

广东畜牧兽医科技

GUANGDONG XUMU SHOUYI KEJI

双月刊 1976年3月创刊

第45卷 第2期(总第210期)

2020年4月18日出版

中国标准连续出版物号 $\frac{\text{ISSN } 1005-8567}{\text{CN } 44-1243/S}$

主管单位:广东省农业科学院

主办单位:广东省农业科学院畜牧研究所

广东省农业科学院动物卫生研究所

广东省畜牧兽医学会

编辑委员会

编委主任:廖明

编委副主任:蒋宗勇 陈卫东 徐志宏

卢受昇

编委(以姓氏笔画为序):

马现永 王贵平 王富华 王丽

王国霞 孙铭飞 孙永学 向华

吕殿红 刘振兴 刘清神 陈瑶生

吴珍芳 张名位 李伟锋 张桂红

李大刚 李春玲 张建峰 陈瑞爱

罗成龙 孟繁明 林德锐 曹俊明

黄运茂 黄淑坚 舒鼎铭 蒋守群

彭新宇 魏文康

编辑部

主编:蒋宗勇

副主编:王刚 郑春田

主任:黄琳

副主任:马新燕

责任编辑:康桦华 吕晓慧 张洁华 王片片

岑俏梅

编辑出版:《广东畜牧兽医科技》编辑部

地址:广州市天河区五山大丰一街1号(510640)

电话:020-87576452

E-mail:gdxmsykj@163.com

印刷单位:广州市德艺彩印有限公司

发行单位:《广东畜牧兽医科技》编辑部

发行范围:国内外公开发刊

定价:10.00元

广告发布登记通知书编号:440100190079

目 录

·行业动态·

新冠肺炎疫情和非瘟形势下猪饲料生物安全防控策略 王丽,高开国,等(1)

2019年度肉鸡饲料营养研究进展——能量、蛋白质和氨基酸营养需要量

..... 王一冰,叶金玲,等(5)

动物冠状病毒的研究进展 曾思莹,曹永长(9)

·专题综述·

壳聚糖在畜牧生产中的应用研究进展 杨富民,张媛媛,等(17)

抗菌肽在生猪养殖中的应用 王德刚,李嘉慧(20)

谷胱甘肽对畜禽生长性能和机体健康的影响 刘世龙,朱晓萍,等(24)

黑水虻生物学特点及其应用研究进展 萧鸿发,王国霞,等(27)

·畜牧技术·

新冠疫情期间畜禽养殖场消毒防疫 马新燕,刘志昌,等(34)

非瘟背景下,如何全面减少生猪养殖对环境的污染 马现永,马新燕,等(37)

·兽医临床·

徐州地区犬细小病毒发病率调查与防治 王海军,宗猛,等(40)

两例宠物兔的绝育手术报告 罗声扬,戴溢铨,等(43)

·试验研究·

灭活因素对胚毒苗鸡新城疫(La Sota株)半成品效价的影响 邓智昕(47)

鸡白痢沙门氏菌的分离鉴定与药敏试验 刘洋,王占新,等(50)

·信息之窗·

欢迎订阅本刊 (36)

GUANGDONG JOURNAL OF ANIMAL AND VETERINARY SCIENCE

Established in March 1976(Bimonthly)

APR.2020 Volume 45, Number 2 (Total No.210)

Main Content

- Prevention and control strategy on biosafety of pig feed during the epidemic of novel coronavirus pneumonia and African swine fever WANG Li, GAO Kaiguo, et al(1)
- Research progress on broiler feed and nutrition in 2019—requirements of energy, protein and amino acid WANG Yibing, YE Jinling, et al(5)
- Research advance on animal coronavirus CAO Siying, CAO Yongchang(9)
- Research progress of chitosan application in animal production YANG Fumin, ZHANG Yuanyuan, et al(17)
- Application of antimicrobial peptides in swine production WANG Degang, LI Jiahui(20)
- Effects of glutathione on growth performance and health of livestock and poultry LIU Shilong, ZHU Xiaoping, et al(24)
- Research progress on biologic characteristics and application of *Hermetia illucens* L. ... XIAO Hongfa, WANG Guoxia, et al(27)
- Disinfection measures of livestock and poultry farms during the epidemic of the novel coronavirus pneumonia MAXinyan, LIU Zhichang, et al(34)
- How to reduce the environmental pollution caused by pig industry under the epidemic background of African Swine Fever MA Xianyong, MA Xinyan, et al(37)
- Investigation and prevention on the incidence rate of canine parvovirus in Xuzhou area ... WANG Haijun, ZONG Meng, et al(40)
- The report on sterilization operation of two pet rabbits LUO Shengyang, DAI Yixin, et al(43)
- Effects of inactivation factors on the semi-finished products of embryogenic vaccine of Newcastle Disease (LA SOTA strain) DENG Zhixin(47)
- Investiation on isolation, identification and drug sensitivity of *Salmonella pullorum* LIU Yang, WANG Zhanxin, et al(50)
-

Sponsored by: Guangdong Association of Animal Husbandry
and Veterinary Medicine, Institute of Animal
Health, Guangdong Academy of Agricultural
Sciences.

Published by: Editor Office Guangdong Journal of Animal
and Veterinary Science.

Chief Editor: Jiang Zongyong

Editor Add: No. 1 Dafeng one Street, Guangzhou P.R. China

Post Code: 510640

Tel: (020)87576452

E-mail: gdxmsykj@163.com

本刊声明:凡向本刊所投稿件,一经刊用,稿件的复制权、发行权、信息网络传播权、汇编权等权利即转让给本刊。本刊一次性支付作者著作
权使用报酬(包括印刷版式、光盘版和网络版各种使用方式的报酬)。如作者不同意转让版权,请于来稿时声明。

目前本刊已加入的数据库有:中国学术期刊(光盘版)、中文科技期刊数据库、万方数据——数字化期刊群。

新冠肺炎疫情和非瘟形势下 猪饲料生物安全防控策略

王丽, 高开国, 杨雪芬, 温晓鹿, 黄琳, 蒋宗勇*

(广东省农业科学院动物科学研究所, 畜禽育种国家重点实验室, 农业农村部华南动物营养与饲料重点实验室, 广东省动物育种与营养公共实验室, 广东省畜禽育种与营养研究重点实验室, 广东广州 510640)

摘要:非洲猪瘟发生以来,我国生猪产能持续下降,随后新冠肺炎疫情又至,给刚开始恢复的生猪产业又带来新的挑战。新冠肺炎疫情期间,非瘟传播风险降低,但非瘟疫情防控形势仍然严峻。在饲料环节,社会舆论关于饲料传播非洲猪瘟病毒风险存在疑问,但目前研究结果认为非洲猪瘟病毒通过饲料途径传播风险较低,但不排除饲料产品受到病毒污染导致带毒传播可能性。本文主要从饲料原料、饲料加工、饲料储运、饲料配方以及饲料生产场所等饲料安全生产的五个要素进行详述如何切实加强饲料生物安全管控,杜绝活病毒污染。

关键词:非瘟疫情; 饲料原料; 饲料加工; 饲料储运; 饲料配方

中图分类号:S816 **文献标识码:**B **文章编码:**1005-8567(2020)02-0001-04

自2018年8月非洲猪瘟疫情发生以来,我国生猪产量产能持续下降。2019年,我国生猪出栏54419万头,猪肉产量4255万吨,同比下降21.6%和21.3%,年末生猪存栏31041万头,同比下降27.5%。农业农村部监测数据显示,2019年10月份能繁母猪存栏开始恢复,但2019年12月,新冠肺炎疫情在武汉出现,随后迅速扩散到全国,防控形势严峻,受此影响,交通管制、封村断路、企业延迟开工等措施相继出台,流通受限,导致饲料或原料进不了场,生猪面临断粮,肥育猪运不出去,给刚开始恢复的生猪产业又带来新的挑战。新冠肺炎疫情期间,非瘟传播风险降低,但非瘟疫情防控形势仍然严峻。

从非洲猪瘟疫情传播特点看,生猪及其产品跨区域调运、餐厨剩余物喂猪和人员与车辆带毒传播等是主要传播途径,养殖场户做好防控需要强

设施、勤排查、看好门、管好猪、严消毒、禁泔水等方面。在饲料环节,社会舆论关于饲料传播非洲猪瘟病毒风险存在疑问,但目前研究结果认为非洲猪瘟病毒通过饲料途径传播风险较低,但不排除饲料产品受到病毒污染导致带毒传播可能性,需要在原料采购、饲料生产、运输、保存和饲喂等过程中,切实加强饲料生物安全管控,杜绝活病毒污染。

1 饲料原料

1.1 原料采购

饲料原料采购是确保安全的第一道防线。我国饲料原料来源复杂,生物安全风险点较多,在原料采购前应对要采购的原料进行充分的生物安全评价,方可决策是否购买,并明确下一步运输和验收环节需要采取的措施,以有效规避源头污染风险。

收稿日期:2020-02-17

项目资助:国家十三五重点研发专项(2018YFD0501101),广东省现代农业产业技术体系生猪创新团队项目(2019KJ126),广东省农业科学院科技创新战略专项资金(R2016PY-JX007),国家生猪产业技术体系建设专项(CARS-35)

作者简介:王丽(1981-),女,研究员,研究方向为猪营养与饲料科学。E-mail:wangli1@gdaas.cn

*通讯作者:蒋宗勇(1963-),男,研究员,主要从事动物营养与饲料科学研究。E-mail:jiangz28@qq.com

1.1 原料采购前的风险等级评估

一般来讲, 饲料原料的风险等级顺序见表1。

表1 饲料原料风险等级

风险等级	饲料来源
0	非疫区国家来源原料(进口)
+	玉米酒精糟、氨基酸、维生素
++	国产大宗原料-玉米(核酸检测阴性)
++	规范的国产猪源性产品(核酸检测阴性)
+++	经过45天隔离期的国产大宗原料-玉米(核酸检测阳性)
+++	规范的国产猪源性产品(核酸检测阳性)
++++	未经隔离或其他方式处理的国产大宗原料(核酸检测阳性)

1.2 原料采购、运输和验收

对于来源疫区的饲料原料, 未经过高温处理或未证明为核酸检测阴性, 不得使用。对于非洲猪瘟疫情流行地区而言, 应评估其饲料原料生产、加工、运输和储存方式, 防止交叉污染, 比如晾晒玉米, 可能存在一定传播风险。对可疑的原料应做非洲猪瘟病毒核酸PCR检测, 以排除感染非洲猪瘟病毒的风险, 当然检测为非洲猪瘟病毒核酸阳性时, 并不代表一定有感染力。在使用进口饲料原料时, 只选用无非洲猪瘟疫情国家来源的饲料原料, 禁止从有非瘟疫情国家进口饲料原料、禁用可疑动物性饲料原料, 如猪血浆蛋白粉、血球蛋白粉、肠膜蛋白、肉骨粉、猪油和鸡油等。还要防止因牛羊油、鱼粉等掺入猪肉制品而间接感染病毒的可能性。农业农村部第64号公告, 要求饲料生产企业停止使用以猪血为原料的血液制品生产猪用饲料, 随后发布的第91号公告, 取消这一限制性规定, 但进一步强化了生产过程管控的要求。因此猪源的饲料原料如猪血浆蛋白、血球蛋白、肠膜蛋白、肉骨粉等要实施特别评估, 确保这些原料生产和加工过程符合农业农村部第91号公告规范的要求。

饲料原料的运输车辆要做好全面消毒工作, 运输路线避开疫区, 原料采用包装袋封装, 运输车厢需用塑料布或帆布覆盖封闭, 防止饲料在运输途中被污染。

饲料原料验收时, 对玉米等大宗原料, 要定期

(如每两周一次)在下料口取粉尘样品, 进行非洲猪瘟核酸检测。除了正常的验收程序外, 对可疑原料更要及时进行非洲猪瘟病毒核酸检测, 检测病毒核酸阴性方能通过验收, 否则需采用相应处理。

1.3 原料储存

验收完成后的安全原料应储存在没有非洲猪瘟病毒污染的库房, 做好相应的防护措施, 定期消毒周围环境, 杜绝二次污染。将原料放置在常温、干燥隔离库房中, 隔离45天以上。对可疑的原料需采取必要的安全措施消除非洲猪瘟病毒污染的潜在风险, 包括热处理、膨化、发酵等。

