanover, Germany, 1991.

11-Sissons, J. W., Potential of Probiotic Organisms to Prevent Diarrhoea and Promote Digestion in farm Animals, A. Review, S. Sci. Food Agric. 49:1,1989.

12-Sogaard, H. and Suhr Jessen, T., Beyond Lactic acid Bacteria, Feed International, PP. 32-38. April 1990.