

拟杆菌早期干预对大肠杆菌攻毒肉鸡肠道健康的影响

侯萌¹, 李嘉彤¹, 慎思¹, 曹忠正¹, 蒋瑞瑞^{1,2}, 康相涛^{1,2}, 田亚东^{1,2}, 宫玉杰^{1,2}

(1.河南农业大学动物科技学院, 河南 郑州 450046; 2.河南省鸡种质资源创新与利用重点实验室, 河南 郑州 450046)

摘要:【目的】探究拟杆菌 (*Bacteroides*) 早期干预对大肠杆菌攻毒肉鸡肠道健康的影响, 为促进绿色健康养殖提供新思路。【方法】以 150 只初出壳健康爱拔益加 (Arbor Acres, AA) 肉鸡雄性雏鸡为研究对象, 随机分为对照组 (第 1 日龄~第 8 日龄每天灌服生理盐水 0.5 mL)、大肠杆菌组 (第 1 日龄~第 7 日龄每天灌服生理盐水 0.5 mL, 第 8 日龄灌服禽致病性大肠杆菌菌悬液 0.5 mL 进行攻毒) 和拟杆菌组 (第 1 日龄~第 7 日龄每天灌服拟杆菌菌悬液 0.5 mL, 第 8 日龄灌服禽致病性大肠杆菌菌悬液 0.5 mL 进行攻毒)。在攻毒后的第 3 天 (第 10 日龄) 和第 14 天 (第 21 日龄), 每组随机挑选 8 只鸡进行屠宰采样, 对其生长性能、血清生化 and 抗氧化指标、血清炎症因子指标、肠道形态、肠道屏障相关基因的表达及肠道菌群进行测定。

【结果】拟杆菌早期干预对大肠杆菌攻毒肉鸡生长性能和免疫器官指数的影响并不显著; 显著提高肉鸡总抗氧化能力和血清中的超氧化物歧化酶活力, 改善肉鸡血清中炎症因子水平; 显著提高攻毒后第 3 天肉鸡空肠 *OCLN*、*CLDN3*、*ZO1*、*ZO2* mRNA 相对表达量, 回肠 *CLDN3*、*ZO1*、*ZO2* mRNA 相对表达量, 以及攻毒后第 14 天肉鸡空肠和回肠 *OCLN*、*CLDN3*、*ZO1*、*ZO2* mRNA 相对表达量; 同时使肉鸡盲肠菌群结构和相对丰度发生显著变化, 肉鸡盲肠中拟杆菌属的相对丰度提升, 而大肠杆菌志贺氏菌属 (*Escherichia Shigella*) 的相对丰度下降。【结论】拟杆菌早期干预显著改善了大肠杆菌攻毒肉鸡免疫调节能力, 同时可改变肉鸡肠道菌群的定植规律, 有效缓解大肠杆菌感染导致的机体损伤。

关键词: 拟杆菌; 禽致病性大肠杆菌; 肉鸡; 肠道健康; 免疫调节

中国分类号: S831.5 **文献标志码:** A

Effects of early intervention with *Bacteroides* on gut health in broilers challenged with *E.coli*

HOU Meng¹, LI Jiatong¹, SHEN Si¹, CAO Zhongzheng¹, JIANG Ruirui^{1,2}, KANG Xiangtao^{1,2}, TIAN Yadong^{1,2}, GONG Yujie^{1,2}

(1. College of Animal Science and Technology, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450046, China; 2. Henan Key Laboratory of Chicken Germplasm Resources Innovation and Utilization, Zhengzhou 450046, China)

Abstract: 【Objective】 This study aimed to investigate the alleviating effects of early intervention with *Bacteroides* on intestinal health in broilers challenged with *Escherichia coli* (*E.coli*), providing new insights for sustainable and healthy poultry farming. 【Method】 A total of 150 newly hatched healthy AA male broiler chicks were randomly divided into three groups: (1) Control group

收稿日期: 2025-03-04

基金项目: 河南省科技攻关项目 (242102110038); 河南农业大学科技创新基金科技协同创新专项 (2024CXZX009)

作者简介: 侯萌 (1999—), 男, 河南开封人, 硕士, 主要从事家禽肠道健康及微生物开发利用方面的研究, E-mail: hou_meng1999@163.com。

通信作者: 宫玉杰 (1992—), 女, 河南洛阳人, 讲师, 硕士生导师, 博士, E-mail: gongyj1118@163.com。

(gavaged daily with 0.5 mL physiological saline from day 1 to day 8); (2) *E.coli* group (gavaged daily with 0.5 mL physiological saline from day 1 to day 7, followed by a challenge with 0.5 mL avian pathogenic *E.coli* suspension on day 8); and (3) *Bacteroides* group (gavaged daily with 0.5 mL *Bacteroides* suspension from day 1 to day 7, followed by a challenge with 0.5 mL avian pathogenic *E.coli* suspension on day 8). At 3 days (10 days of age) and 14 days (21 days of age) post-challenge, 8 chickens per group were randomly selected for slaughter and sampling. Growth performance, serum biochemical and antioxidant indices, serum inflammatory cytokines, intestinal morphology, expression of intestinal barrier-related genes, and gut microbiota composition were analyzed. **【Result】** Early intervention with *Bacteroides* showed no significant effects on growth performance or immune organ indices in *E.coli* challenged broilers. However, it significantly enhanced total antioxidant capacity and serum superoxide dismutase activity, improved serum inflammatory cytokine levels, and upregulated mRNA expression of intestinal barrier-related genes (*OCLN*, *CLDN3*, *ZO1*, *ZO2*) in the jejunum and ileum at 3 and 14 days post-challenge. Additionally, *Bacteroides* intervention altered cecal microbiota composition, increasing the relative abundance of *Bacteroides* and reducing *Escherichia_Shigella* abundance. **【Conclusion】** Early intervention with *Bacteroides* significantly improved immune regulation in *E.coli* challenged broilers and reshaped gut microbiota colonization patterns, effectively alleviating pathogen-induced physiological damage. These findings highlight the potential of *Bacteroides* as a probiotic strategy for mitigating bacterial infections in poultry production.

Key words: *Bacteroides*; avian pathogenic *E.coli*; broiler; intestine health; immunoregulation

大肠杆菌是自然界中广泛存在的革兰氏阴性菌，其中，禽致病性大肠杆菌（avian pathogenic *E.coli*）是中国肉鸡养殖业中最常见的传染性致病细菌。禽致病性大肠杆菌传播速度快，发病迅速，治疗难度大，一旦感染该菌肉鸡会出现精神萎靡、缩颈闭目、食欲不振、饮食增加、腹泻等症状，严重时会导致死亡，且死亡率极高，给肉鸡养殖业带来了巨大的损失^[1]。相关研究表明，禽致病性大肠杆菌会显著降低肉鸡生产性能，且一旦在机体中定植后，便会裂解释放出内毒素、肠毒素等有害物质，引发免疫应激反应^[2-3]。此外，禽致病性大肠杆菌会增加肉鸡肠道通透性，破坏肠道黏膜，损伤肠道屏障功能，并通过自身释放的毒素和竞争性抑制等途径抑制有益菌的增殖，造成肠道菌群稳态失调^[4-6]。目前，针对禽致病性大肠杆菌的治疗多依赖于抗生素，而抗生素治疗虽能短期缓解症状，但长期使用易引发耐药性，且可能进一步破坏肠道菌群平衡^[7]。益生菌是一种对宿主有益的活性微生物，能够抑制胃肠道中病原菌增殖，在改善机体肠道健康等方面发挥着十分重要的作用^[8]。因此，寻找安全高效益生菌制剂来代替抗生素治疗禽致病性大肠杆菌已经成为当下的研究热点。同时，肉鸡肠道中最先定植的微生物会影响肠道菌群的进一步定植和发展，有助于刺激肠道屏障功能和免疫功能的发育。NAKPHAICHIT 等^[9]研究发现，在生命周期开始 7 d 内给肉鸡饲喂罗伊氏乳杆菌（*Lactobacillus reuteri*）对其肠道微生物的建立和成熟产生积极的影响。因此，通过益生菌对新生仔鸡进行早期干预，可以用来抑制致病菌在肠道中的定植发展。

拟杆菌（*Bacteroides*）作为肠道中含量最高的一类革兰氏阴性菌，其相对丰度约占肠道微生物总数的 25%^[10]。同时，作为肠道中固有的菌群，拟杆菌在维持肠道菌群的生态平衡中发挥着十分重要的作用^[11]。拟杆菌可以在肉鸡肠道中长期稳定定植并通过各种途径与宿主产生互作，是二代益生菌的主要候选菌群^[12]。拟杆菌在肠道中的相对丰度与其对宿主起到的益生功效息息相关，炎症性肠病患者肠道中拟杆菌属（*Bacteroides*）的相对丰度显著降低^[13-15]。因此，通过外源供给不同种类拟杆菌来缓解肠道炎症疾病的手段是近年来关于拟杆菌研究的热点。目前关于拟杆菌的研究多聚焦于人类、小鼠等哺乳动物中，例如普通拟杆菌