1.4 做好高风险原料的采购记录

详细记录原料采购的时间、地点、检测、仓储以及处理措施等相关信息, 随时备查。

2 饲料加工和生产

猪场不得使用高风险的餐厨垃圾、泔水及任何猪源饲料和废料喂猪, 建议使用高温制粒颗粒饲料喂猪。饲料加工具体优化措施如下: 1) 增加原料前处理工艺: 热处理, 膨化, 熟化, 发酵; 2) 二次制粒, 提高制粒和调质的温度, 延长调质时间; 3) 增加后喷涂工艺: 弥补高温制粒过程对热敏性养分(维生素、酶制剂、微生态制剂、赖氨酸)的破坏。

2.1 原料前处理工艺

饲料原料发酵可降低抗营养因子含量和病原菌数量, 提高饲料乳酸含量、消化酶活性和乳酸菌数。饲喂发酵料可提高养分消化率, 提高增重和采食量, 降低粪中氨气、吲哚、硫化氢等。一般采用枯草芽孢杆菌、酵母、乳酸杆菌、米曲霉等混合固态发酵。一般的发酵时间3~5天, 饲料含水量40%左右, 乳酸3%~5%, 酸溶蛋白质含量15%, pH约为4.2, 乳酸菌菌数为 1.2×10^8 。发酵饲料可保持3~6个月, 保鲜期长, 以5~25天使用为好。湿料比干料饲喂效果好。

另外, 高温喷雾干燥、高温高压蒸煮等生产工艺加工原料, 可有效灭活非洲猪瘟病毒, 56℃加热70分钟、60℃加热30分钟、85℃加热3分钟都可以将其灭活。也可采用膨化处理, 比如单独膨化玉米、豆粕或者大豆, 也可以把玉米和豆粕按照比例混合后, 进行全膨化处理。

2.2 高温加工工艺

热处理是降低病毒风险的手段之一,非洲猪瘟病毒对热比较敏感,高温下极易被灭活。为了有效的杀灭非洲猪瘟病毒,消除潜在的风险,饲料加工采用高温制粒工艺,主要是提高制粒温度,延长调质时间,保证调质温度 $>85\text{ }^{\circ}\text{C}$,调质时间超过3分钟以上。对于未达到要求的饲料制粒工艺需增加蒸汽量,确保调质器中物料温度达到 $85\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以上。延长调质时间的技术方案选项有:1)增加2~3个单轴桨叶式调质器和蒸汽夹套调质器;2)采用双轴异径差速桨叶式调质器;3)增加保质器,使调质器与保质器联用;4)使用膨胀器;5)使用颗粒熟化机;6)采用调质罐,使用焖熟工艺。如车间没有条件增加设备,还可以采用二次制粒工艺,强化高温制粒的效果。

2.3 后喷涂工艺

高温制粒和二次制粒虽能杀灭非洲猪瘟病毒,但会导致热敏性物质破坏。为了避免制粒对热敏物质的破坏,对维生素、酶制剂、微生物制剂等热敏物质可采用后喷涂工艺添加这些热敏物质,可不增加热敏物质的添加量,但需要增加后喷涂设备。当前疫情形势下改变传统制粒工艺对饲料理化指标及生产性能的影响需要进一步研究。

2.4 定期开展检测

必要时定期对饲料成品进行非洲猪瘟病毒PCR检测,检测病毒核酸阴性视为合格。

2.5 密封包装

饲料的外包装应采用无毒、无害的塑料袋、复膜编织袋或者加有塑料内衬的化纤编织袋密封包装。同时包装上能够显示全部内容的饲料标签和标明生产检验日期、保质期等。猪场自有饲料加工车间不得使用回收的、未经消毒的非自家包装袋、原料袋等装料加入猪场。

3 饲料转运

3.1 运输车辆

饲料的运输车辆要全面、彻底、有效的消毒处理,必要时对车轮、车厢和驾驶室等部位进行非洲

猪瘟病毒PCR检测,检测病毒核酸阴性视为合格。同时要与饲料原料运输车辆严格分开,实行专车专运。

车辆清洗一般流程:第1步:车辆进入加油站清洗点,从上往下和驾驶室用清水清洗干净;第2步:用消毒水从上往下和驾驶室清洗;第3步:一次清洗干净车辆,驾驶员进入消毒。

3.2 饲料中转和放置

饲料运输过程中,运输车厢用塑料布和帆布覆盖封闭,需避开疫区的运输路线。饲料不能直接运送进猪场。首先应把饲料从饲料生产车间运送到安全的、无非洲猪瘟病毒污染的饲料中转站。饲料在中转站进行熏蒸(熏蒸消毒试剂包括臭氧、冰醋酸、戊二醛和过氧乙酸等)和隔离放置。对于可疑饲料应在中转站内的干燥环境下,隔离放置45天以上。

饲料在中转站进行必要的放置熏蒸和隔离后,安全的饲料通过猪场饲料运输专车运送到猪场进行24小时熏蒸,然后才能进入饲养区进行饲喂。猪场应制定预留有充足隔离和熏蒸消毒时间的备料计划。使用散装料的猪场要注意饲料在装料、运输和卸料过程中的二次污染,平时应对装料口、卸料绞龙采用塑料布包裹密封。

4 饲料配方调整

要注重饲料配方的科学合理设计,不仅需要考虑猪的营养需要和生物安全,还要考虑机体健康和免疫需求。此外,还需要考虑饲料加工工艺和饲料产品储存时间的特殊性。营养要均衡,适当增加维生素、防霉剂、抗氧化剂等;选用优质饲料原料;强化免疫相关营养素;适量添加酸化剂到饲料和饮水中,可灭活口腔黏膜接触的非洲猪瘟病毒。

4.1 满足营养需要量

应参考中国《猪饲养标准》(2004版)配制猪饲料,满足营养需要,营养均衡,生猪达到良好的生产性能和机体健康。高生产力的猪场亦可参考美国NRC的《猪营养需要》(2012版)。确定精准的营养需要量,精准饲养,节约用料。

4.2 优化配方结构

非洲猪瘟疫情防控时期,需要调整饲料配方:1)在原料使用上,优先选用优质、安全、没被非洲猪瘟病毒污染的饲料原料;不使用霉菌毒素、重金属等超标的劣质原料;不使用难消化、抗营养因子多的原料;不使用掺假原料;不使用猪源性饲料,如猪血浆蛋白、血球蛋白、肠膜蛋白、肉骨粉等。2)为弥补在饲料高温制粒中热敏性物质的损失,需适当增加饲料中维生素、酶制剂、微生物制剂等热敏物质的添加量。3)适当添加酸化剂,如复合有机酸、柠檬酸和乳酸等,可抑制非洲猪瘟病毒的成活,并提高饲料消化率。4)为防止饲料熏蒸和放置时间延长导致的饲料发霉和过氧化,应适当增加防霉剂和抗氧化剂的添加量,延长饲料的保质期。

4.3 改善饮水安全

在注重饲料安全的同时饮水安全也非常重要。在非洲猪瘟疫情期间,饮水方面建议主要有:(1)饮用水多级处理器;(2)检测水质微生物指标,每年不少于2次;(3)加漂白粉、高锰酸钾或其它消毒药消毒处理;(4)定期用泡腾片清理管道内污物,再用含有银离子或者其它具有杀菌作用低毒性的金属离子复合型消毒剂消毒;(5)水塔中安装水产用紫外灯进行水源消毒,选择过氧化氢或其他酸化剂对水线进行定期或长期消毒;(6)调整水温到猪适宜的饮水温度,避免猪的饮水应激,增加饮水量。同时,在水中添加酸化剂降低饮水的pH值,有利于预防非洲猪瘟。

5 饲料生产场所

5.1 周围环境病毒监控

定期对饲料厂内及周边环境进行非洲猪瘟病毒检测,场内重点检测食堂、员工宿舍、化验室和生产车间等的地板及相关物品,周边环境包括周边3公里范围内的高度怀疑的水域、土壤、菜市场等。

5.2 防止厂区污染

严格实施生物安全措施,避免外来病原带入厂内,制定相关制度,建立专门的人员消毒通道、车辆消毒通道、外来物品熏蒸房及划分专门的隔离生活区、生产区、办公区并定期消毒。做好防老鼠、飞鸟和蚊虫的工作,建立实体围墙,在厂区及外围30米范围内增加驱鼠、驱鸟和灭蚊虫的设备设施。

设立生物安全专员,定期消毒和巡查厂区和周边环境,执行外来车辆、人员和物品的消毒工作。厂区和生活区定期消毒,生产车间、厂区道路、办公区、宿舍和食堂每周消毒两次。工作人员到场后用消毒水洗手,换上厂内的工作鞋服后,方能进入饲料生产区。外来车辆不准立即入厂,严格执行车辆消毒程序:1)车辆需在厂外停车区等待,生物安全专员对车轮、车体、驾驶室进行第一次喷雾消毒;2)驾驶员进入人员消毒通道进行喷雾消毒40~60秒,脚底踩踏消毒垫;3)开车进入厂内消毒通道进行车底、车身、车顶全方位消毒;4)车辆停在厂内等待区晾干20分钟以上。

对于猪场饲料车间,外来物品和耗材还需经过密闭熏蒸消毒24小时后,再放入隔离区待用。食堂不购买来路不明的猪肉产品。工作人员外出不得在疫区、猪场周边和菜市场长期逗留,外出归来要做好全面消毒隔离工作。必要时对人员进行非洲猪瘟病毒PCR检测,检测病毒核酸阴性视为合格。

总体上,养殖场户在生产过程中,切实强化生物安全防控意识,采取必要的管控措施,把控好饲料原料入口安全、尽可能采取高温加工工艺、严格防止饲料成品后污染、加强营养供给增强免疫力等手段,可确保养殖安全。对于生猪产业来讲,连续经历非洲猪瘟、新冠肺炎疫情这两个前所未有的事件冲击,推动了猪场生物安全等级的提升,优化了产业结构转型升级,对产业的持续健康发展还是有利的。

2019年度肉鸡饲料营养研究进展 ——能量、蛋白质和氨基酸营养需要量

王一冰, 叶金玲, 蒋守群*

(广东省农业科学院动物科学研究所, 畜禽育种国家重点实验室, 农业农村部华南动物营养与饲料重点实验室, 广东省动物育种与营养公共实验室, 广东省畜禽育种与营养研究重点实验室, 广东 广州 510640)

摘要:在非洲猪瘟的影响下, 肉鸡产业发展迅猛, 以弥补猪肉供给缺口。为更深入、全面地了解肉鸡饲料营养的研究进展, 为其安全、高效、优质的生产提供技术指导, 本文整理2019年度国内外公开发表的相关文献, 从肉鸡能量、蛋白质与氨基酸的营养功能与需要量方面进行综述。

关键词:黄羽肉鸡; 饲料营养; 能量; 蛋白质; 氨基酸

中图分类号:S816.4 **文献标识码:**B **文章编号:**1005-8567(2020)02-0005-04

肉鸡是我国的重要产业, 近几十年, 中国肉鸡产业发展迅速、稳步增长, 产量已跃居全球第三位, 仅次于美国和巴西。现阶段受非洲猪瘟等因素影响, 肉鸡出栏量上升迅速。在肉鸡高效健康养殖中, 能量、蛋白、氨基酸营养至关重要, 对其相关研究也越来越深入。本文经查阅搜集2019年度国内外公开发表的最新相关文献报道, 从肉鸡能量、蛋白质与氨基酸的营养功能与需要量方面进行综述, 旨在更深入、全面地了解肉鸡饲料营养的研究进展, 为其安全、高效、优质的生产提供技术指导。

1 肉鸡能量营养

由于家禽“为能而食”即根据饲料代谢能水平调节采食量的生物特性, 饲料能量及其需要量对肉鸡营养水平起着至关重要的作用。2019年度围绕肉鸡、肉种鸡能量营养方面主要开展了肉鸡代谢能需要量及营养功能、肉鸡能量原料等方面相关研

