

## 小こそ大なり：単一菌株プロバイオティクスのか

【Technical note 1】 Less is more： the power of single-strain probiotics

### はじめに

健全な消化官の重要性に関する認識は、年々高まってきており、近年では、消化管だけでなく腸内微生物叢に作用でき、直接働きかけることで、動物の健康をサポートする製品が、目覚ましい成長を遂げてきています。とりわけ、生菌剤製品はその良い例です。

生菌剤は、生きた微生物が配合された製品で、その添加量も含め適切に給与することで、対象動物の健康状態を高めることが確認されています(FAO/WHO, 2002)。しかし、実際には、効果が得られる生菌剤を見つけるのは容易ではありません。

現在の畜産業における生菌剤市場は、単一の菌株のみ構成されている「単一菌株製品」あるいは複数の微生物を組み合わせた「複数菌株混合製品」という点で大別することが可能です。

複数菌株混合製品のコンセプトは、単一でも有益な効果をもたらす微生物を、複数種組み合わせることで、それぞれの微生物がもたらす効果を一挙両得しようとするものです。この考え方は一理ありますが、以下の通り、同時に留意すべき点もあります。

#### ➤ 微生物同士の拮抗作用

同一製品に、菌種の近い微生物が複数種配合されている場合、その特性や特長が似ていることから、消化管内において生存競争が生じる可能性が高いことが考えられます。

特にこれは、生態的地位(生態的ニッチ)が重なる微生物が組み合わせられている際に認められる現象であり、この場合、微生物間で競合が生じてしまうため、期待された効果が得られないことがあります。

#### ➤ オールマイティな製品は存在しない

同一製品に複数種の微生物を配合する目的は、より幅広い効果や効能を発揮するためです。確かに微生物を複数種組み合わせることで、相加的な効果が発揮できるとしたら、非常に高い効果が得られるはずです。

しかし実際には、複数菌株混合製品が、単一菌株製品あるいは限られたごく少数のみの菌種を組み合わせた製品と比べて、有意的に効果を発揮している実例は確認されていません。

## 生菌剤の農場使用において、 複数菌株混合製品の優位性が認められた例はありません

関連する話題として、近年の研究報告を紹介します(Sandvang et al. 2021)。

この研究報告は *Bacillus* 属から 3 種の菌株が配合された生菌剤 (*B. subtilis* から 2 株、*B. amyloliquefaciens* から 1 株) を評価したもので、ブロイラーのクロストリジウム・パーフリンゲンスに起因する壊死性腸炎 (NE) に対する効果を報告したものです。

この試験では、それぞれ 1 菌株ずつを単一給与した場合と、3 種の菌株を混合給与した場合の効果を比較し、微生物を複数種配合することによって、何らかの相乗あるいは相加効果が認められるかどうかを検証しています。

しかしながら、この研究報告では、1 菌株単一給与の濃度を  $10^5$  CFU/g 飼料としている一方で、3 菌株混合給与の濃度は  $10^6$  CFU/g 飼料としており、3 菌株混合給与区は、1 菌株単一給与区よりも、多くの生菌数を給与していることになり、結果を客観的に比較することは困難であると考えられましたが、その点への考察や検証に関しては言及されておりました。

この研究者らは、試験期間全体を通じた場合、3 菌株混合給与区が、1 菌株単一給与区よりも増体 (BW) および補正飼料要求率 (FCR) において、有意に改善したと結論付けています。

しかしながら、試験期間全体における結果 (表 1) ならびに生育段階ごとにおける結果 (表 2) を確認してみても、そのような結果は確認できず、この結論付けは不明瞭であると感じます。

数値的に基づいて検証してみても、試験期間や生産性結果に関し、3 菌株混合給与区がすべての 1 菌株単一給与区に対して、有意に改善したことは確認することはできませんでした。

表 1: 試験期間全体 (0 - 41 日令) で認められた *Bacillus* 属 3 菌株の単一給与と混合給与時の *C. perfringens*-強制感染ブロイラーにおける生産性効果 (Sandvang et al. 2021).

生菌剤	増体重 (g)	補正FCR
対照区	2,236.80 <sup>b</sup> ± 19.97	1.96 <sup>a</sup> ± 0.02
BS DSM 32324	2,290.94 <sup>a,b</sup> ± 14.27	1.87 <sup>b,c</sup> ± 0.01
BS DSM 32325	2,321.93 <sup>a</sup> ± 30.98	1.90 <sup>b</sup> ± 0.02
BA DSM 25840	2,243.63 <sup>b</sup> ± 31.05	1.90 <sup>b</sup> ± 0.01
3菌株混合給与	2,342.43 <sup>a</sup> ± 32.40	1.84 <sup>c</sup> ± 0.01

異なる符号間に有意差あり P < 0.05. 表記は平均値 ± 標準偏差

表 2: 生育段階ごとに認められた *Bacillus* 属3菌株の単一給与と混合給与時の *C. perfringens*-強制感染ブローラーにおける生産性効果 (Sandvang et al. 2021).