(*Bacteroides vulgatus*)可缓解脂多糖诱导的急性肠道损伤小鼠模型的相关病症,并恢复了其肠道菌群结构^[12],表明拟杆菌能有效缓解机体肠道炎症疾病;脆弱拟杆菌(*Bacteroides fragilis*)能够有效抑制阪崎克洛诺斯杆菌(*Cronobacter sakazakii*)对宿主的侵袭,恢复宿主肠道屏障功能、降低机体炎症因子水平^[16],表明拟杆菌能够有效改善致病菌的对机体产生的负面影响。但是,拟杆菌在家禽中还鲜少有相关研究。基于此,本试验以AA肉鸡为研究对象,在第1日龄~第7日龄用拟杆菌对雏鸡进行早期干预,保护并促进仔鸡肠道发育,于第8日龄时用禽致病性大肠杆菌对肉鸡进行攻毒,以此来探究拟杆菌早期干预对禽致病性大肠杆菌攻毒肉鸡肠道健康的影响,从而为进一步探究拟杆菌对肉鸡的益生功效及其后续作为益生菌的开发应用奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 菌株来源

禽致病性大肠杆菌(*Avian pathogenic E.coli*) O78 菌株(CVCC1556)购自中国兽医微生物种保藏中心。拟杆菌菌株(*Phocaeicola plebeius*)由河南农业大学动物科技学院地方鸡种质资源保护利用团队分离鉴定并保存。

1.2 试验菌株活化

拟杆菌活化:将保存于-80℃的拟杆菌菌株以体积分数2%的接种量接种于脑心浸液肉汤培养基(brain heart infusion broth, BHI)液体培养基中,37℃厌氧培养18 h后,划线接种于布氏琼脂血培养基表面,倒置平皿37℃厌氧培养48 h后,根据菌落形态挑取单菌落再次接种于BHI液体培养基中,37℃厌氧培养18 h,完成第一代活化,并连续活化两代。

禽致病性大肠杆菌活化:吸取0.5 mL的LB营养肉汤到安瓿中,待完全溶解后转移至LB营养肉汤中,在GS-30摇床(上海安达望科技有限公司)上37℃培养18 h后,将浑浊的菌液划线接种于LB营养琼脂表面,倒置平皿37℃培养20 h,根据菌落挑取单菌落再次接种于LB营养肉汤中,37℃摇菌培养18 h。

将上述活化后的菌株6 000 r·min⁻¹离心5 min后,重悬于无菌生理盐水中,分别制备拟杆菌菌悬液和禽致病性大肠杆菌菌悬液,并调节活菌数为3×10⁹ CFU·mL⁻¹。

1.3 试验设计

试验选取健康AA肉鸡初出壳雄性雏鸡150只,测定质量后随机分为3个处理组,每组50只。对照组(CON)为在第1日龄~第8日龄每天灌服生理盐水0.5 mL;大肠杆菌组(EC)为第1日龄~第7日龄每天灌服生理盐水0.5 mL,第8日龄灌服禽致病性大肠杆菌菌悬液0.5 mL进行攻毒;拟杆菌组(PCS)为第1日龄~第7日龄每天灌服拟杆菌菌悬液0.5 mL,第8日龄灌服禽致病性大肠杆菌菌悬液0.5 mL进行攻毒。

1.4 饲养管理

试验鸡只饲养于浙江省农业科学院动物实验中心禽SPF动物隔离饲养仓内,24 h光照。环境温度在第1日龄~第7日龄保持在34~35℃,随后每天递减1~2℃,直至26℃后保持稳定至试验结束。试验期间鸡只自由采食和饮水,人工投喂基础饲料。基础饲料参照NRC(1994)营养需要进行设计,营养水平参考《中国饲料成分及营养价值表》(第35版)进行测定和计算^[17]。饲料组成和营养成分见表1,代谢能为12.38 MJ·kg⁻¹。

表1 基础饲料组成及营养水平(风干基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of basal diets (air-dry basis)

饲料组成 Composition	质量分数/% Mass fraction	营养水平 Nutrient levels	质量分数/% Mass fraction
玉米 Corn	58.26	粗蛋白质 CP	21.00
豆粕 Soybean meal	34.62	钙 Ca	0.90

石粉 Limestone	1.17	有效磷 AP	0.35
磷酸氢钙 CaHPO ₄	1.20	赖氨酸 LyS	1.12
食盐 NaCl	0.30	苏氨酸 Thr	0.77
大豆油 Soybean oil	2.90	蛋氨酸+半胱氨酸 Met+Cys	0.83
L-赖氨酸盐酸盐 L-LyS·HCl	0.13		
蛋氨酸 Met	0.24		
L-苏氨酸 L-Thr	0.09		
预混料 Premix ¹⁾	1.00		
总计 Total	100.00		

注：预混料为每 kg 饲粮提供维生素 A 8 000 IU、维生素 D₃ 3 000 IU、维生素 E 20 IU、维生素 K₃ 2 mg、维生素 B₁ 4 mg、维生素 B₂ 3.6 mg、维生素 B₆ 4 mg、维生素 B₁₂ 0.02 mg、生物素 0.15 mg、烟酸 40 mg、泛酸 12 mg、叶酸 1 mg、胆碱 300 mg、铜元素 10 mg、铁元素 80 mg、锌元素 75 mg、锰元素 80 mg、碘元素 0.4 mg、硒元素 0.3 mg 和植酸 20 000 U。代谢能为计算值，其余均为实测值。

Note: Premixed feed provides vitamin A 8 000 IU, vitamin D₃ 3 000 IU, vitamin E 20 IU, vitamin K₃ 2 mg, vitamin B₁ 4 mg, vitamin B₂ 3.6 mg, vitamin B₆ 4 mg, vitamin B₁₂ 0.02 mg, biotin 0.15 mg, nicotinic acid 40 mg, pantothenic acid 12 mg, folic acid 1 mg, choline 300 mg, Cu 10 mg, Fe 80 mg, Zn 75 mg, Mn 80 mg, I 0.4 mg, Se 0.3 mg, phytase 20 000 U for every kilogram of feed. ME was a calculated value, while the others were measured values.

1.5 样品采集

在攻毒后的第 3 天（第 10 日龄，D3）和第 14 天（第 21 日龄，D14），每组随机挑选 8 只鸡进行屠宰采样，采样当天采样鸡只不进行灌胃。试验按照河南农业大学动物福利与研究伦理委员会批准的试验实践和标准进行（编号：HNND2024031807）。于翅静脉采集血液 10 mL，3 500 r·min⁻¹ 离心 10 min 制备血清。无菌采集空肠和回肠及盲肠内容物。取 1 cm 空肠于体积分数 4%多聚甲醛中固定，用于制备切片。采样前对鸡只进行空腹测定活体质量，采样后取得肝脏、脾脏、法氏囊、胸腺并测定质量，计算免疫器官指数，如式（1）所示。

$$Y=W_1/W_2\times 100\% \quad (1)$$

式中：Y 为免疫器官指数；W₁ 为器官质量；W₂ 为活体质量。

1.6 血清炎症因子及生化、抗氧化指标测定

血清白细胞介素-2（interleukin-2, IL-2）、白细胞介素-6（interleukin-6, IL-6）、白细胞介素-10（interleukin-10, IL-10）、干扰素-γ（interferon-γ, IFN-γ）、分泌性免疫球蛋白 A（secretory immunoglobulin A, sIgA）质量浓度及 D-乳酸（D-lactic acid, D-LA）浓度、血清总抗氧化能力（total antioxidant capacity, T-AOC）、血清超氧化物歧化酶（superoxide dismutase, SOD）酶活力通过试剂盒（南京建成生物技术有限公司）测定，测定方法参照试剂盒说明书。

1.7 肠道形态测定

经取样修整、脱水透明、浸蜡包埋、切片、脱蜡、苏木精-伊红染色（hematoxylin-eosin staining, HE）染色等步骤，对空场形态进行测定，每个样本切片做 3 个重复。切片扫描后，应用 Image-Pro Plus 6.0 软件以 200 倍标尺（200 μm）为标准进行拍照分析绒毛高度（villus height, V）和隐窝深度（crypt depth, C），计算绒毛高度与隐窝深度的比值（villus height/crypt depth, V/C）。

1.8 肠道相关基因表达测定

提取肉鸡空肠和回肠样品总 RNA，以 RNA 为模板，利用反转录试剂盒（南京诺唯赞生物科技股份有限公司）说明书合成 cDNA，再选取 GAPDH 为内参基因，根据 ChamQ SYBR qPCR Master Mix（南京诺唯赞生物科技股份有限公司）试剂说明书配置反应体系，使用嵌

合荧光法进行实时荧光定量 PCR，检测空肠和回肠紧密连接蛋白 OCLN、CLDN1、CLDN3、ZO1、ZO2 及黏蛋白 MUC2 的 mRNA 的表达。每个样本设置 3 个复孔，采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算基因相对表达量。涉及基因引物序列见表 2。