究。

1.1 肉鸡饲料代谢能营养功能及需要量研究进展

Maynard等^[1]对Cobb MV×700肉鸡代谢能研究发现, 性别和饲料能量之间缺乏交互作用, 雄性和雌性肉鸡对29~46 d饲料能量水平的反应相似; 在29~36 d和37~46 d期间, 肉鸡的饲料表观代谢能(AME)需要量可能分别低于3140 kcal/kg和3175 kcal/kg。雷秋霞等^[5]确定沂蒙鸡公鸡育雏期饲料推荐能量为12.12 MJ/kg。张倩云等^[6]对凌云乌鸡母鸡研究发现, 随着饲料代谢能水平的提高, 能量、钙和磷的表观消化率有升高的趋势, 平均日采食量、料重比、血清总蛋白和球蛋白显著降低, 推荐凌云乌鸡母鸡7~12周龄饲料的适宜代谢能为13.13 MJ/kg。国家肉鸡产业技术体系黄羽肉鸡饲料与营养团队对黄羽肉鸡饲料营养进行系统探究, 蒋守群等^[2]在1~28日龄慢速型黄羽肉公鸡建立的代谢能需要析因模型: $ME_r(kJ/d) = 0.1387BW^{0.75}(g) + 5.1562ADG(g)$, 提出每日代谢能

收稿日期: 2020-02-11

项目来源: 国家重点研发计划(2018YFD0500600), 国家自然科学基金青年科学基金(31802104), 国家肉鸡产业技术体系项目(CARS-41), 广东省科技计划项目(2017B020202003)、广州市科技计划项目(201804020091), 广东省农业科学院院长基金(201908)

作者简介: 王一冰(1990-), 女, 山东青岛人, 副研究员, 从事黄羽肉鸡营养与免疫方向的研究。E-mail: wangyibing@gdaas.cn

*通讯作者: 蒋守群, 女, 研究员, 硕士生导师, 主要从事黄羽肉鸡营养调控研究。E-mail: shqun0221@qq.com

需要量(MER)为235.82 kJ/d,相应饲料代谢能水平为12.59 MJ/kg。El-Senousey等^[3]对29~56日龄的黄羽肉鸡生长性能进行回归分析,分别以最大ADG、最优FCR和最小腹部脂肪沉积率为指标,推荐饲料代谢能水平为3198 kcal/kg、3213 kcal/kg和2920 kcal/kg。Abouelezz等^[4]研究发现对于9~15周龄岭南黄羽肉鸡公鸡,3095 kcal/kg足以满足其获得该试验条件下最优采食量与胸肌剪切力,3236 kcal/kg有增加其体重、日增重与饲料转化率趋势。总体来说,肉鸡品种繁多,不同品种的肉鸡能量需要量相差较大,在肉鸡生产中饲料营养的调控需要有针对性。

1.2 肉鸡能量原料研究进展

燕磊等^[7]探究了豆油、鸭油、棕榈油、米糠油对肉鸡生长性能、屠宰性能及肉品质的影响,发现饲料中使用豆油有利于改善肉鸡生长性能,使用棕榈油能够提高胴体出成率和胸肌率,降低腹脂沉积,对肉品质有一定的改善作用。Yang等^[8]发现,在肉鸡饲料中,精制棉籽油替代50%的大豆油不会对肉鸡的生长性能、肝功能和胸肌脂肪酸组成产生不利影响。Benzertiha等^[9]研究发现,黄粉虫油代替棕榈油应用于肉鸡,对其生产性能、养分消化率和血液生化指标均无不良影响,且可改善肝脏和乳腺肌肉组织的脂肪酸分布。Viñado等^[10]研究发现,育成期-育肥期肉鸡饲料添加高游离脂肪酸大豆卵磷脂可以替代2%大豆油。李启照等^[11]的研究表明黑麦作为肉鸡饲料能量原料来源增加了鸡肠道黏度和体重,改变了鸡的微生物群组成和胫骨矿化。

2 肉鸡饲料蛋白质需要量研究进展

饲料蛋白质研究主要集中在饲料粗蛋白质需要量上,与肉鸡饲料能量需要量相似,肉鸡的蛋白质需求量也受品种、性别、生活环境等多种因素影响。

2.1 肉鸡饲料蛋白质营养功能及需要量研究进展

雷秋霞等^[5]研究确定沂蒙鸡公鸡育雏期饲料推荐蛋白水平为20%。张倩云等^[6]对凌云乌鸡母鸡研究发现,随着饲料粗蛋白水平的提高,料重比显著降低,能量和粗脂肪的表观消化率显著提高,推荐凌云乌鸡母鸡7~12周龄饲料的适宜粗蛋

白质水平为20%。王娟娟等^[12]发现,饲料蛋白质水平对7~12周龄略阳乌鸡的平均日增量、料重比、胰腺、胸腺和法氏囊重、胸肌比例及血清中白蛋白浓度均有显著影响,以平均日增重及料重比为评价指标,略阳乌鸡饲料蛋白质需要量分别17.52%、17.18%。孙照程等^[13]研究建议1~42日龄“茶花鸡2号”饲料粗蛋白质水平为23%,在陈莹等^[14]的研究中,“茶花鸡2号”饲料粗蛋白质水平为20.06%时,综合生长性能、血液生化指标和养分代谢等评估最优。Kamilla等^[15]对Cobb 500雄性肉鸡研究发现,粗蛋白质水平从220 g/kg降低到160 g/kg会损害蛋白质和乙醚提取物的消化率,降低净能利用率;饲料中200 g/kg粗蛋白水平是循环热应激条件下肉鸡生产性能的最佳方法。

2.2 肉鸡低蛋白饲料研究进展

低蛋白饲料技术可在保证动物生长性能、产品品质的条件下,降低饲料蛋白质水平、减少氮排放,因此越来越受到关注。刘胜利等^[16]研究表明,低蛋白饲料(粗蛋白质水平降低1%,同时代谢能降低412.8 kJ/kg)添加酶制剂可显著提升岭南黄鸡的ADG、ADFI和胸肌率,可提高肉鸡群体整齐度,未产生其他不良影响。

3 肉鸡氨基酸营养功能与需要量研究

肉鸡氨基酸研究较多,主要集中在肉鸡必需氨基酸的功能、需要量,以及氨基酸适宜配比。

3.1 赖氨酸

李燕蒙等^[17]的研究表明,饲料中赖氨酸缺乏或过量都会导致肉鸡生长性能下降和一些免疫器官发育受阻,并显著影响脾脏中多种细胞因子、抗菌肽CATH1和CATH3、趋化因子CXCL12及其受体CXCR4的表达,进而影响肉鸡的免疫机能。田大龙等^[18]发现,赖氨酸缺乏引起AA肉鸡肝脏与脂质代谢和糖代谢相关蛋白差异表达,使肉鸡肝脏组织脂质代谢相关通路差异表达蛋白显著下调,导致肝脏脂肪酸和能量代谢紊乱、脂肪沉积减少,其机制可能主要通过上调肉鸡胸肌的氨基酸合成代谢相关蛋白的表达、下调糖代谢相关蛋白的表达,进而影响肉鸡的生长和肌肉发育。Handique等^[19]发现在Vencobb肉鸡饲料中添加高于印度家禽标准(1~21日龄lys:1.20%,met:0.50%;22~42日

龄lys:1.00%;met:0.45%)30%的合成赖氨酸和40%的DL-蛋氨酸可以降低血清胆固醇和甘油三酯水平。Belloir等^[20]探究了饲料赖氨酸水平与氨基酸水平(除赖氨酸外)对育肥期Ross肉鸡的作用,发现二者均对生长性能、胴体组成与肉质有影响,且二者对肉品质具有交互作用。在黄羽肉鸡赖氨酸需要量研究中,王一冰等^[21]发现,1~21、22~42、43~63日龄黄羽肉鸡饲料赖氨酸适宜水平分别为1.13%、1.00%和0.85%。Jia等^[22]探究了AA肉鸡对L-lysine·H₂SO₄(赖氨酸含量55%)的耐受量,发现1%添加量对肉鸡生产性能、胴体性状、血液生化、肠道形态和肝脏病理学方面无显著影响,但添加量到4%~10%时,肉鸡肠道形态和肝脏病理学发生损伤。

3.2 缬氨酸

陈将等^[23]发现低蛋白质饲料补充缬氨酸能提高AA肉鸡生长性能,降低血清中MDA含量,增强抗氧化能力,且1~21日龄AA肉鸡缬氨酸推荐量范围为77.4%~82.4%(Val/Lys),最佳Val/Lys推荐量为80.0%,即缬氨酸推荐量为0.94%;22~42日龄AA肉鸡缬氨酸推荐量范围为77.8%~81.0%(Val/Lys),最佳Val/Lys推荐量为79.2%,即缬氨酸推荐量为0.80%^[24]。

3.3 精氨酸

陈西风等^[25]研究发现,饲料中补充精氨酸可以显著提高AA肉鸡的平均日增重、降低料重比,提高血清中IgG、IgM、IFN- γ ,改善肉鸡生长性能及免疫水平,补充量为0.8%时效果最佳。钟光^[27]的研究表明,饲料中添加0.6%的精氨酸未见对热应激黄羽肉鸡生长性能的显著作用,仅见其在一定程度上增加了机体的抗氧化功能。Liu等^[26]研究发现,添加精氨酸(>14.7 g/kg)并没有显著改善AA肉鸡的生长性能,但可能对B细胞介导的鸡体液免疫产生潜在的负调节作用,这与抑制JAK/STAT3途径相关的STAT3表达有关。Thghyani等^[28]发现向受精卵添加精氨酸可以提高孵化后肉鸡的生长性能,提高其淋巴器官在孵化后的比例重量。

3.4 蛋氨酸

Khatlab等^[29]发现,蛋氨酸和蛋氨酸二肽可提高肉鸡日增重与饲料转化率,降低氧化物质含量、缓解艾美耳球虫感染造成的肠细胞损伤。

3.5 苏氨酸

Saadatmand等^[30]的研究表明,将Ross 308肉鸡饲料的苏氨酸水平10%可显著改善空肠组织学形态,提高SRBC抗体滴度、其体液免疫能力。Thghyani等^[28]发现向受精卵添加苏氨酸可以提高肉鸡血清白蛋白浓度,增强其体液免疫能力。

3.6 亮氨酸

Han等^[31]发现,在胚胎第7天向卵母细胞注射70 μ mol的L-亮氨酸可显著增加雏鸡体温、并且降低热应激雏鸡的体温,使其耐高温。

3.7 其它氨基酸

马建爽等^[32]的研究表明,饲料中添加谷氨酰胺可以提高肉鸡的生长性能,并通过影响肉鸡体内胰岛素和脂联素的分泌调控脂质代谢和脂肪沉积,0.8%谷氨酰胺的添加量效果为最佳。刘玲等^[33]发现,饲料添加1%谷氨酰胺可以提高沙门氏菌感染的AA肉鸡生长性能,但并没有降低盲肠沙门氏菌水平。Abdulkarimi等^[34]的研究表明,饲料添加0.5%谷氨酰胺或与130%推荐量的精氨酸连用,可增加冷诱导腹水鸡的肠绒毛长度、减少肠肌层,提高了冷诱导腹水肉鸡的生产性能,降低了腹水死亡率。

3.8 氨基酸配比

部分氨基酸之间存在着协同和拮抗的作用,因此适宜的氨基酸配比在生产指导中很重要。张倩云等^[6]对凌云乌鸡母鸡研究发现,随着饲料苯丙氨酸+酪氨酸水平的提高,母鸡的血糖水平显著提高,推荐凌云乌鸡母鸡7~12周龄饲料的适宜苯丙氨酸+酪氨酸水平为1.8%。董晓丽等^[35]基于日增重和饲料转化率的分析模型,推荐肉鸡饲料精氨酸与赖氨酸适宜比值为1.050~1.134。

4 总结

能量、蛋白、氨基酸是动物营养的三大要素,也一直是营养学研究的基础与热点问题。三大营养素通常存在互作关系,蛋能比平衡、氨基酸平衡显得尤其重要。

为达更高的经济效益、实现行业与环境的可持续发展,精准营养技术在动物养殖业中不断实践与完善,为高效、健康的肉鸡生产提供理论与技术指导。但是营养成分在动物体内消化吸收代谢等

是复杂的生理作用,受品种、性别、生存环境等多种因素影响,因此完善肉鸡饲粮营养研究、深入探究饲粮营养调控机制仍然任重道远。

参考文献:

- [1] MAYNARD C W, LATHAM R E, BRISTER R, et al. Effects of dietary energy and amino acid density during finisher and withdrawal phases on live performance and carcass characteristics of Cobb MV × 700 broilers [J]. *The Journal of Applied Poultry Research*, 2019.
- [2] 蒋守群, 王薇薇, 阮栋, 等. 1~28日龄慢速型黄羽肉公鸡饲粮代谢能需要量研究[J]. *动物营养学报*, 2019, 31(03):130-137.
- [3] EL - SENOUSEY H, WANG W, WANG Y, et al. Dietary metabolizable energy responses in yellow - feathered broiler chickens from 29 to 56 d [J]. *The Journal of Applied Poultry Research*, 2019, 28(4):974-981.
- [4] ABOUELEZZ K, WANG Y, WANG W, et al. Impacts of graded levels of metabolizable energy on growth performance and carcass characteristics of slow - growing yellow - feathered male chickens [J]. *Animals*, 2019, 9(7):461.
- [5] 雷秋霞, 龙君江, 刘玮, 等. 不同能量和蛋白水平对 0~6 周龄沂蒙鸡公鸡生产性能的影响[J]. *中国家禽*, 2019, 41(12): doi:10.16372/j.issn.1004-6364.2019.12.006.
- [6] 张倩云, 宋明杰, 王鹏飞, 等. 凌云乌鸡母鸡 7~12 周龄对代谢能、粗蛋白质和苯丙氨酸+酪氨酸适宜需要量的研究[J]. *饲料工业*, 2019(17).
- [7] 燕磊, 安沙, 李星晨, 等. 不同油脂对肉鸡生长性能、屠宰性能及肉品质的影响[J]. *中国畜牧杂志*, 2019, 55(04):88-94.
- [8] YANG A, QI M, WANG X, et al. Refined cottonseed oil as a replacement for soybean oil in broiler diet [J]. *Food Science and Nutrition*, 2019, 7(3):1027-1034.
- [9] ABDELBASSET B, BARTOSZ K, MATEUSZ R, et al. Insect oil as an alternative to palm oil and poultry fat in broiler chicken nutrition [J]. *Animals*, 2019, 9, 116; doi:10.3390/ani9030116.
- [10] ALBERTO V, LORENA C and BARROETA A. Soybean lecithin high in free fatty acids for broiler chicken diets: impact on performance, fatty acid digestibility and saturat [J]. *Animals*, 2019, 9, 802; doi:10.3390/ani9100802.
- [11] 李启照, 范艳美, 杨春燕, 等. 黑麦作为能量原料对肉鸡细菌移位、肠道黏度及微生物组成的影响[J]. *中国饲料*, 2019(12):63-66.
- [12] 王娟娟, 闵育娜, 刘瑞芳, 等. 饲粮蛋白质对 7~12 周龄略阳乌鸡生长发育的影响[J]. *西北农业学报*, 2019, 28(04):18-24.
- [13] 孙照程, 王炳彦, 陈莹, 等. 饲粮不同粗蛋白水平对“茶花鸡 2 号”体尺性状和器官组织生长状况的影响[J]. *中国家禽*, 2019, 41(07):31-36.
- [14] 陈莹, 张曦, 孙照程, 等. 饲粮粗蛋白水平对 0~6 周龄茶花鸡 2 号生长性能、血液生化指标及养分代谢的影响[J]. *饲料研究*, 2019(9).
- [15] KAMILLA R, LEONARDO J, NELSON R, et al. Protein diets for growing broilers created under a thermoneutral environment or heat stress [J]. *Animal Feed Science and Technology*, doi.org/10.1016/j.anifeeds.2019.114332
- [16] 刘胜利, 王育伟, 刘文龙, 等. 蛋白水平和复合酶添加对岭南黄鸡生长和屠宰性能的影响[J]. *饲料研究*, 2019(5).
- [17] 李燕蒙, 田大龙, 陈盼盼, 等. 赖氨酸对肉鸡生长性能、免疫器官发育及免疫相关基因表达的影响[J]. *中国家禽*, 2019, 41(04):28-33.
- [18] 田大龙. 基于蛋白组学分析的饲粮赖氨酸对肉鸡生长发育影响的分子机制[D]. 硕士学位论文. 杨陵:西北农林科技大学, 2019.
- [19] HANDIQUE B, SAIKIA G, DOWARAH R, et al. Effect of supplementation of synthetic lysine and methionine on serum biochemical profile, carcass characteristics and meat composition in broiler chicken [J]. *Indian Journal of Animal Nutrition*, 2019, 36:40-46.
- [20] BELLOIR P, LESSIRE M, LAMBERT W, et al. Changes in body composition and meat quality in response to dietary amino acid provision in finishing broilers. *Animal*, 2019, 13(5):1094-1102.
- [21] 王一冰, 蒋守群, 周桂莲, 等. 1~63 日龄黄羽肉鸡饲粮赖氨酸需求量研究[J]. *动物营养学报*, 2019(7):3074-3085.
- [22] JIA H, HE T, YU H, et al. Effects of L-lysine•H2SO4 product on the intestinal morphology and liver pathology using broiler model [J]. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2019, 10(1).
- [23] 陈将, 刘国华, AHMED P, 等. 低蛋白质饲粮补充缬氨酸对肉鸡生长性能、屠宰性能和血清指标的影响[J]. *动物营养学报*, 2019, 31(04):141-149.
- [24] 陈将. 1~42 日龄肉仔鸡缬氨酸需要量的研究[D]. 硕士学位论文. 北京:中国农业科学院, 2019.
- [25] 陈西凤, 刘维平. 饲粮中补充不同水平精氨酸对肉鸡生长性能及免疫的影响[J]. *中国饲料*, 2019(21):51-53.
- [26] LIU S, TAN J, HU Y, et al. Dietary l-arginine supplementation influences growth performance and B cell secretion of immunoglobulin in broiler chickens [J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2019, 103(2).
- [27] 钟光. 精氨酸、γ-氨基丁酸、有机铬和硒对热应激黄羽肉鸡的作用研究[D]. 硕士学位论文. 泰安:山东农业大学, 2019.
- [28] TOGHYANI M, TAHMASEBI S, MODARESI M, et al. Effect of arginine and threonine in ovo supplementation on immune responses and some serum biochemical attributes in broiler chickens [J]. *Italian Journal of Animal Science*, 2019, 18(1): 324-349.
- [29] ANGÉLICA S, VESCO A, NETO A, et al. Dietary

动物冠状病毒的研究进展

曾思莹¹, 曹永长^{2*}

(1. 中山大学生命科学学院, 广东 广州 510006;

2. 有害生物控制与资源利用国家重点实验室, 中山大学生命科学学院, 广东 广州 510006)

摘要:冠状病毒(Coronavirus)在自然界中普遍存在, 其宿主广泛, 可感染哺乳动物和鸟类, 是一种严重危害人类健康和畜牧业发展的病原微生物。本文主要介绍了已知动物冠状病毒的分类、基因组结构、常见的几种动物冠状病毒及其诊断与防治技术, 并对动物冠状病毒与最新发现的新型冠状病毒SARS-CoV-2进行了比较, 旨在更好的了解和认识冠状病毒及其危害, 为防控冠状病毒引起的相关感染提供借鉴。

关键词:动物冠状病毒; SARS-CoV-2; 基因组结构; 防治

中图分类号:S855.3 **文献标识码:**A **文章编码:**1005-8567(2020)02-0009-08

冠状病毒在分类上属于冠状病毒科, 冠状病毒属, 是一种有囊膜的单股正链RNA病毒, 因其囊膜表面纤突规则地排列成皇冠状, 故被命名为冠状病毒。冠状病毒(Coronavirus)在自然界中广泛存在, 且极易发生基因重组和变异, 导致新亚型或新的冠状病毒不断出现, 危害极大。2019年底我国武汉多人出现不明原因肺炎, 2020年1月疫情大规模爆发, 目前肺炎疫情已蔓延至全球多个国家和地区, 引起各界广泛关注。经测序鉴定发现引起肺炎的病原是一种新型的能感染人的冠状病毒, WHO在2020年2月11日将本次新型冠状病毒感染引起的肺炎命名为“COVID-19”(Corona Virus Disease 2019);同时, 国际病毒分类委员会将新型冠状病毒命名为“SARS-CoV-2”(Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2)。纵观整个冠状病毒家族, 其宿主广泛, 主要感染哺乳动物和鸟类, 动物为冠状病毒及其重组提供了持久的源泉; 对病毒起源进行分析不难发现, 很多“新”病毒其实是“旧”病毒打破了物种屏障, 从一种动物感染到另一种动物, 拥有了跨物种传播的能力。针对

目前SARS-CoV-2流行的形势, 本文主要对动物冠状病毒的分类、基因组结构、常见的动物冠状病毒及其诊断与防治方面进行综述, 并对人与动物冠状病毒的特征进行简要比较, 旨在更好的认识和了解动物冠状病毒与新型SARS-CoV-2。

1 冠状病毒的分类

根据遗传特性和血清学的差异, 可将冠状病毒进一步分成四类: α 冠状病毒(α -CoVs)、 β 冠状病毒(β -CoVs)、 γ 冠状病毒(γ -CoVs)和 δ 冠状病毒(δ -CoVs)。 α 和 β 冠状病毒主要宿主为哺乳动物, 其中, α -CoVs主要包括人冠状病毒229E(HCoV-229E)、人冠状病毒NL63(HCoV-NL63)、猪传染性胃肠炎病毒(TGEV)、猪流行性腹泻冠状病毒(PEDV)、犬冠状病毒(Canine corona virus, CCoV)和猫冠状病毒(FeCoV)等。 β 冠状病毒主要包括人冠状病毒HKU1(HCoV-HKU1)、人冠状病毒OC43(HCoV-OC43)、严重急性呼吸综合征病毒(SARS-CoV)、中东呼吸综合征相关冠状病毒(MERS-CoV)、鼠肝炎病毒(MHV)、猪血凝性脑脊髓炎病毒

收稿日期:2020-03-01

作者简介:曾思莹(1996-), 女, 广东梅州人, 硕士研究生, 主要从事动物病毒学研究。E-mail:zengsy19@163.com

*通讯作者:曹永长(1965-), 男, 湖南临澧人, 教授, 博士研究生导师, 主要从事动物病毒学研究。E-mail:caoych@mail.sysu.edu.cn

(PHEV)等。 γ 冠状病毒主要宿主是鸟类, 主要包括禽传染性支气管炎病毒(IBV)和火鸡蓝冠病毒(TCoV)等。 δ 冠状病毒主要感染哺乳动物和鸟类, 主要包括猪 δ 冠状病毒(PDCoV)、亚洲豹猫冠状病毒(ALCCoV)、野鸭冠状病毒(WiCoV)、鹅口疮冠状病毒(ThCoV)和麻雀冠状病毒(SPCoV)等。大部分冠状病毒只对禽畜有致病性, 能感染人的冠状病毒主要集中在 α 和 β 属, 其中又以 β 属对人的危害最大, 近期爆发的SARS-CoV-2也属于 β 属冠状病毒。

2 基因组结构

冠状病毒是目前发现的所有RNA病毒中基因组最大的病毒, 大小在27-32 kb之间。整个冠状病毒家族的结构相似, 其基因组5'端含有一个甲基化帽结构, 3'端含有一个polyA尾。在基因组5'端包含一个复制酶基因ORF1ab, 约占整个基因组的2/3, 主要编码病毒的非结构蛋白(nsp); 其余1/3靠近3'端的基因主要编码病毒的结构蛋白。冠状病毒基因组被包裹在由核衣壳蛋白(nucleocapsid protein, N)形成的螺旋衣壳内, 其外进一步被囊膜包装呈球状, 表面有规则排列的纤突。囊膜由至少3种结构蛋白组成: 纤突蛋白(Spike, S)、膜蛋白(Membrane, M)和包膜蛋白(Envelop, E)。S、M、E和N蛋白是产生一个完整病毒粒子结构所必须的四个病毒蛋白。另外还有一些 β 属冠状病毒编码一种与包膜相关的结构蛋白血凝素酯酶蛋白(hemagglutinin-esterase protein, HE)。基因组结构的差异是冠状病毒分成不同类群的依据, 针对差异的基因结构设计检测试剂盒可以有效的鉴别不同的冠状病毒, 例如目前获批的SARS-CoV-2检测试剂盒是针对特异性较高的ORF1ab、N蛋白和E蛋白区域设计的。