生菌剤	増体重 (g)	補正FCR
前期(0-21 日令)		
対照区	430.40 <sup>b</sup> ± 10.24	1.90 <sup>b</sup> ± 0.03
BS DSM 32324	475.81 <sup>a</sup> ± 14.76	1.69 <sup>c</sup> ± 0.02
BS DSM 32325	509.17 <sup>a</sup> ± 13.31	1.65 <sup>c</sup> ± 0.03
BA DSM 25840	436.36 <sup>b</sup> ± 9.65	1.79 <sup>b</sup> ± 0.02
3菌株混合給与	488.65 <sup>a</sup> ± 15.28	1.65 <sup>c</sup> ± 0.02
中期(22-35 日令)		
対照区	1,175.32 ± 14.13	1.91 <sup>a</sup> ± 0.03
BS DSM 32324	1,190.97 ± 12.92	1.86 <sup>a,b,c</sup> ± 0.01
BS DSM 32325	1,185.48 ± 14.99	1.90 <sup>a,b</sup> ± 0.03
BA DSM 25840	1,204.71 ± 21.14	1.81 <sup>c</sup> ± 0.01
3菌株混合給与	1,201.26 ± 8.08	1.84 <sup>b,c</sup> ± 0.02
後期(36-42 日令)		
対照区	631 <sup>a,b</sup> ± 13.31	2.10 <sup>a,b</sup> ± 0.04
BS DSM 32324	624 <sup>a,b</sup> ± 9.10	2.08 <sup>a,b</sup> ± 0.04
BS DSM 32325	627 <sup>a,b</sup> ± 16.20	2.14 <sup>a,b</sup> ± 0.05
BA DSM 25840	603 <sup>b</sup> ± 14.56	2.20 <sup>a</sup> ± 0.04
3菌株混合給与	654 <sup>a</sup> ± 20.15	2.04 <sup>b</sup> ± 0.03

異なる符号間に有意差あり P < 0.05。表記は平均値 ± 標準偏差

加えて、壊死性腸炎(NE)病変スコアにおいても、各 1 菌株単一給与区と比べ、3 菌株混合給与区が有意に良好であった結果は 1 例のみであり、残りの 2 例は、3 菌株混合給与区と同等との結果でした。

斃死率においては、いずれの試験区においても大きな差は見られず、同様にその他の評価項目においても、3 菌株混合給与区が、いずれの 1 菌株単一給与区よりも優位に良好であるという結果は認められませんでした。

## まとめ

複数の微生物を組み合わせた複数菌株混合製品が、単一菌株製品と比較して相乗あるいは相加効果が認められるかどうかを検証した研究報告でしたが、反して、それらの効果を証明するための作用機序や理論実証は難しいことが示唆される結果となりました。

農場使用における生菌剤の実例でも、複数菌株混合製品が単一菌株製品よりも優れているという結果は示されておらず、本研究報告と同様の結果が示唆されているようです。

従いまして、農場経営における生菌剤製品の使用は価値があるといえる一方で、その生菌剤製品に含まれる生菌を複数種組み合わせることが良いか否かは、今後も議論する余地があることが示されました。



## Less is more: the power of single-strain probiotics

### Introduction

---

The importance of gut health has increased over the years, and there has been an explosive growth of products which influence, alter or support the gut and its microbiota. A good example are probiotics, viable micro-organisms which confer health benefits to the host when administered in adequate amounts (FAO/WHO, 2002). However, choosing the right probiotic is not an easy task. One of the major distinctions in the current probiotic market is the difference between single- and multi-strain products. The idea behind multi-strain products is mainly that by combining multiple probiotics in the same product, each strain brings its own benefits and as a result, the final product can list multiple advantages. Although this may sound logical at first, there are some important considerations to this reasoning that should not be neglected.

► **Inter-product competition**

If similar strains are used in one product, an aspect of inherent competition might be introduced. This is especially the case if the strains are from the same genus, as they will have similar requirements. As such, the probiotic strains could challenge each other, thereby potentially diminishing the intended beneficial effect.

► **Omnipotent products do not exist**

The logic behind multi-strain products does not have an upper limit on the amount of strains that can be combined. If that number increases, the list of benefits should become much more substantial as well, leading to an omnipotent product. However, products that follow this reasoning are far from outcompeting single- or limited multi-strain products in the market.