表 2 荧光定量 PCR 引物

Table 2 Primers used for real-time PCR				
基因	登录号	引物	核酸序列（5'—3'）	引物大小/bp
Gene	Accession number	Primer	Sequence of nucleotide	Size
GAPDH	NM_204305.2	F	CAGAACATCATCCCAGCGTCCAC	134
		R	CGGCAGGTCAGGTCAACAACAG	
OCLN	NM_205128.1	F	AGCATCAACGACCGCCTCAATC	148
		R	TGCTCTCCTGCTTCTTGCTTTGG	
CLDN1	NM_001013611.2	F	GACCAGGTGAAGAAGATGCGGATG	107
		R	CGAGCCACTCTGTTGCCATACC	
CLDN3	NM_204202.2	F	ATGCAGTGCAAGGTGTACGA	177
		R	GACGATGGTGATCTTGGCCT	
ZO1	XM_040706827.2	F	GCCTACTGCTGCTCCTTACAACCTC	129
		R	GCTGGATCTATATGCGGCGGTAAG	
ZO2	NM_001396726.1	F	GCAGTGATGGAGAGGAGGAGGAG	87
		R	TGTATCTGGGTGGCTGTCCGTAG	
MUC2	XM_040701656.2	F	GGTGAGTCATGGTGGCTGTGTAAC	85
		R	CATTGGAGCAGGTGGGTTTAGGAG	

1.9 盲肠内容物 16S rRNA 测序

使用 QIAamp DNA Stool Mini Kit 试剂盒提取盲肠内容物中的微生物总 DNA，用带有 Barcode 的特异引物 341F：CCTACGGGNGGCWGCAG 和 806R：GGACTACHVGGGTATCTAAT，对细菌基因 16S rDNA 的 V3~V4 区进行扩增。将 PCR 扩增产物切胶回收，用 QuantiFluor™ 荧光计进行定量。将纯化的扩增产物进行等量混合，连接测序接头，构建测序文库，Illumina PE250 上机测序。得到 Raw Reads 之后，采用 DADA2 算法（Divisive amplicon denoising algorithm）软件进行数据过滤、质控，聚类单碱基精度的扩增子序列变体（Amplicon sequence variants, ASV）。获得 ASV 后，利用 Qiime 软件计算 Chao1 指数、香农指数，并进行主坐标分析（principal co-ordinates analysis, PCoA）即进行 α 多样性分析、 β 多样性分析。基于分类学信息，在门和属水平上对肉鸡盲肠内容物菌群结构进行统计与分析。基于 LDA 评分大于 3.5 和 FDR 校正后的 $p < 0.01$ 为判定标准，对肉鸡盲肠菌群进行 LefSe 分析。

1.10 统计分析

先使用 Excel 2019 对数据进行初步整理；采用 IBM SPSS Statistics 27 一般线性模型（General linear model, GLM）进行完全随机设计的单因素方差分析，采用 Tukey 法进行多重比较差异显著性检验，结果表示为“平均值±标准误”， $p < 0.05$ 时在统计学意义上差异显著；使用 GraphPad Prism 10.1.2 软件对数据进行可视化处理。

2 结果与分析

2.1 拟杆菌早期干预对大肠杆菌攻毒肉鸡生长性能和免疫器官指数的影响

由表 3 可知，在攻毒后的第 3 天（第 10 日龄）和第 14 天（第 21 日龄），CON 组、EC 组和 PCS 组之间肉鸡的活体质量没有显著差异，免疫器官指数（肝脏指数、脾脏指数、法氏囊指数、胸腺指数）没有显著差异。这表明拟杆菌早期干预对大肠杆菌攻毒肉鸡生长性能

影响并不显著。

表 3 拟杆菌早期干预对大肠杆菌攻毒肉鸡生长性能和免疫器官指数的影响

Table 3 Effect of early intervention with *Bacteroides* on Growth Performance and Immune Organ Indices in *E.coli* challenged broilers

项目 Items	时间 Time	组别 Group		
		CON	EC	PCS
体质量/g	D3	212.411±9.108 a	229.279±4.794 a	223.396±8.128 a
Body weight	D14	647.153±13.929 a	686.688±14.109 a	669.830±17.474 a
肝脏指数	D3	3.235±0.152 a	3.114±0.167 a	3.723±0.282 a
Liver index	D14	2.667±0.081 a	2.317±0.118 a	2.368±0.112 a
脾脏指数	D3	0.093±0.010 a	0.089±0.007 a	0.116±0.007 a
Spleen index	D14	0.083±0.006 a	0.080±0.004 a	0.089±0.007 a
法氏囊指数	D3	0.166±0.017 a	0.186±0.010 a	0.200±0.012 a
Bursa of Fabricius index	D14	0.147±0.017 a	0.193±0.014 a	0.201±0.017 a
胸腺指数	D3	0.119±0.001 a	0.149±0.009 a	0.151±0.013 a
Thymus index	D14	0.128±0.016 a	0.123±0.011 a	0.117±0.013 a

注：同行数据不同小写字母表示差异显著 ($p<0.05$)。D3、D14 分别表示禽致病性大肠杆菌攻毒后的第 3 天（第 10 日龄）和第 14 天（第 21 日龄）。下同。

Note: In the same row values with different small letter superscripts mean significant difference ($p<0.05$). D3 and D14 denote the 3rd and 14th days post-challenge with APEC (10th day of age and 21st day of age). The same as below

2.2 拟杆菌早期干预对大肠杆菌攻毒肉鸡免疫性能的影响

2.2.1 拟杆菌早期干预对大肠杆菌攻毒肉鸡血清生化和抗氧化指标的影响 各处理组血清生化和抗氧化指标结果如表 4 所示。在攻毒后的第 3 天（第 10 日龄），EC 组的肉鸡 T-AOC 显著低于 CON 组，PCS 组的 T-AOC 虽然与 EC 组之间没有显著差异，但相较于 EC 组有所增大；EC 组的 SOD 水平相较于 CON 组没有显著差异但有所下降，PCS 组肉鸡的 SOD 水平显著高于 EC 组；EC 组的 D-LA 浓度显著高于 CON 组，且 PCS 组的 D-LA 水平相较于 EC 组有所下降。在攻毒后的第 14 天（第 21 日龄），相较于 EC 组，PCS 组肉鸡血清中的 SOD 水平显著提高，而 D-LA 水平显著下降。

表 4 拟杆菌早期干预对大肠杆菌攻毒肉鸡血清生化抗氧化指标的影响

Table 4 Effect of early intervention with *Bacteroides* on serum biochemical and antioxidant indices in *E.coli* challenged broilers

项目 Items	时间 Time	组别 Group		
		CON	EC	PCS
总抗氧化能力/ (mmol·L ⁻¹)	D3	0.76±0.04 a	0.62±0.03 b	0.69±0.02 ab
T-AOC	D14	0.84±0.04 a	0.70±0.03 a	0.78±0.04 a
超氧化物歧化酶酶活力/ (U·mL ⁻¹)	D3	2.21±0.11 b	2.07±0.11 b	3.41±0.13 a
SOD enzyme activity	D14	41.85±1.49 b	41.05±1.25 b	58.42±1.21 a

D-乳酸浓度/ (mmol·L ⁻¹)	D3	0.16±0.01 b	0.35±0.02 a	0.33±0.01 a
D-LA concentration	D14	0.63±0.04 a	0.67±0.04 a	0.43±0.02 b

2.2.2 拟杆菌早期干预对大肠杆菌攻毒肉鸡血清炎症因子的影响 如表 5 所示，在攻毒后第 3 天（第 10 日龄）和第 14 天（第 21 日龄），EC 组肉鸡血清中的 IL-2、IL-6 及 IFN- γ 水平都显著高于 CON 组，IL-10 和 sIgA 水平都显著低于 CON 组。此外，在攻毒后的第 3 天（第 10 日龄），与 EC 组相比，PCS 组肉鸡血清中的 IL-10 和 sIgA 水平显著升高，IL-2、IL-6、IFN- γ 水平显著降低。在攻毒后的第 14 天（第 21 日龄），PCS 组肉鸡血清中的 IL-2、IL-6 及 IFN- γ 水平显著低于 EC 组，IL-10、sIgA 水平显著高于 EC 组。

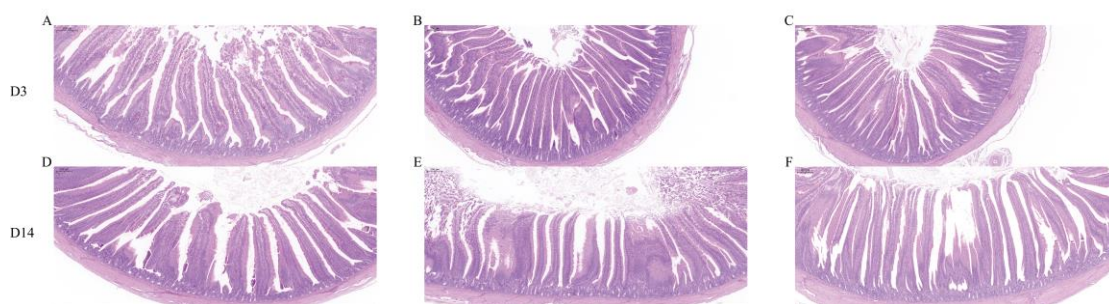
表 5 拟杆菌早期干预对大肠杆菌攻毒肉鸡血清细胞因子的影响

Table 5 Effect of early intervention with *Bacteroides* on serum IVA on cytokine levels in *E.coli* challenged broilers