2.1 纤突蛋白(S)

S蛋白是冠状病毒结构蛋白中最大的蛋白, 是一种伸出病毒囊膜16-21nm的球棒状跨膜糖蛋白^[1], 主要作用是介导冠状病毒附着在宿主细胞表面受体上, 使病毒和宿主细胞膜发生融合, 促进病毒进入宿主细胞。S蛋白结构主要包括S1和S2两个亚基, S1主要参与病毒对宿主细胞的识别, S2主要负责介导膜融合。虽然S2亚基不主要参与与

宿主细胞受体的结合, 但S1和S2之间的相互作用可能协同决定病毒对宿主的嗜性^[2-3]。蝙蝠冠状病毒HKU4与MERS-CoV的S蛋白能与人的细胞表面受体DPP4结合, 但由于HKU4不能被人的相关蛋白酶激活, 因此不能进入细胞质内; 而MERS-CoV的S蛋白相对于HKU4包含两个突变, 使其能被人的蛋白酶酶切, 从而进入细胞; 这种差异被认为可能是导致MERS-CoV成为人畜共患病的原因之一^[4]。另外有人发现PEDV、TGEV、IBV、CCoV等多种冠状病毒S1蛋白的表达能够诱导细胞凋亡信号, 导致细胞死亡^[5]。这表明S1蛋白是阻断冠状病毒释放和传播的一个潜在靶点。

2.2 膜蛋白(M)

M蛋白是一种跨膜蛋白, 在病毒粒子中含量最丰富, 决定了病毒包膜的形状。它在CoV组装中扮演着的中心组织者的角色, 与其它主要的结构蛋白相互作用。M蛋白之间的相互作用是形成包膜的主要驱动力, 但仅靠M-M的作用力不足以形成病毒粒子^[6]; M蛋白与S蛋白之间的相互作用对于病毒粒子的组装并不是必须的, 但对S蛋白运输到细胞内质网-高尔基体中间体(ERGIC)并掺入到新病毒中非常关键^[7]; M蛋白与N蛋白相互作用使核衣壳以及病毒粒子内部结构稳定, 并促进了病毒的组装^[7-8]; M蛋白和E蛋白共同构成病毒包膜, 它们的相互作用促进了病毒样颗粒(VLPs)的产生和释放^[9]。一般认为, 病毒与细胞的相互作用是由S蛋白介导的, 但近期的一项研究显示, M蛋白在病毒早期感染入侵细胞阶段也发挥着重要作用: HCoV-NL63可通过M蛋白介导与粘附因子硫酸乙酰肝素蛋白多糖的相互作用入侵细胞, 并且这种作用不依靠S蛋白^[10]。

2.3 核衣壳蛋白(N)

N蛋白是一种磷酸化蛋白, 主要作用是与病毒基因组结合形成核衣壳, 保护基因组以确保病毒及时进行复制和扩散。在病毒组装过程中, N蛋白与M膜蛋白相互作用, 对提高病毒在宿主中的转录和组装效率有重要作用。除此之外, N蛋白还通过病毒基因组5'和3'末端相互作用参与基因组环化和负链RNA的合成过程^[11]。氨基酸序列分析发现, N蛋白具有三个不同的高度保守的结构域: N末端结构域(NTD/domain 1)、C末端结构域(CTD/

domain 3)以及一个无序的连接区域(linker region, LKR)。有研究对IBV的N蛋白进行定点突变,发现NTD在RNA结合和病毒感染细胞过程中至关重要^[12];CTD在 α 、 β 和 γ 属冠状病毒中的序列都较保守,这说明该结构域在不同冠状病毒的结构和功能上存在共性^[13]。LKR将NTD和CTD分隔开,因其富含丝氨酸和精氨酸残基所以又被称为SR结构域(SR-domain),该结构域主要参与了细胞内的信号转导以及RNA结合过程^[14]。

2.4 包膜蛋白(E)

E蛋白是病毒包膜的组成成分,在病毒粒子中含量较少,在复制周期中,E蛋白在宿主细胞内大量表达,但最终只有小部分被整合到病毒包膜中^[15]。E蛋白在细胞内主要定位到内质网、高尔基体和ERGIC,参与CoV组装和出芽^[16]。有研究表明,缺乏E蛋白的重组冠状病毒病毒滴度显著降低、病毒成熟过程受到阻碍,这说明E蛋白在病毒形成和成熟过程中起着重要作用^[17-18]。

2.5 血凝素酯酶蛋白(HE)

在一些 β 冠状病毒中还存在着另一种结构蛋白——血凝素酯酶蛋白,分子量大小为120 kD-140 kD。氨基酸序列分析发现,冠状病毒HE蛋白与丙型流感同源,因此推测冠状病毒的HE蛋白是由基因组与丙型流感重组产生。目前对HE蛋白的研究较少,主要认为其在病毒吸附宿主细胞过程中起作用。HE蛋白作为血凝素能结合细胞表面的唾液酸,且具有乙酰酯酶活性,被认为可以促进S蛋白介导的病毒入侵和传播过程^[19]。

3 几种重要的动物冠状病毒

动物冠状病毒的主要宿主是与人类生活息息相关的经济动物,包括猪、鸡、鸭、牛等,以及常见的宠物品种猫、狗等,因此了解动物冠状病毒的流行情况和基本特性有助于相关防控工作的开展,对人类生活健康发展有着积极意义。目前发现的动物冠状病毒存在较多重组变异,但一般都只对本自然宿主有致病性,对人不致病,且较少出现跨物种传播情况。

3.1 传染性支气管炎病毒(IBV)

冠状病毒最早于1937年由Beaudetie和Hadson在鸡身上分离出来,他们成功在鸡胚中培养了

IBV。随后在加拿大、英国、意大利、比利时日本和印度等国家和地区都出现了IBV感染病例,对养鸡业造成了很大的损失;我国最早于1972年首次报道在广东分离出IBV毒株。在20世纪80年代前,由于使用了Mass型疫苗,我国对于IBV的防控效果比较理想,但在90年代后新基因型的IBV毒株不断出现,其中QX型毒株流行较为广泛。对我国西南地区8株QX型IBV进行序列分析发现,8株IBV存在抗原变异和致病性差异^[20]。

IBV只感染禽类,鸡是IBV的主要自然宿主。感染IBV后会导致鸡传染性支气管炎(IB),1~4周龄的幼鸡极易感染且死亡高,感染IBV的雏鸡死亡率一般在25%到30%之间,但由于宿主、病毒或环境等因素的影响,死亡率可能会增加到80%;随着鸡年龄的增长,对IBV的抵抗力会逐渐增强。IB一年四季流行,在冬春季节感染较为严重;有研究表明,大部分IBV毒株在56℃、15分钟或45℃、90分钟条件下会失去感染力,在-30℃环境下可保持多年活性。

3.2 猪传染性胃肠炎病毒(TGEV)

TGEV最早于1946年在美国被报道并分离,随后欧亚多国都相继报道了TGEV的流行情况,而我国则是在1958年首次发现该病。目前TGEV已经成为全球性的猪群传染疾病,因其对养猪业造成极大危害,被世界动物卫生组织列入了B类传染病。1999年许井君等^[21]人对大庆地区某猪场的TGEV流行病学调查发现,该病呈流行性发生,且几乎所有猪都发病,10日龄以内的仔猪死亡率极高,可达100%。贺会利等^[22]人调查了2015-2017年广西地区规模化猪场主要病毒性传染病的流行情况,发现TGEV的阳性率为10.87%,且近三年感染率呈现上升趋势。

TGEV主要感染不同日龄和品种的猪,患病猪主要症状为呕吐、腹泻和脱水,2周龄以内的仔猪发病率和死亡率较高,同时也能感染猫、狗、狐狸等动物但不致病;感染后存活超过6至8天的仔猪可以恢复,但经常出现发育不良的情况,且这些恢复的猪可以将TGE传播到未感染的猪身上数周^[23]。猪传染性胃炎(TGE)的发生和流行有明显的季节性特征,每年11月至次年4月发病率最高,夏季发病较少,这可能与TGEV不耐热但低温条件

下较稳定的理化特性有关。

3.3 猪流行性腹泻病毒(PEDV)

目前对养猪业影响较大的冠状病毒病主要是 PEDV 和 TGEV, 特别是 PEDV 近年来在亚洲和欧美都造成了巨大的经济损失, 2013-2015 年美国每年因 PEDV 造成的损失为 9-18 亿美元。事实上, PEDV 早在 1978 年就已经被鉴定出来, 但之后几十年相关的病情逐渐减少。然而 2010 年 PEDV 又卷土重来, 我国出现了 PEDV 的变异株并迅速在全国流行, 所有年龄段的猪都受到 PEDV 的侵害, 80%-100% 的仔猪发病并造成了 50%-90% 的死亡率, 对我国养猪业造成了巨大打击^[24]。近年来的数据显示, PEDV 也是我国猪腹泻病的主要病因。目前, PEDV 基因 II 型中的高致病性流行变异株是我国优势毒株, 而基因 I 型, 如 SD-M、AH-M、SQ2014 和 SC1402 毒株出现较少^[25]。

感染 PEDV 的猪群可导致猪流行性腹泻 (PED), 其临床症状与 TGE 相似, 但 PED 在猪群中的传播速度较慢, 一般在 4-5 周内传遍整个猪场。患病仔猪症状较严重且死亡率高, 而成年猪大多无症状。PED 的流行也有一定的季节性特征, 其多发生在冬季, 夏季也有一些报道。

3.4 猪 δ 冠状病毒(PDCoV)

PDCoV 是 2012 年发现的一种新型动物冠状病毒, 由 Woo 等人在香港发现。后续有研究收集了 2007-2011 年的猪临床样品, 发现 PDCoV 的阳性率为 10.1%^[26]。在 2004 年的一份猪腹泻样品中检测到了 PDCoV 的病毒 RNA^[27], 这些证据说明 PDCoV 在我们发现之前就已经在猪群中存在着很长一段时间。2014 年, 美国俄亥俄州爆发了大规模的仔猪腹泻, 造成了很大的经济损失, 经鉴定发现主要是由 PDCoV 引起; 同年, 韩国和加拿大也首次在猪群中检测到了 PDCoV。目前, PDCoV 已经蔓延至世界多个国家和地区, 对养殖业造成了极大的危害。

PDCoV 主要感染各年龄段的猪, 但在体外具有感染广泛物种来源细胞系的能力, 可在鸡和小牛中增殖, 另外在自然条件下, Egberink 等人检测了 137 份猫血清, 发现有 2 份样品呈 PDCoV 阳性^[28]。与 PEDV 感染相似, PDCoV 感染也会引起严重急性萎缩性肠炎, 并伴有短时的病毒血症, 导

致猪群严重腹泻或呕吐, 由此引起的脱水是哺乳仔猪的潜在死亡原因。宋亚兵等^[29]人对春夏秋冬四季共 420 份猪腹泻样品进行检测, 发现冬春两季 PDCoV 的阳性检出率较高, 由此推测这两个季节是这一传染病的高发季节。

3.5 猪肠道 α 冠状病毒(PEAV)

近年来, 新型动物冠状病毒不断出现在人们的视野中, 2017 年在我国广东某猪场又发现了一种新的冠状病毒——猪肠道 α 冠状病毒 (PEAV)^[30], 感染该病毒的新生仔猪出现水样腹泻、呕吐、脱水等症状, 5 日龄以下仔猪死亡率高达 90%, 但 8 日龄以上仔猪死亡率降至 5%^[31]。张帆帆等^[25]人收集了广东、福建、江西、湖南、浙江 2012-2018 年的猪腹泻样本, 发现仅在福建省 2017 年的样本中检测到了 PEAV, 阳性率为 10.29%。对 PEAV 的序列进行分析, 发现这种新型病毒与蝙蝠肠道冠状病毒 HKU2 的核苷酸同源性约为 95%, 但不与 TGEV、PEDV 和 PDCoV 产生抗体交叉反应。有研究通过 Bayesian 分析了 PEAV 的起源和进化历史, 推测 PEAV 出现在约 90 年前, 可能在猪群中已经存在了几十年^[32]。PEAV 与 PEDV 类似, 两者都能引起新生仔猪腹泻症状并导致死亡, 但 PEAV 临床发病时间较 PEDV 晚, 死亡率稍低。