### In-field trials show no added benefit of multi-strain products

---

A recent study evaluated three *Bacillus* strains (two *B. subtilis* and one *B. amyloliquefaciens*), to support broilers during a *Clostridium perfringens*-based necrotic enteritis (NE) challenge (Sandvang *et al.*, 2021). The trial included all three strains on their own as well as all three together in a combination treatment, to examine the potential synergy between the strains. Important to notice is that the single-strain treatments were tested in a concentration of  $10^5$  CFU/g of feed, compared to  $10^6$  CFU/g of feed for the combination. In other words, the combination treatment already included more probiotic cells per gram of feed, compared to the single-strain treatments. This makes it difficult to compare results, but the difference was not discussed further.

The researchers concluded that the multi-strain combination was the only experimental treatment that significantly improved both body weight (BW) and adjusted feed conversion ratio (aFCR) in the overall trial period, and that the multi-strain had a clear superiority over the single-strain treatments. However, the data did not confirm this: neither for the overall trial period (Table 1), nor for the performance per growing phase (Table 2). Based on the data, the multi-strain was definitely not absolutely superior versus any and all single-strain treatments – regardless of trial period or parameter evaluated.

**Table 1:** The effect of 3 *Bacillus* probiotic strains and their combination on performance of *C. perfringens*-challenged broilers in the entire experimental period (1–42 d), as recorded by Sandvang *et al.* (2021).

Probiotic inclusion	BW gain (g)	aFCR
Control	2,236.80 <sup>b</sup> ± 19.97	1.96 <sup>a</sup> ± 0.02
BS DSM 32324	2,290.94 <sup>a,b</sup> ± 14.27	1.87 <sup>b,c</sup> ± 0.01
BS DSM 32325	2,321.93 <sup>a</sup> ± 30.98	1.90 <sup>b</sup> ± 0.02
BA DSM 25840	2,243.63 <sup>b</sup> ± 31.05	1.90 <sup>b</sup> ± 0.01
Multistrain combination	2,342.43 <sup>a</sup> ± 32.40	1.84 <sup>c</sup> ± 0.01

Groups that are significantly different from each other within a column at  $P < 0.05$  are indicated by different superscripts. The results are reported as mean ± standard error.

**Table 2:** The effect of 3 *Bacillus* probiotic strains and their combination on performance of *C. perfringens*-challenged broilers in different feeding phases, as recorded by Sandvang *et al.* (2021).

Feeding phase and probiotic inclusion	BW gain (g)	aFCR
Starter phase (0-21 d)		
Control	430.40 <sup>b</sup> ± 10.24	1.90 <sup>b</sup> ± 0.03
BS DSM 32324	475.81 <sup>a</sup> ± 14.76	1.69 <sup>c</sup> ± 0.02
BS DSM 32325	509.17 <sup>a</sup> ± 13.31	1.65 <sup>c</sup> ± 0.03
BA DSM 25840	436.36 <sup>b</sup> ± 9.65	1.79 <sup>b</sup> ± 0.02
Multi-strain combination	488.65 <sup>a</sup> ± 15.28	1.65 <sup>c</sup> ± 0.02
Grower phase (22-35 d)		
Control	1,175.32 ± 14.13	1.91 <sup>a</sup> ± 0.03
BS DSM 32324	1,190.97 ± 12.92	1.86 <sup>a,b,c</sup> ± 0.01
BS DSM 32325	1,185.48 ± 14.99	1.90 <sup>a,b</sup> ± 0.03
BA DSM 25840	1,204.71 ± 21.14	1.81 <sup>c</sup> ± 0.01
Multistrain combination	1,201.26 ± 8.08	1.84 <sup>b,c</sup> ± 0.02
Finisher phase (36-42 d)		
Control	631 <sup>a,b</sup> ± 13.31	2.10 <sup>a,b</sup> ± 0.04
BS DSM 32324	624 <sup>a,b</sup> ± 9.10	2.08 <sup>a,b</sup> ± 0.04
BS DSM 32325	627 <sup>a,b</sup> ± 16.20	2.14 <sup>a,b</sup> ± 0.05
BA DSM 25840	603 <sup>b</sup> ± 14.56	2.20 <sup>a</sup> ± 0.04
Multistrain combination	654 <sup>a</sup> ± 20.15	2.04 <sup>b</sup> ± 0.03

Groups that are significantly different from each other within a column at  $P < 0.05$  are indicated by different superscripts. The results are reported as mean ± standard error.

Secondly, in terms of NE lesion scoring the multi-strain combination only outcompeted one of the single-strain treatments, whilst scoring exactly the same as the two other single-strains. Mortality did not differ between any of the probiotic groups either, so also for health-related parameters it is difficult to conclude that the multi-strain treatment offered any clear superiority.

## Conclusion

Despite the goal of creating synergies in multi-strain probiotic products, there are multiple logical arguments to keep in mind when probiotic strains are combined. The commercial market seems to agree with this reasoning, as multi-strain probiotic products do not outcompete single-strain products. Finally, recent peer-reviewed research confirmed that probiotics work, but also that there is room to debate the idea of multi-strain superiority.