质量浓度/ (ng·L ⁻¹)	时间 Time	组别 Group		
		CON	EC	PCS
血清白细胞介素-2	D3	172.61±7.72 c	393.11±8.15 a	305.18±8.84 b
IL-2 mass concentration	D14	157.81±7.70 c	346.56±7.46 a	262.39±8.58 b
白细胞介素-6 质量浓度)	D3	18.90±0.51 c	43.25±0.75 a	31.39±0.68 b
IL-6 mass concentration	D14	15.80±0.58 c	37.36±0.60 a	28.22±0.58 b
白细胞介素-10 质量浓度	D3	93.37±1.13 a	53.74±1.02 c	73.41±1.04 b
IL-10 mass concentration	D14	78.81±1.12 a	39.34±0.98 c	60.01±1.10 b
干扰素-γ 质量浓度	D3	283.92±4.90 c	423.08±4.83 a	364.02±5.05 b
IFN-γ mass concentration	D14	201.93±3.62 c	344.95±3.72 a	276.97±5.26 b
分泌性免疫球蛋白 A 质量浓度	D3	1 541.43±56.03 b	1 165.37±53.47 c	2 061.82±50.64 a
sIgA mass concentration	D14	1 374.08±52.88 b	1 069.73±48.55 c	1 661.76±51.43 a

2.3 拟杆菌早期干预对大肠杆菌攻毒肉鸡肠道屏障的影响

2.3.1 拟杆菌早期干预对大肠杆菌攻毒肉鸡空肠形态的影响 由图 1 和表 6 可知, 在攻毒后的第 3 天 (第 10 日龄), 相对于 CON 组, EC 组肉鸡空肠的隐窝高度显著提升, 绒毛高度显著下降, 而 PCS 组肉鸡空肠绒毛高度相较于 EC 组显著升高。攻毒后的第 14 天 (第 21 日龄), PCS 组肉鸡空肠绒毛高度和绒毛比相较于 EC 组有所增大。



A、D 为 CON 组, B、E 为 EC 组, C、F 为 PCS 组

A and D represent the CON group, B and E represent the EC group, C and F represent the PCS group.

D3、D14 分别表示禽致病性大肠杆菌攻毒后的第 3 天 (第 10 日龄) 和第 14 天 (第 21 日龄)。下同。

D3 and D14 denote the 3rd and 14th days post-challenge with APEC (10 and 21 days of age). The same as below.

图 1 拟杆菌早期干预对大肠杆菌攻毒肉鸡空肠形态的影响

Fig. 1 Effect of early intervention with *Bacteroides* on jejunal morphology in *E.coli* challenged broilers

表 6 拟杆菌早期干预对大肠杆菌攻毒肉鸡空肠形态的影响

Table 6 Effect of early intervention with *Bacteroides* on jejunal morphology in *E.coli* challenged broilers

项目 Items	时间 Time	组别 Group		
		CON	EC	PCS
绒毛高度/ μm	D3	911.30 $\pm$ 19.55 b	1 025.10 $\pm$ 26.48 a	1 099.58 $\pm$ 22.20 a
Villus height	D14	1 192.72 $\pm$ 22.67 b	1 380.23 $\pm$ 23.36 a	1 393.82 $\pm$ 13.25 a
隐窝深度/ μm	D3	96.72 $\pm$ 2.08 c	173.40 $\pm$ 5.62 a	115.33 $\pm$ 3.68 b
Crypt depth	D14	121.34 $\pm$ 9.17 a	131.71 $\pm$ 3.26 a	124.82 $\pm$ 3.84 a
绒毛高度/隐窝深度	D3	9.45 $\pm$ 0.34 a	5.96 $\pm$ 0.31 b	9.57 $\pm$ 0.26 a
Villus height/Crypt depth	D14	10.05 $\pm$ 0.75 a	10.52 $\pm$ 0.34 a	11.22 $\pm$ 0.38 a

2.3.2 拟杆菌早期干预对大肠杆菌攻毒肉鸡空肠黏蛋白和紧密连接蛋白转录水平的影响 如图 2 所示, 攻毒后的第 3 天 (第 10 日龄), PCS 组肉鸡空肠 *OCLN*、*CLDN3*、*ZO1* 及 *ZO2* mRNA 的相对表达量显著高于 EC 组, *CLDN3* 和 *MUC2* mRNA 相对表达量也有增高趋势。攻毒后的第 14 天 (第 21 日龄), EC 组的肉鸡空肠 *CLDN1* 和 *ZO2* mRNA 的相对表达量相较于 CON 组有下降趋势, PCS 组肉鸡空肠 *OCLN*、*CLDN3*、*ZO1* 以及 *ZO2* mRNA 的相对表达量显著高于 EC 组。

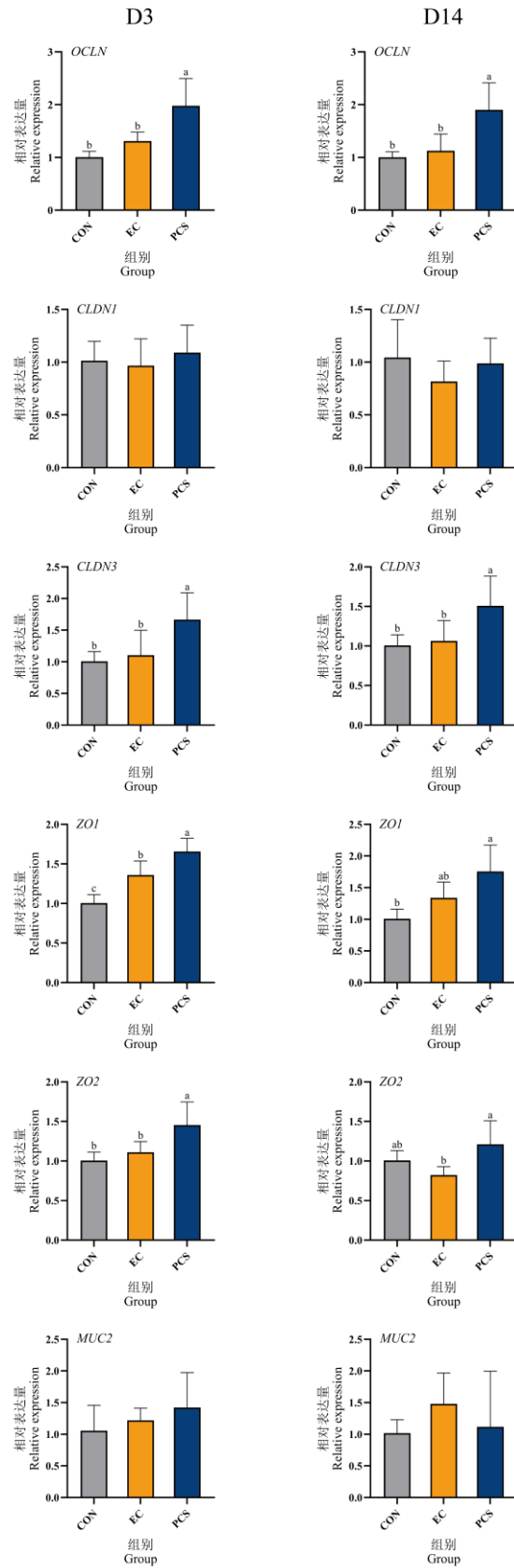


图 2 拟杆菌早期干预对大肠杆菌攻毒肉鸡空肠屏障相关基因表达的影响

Fig. 2 Effect of early intervention with *Bacteroides* on expression of genes related to jejunal barrier function in *E. coli* challenged broilers

注：不同小写字母表示在统计学意义上差异显著 ($p<0.05$)。下同。

Note: Values columns with different small letter mean significant difference ($p<0.05$) . The same as below.