3.6 犬冠状病毒(CCoV)

CCoV 是引起犬冠状病毒病的主要病原, 犬作为人类最普遍的宠物种类之一, 与人密切接触, 因此研究 CCoV 对公共卫生健康有着重要的意义。CCoV 最早由 Binn 等人于 1974 年首次报道, 随后多个国家和地区都相继报道了该病毒的流行, 我国则是在 1985 年由徐汉坤等人首次报道了 CCoV 的流行。根据 S 蛋白的氨基酸序列以及是否存在特异的 ORF-3 基因, CCoV 分进一步为 I 型 (CCoV-I) 和 II 型 (CCoV-II), 不同地区两种血清型的流行情况不同, 目前 CCoV-II 是大部分地区的主要流行基因型, 少部分地区流行 CCoV-I。Tomomi 等人收集了日本 2011 年至 2014 年间 101 只犬的直肠拭子样本, 发现 CCoV 感染犬标本中 CCoV-I 和 CCoV-II 的检出率分别为 88.9% 和 7.4%^[33]。在我国, CCoV-II 是主要流行基因型, 王玉燕等人采集了 2003 至 2004 年 81 份健康犬的粪便样本, 没有检测出 CCoV-I, CCoV-II 的检出率为 86.4%^[34]; wang

等人对东北地区2014至2015年的201份犬腹泻粪便进行检测,结果显示CCoV的阳性率为28.36%,阳性样本中CCoV-I和CCoV-II分别占15.79%和84.21%^[35]。

CCoV的宿主范围较广,除了能够感染不同年龄品种的犬以外,还能感染猪、猫、大熊猫等动物。研究表明,在遗传学上CCoV-I与FeCoV联系密切,而CCoV-II则与TGEV的序列相似度高。感染CCoV的犬主要症状为急性胃肠炎,临床表现主要是呕吐、腹泻、厌食等,对我国养犬业危害较大。CCoV一年四季均可发生和流行,夏季相对多发。

4 诊断与防治

动物冠状病毒对我国畜禽业发展危害极大,动物感染病毒后主要引起不同严重程度的呼吸道、胃肠道、肝脏和神经系统等疾病^[36],严重损害经济动物的生产效率;且由于易重组变异以及常潜伏于动物体的特点,动物冠状病毒在一定程度上威胁着人类的健康发展,因此,做好对动物冠状病毒的诊断和防控是非常必要的。

在诊断病原方面,一般先根据疾病的流行特点以及患病动物的临床症状进行初步诊断,但部分冠状病毒,如TGEV、PEDV和PDCoV等猪肠道冠状病毒感染引起的临床症状非常相似且存在混合感染,因此需要进行进一步的实验室检测对病毒进行鉴定。动物冠状病毒实验室检测方法主要采用抗原检测和抗体检测相结合的方法。传统抗原检测方法是待检病毒分离出来后在细胞中进行培养,通过观察细胞生长状况判断病毒种类,诊断疾病;但是这种方法耗时长效率不高,加上部分冠状病毒分离困难,可能会延误疾病的防控,因此还需要结合其他方法进行检测。有条件的实验室可以使用电镜直接观察病毒粒子形态进行判断,这种方法较为便捷快速,但由于待检样品中可能存在和冠状病毒类似的粒子,因此需要进一步进行免疫电镜检测;另外若样品中的病毒粒子含量较少也会影响电镜观察的检出率。血清学检测主要包括病毒中和试验和间接酶联免疫吸附试验(ELISA)方法。前者主要利用已知特异性抗体检测未知病毒,能较快速检出病原体且能区分病毒的

血清型,但缺点是抗体较昂贵,不利于较大规模的诊断工作;而ELISA方法相对经济成本低,且操作简便,反应更灵敏,更适用于现场检测以及疫苗接种或接触后监测抗体反应。另外,近年来分子生物学发展迅速,分子检测技术也在动物冠状病毒诊断中得到应用。常用分子检测方法有RT-PCR、巢式RT-PCR、实时荧光定量PCR、限制性片段长度多态性(RFLP)和基因组测序等,由于该技术高灵敏度和高时效的特点,这种方法几乎取代了传统血清学和病毒培养方法。但是若病毒RNA难以提取或已经降解时,就需要使用血清学检测进行诊断。

在动物冠状病毒病的治疗方面,目前市面上的药物疗效有限。新的药物开发主要基于以下几个方向:阻断病毒入侵宿主细胞、抑制病毒在宿主细胞内的增殖以及提高宿主的抗病毒能力等。Sirin等人针对FIPV的3CL蛋白酶研发了几种化合物,发现化合物毛壳色菌素,粘酸和stubomycin具有抗病毒活性,抑制了FIPV的复制^[37]。干扰素是机体抵抗病毒产生天然免疫反应中重要的调节因子,具有广谱抗病毒和免疫调节的作用。赵永旭等人在初生仔猪临床防治的实验中发现,口服rIFN- α 对PEDV有较好的防治效果,仔猪存活率达50%-70%,母猪和仔猪联合使用优于单独使用,但是对严重病例的治疗效果不佳^[38]。另外还有一些RNA干扰剂、蛋白抑制剂、自噬诱导剂等也是冠状病毒药物研究的热点,未来相信会有更多的作用靶点被发现。

另一方面,考虑到动物冠状病毒感染情况和致病性的特点以及经济动物效益的因素,目前对这种病毒的控制是以防为主,防大于治。疫苗接种是预防和控制动物冠状病毒病最为有效的手段。目前的疫苗主要包括灭活疫苗、弱毒疫苗和基因工程疫苗等,前两者是当前应用最广泛的两种。灭活苗相对安全但免疫效果较差;而弱毒苗免疫原性好,免疫时期长,一般认为弱毒疫苗是针对冠状病毒最有效的疫苗。然而弱毒苗也存在一些安全问题,比如毒力返强和散毒的风险。有研究表明,针对FIPV接种S蛋白疫苗会使病情加重^[39]。另外,基因重组的倾向性可能使病毒在野外的进化和多样性增加。为了减少重组的可能

性,疫苗研发策略在不断改进。有人提出对病毒非结构蛋白 nsp1 和 E 蛋白进行大量突变,重新排列基因组的 3' 端,修改转录调控序列,或者使用突变率高的突变毒株来显著降低病毒毒力^[7]。除此之外,加强动物饲养管理也是做好冠状病毒防控工作的重要一环。例如对畜禽进行合理密度养殖,及时清理粪便或其他污染物,对使用的器械水源等进行规律性杀菌或消毒,保持养殖环境的干净、通风、整洁,对出现患病或死亡的动物及时隔离或扑灭;这些措施都能有效降低病毒感染率。

5 SARS-CoV-2 与动物冠状病毒

2020 年 1 月 30 日,WHO 宣布将新型冠状病毒肺炎疫情列入国际关注的突发公共卫生事件。截止 2020 年 2 月 26 日,本次 SARS-CoV-2 疫情已经在全球范围内造成 7 万多人感染,超过 2700 人死亡(编者注:截止 2020 年 3 月 28 日,全球确诊感染累计超过 65 万人,死亡人数超过 3 万,约一个月时间增加了将近 10 倍),严重威胁全球公共卫生健康。对于 SARS-CoV-2 的来源,由于其引起的肺炎症状与 SARS-CoV 相似,因此最初人们将两者进行了比较。目前的相关研究结果显示,SARS-CoV-2 与 SARS-CoV 的基因组相似度约为 79.5%^[40],两者都属于 SARS 相关冠状病毒,但 SARS-CoV-2 与 SARS-CoV 是两个不同的病毒,SARS-CoV-2 不是由 SARS-CoV 的进化或者变异而来,他们是属于平行的关系;在病毒的传播能力上 SARS-CoV-2 比 SARS-CoV 强,但毒力与 SARS-CoV 相比较弱。

除了研究与 SARS-CoV 的相似度,科研人员在 SARS-CoV-2 与其他动物冠状病毒的亲缘关系上也做了一些研究:王楷宸等人基于冠状病毒的 1ab 基因保守区域对 SARS-CoV-2 与已知的禽源冠状病毒的亲缘关系进行研究,发现两者的亲缘关系较远,可初步排除 SARS-CoV-2 来源于家禽冠状病毒的可能^[41];中国动物卫生与流行病学中心对 SARS-CoV-2 与同为 β 冠状病毒属的猪源冠状病毒 PHEV 进行了基于全基因组的遗传进化分析,结果表明两者的核苷酸同源性仅为 54%^[42];另外,本实验室对 SARS-CoV-2 与 PEDV_CV777、PEAV_GDS04_P12、PDCoV/CHGD/2016、TGEV_Miller_M6 等猪源冠状病毒的序列进行分析,发现两者的基因组相似度

在 66.6%-68.6%,与 CCoV_CB/05 的序列进行对比,相似度为 68.5%,说明这些冠状病毒与 SARS-CoV-2 的亲缘关系都较远,因此也可初步排除 SARS-CoV-2 来源于猪或犬冠状病毒的可能。中科院武汉病毒研究所等团队对 SARS-CoV-2 与其他蝙蝠冠状病毒的序列进行了分析,发现 SARS-CoV-2 与蝙蝠冠状病毒 RaTG13 的全基因组序列高度相似,其一致性为 96.2%^[40];而在另一项溯源研究中也显示 SARS-CoV-2 与蝙蝠 SARS-like CoV 平行进化,且相比于 SARS-CoV,SARS-CoV-2 与蝙蝠冠状病毒存在着更密切的亲缘关系^[43]。

目前的溯源工作还在进行中。由于武汉早期的肺炎患者大部分有华南海鲜市场接触史,相关人员对该地区的 585 份样本进行了检测,结果发现有 33 份样品是 SARS-CoV-2 核酸阳性,且 93.9% 的阳性样本来自存在野生动物交易的综合市场区,因此起初推测本次 SARS-CoV-2 很可能来源于野生动物。然而,中国科学院西双版纳热带植物园在 ChinaXiv 预发布平台发表了一篇题为“Decoding evolution and transmissions of novel pneumonia coronavirus using the whole genomic data”的研究论文(<http://www.chinaxiv.org/abs/202002.00033>),其结果显示华南海鲜市场并非病毒的发源地,SARS-CoV-2 可能是其它地方传入,这一结果为寻找病毒的来源以及其可能的中间宿主提供了新的思路。

6 展望

近年来,不断有新亚型或新的冠状病毒出现在公众视野中,并且常伴随较大范围的病情危害。当前 SARS-CoV-2 肺炎疫情已经严重危害到中国乃至世界的发展,造成了巨大的损失。相关的溯源研究显示该病毒可能来源于动物或潜伏在动物体内,这使人们开始重新评估其他动物冠状病毒对人类的潜在危害性。事实上,目前的研究显示人类生活中常见动物冠状病毒对人类健康的危害不大,不必过于担心;而对于极有可能是 SARS-CoV-2 宿主的野生动物,人们则应该避免接触。另一方面,由于动物在冠状病毒传播过程中是其中一个极其重要的生物条件,因此在相关疾病防控中动物是重点措施对象。做好动物冠状病毒的防控工作不仅是畜禽业正常发展的保证,也

是维护人类健康的需要。随着各种生物技术的发展与应用,我们对冠状病毒各方面的情况都有了更深一步的认识,这让我们能够更好的了解其致病机理并制定出有效的治疗方案,也为今后处理相关的疾病事件提供了理论支持。

参考文献:

- [1] WICKRAMASINGHE I N, VAN BEURDEN S J, WEERTS E A, et al. The avian coronavirus spike protein [J]. *Virus Research*, 2014, 194:37-48.
- [2] PROMKUNTOD N, WICKRAMASINGHE I N, DE VRIEZE G, et al. Contributions of the S2 spike ectodomain to attachment and host range of infectious bronchitis virus [J]. *Virus Research*, 2013, 177(2):127-137.
- [3] DE HAAN C A, TE L E, LI Z, et al. Cooperative involvement of the S1 and S2 subunits of the murine coronavirus spike protein in receptor binding and extended host range [J]. *Journal of Virology*, 2006, 80(22):10909-10918.
- [4] YANG Y, LIU C, DU L, et al. Two Mutations Were Critical for Bat - to - Human Transmission of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus [J]. *Journal of Virology*, 2015, 89(17): 9119-9123.
- [5] CHEN Y, ZHANG Z, LI J, et al. Porcine epidemic diarrhea virus S1 protein is the critical inducer of apoptosis [J]. *Virology Journal*, 2018, 15(1):170.
- [6] NEUMAN B W, KISS G, KUNDING A H, et al. A structural analysis of M protein in coronavirus assembly and morphology [J]. *Journal of Structural Biology*, 2011, 174(1):11-22.
- [7] FEHR A R, PERLMAN S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis [J]. *Methods Mol Biol*, 2015, 1282:1-23.
- [8] NARAYANAN K, MAEDA A, MAEDA J, et al. Characterization of the coronavirus M protein and nucleocapsid interaction in infected cells [J]. *Journal of Virology*, 2000, 74(17):8127-8134.
- [9] SCHOEMAN D, FIELDING B C. Coronavirus envelope protein: current knowledge [J]. *Virology Journal*, 2019, 16(1):69.
- [10] NASKALSKA A, DABROWSKA A, SZCZEPANSKI A, et al. Membrane Protein of Human Coronavirus NL63 Is Responsible for Interaction with the Adhesion Receptor [J]. *Journal of Virology*, 2019, 93(19).doi:10.1128 / JVI.00355-9.
- [11] LO C Y, TSAI T L, LIN C N, et al. Interaction of coronavirus nucleocapsid protein with the 5'- and 3'-ends of the coronavirus genome is involved in genome circularization and negative - strand RNA synthesis [J]. *FEBS Journal*, 2019, 286(16): 3222-3239.
- [12] TAN Y W, FANG S, FAN H, et al. Amino acid residues critical for RNA - binding in the N - terminal domain of the nucleocapsid protein are essential determinants for the infectivity of coronavirus in cultured cells [J]. *Nucleic Acids Research*, 2006, 34(17):4816-4825.
- [13] YU I M, OLDHAM M L, ZHANG J, et al. Crystal structure of the severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus nucleocapsid protein dimerization domain reveals evolutionary linkage between corona - and arteriviridae [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2006, 281(25):17134-17139.
- [14] MCBRIDE R, VAN ZYL M, FIELDING B C. The coronavirus nucleocapsid is a multifunctional protein [J]. *Viruses*, 2014, 6(8):2991-3018.
- [15] VENKATAGOPALAN P, DASKALOVA S M, LOPEZ L A, et al. Coronavirus envelope (E) protein remains at the site of assembly [J]. *Virology*, 2015, 478:75-85.
- [16] NIETO -TORRES J L, DEDIEGO M L, ALVAREZ E, et al. Subcellular location and topology of severe acute respiratory syndrome coronavirus envelope protein [J]. *Virology*, 2011, 415(2):69-82.
- [17] DEDIEGO M L, ALVAREZ E, ALMAZAN F, et al. A severe acute respiratory syndrome coronavirus that lacks the E gene is attenuated in vitro and in vivo [J]. *Journal of Virology*, 2007, 81(4):1701-1713.
- [18] ORTEGO J, CERIANI J E, PATINO C, et al. Absence of E protein arrests transmissible gastroenteritis coronavirus maturation in the secretory pathway [J]. *Virology*, 2007, 368(2):296-308.
- [19] CORNELISSEN L A, WIERDA C M, VAN DER MEER F J, et al. Hemagglutinin-esterase, a novel structural protein of torovirus [J]. *Journal of Virology*, 1997, 71(7):5277-5286.
- [20] LI S, DU L, XIA J, et al. Antigenic and Pathogenic Characteristics of QX - Type Avian Infectious Bronchitis Virus Strains Isolated in Southwestern China [J]. *Viruses*, 2019, 11(12).doi:10.3390 / v11121154.
- [21] 许井君, 杨建德, 相文华. 大庆地区某猪场猪传染性胃肠炎的调查与防治 [J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2002(01):35.
- [22] 贺会利, 李军, 潘艳, 等. 2015年-2017年广西规模化猪场主要病毒性疫病流行调查 [J]. *动物医学进展*, 2019, 40(06): 116-120.
- [23] XIA L, YANG Y, WANG J, et al. Impact of TGEV infection on the pig small intestine [J]. *Virology Journal*, 2018, 15(1):102.
- [24] SUN R Q, CAI R J, CHEN Y Q, et al. Outbreak of porcine epidemic diarrhea in suckling piglets, China [J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2012, 18(1):161-163.
- [25] ZHANG F, LUO S, GU J, et al. Prevalence and phylogenetic analysis of porcine diarrhea associated viruses in southern China from 2012 to 2018 [J]. *BMC Veterinary Research*, 2019, 15(1):470.
- [26] WOO P C, LAU S K, LAM C S, et al. Discovery of seven novel Mammalian and avian coronaviruses in the genus

- deltacoronavirus supports bat coronaviruses as the gene source of alphacoronavirus and betacoronavirus and avian coronaviruses as the gene source of gammacoronavirus and deltacoronavirus [J]. *Journal of Virology*, 2012, 86(7):3995-4008.
- [27] DONG N, FANG L, ZENG S, et al. Porcine Deltacoronavirus in Mainland China [J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2015, 21(12):2254-2255.
- [28] ZHAO S, LI W, SCHUURMAN N, et al. Serological Screening for Coronavirus Infections in Cats [J]. *Viruses*, 2019, 11(8). doi:10.3390/v11080743.
- [29] 宋亚兵, 徐帅飞, 苏丹萍, 等. 2012年~2016年广东省猪丁型冠状病毒的流行病学调查及分析 [J]. *中国预防兽医学报*, 2018, 40(10):886-890.
- [30] GONG L, LI J, ZHOU Q, et al. A New Bat - HKU2 - like Coronavirus in Swine, China, 2017 [J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2017, 23(9):1607-1609.
- [31] ZHOU P, FAN H, LAN T, et al. Fatal swine acute diarrhoea syndrome caused by an HKU2-related coronavirus of bat origin [J]. *Nature*, 2018, 556(7700):255-258.
- [32] FU X, FANG B, LIU Y, et al. Newly emerged porcine enteric alphacoronavirus in southern China: Identification, origin and evolutionary history analysis [J]. *Infection Genetics and Evolution*, 2018, 62:179-187.
- [33] TAKANO T, YAMASHITA S, MURATA-OHKUBO M, et al. Prevalence of canine coronavirus (CCoV) in dog in Japan: detection of CCoV RNA and retrospective serological analysis [J]. *Journal of Veterinary Medical Science*, 2016, 78(2):341-345.
- [34] 王玉燕. 犬冠状病毒的流行病学调查及地方株的特性研究 [D]. 博士学位论文. 南京:南京农业大学, 2005.
- [35] WANG X, LI C, GUO D, et al. Co - Circulation of Canine Coronavirus I and IIa / b with High Prevalence and Genetic Diversity in Heilongjiang Province, Northeast China [J]. *PLoS One*, 2016, 11(1):e146975.
- [36] ZUMLA A, CHAN J F, AZHAR E I, et al. Coronaviruses - drug discovery and therapeutic options [J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2016, 15(5):327-347.
- [37] THEERAWATANASIRIKUL S, KUO C J, PHETCHARAT N, et al. In silico and in vitro analysis of small molecules and natural compounds targeting the 3CL protease of feline infectious peritonitis virus [J]. *Antiviral Res*, 2019, 174:104697.
- [38] 赵永旭, 袁秀芳, 姜平, 等. 重组猪 α 干扰素防治仔猪流行性腹泻病试验及临床应用 [J]. *浙江农业科学*, 2017, 58(02):291-293.
- [39] VENNEMA H, DE GROOT R J, HARBOUR D A, et al. Early death after feline infectious peritonitis virus challenge due to recombinant vaccinia virus immunization [J]. *Journal of Virology*, 1990, 64(3):1407-1409.
- [40] ZHOU P, YANG X L, WANG X G, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin [J]. *Nature*, 2020. doi:10.1038/s41586-020-2012-7.
- [41] 王楷成, 李阳, 庄青叶, 等. 禽源冠状病毒监测简报 [J]. *中国动物检疫*, 2020, 37(02):1-2.
- [42] 董雅琴, 张慧, 张锋, 等. 猪源冠状病毒监测简报 [J]. *中国动物检疫*, 2020, 37(03):1-2.
- [43] WU A, PENG Y, HUANG B, et al. Genome Composition and Divergence of the Novel Coronavirus (2019-nCoV) Originating in China [J]. *Cell Host & Microbe*, 2020. doi:10.1016/j.chom.2020.02.001.

上接第8页

- supplementation with free methionine or methionine dipeptide mitigates intestinal oxidative stress induced by *Eimeria* spp. challenge in broiler chickens [J]. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2019, 10(1).
- [30] SAADATMAND N, TOGHYANI M, GHEISARI A. Effects of dietary fiber and threonine on performance, intestinal morphology and immune responses in broiler chickens [J]. *Animal Nutrition*, 2019(3).
- [31] HAN G, YANG H, WANG Y, et al. L-Leucine increases the daily body temperature and affords thermotolerance in broiler chicks [J]. *Asian - Australasian Journal of Animal Sciences* (AJAS) 2019; 32(6):842-848.
- [32] 马建爽, 常文环, 李阳, 等. 谷氨酰胺对肉鸡生长性能、脂肪沉积和脂质代谢的影响 [J]. *饲料工业*, 2019, 40(08):31-35.
- [33] 刘玲, 种克, 郭姣洁. 谷氨酰胺对肉仔鸡生长性能和盲肠沙门氏菌定植的影响 [J]. *中国饲料*, 2019(14):85-88.
- [34] ABDULKARIMI R, SHAHIR M, DANESHYAR M. Effects of dietary glutamine and arginine supplementation on performance, intestinal morphology and ascites mortality in broiler chickens reared under cold environment [J]. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*, 2017, 32(1).
- [35] 董晓丽, 谢春元, 国春艳. 1~35日龄肉鸡饲料精氨酸与赖氨酸最佳比值的研究 [J]. *中国饲料*, 2019, 625(05):45-49.

壳聚糖在畜牧生产中的应用研究进展

杨富民¹, 张媛媛², 刘志昌³, 容庭³, 李家洲^{2, 3*}

(1. 湛江喜爱食品有限公司, 广东 湛江 524038

2. 广东轻工职业技术学院食品与生物工程学院, 广东 广州 510300

3. 广东农业科学院动物科学研究所, 广东 广州 510640)

摘要:壳聚糖是自然界除纤维素之外最丰富的生物多糖。壳聚糖具有调节免疫、抗菌消炎、促进细胞增生等多种生理功能。在畜牧生产中,壳聚糖具有促进畜禽繁殖性能、生长速度、健康水平等效果。本文综述了猪、鸡、牛等代表性动物饲料中添加壳聚糖的研究与应用情况,为壳聚糖在畜牧生产中推广应用提供参考。

关键词:壳聚糖; 猪; 禽; 草食动物

中图分类号:S816.7 **文献标识码:**B **文章编码:**1005-8567(2020)02-0017-03

虾、蟹、昆虫等甲壳动物的壳所含的甲壳素,是N-乙酰氨基葡萄糖经 β -1,4糖苷键连接而成的直链多糖。天然甲壳素不溶于水,经脱乙酰基(脱乙酰度 $\geq 50\%$)后形成的壳聚糖,暴露出来的氨基可以与水分子形成氢键或结合一个 H^+ 离子化,从而溶于稀酸或水。壳聚糖来源于生物体,具有良好的生物相容性、无毒性、可降解性。壳聚糖拥有抗菌、消炎、抗肿瘤、免疫调节、辐射保护、降血脂、高吸附性等多种多样的生理功能,被称之为21世纪材料,在医药、食品、化妆品、农业、环保等领域获得广泛应用^[1-3]。近年来,壳聚糖在畜牧生产中的应用受到越来越多的关注。研究发现,壳聚糖具有促进饲料转化、提高生长速度和繁殖性能、增强免疫水平等一系列作用。本文就壳聚糖在畜牧生产中应用的研究情况进行全方位综述,为其应用推广提供借鉴。