2.3.3 拟杆菌早期干预对大肠杆菌攻毒肉鸡回肠黏蛋白和紧密连接蛋白转录水平的影响 如图 3 所示，攻毒后的第 3 天（第 10 日龄），EC 组的肉鸡回肠 *ZO2* 和 *MUC2* mRNA 的相对表达量相较于 CON 组有下降趋势，PCS 组肉鸡回肠 *CLDN3*、*ZO1* 以及 *ZO2* mRNA 的相对表达量显著高于 EC 组。攻毒后的第 14 天（第 21 日龄），EC 组的肉鸡空肠 *CLDN1*、*CLDN3* 和 *ZO2* mRNA 的相对表达量相较于 CON 组有下降趋势，PCS 组肉鸡回肠 *OCLN*、*CLDN3*、*ZO1*、*ZO2* 以及 *MUC2* mRNA 的相对表达量显著高于 EC 组。

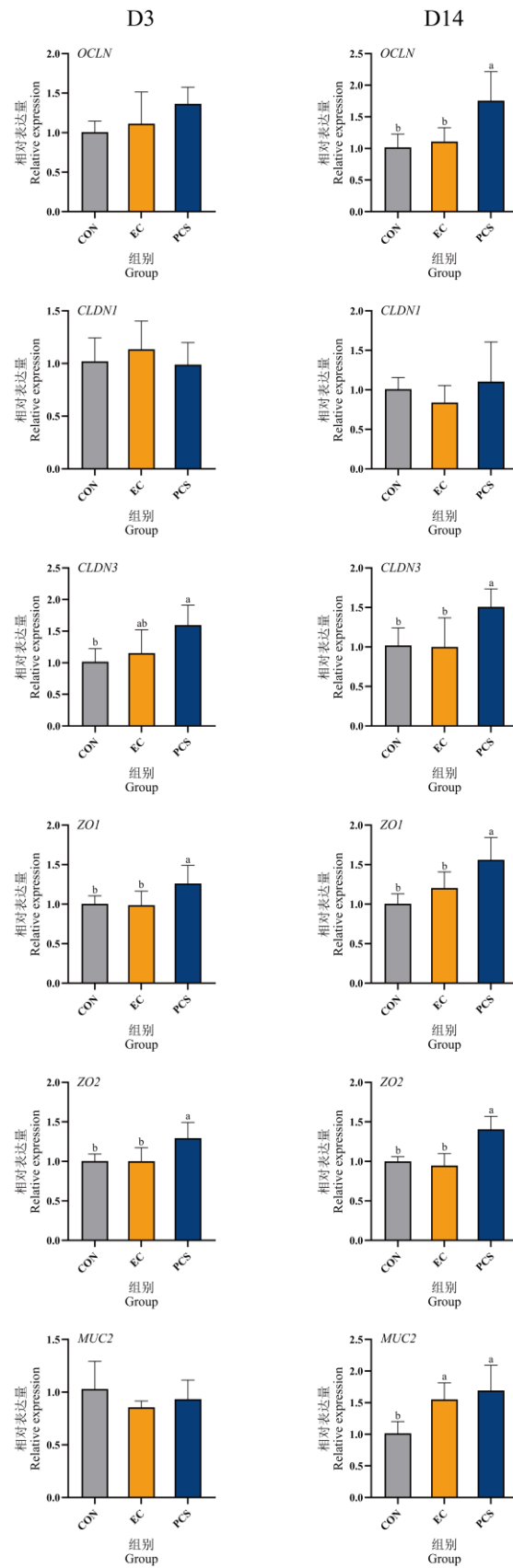
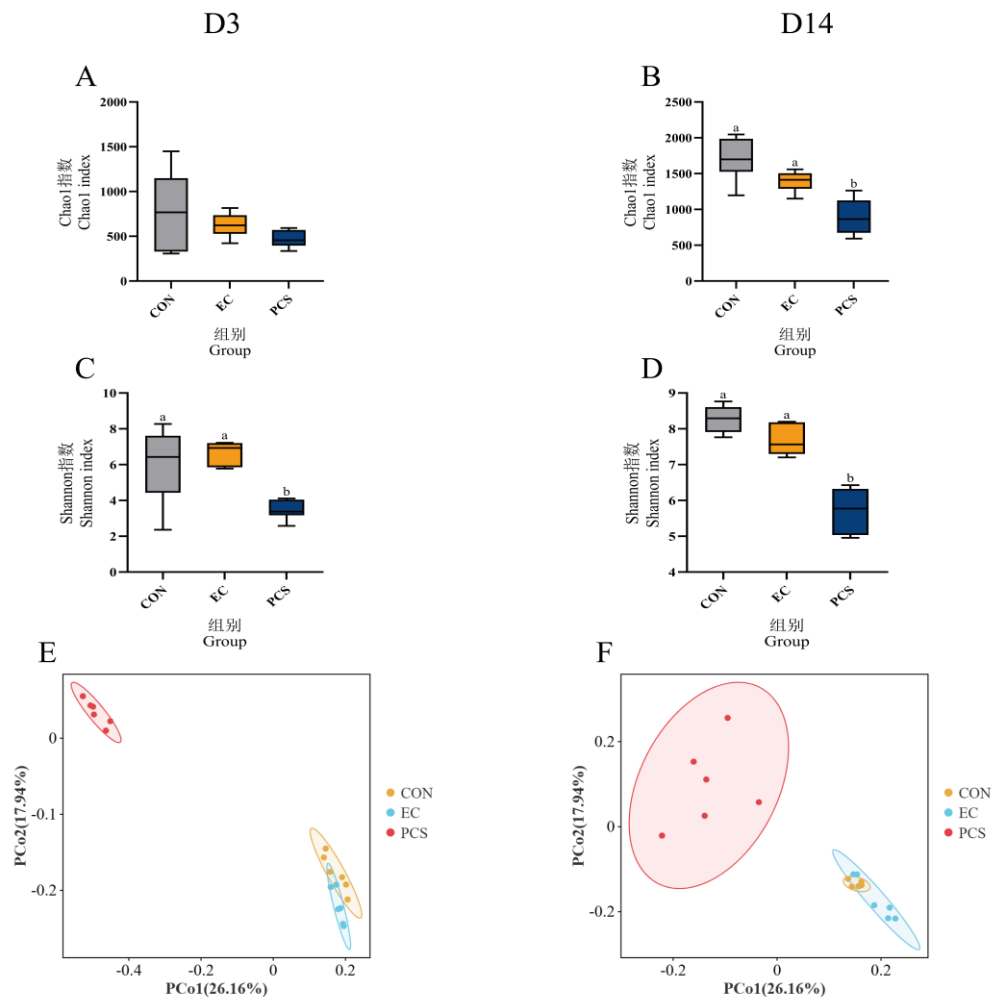


图 3 拟杆菌早期干预对大肠杆菌攻毒肉鸡回肠屏障相关基因表达的影响

Fig. 3 Effect of early intervention with *Bacteroides* on expression of genes related to ileum barrier fuction *E.coli* challenged broilers

2.4 拟杆菌早期干预对大肠杆菌攻毒肉鸡盲肠微生物的影响

2.4.1 肉鸡盲肠菌群多样性分析 由图 4 可知， α 多样性分析显示，在攻毒后第 3 天和第 14 天，EC 组的肠道菌群丰富度相较于 CON 组有所下降，而 PCS 组的肠道微生物丰富度相对于 EC 组有所下降。在攻毒后第 3 天，EC 组的 Chao1 指数与 CON 组虽然没有显著差异，但有下降趋势，PCS 组的 Shannon 指数显著低于 EC 组，而 Chao1 指数无明显差异；在攻毒后第 14 天 PCS 组的 Chao1、Shannon 指数均低于 EC 组。而 β 多样性分析显示，攻毒后第 3 天，EC 组与 CON 组的样本间距比攻毒后第 14 天的样本间距明显较大，说明大肠杆菌攻毒对肉鸡盲肠菌群产生了一定的影响，在攻毒后第 14 天有所恢复。在攻毒后第 3 天和第 14 天 PCS 组与 EC 组样本间距较大，说明拟杆菌处理后，肉鸡盲肠菌群结构发生了显著变化。



A-D 为 α 多样性分析，E、F 为 β 多样性分析

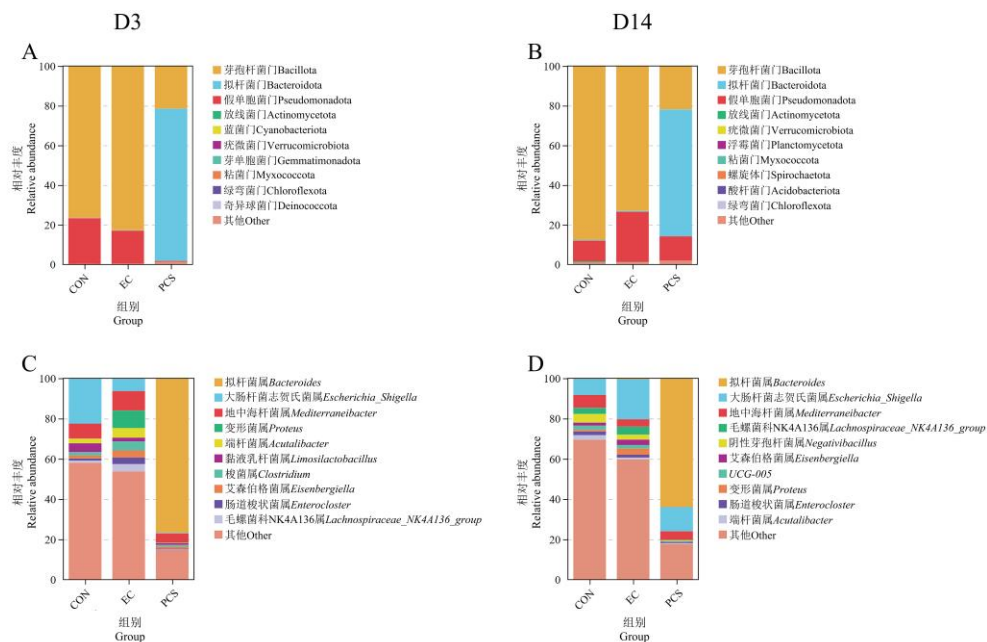
A-D represent α diversity analysis, E and F represent β diversity analysis.

图 4 拟杆菌早期干预对大肠杆菌攻毒肉鸡盲肠菌群多样性分析

Fig. 4 Effect of early intervention with *Bacteroides* on cecal microbial diversity in *E. coli* challenged broilers

2.4.2 肉鸡盲肠菌群相对丰度分析 由图 5 可知，在门水平上，攻毒后第 3 天 CON 组和 EC 组肉鸡盲肠菌群中最丰富的门是芽孢杆菌门（Bacillota，旧名：厚壁菌门），其次是假单胞菌门（Pseudomonadota，旧名：变形菌门）。而 PCS 组的肉鸡盲肠菌群中最丰富的菌门为拟杆菌门（Bactroidota），占肠道菌群总数的 76.39%，证明拟杆菌处理后，肉鸡盲肠菌群相对丰度发生了显著变化；攻毒后第 14 天，CON 组和 EC 组肉鸡盲肠菌群中芽孢杆菌门仍然最为丰富，其中 CON 组的芽孢杆菌门相对丰度有所上升，而 EC 组的芽孢杆菌门相对丰度有所

下降, PCS 组的肉鸡盲肠菌群中最丰富的菌门仍然是拟杆菌门, 但其相对丰度有所下降。在属水平上, 攻毒后第 3 天 CON 肉鸡盲肠菌群丰富度最高的菌属为大肠杆菌志贺氏菌属 (*Escherichia_Shigella*) 其次是地中海杆菌属 (*Mediterraneibacter*) 和黏液乳杆菌属 (*Limosilactobacillus*), EC 组中丰富度最高的菌属为地中海杆菌属, 其次是大肠杆菌志贺氏菌属、变形菌属 (*Proteus*); PCS 组中丰富度最高的菌属为拟杆菌属, 其占肠道菌群总数的 76.40%, 其次是地中海杆菌属, 而大肠杆菌志贺氏菌属的细菌在肉鸡盲肠菌群中的占比仅为 0.76%。攻毒后第 14 天 CON 肉鸡盲肠菌群相对丰度相较于第 3 天基本没有变化, 仍然是大肠杆菌志贺氏菌属的细菌最多, 其次是地中海杆菌属; 而 EC 组中相对丰度最高的菌属转变为大肠杆菌志贺氏菌属, 地中海杆菌属的相对丰度有所下降; PCS 组相对丰度最高的菌属仍然是拟杆菌属, 但是相对丰度有所下降, 大肠杆菌志贺氏菌属的相对丰度有所上升, 成为盲肠中第二多的菌属。



A、B 为门水平肠道微生物相对丰度, C、D 为属水平肠道微生物相对丰度

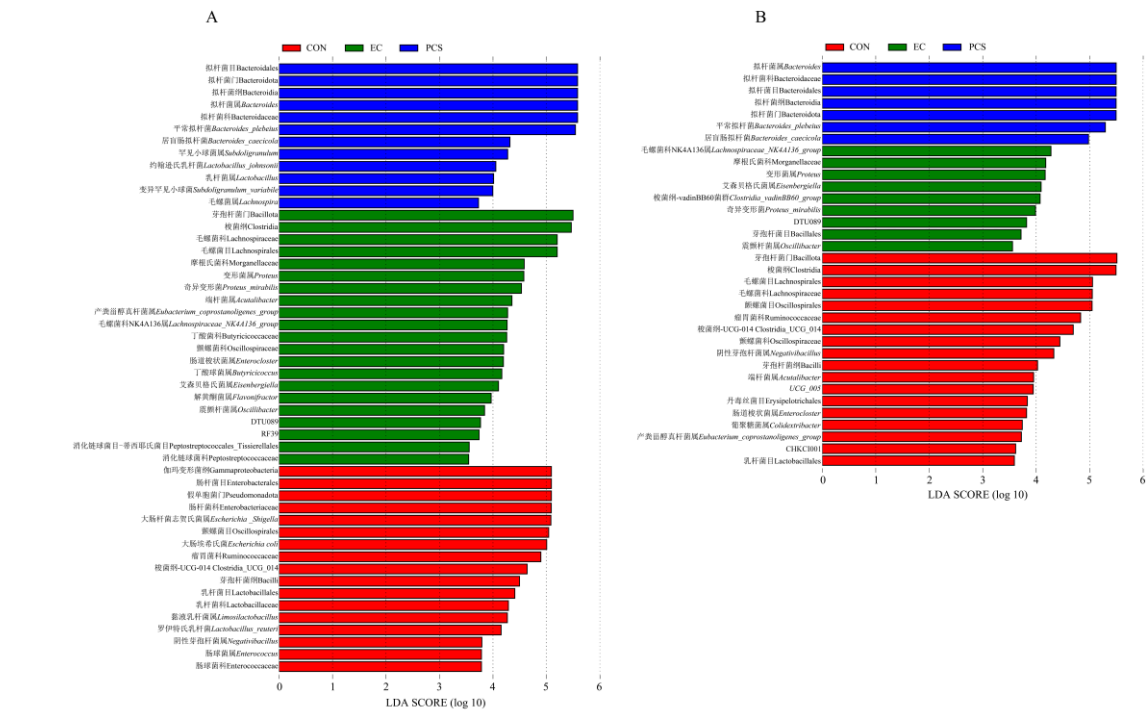
A and B represent the relative abundance of intestinal microorganisms at the phylum level, C and D the relative abundance of intestinal microorganisms at the genus level.

图 5 拟杆菌早期干预对大肠杆菌攻毒肉鸡门水平和属水平盲肠菌群结构组成的影响

Fig. 5 Effect of early intervention with *Bacteroides* on cecal microbiota structure of broilers of phylum and genus in *E.coli* challenged broilers

2.4.3 肉鸡盲肠菌群 LefSe 分析 从图 6 中可知, 攻毒后第 3 天 CON 组、EC 组以及 PCS 组中, 分别有 17、21、12 个细菌类群显著不同。攻毒后第 14 天 CON 组、EC 组以及 PCS 组中, 分别有 18、9、7 个细菌类群显著不同。表明不同处理之间的盲肠菌群分类存在明显差异。攻毒后第 3 天, PCS 组的拟杆菌属、拟杆菌科 (*Bacteroidaceae*)、平常拟杆菌 (*Bacteroides plebeius*) 以及居盲肠拟杆菌 (*Bacteroides caecicola*) 等是其盲肠中的标志性细菌, 它们都属于拟杆菌门; EC 组的梭菌纲 (*Clostridia*)、毛螺菌科 (*Lachnospiraceae*)、毛螺菌目 (*Lachnospirales*) 等是标志性细菌; CON 组伽马变形菌纲 (*Gammaproteobacteria*)、肠杆菌目 (*Enterobacterales*)、假单胞菌门、肠杆菌科 (*Enterobacteriaceae*)、大肠杆菌志贺氏菌属等是标志性细菌。攻毒后第 14 天, PCS 组标志菌群基本没有变化, 同样是拟杆菌属、拟杆菌科、平常拟杆菌以及居盲肠拟杆菌; EC 组毛螺菌科 NK4A136 属 (*Lachnospiraceae_NK4A136_group*)、摩根氏菌科 (*Morganellaceae*)、变形菌属、艾森贝格

氏菌属 (*Eisenbergiella*) 丰度提高, 成为标志性细菌; CON 组中梭菌纲、毛螺菌目、毛螺菌科、颤螺菌目 (*Oscillospirales*) 的发展为标志性细菌。



A 为攻毒后第 3 天菌群指示物种; B 为攻毒后第 14 天菌群指示物种

A represents indicator species of microbiota at 3 days post-challenge; B represents indicator species of microbiota at 14 days post-challenge.

图 6 拟杆菌早期干预对大肠杆菌攻毒肉鸡盲肠菌群指示物种的影响

Fig. 6 Effect of early intervention with *Bacteroides* on indicator species of cecal microbiota in *E.coli* challenged broilers

3 结论与讨论

大量研究表明, 当宿主感染致病性微生物而引起一系列病症时, 通常伴随着肠道菌群的波动甚至失调, 通过对机体进行益生菌处理可以有效抵御宿主感染病原微生物^[18-19]。而拟杆菌作为肠道共生菌群中的核心成员, 其在调节宿主肠道稳态、抑制病原菌定植及调控免疫反应中的作用已被广泛关注。基于此, 本研究以初出壳 AA 肉鸡雄雏肉仔鸡为研究对象, 并在其出壳后 2 h 内, 通过拟杆菌对肉鸡进行早期干预, 并使用大肠杆菌进行攻毒处理, 发现拟杆菌早期干预虽然对肉鸡感染大肠杆菌后的生长性能没有显著影响, 但可显著改善肉鸡机体免疫调节功能, 并修复肉鸡肠道屏障的损伤、增加肠道免疫性能, 以及减少肉鸡盲肠中有害菌的增殖, 从而改善肉鸡肠道健康水平。同时, 上述指标共同来印证了拟杆菌对大肠杆菌感染肉鸡所造成的影响。

动物血清的生化和抗氧化指标是反映其机体状态的重要指标^[20]。T-AOC 是衡量机体整体抗氧化防御系统功能的综合指标, 是机体中多种抗氧化成分协同作用能力总的体现^[21-22]。SOD 是机体核心抗氧化酶, 可清除超氧自由基、抑制过氧化反应。本试验中, 在攻毒后的第 3 天, 攻毒组肉鸡血清中的 T-AOC 水平显著低于对照组, SOD 水平也有下降趋势, 而拟杆菌组肉鸡血清中的 T-AOC 水平与对照组无显著差异, SOD 水平显著提高, 攻毒后的第 14 天同样有这种趋势。证明肉鸡感染大肠杆菌后, 机体产生了氧化应激反应, 而拟杆菌早期干预可以减轻肉鸡的氧化应激。而相关研究表明, 有些益生菌可以改善机体的抗氧化能力, 与

本试验结果一致^[23-24]。此外, 机体胃肠道中的多种微生物可释放产生 D-LA^[25], 当机体肠黏膜通透性增加时, 肠道中微生物所产生的 D-LA 就会进入血液, 因此血清中的 D-LA 水平可以反映肠道屏障的损伤情况^[26]。在攻毒后的第 14 天, 拟杆菌组肉鸡血清中的 D-LA 水平显著低于对照组和攻毒组, 同时攻毒组的 D-LA 相对于对照组也有升高趋势, 这个结果可以证明大肠杆菌会对肉鸡肠道屏障功能造成损伤, 拟杆菌可以降低肉鸡肠道的通透性, 改善肠道屏障功能。

血清中的炎症因子是一类由免疫细胞或非免疫细胞分泌的蛋白质或多肽, 广泛参与炎症反应、免疫调节及组织修复等过程, 可以在一定程度上反应机体的健康状况, 根据功能可分为促炎因子和抗炎因子。本研究中涉及的 IL-2、IL-6 以及 IFN- γ 为促炎因子, IL-10 为抗炎因子。攻毒后的第 3 天, 与对照组相比, 虽然拟杆菌组肉鸡血清中 IL-2、IL-6 以及 IFN- γ 水平显著升高, IL-10 水平显著降低, 但其 IL-2、IL-6 以及 IFN- γ 水平显著低于攻毒组, IL-10 水平显著高于攻毒组; 攻毒后第 14 天, 上述指标在三组间的差异情况与攻毒后第 3 天一致。sIgA 在机体免疫调节过程中有着重要的作用, 是机体抵抗疾病的第一道防线, 同时具有维持肠道菌群稳态的作用。在攻毒后的第 3 天和第 14 天, 大肠杆菌攻毒组肉鸡血清中的 sIgA 水平显著低于对照组, 拟杆菌组显著高于对照组。SHEN 等^[27]和 RAMAKRISHNA 等^[28]的研究表明, 拟杆菌可以通过诱导分泌 IL-10 来抑制机体炎症反应, 同时增强调节性 T 细胞的免疫性能。结合本研究结果, 表明拟杆菌可以通过调节感染大肠杆菌肉鸡不同类型炎症因子的分泌, 来改善肉鸡的免疫调节能力。

多项研究表明, 肠道形态能够直观评估机体肠道健康状态, 绒毛的形态和高度及隐窝的深度可以反映肠道的吸收功能^[29-30]。本研究中, 在攻毒后的第 3 天, 相对于对照组, 禽致病性大肠杆菌处理后肉鸡空肠的绒毛比显著下降, 拟杆菌早期干预后, 显著提升了肉鸡空肠绒毛高度, 同时绒毛比有增大趋势。说明拟杆菌早期干预对肉鸡感染大肠杆菌后引起的肠道损伤有一定的预防效果。

肠上皮细胞、紧密连接蛋白以及肠上皮细胞的黏膜层构成了肠道的物理屏障^[31], 肠道屏障遭到破坏会影响肠道的消化吸收功能同时造成肠道的损伤。紧密连接蛋白由 Occludin、Claudins 以及 ZO 家族蛋白等组成^[32], 肠上皮细胞的黏液层中的主要成分之一就是 MUC2^[33], 它们在维持肠道屏障功能中发挥着重要作用。本试验中攻毒后的第 3 天, 拟杆菌组肉鸡空肠 OCLN、CLDN3、ZO1 以及 ZO2 mRNA 的相对表达量显著高于对照组和攻毒组; 肉鸡回肠 CLDN3、ZO1 以及 ZO2 mRNA 的相对表达量显著高于对照组和攻毒组。攻毒后的第 14 天, 拟杆菌组肉鸡空肠和回肠中 OCLN、CLDN3、ZO1、ZO2 以及 MUC2 mRNA 的相对表达量显著高于对照组和攻毒组。这个结果说明, 拟杆菌预防可明显改善大肠杆菌攻毒引起的肉鸡肠道屏障功能的损伤。在李娜等^[34]的研究中, 发现丁酸梭菌 (*Clostridium butyricum*) 早期干预后可以显著提升 7 日龄番鸭回肠 CLDN1、ZO1、ZO2 mRNA 等肠道屏障相关基因的相对表达量。近年来的大量研究也表明, 益生菌在畜禽肠道屏障功能的改善以及对肠道损伤的修复方面有着举足轻重的作用。未来在发展绿色健康养殖过程中, 益生菌对畜禽肠道健康以及抗病菌方面的作用尤为重要。

动物胃肠道中定植着数量庞大的微生物菌落, 它们在维持宿主营养吸收、免疫调节、新陈代谢和对病原体等方面发挥着重要作用^[35]。肠道菌群可以分解食物中的碳水化合物和难以消化的低聚糖, 然后合成丁酸、丙酸以及乙酸盐等短链脂肪酸, 并为肠道上皮提供丰富的能量^[36]。肠道微生物中的益生菌可以通过调节宿主免疫细胞来帮助宿主进行免疫调节^[37]。一些有害细菌还可以通过与免疫细胞相互作用或自身代谢物诱导产生炎性细胞因子, 从而导致肠道损伤^[38]。本研究中, 在攻毒后的第 3 天和第 14 天, 拟杆菌组肉鸡盲肠微生物的 α 多样性较对照组和攻毒组显著降低; 攻毒组的 α 多样性相较于对照组也有下降趋势。在攻毒后第 3 天, 拟杆菌组盲肠菌群结构发生了显著的变化, 对照组和攻毒组之间也有一定差异; 攻毒

后的第 14 天，拟杆菌组盲肠菌群结构依然与其余两组显著不同，而对照和攻毒组盲肠菌群结果较为相似。在盲肠菌群相对丰度分析中，在门水平上，攻毒后第 3 天和第 14 天对照组和大肠杆菌组肉鸡盲肠菌群主要为芽孢杆菌门，拟杆菌组为拟杆菌门；在属水平上，拟杆菌处理后，肉鸡盲肠中丰富度最高的菌属为拟杆菌属，而因受到了明显的抑制，大肠杆菌志贺氏菌属的细菌在肉鸡盲肠中的增殖较难发现。同时在 LefSe 分析中发现，攻毒后的第 3 天和第 14 天，拟杆菌组的标志细菌都属于拟杆菌门。基于以上结果推测，拟杆菌相比于大肠杆菌在改变肠道菌群方面有着更强的竞争性优势，拟杆菌在肠道中可以通过竞争性抑制等多种途径达到抑制致病性大肠杆菌增殖的过程，因此使用拟杆菌对大肠杆菌进行防治是可以实现的。有研究表明，拟杆菌可分泌产生胞外囊泡，并可利用胞外囊泡与宿主产生互作，防止其被抗菌物质清除，还可以远距离传递抗菌因子抑制其他细菌特别是有害菌的增殖^[39]。因此，后续可利用超高速离心技术对拟杆菌的胞外囊泡进行分离，并结合细胞培养技术，进一步探究拟杆菌在机体内发挥益生功效的生理机制。

参考文献 References:

- [1] 迟秀丽. 鸡大肠杆菌病的流行病学、病因、临床表现、剖检变化与防控[J]. 现代畜牧科技, 2022(3): 91-93.
CHI X L. Epidemiology, etiology, clinical manifestations, autopsy changes and prevention and control of chicken colibacillosis[J]. Modern Animal Husbandry Science & Technology, 2022(3): 91-93.
- [2] 马兴树, 范翠蝶, 夏玉龙. 禽致病性大肠杆菌研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2013, 40(2): 169-174.
MA X S, FAN C D, XIA Y L. Research progress on avian pathogenic *Escherichia coli*[J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2013, 40(2): 169-174.
- [3] NAWAZ S, WANG Z H, ZHANG Y, et al. Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC): Current insights and future challenges[J]. Poultry Science, 2024, 103(12): 104359.
- [4] EID S, TOLBA H M N, HAMED R I, et al. Bacteriophage therapy as an alternative biocontrol against emerging multidrug resistant *E. coli* in broilers[J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2022, 29(5): 3380-3389.
- [5] WU Y J, WANG W Y, KIM I H, et al. Dietary hydrolyzed wheat gluten supplementation ameliorated intestinal barrier dysfunctions of broilers challenged with *Escherichia coli* O78[J]. Poultry Science, 2022, 101(2): 101615.
- [6] PHAM V H, ABBAS W, HUANG J Y, et al. Dietary coated essential oil and organic acid mixture supplementation improves health of broilers infected with avian pathogenic *Escherichia coli*[J]. Animal Nutrition, 2023, 12: 245-262.
- [7] KIMURA A H, KOGA V L, DE SOUZA GAZAL L E, et al. Characterization of multidrug-resistant avian pathogenic *Escherichia coli*: An outbreak in canaries[J]. Brazilian Journal of Microbiology, 2021, 52(2): 1005-1012.
- [8] FUHRMANN L, VAHJEN W, ZENTEK J, et al. The impact of pre- and probiotic product combinations on *ex vivo* growth of avian pathogenic *Escherichia coli* and *Salmonella enteritidis*[J]. Microorganisms, 2022, 10(1): 121.
- [9] NAKPHAICHIT M, THANOMWONGWATTANA S, PHRAEPHAISARN C, et al. The effect of including *Lactobacillus reuteri* KUB-AC5 during post-hatch feeding on the growth and ileum microbiota of broiler chickens[J]. Poultry Science, 2011, 90(12): 2753-2765.
- [10] OCHOA-REPÁRAZ J, MIELCARZ D W, WANG Y, et al. A polysaccharide from the human commensal *Bacteroides fragilis* protects against CNS demyelinating disease[J]. Mucosal Immunology, 2010, 3(5): 487-495.
- [11] FAITH J J, GURUGE J L, CHARBONNEAU M, et al. The long-term stability of the human gut microbiota[J]. Science, 2013, 341(6141): 1237439.
- [12] WANG C, XIAO Y, YU L L, et al. Protective effects of different *Bacteroides vulgatus* strains against lipopolysaccharide-induced acute intestinal injury, and their underlying functional genes[J]. Journal of Advanced Research, 2022, 36: 27-37.
- [13] WEXLER A G, GOODMAN A L. An insider's perspective: *Bacteroides* as a window into the microbiome[J]. Nature Microbiology, 2017, 2: 17026.
- [14] ZHONG W T, LU X L, SHI H T, et al. Distinct microbial populations exist in the mucosa-associated microbiota of diarrhea predominant irritable bowel syndrome and ulcerative colitis[J]. Journal of Clinical Gastroenterology, 2019, 53(9): 660-672.
- [15] TUFAIL M A, SCHMITZ R A. Exploring the probiotic potential of *Bacteroides* spp. within one health paradigm[J]. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 2025, 17(2): 681-704.
- [16] HECHT A L, CASTERLINE B W, EARLEY Z M, et al. Strain competition restricts colonization of an enteric pathogen and prevents colitis[J]. EMBO Reports, 2016, 17(9): 1281-1291.
- [17] 中国饲料数据库. 中国饲料成分及营养价值表(第 35 版)[J]. 中国饲料, 2024(21): 182-197.

- CHINESE F D. Tables of feed composition and nutritive values in China(thirty-fifth edition)[J]. China Feed, 2024(21): 182-197.
- [18] ANTONISSEN G, EECKHAUT V, VAN DRIESCHE K, et al. Microbial shifts associated with necrotic enteritis[J]. Avian Pathology, 2016, 45(3): 308-312.
- [19] CHU H, KHOSRAVI A, KUSUMAWARDHANI I P, et al. Gene-microbiota interactions contribute to the pathogenesis of inflammatory bowel disease[J]. Science, 2016, 352(6289): 1116-1120.
- [20] CHEN X S, YANG H M, WANG Z Y. The effect of different dietary levels of defatted rice bran on growth performance, slaughter performance, serum biochemical parameters, and relative weights of the viscera in geese[J]. Animals, 2019, 9(12): 1040.
- [21] YU Q, WANG C Q, LIU Z H, et al. Association between inflammatory cytokines and oxidative stress levels in aqueous humor with axial length in human myopia[J]. Experimental Eye Research, 2023, 237: 109670.
- [22] ZHANG B B, TIAN M, WU J, et al. Chlorogenic acid enhances the intestinal health of weaned piglets by inhibiting the TLR4/NF- κ B pathway and activating the Nrf2 pathway[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(18): 9954.
- [23] CAPCAROVA M, WEISS J, HRNCAR C, et al. Effect of *Lactobacillus fermentum* and *Enterococcus faecium* strains on internal milieu, antioxidant status and body weight of broiler chickens[J]. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 2010, 94(5): 215-224.
- [24] 文静, 孙建安, 周绪霞, 等. 屎肠球菌对仔猪生长性能、免疫和抗氧化功能的影响[J]. 浙江农业学报, 2011, 23(1): 70-73.
- WEN J, SUN J A, ZHOU X X, et al. Effects of *Enterococcus faecium* on growth performance, immune and antioxidant function of piglets[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2011, 23(1): 70-73.
- [25] CAI Y X, GONG D, XIANG T, et al. Markers of intestinal barrier damage in patients with chronic insomnia disorder[J]. Frontiers in Psychiatry, 2024, 15: 1373462.
- [26] 任阳光. 激发性益生元对肉鸡生长性能和肠道健康的影响[D]. 郑州: 河南农业大学, 2024.
- REN Y G. Effects of stimbiotic on growth performance and intestinal health of broiler chickens[D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2024.
- [27] SHEN Y, TORCHIA M L G, LAWSON G W, et al. Outer membrane vesicles of a human commensal mediate immune regulation and disease protection[J]. Cell Host & Microbe, 2012, 12(4): 509-520.
- [28] RAMAKRISHNA C, KUJAWSKI M, CHU H, et al. *Bacteroides fragilis* polysaccharide A induces IL-10 secreting B and T cells that prevent viral encephalitis[J]. Nature Communications, 2019, 10: 2153.
- [29] LEE Y S, KU K L, CHEN P Y, et al. The fermented product of high-yield surfactin strain *Bacillus subtilis* LYS1 improves the growth performance and intestinal villi morphology in broilers[J]. Poultry Science, 2023, 102(11): 102839.
- [30] MUNOZ L R, BAILEY M A, KREHLING J T, et al. Effects of dietary yeast cell wall supplementation on growth performance, intestinal *Campylobacter jejuni* colonization, innate immune response, villus height, crypt depth, and slaughter characteristics of broiler chickens inoculated with *Campylobacter jejuni* at d 21[J]. Poultry Science, 2023, 102(5): 102609.
- [31] 宋凡春. 包被苯甲酸和木聚糖酶对肉鸡生产性能和肠道健康的影响[D]. 泰安: 山东农业大学, 2016.
- SONG F C. Effects of coated-benzoic and xylanase on growth performance and gut health of broilers[D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2016.
- [32] 马军宏, 于向阳, 张楠, 等. 紧密连接蛋白与肠黏膜屏障损伤研究进展[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2015, 21(1): 104-105.
- MA J H, YU X Y, ZHANG N, et al. Research progress of tight junction protein and intestinal mucosal barrier injury[J]. Chinese Journal of Surgery of Integrated Traditional and Western Medicine, 2015, 21(1): 104-105.

- [33] LIU Y X, YU Z H, ZHU L P, et al. Orchestration of MUC₂ - The key regulatory target of gut barrier and homeostasis: A review[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 236: 123862.
- [34] 李娜, 杨华, 吕文涛, 等. 丁酸梭菌早期干预对幼龄番鸭生长性能、肠道黏膜形态及肠屏障功能的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2021, 57(4): 200-206.
- LIN, YANG H, LYU W T, et al. Effects of early intervention of *Clostridium butyricum* on growth performance, intestinal mucosal morphology and intestinal barrier function of young Muscovy duck[J]. Chinese Journal of Animal Science, 2021, 57(4): 200-206.
- [35] MACFARLANE G, BLACKETT K, NAKAYAMA T, et al. The gut microbiota in inflammatory bowel disease[J]. Current Pharmaceutical Design, 2009, 15(13): 1528-1536.
- [36] RAMAKRISHNA B S. Role of the gut microbiota in human nutrition and metabolism[J]. Journal of Gastroenterology and Hepatology, 2013, 28(S4): 9-17.
- [37] ALLEN-VERCOE E, COBURN B. A microbiota-derived metabolite augments cancer immunotherapy responses in mice[J]. Cancer Cell, 2020, 38(4): 452-453.
- [38] STAPPENBECK T S, VIRGIN H W. Accounting for reciprocal host-microbiome interactions in experimental science[J]. Nature, 2016, 534(7606): 191-199.
- [39] JAN A T. Outer membrane vesicles (OMVs) of gram-negative bacteria: A perspective update[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 1053.