1 壳聚糖在养猪生产中的应用

1.1 壳聚糖对肉猪生长性能的影响

仔猪断奶是其成长过程中的关键期。在此过程中,伴随食物形状与营养组成的显著变化,相对

脆弱的仔猪消化系统很容易产生应激反应,甚至导致摄食下降、肠道失调、生长迟缓等一系列问题。传统养殖过程中,养殖户通常添加抗生素进行预防。大量使用抗生素,不仅可能产生耐药问题,还容易引起动物产品中药物残留。国家农业农村部2018年出台了《兽用抗菌药使用减量化行动试点工作方案(2018-2021年)》,预示着抗生素滥用将被根本性遏制。在此背景下,抗生素替代成为热点。壳聚糖侧链上的乙酰氨基带有大量正电荷,对带负电荷的细菌细胞膜具有亲和性,可改变其带电状态和膜稳定性,表现出较强的抑菌效果,成为潜在的兽用抗生素替代产品。

Hu等在断奶仔猪的基础饲料中添加5 mg/kg的低分子量壳聚糖,发现壳聚糖可显著增加仔猪的日采食量,促进仔猪快速生长,但对饲料转化率没有影响^[2]。同时还可显著降低肠粘膜中白细胞介素IL-1 β 和干扰素IFN- α 等炎症因子的表达量,表明壳聚糖对仔猪小肠的功能成熟具有促进作用。Chen等的试验结果也表明壳聚糖对断奶仔猪的生长具有显著促进作用,同时还发现其促进作用与壳聚糖剂量之间具有线性关系^[3]。Yang等的

收稿日期:2019-06-27

项目来源:2017年度湛江市科技计划项目“虾干保鲜技术开发及应用”(2017B010136192)

作者简介:杨富民(1986-),男,广东湛江人,硕士,助理工程师,主要从事海产品加工研究。E-mail:707195518@qq.com

*通讯作者:李家洲(1976-),博士,研究员,现从事生态养殖与环境控制研究。E-mail:lijiazhou@gdaas.cn

试验表明,低分子量壳聚糖除了对仔猪有保生长作用外,同时对盲肠的微生物菌群具有调节作用,可显著增加双歧杆菌和乳酸菌的丰度,同时降低金黄色葡萄球菌的丰度^[4]。Yu等证实,低分子量壳聚糖会抑制仔猪盲肠中的厚壁菌门,促进拟杆菌门和变形菌门的繁殖^[5]。爱尔兰的O'Shea等设计的试验发现壳聚糖会抑制猪粪便臭味素的释放^[6]。由于臭味素的释放量与糖代谢水平之间具有相关性,因此推导壳聚糖对猪的保生长作用,可能是因为促进了具有碳代谢能力的微生物繁殖,从而提供碳代谢水平所致。综合上述研究结果,低分子量壳聚糖对生猪的促生长作用,可能是通过改善肠道微生态环境促进健康水平和糖代谢能力,从而提振食欲和消化能力实现的。

1.2 壳聚糖对母猪繁殖性能的影响

母猪的繁殖性能是种猪产业最重要的经济指标,对生猪产业具有根本性影响。遗传、气候、营养、管理水平、公猪、环境条件等均对母猪繁殖性能产生影响^[7]。研究发现,壳聚糖具有提升母猪窝产仔数和仔猪存活率的良好效果。

中国科学院大连化学生物研究所的尹恒团队的研究发现,在母猪发情期的基础饲料中添加40 mg/kg壳聚糖,与对照组相比,可使母猪产仔率提高18.5%,活仔率提高19.2%,出生的仔猪体重提高31.3%,表明壳聚糖对母猪的繁殖性能具有全面的提升作用^[8]。进一步跟踪检测发现,发情期饲喂的母猪,其产后乳汁中的三碳糖和四碳糖丰度明显提高。乳汁中的三碳糖和四碳糖是阻止病原微生物及其毒素吸收小肠上皮细胞的主要效应因子。母猪窝产仔率与卵巢状态的密不可分。通过对比壳聚糖添加组和对照组的母猪卵巢转录组差异发现,在所有486个影响窝产仔数的基因中,234个基因的表达水平被壳聚糖上调,252个基因水平被下调^[9]。Xie等研究证实在母猪怀孕晚期的基础饲料中添加壳聚糖,可以提升母猪机体的抗氧化能力,降低IL-6、IL-8和IL-1 β 等炎症因子的表达量,同时提升母猪胎盘对氨基酸的转运能力^[10]。

综合来看,壳聚糖提升母猪繁殖能力的机理主要包括下述方面。一是改变母猪卵巢生理状态,增加成熟卵子数量。二是提升母猪的抗氧化能力,改进健康水平。母猪孕期,由于胎盘线粒体

代谢高度活跃,产生大量的自由基,既对母猪的健康构成威胁,又对猪胎的健康和成活构成威胁。在母猪饲料中添加壳聚糖后,可以显著提高血清中的SOD水平,增强对自由基的清除能力。三是促进母猪胎盘的吸收能力。胎盘对氨基酸的转运能力是猪胎营养供应的关键环节,壳聚糖可以促进氨基酸转运受体的合成,从而促进猪胎的发育。

2 壳聚糖在肉鸡生产中的应用

研究发现,壳聚糖对肉鸡的生长性能有改进作用^[11]。Shi等在肉鸡饲料中梯度添加壳聚糖,饲喂7周后,检测发现壳聚糖添加量0.5~1.0 g/kg时,肉鸡的日增重、日采食量、饲料转化率均高于空白实验,同时还高于常用的金霉素添加组。同时,添加壳聚糖还可以促进肉鸡对氮的吸收率。当壳聚糖的添加量超过1.0 g/kg后,发现壳聚糖的用量增加会导致肉鸡各生长性能指标下降。可能的原因是添加的壳聚糖会干扰肉鸡对脂肪的吸收,降低了添加中脂肪的吸收率。在当前国家农业农村部禁止饲料中添加金霉素作为生长促进剂的背景下,壳聚糖可替代金霉素,作为候选的新型促生长剂。Li等试验证明,壳聚糖对脂肪代谢的影响与其分子量大小有关^[12]。分子量低于2 kDa时,鸡粪脂肪含量、血液总脂含量、表观脂代谢能力均不受影响,但降低肉鸡肝和肌肉中的脂肪含量。这说明低分子量的壳聚糖不影响脂肪的吸收,但会影响脂肪在组织中的富集。中等分子量(5 kDa)和高分子量(50 kDa)的壳聚糖则会导致肉鸡粪便中的脂肪含量升高,即会影响脂肪的吸收也会影响脂肪在组织中的积累。酶活性分析发现,壳聚糖影响肝脂肪积累的原因是其可降低肝组织中脂肪酶集成酶的活性,同时提高肝脂蛋白脂酶和肝脂肪酶活性,使肝中的脂肪合成能力下降分解能力上升。这可能就是壳聚糖影响脂肪代谢的原因。因此,选择壳聚糖作肉鸡生长促进剂时,易选择分子量低于2 kDa的低分子量壳聚糖。还发现,低分子壳聚糖可以提升肉鸡血液中超氧化物歧化酶的活性,从而增加肉鸡体内的抗氧化能力。KHAMBUALAI等研究了添加壳聚糖的肉鸡小肠组织学,发现壳聚糖可以明显促进小肠绒毛和上皮

细胞的生长^[13]。这可能就是壳聚糖促进肉鸡生长性能的原因。

相对于肉鸡,壳聚糖对蛋鸡作用的研究较少。Yan等研究发现,壳聚糖对蛋鸡产蛋量和蛋壳质量指标均没有影响,但饲料添加0.01%~0.02%的壳聚糖,可明显提高蛋重、增加蛋黄色泽和哈氏单位^[14-15]。Vrzhesinskaia等研究壳聚糖用量对鸡蛋营养成分的影响,发现如果壳聚糖用量低于10 mg/kg(鸡体重)时,可使蛋黄中卵磷脂大幅度上升;当用量高于10 mg/kg(鸡体重)时,鸡蛋中的水溶性维生素A和E合成量均会不同程度下降,但不影响脂溶性维生素B₁₂的含量^[16]。

另外,还有研究者发现添加壳聚糖对鸡免疫系统的促进作用超过现在常用的金霉素^[17]。壳聚糖可以明显促进脾、胸腺、法氏囊等免疫器官增大,同时提高IgM、TNF- α 、IL-1b、IL-6、IFN- γ 等免疫因子。

研究还发现,壳聚糖对鸭生长性能和健康水平的影响与肉鸡类似^[18]。这表明壳聚糖对禽类的积极作用具有普遍性。

3 壳聚糖在草食动物生产中的应用

奶牛的饲料中添加壳聚糖,会增加草料的表观消化率,增加血液血脂固醇浓度,增加能量摄入和量能利用效率^[19]。Valle等研究发现壳聚糖可促进奶牛对蛋白的吸收和转化率^[20]。

在肉牛日饲料中添加壳聚糖具有两方面的生理功能。一是可以促进IgA和白细胞介素-1的合成,从而提升肉牛的免疫力;二是可以增加血液超氧化物歧化酶的水平,促进肉牛抗氧化能力的提升^[21]。

壳聚糖除了作为饲料添加剂外,还可用于牛等草食动物疾病的防治。Alam等试验表明,给肉牛饲喂50 mg/天的壳聚糖,对大肠杆菌引起的腹泻具有明显的改善作用^[22]。

4 小结

综合来看,壳聚糖在畜牧行业作为添加剂,具有以下功能:一是可以改善动物生产性能,提高动物产品产量;二是可以提升动物免疫力和抗氧化能力,改善动物健康;三是可以改善母猪繁殖性能,

提升窝产仔率和成活率。现有研究表明,壳聚糖具有替代金霉素的潜力。在国家禁止金霉素作为生长促进剂的背景下,应加强对壳聚糖的功能、机理、使用方法等进行系统性研究,为壳聚糖在畜牧生产中广泛应用提供科学依据。

参考文献:

- [1] KUMAR M N V R, MUZZARELLI R A A, MUZZARELLI C, et al. Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives. *J Chemical Reviews*, 2004, 104(12):6017-84.
- [2] SHENGLAN H, YU W, XIAOLU W, et al. Effects of low-molecular-weight chitosan on the growth performance, intestinal morphology, barrier function, cytokine expression and antioxidant system of weaned piglets. *BMC Veterinary Research*, 2018, 14(1):215-222.
- [3] CHEN Y J, KIM I H, CHO J H, et al. Effects of chitooligosaccharide supplementation on growth performance, nutrient digestibility, blood characteristics and immune responses after lipopolysaccharide challenge in weanling pigs. *Livestock Science*, 2009, 124(1-3):0-260.
- [4] YANG C M, FERKET P R, HONG Q H, et al. Effect of chitooligosaccharide on growth performance, intestinal barrier function, intestinal morphology and cecal microflora in weaned pigs. *Journal of Animal Science*, 2012, 90(8):2671-2676.
- [5] YANG C M, FERKET P R, HONG Q H, et al. Effect of chitooligosaccharide on growth performance, intestinal barrier function, intestinal morphology and cecal microflora in weaned pigs. *Journal of Animal Science*, 2012, 90(8):2671-2676.
- [6] O'SHEA C J, LYNCH M B, CALLAN J J, et al. Dietary supplementation with chitosan at high and low crude protein concentrations promotes Enterobacteriaceae in the caecum and colon and increases manure odour emissions from finisher boars. *Livestock Science*, 2010, 134(1-3):0-201.
- [7] LWALOR P G, LYNCH P B. A review of factors influencing litter size in Irish sows. *Irish Veterinary Journal*, 2007, 60(6):359.
- [8] CHENG L K, WANG L X, XU Q S, et al. Chitooligosaccharide supplementation improves the reproductive performance and milk composition of sows. *Livestock Science*, 2015, 174:74-81.
- [9] XU Q, QU C, WAN J, et al. Effect of dietary chitosan oligosaccharide supplementation on the pig ovary transcriptome. *RSC Advances*, 2018, 8(24):13266-13273.
- [10] XIE C, WU X, LONG C, et al. Chitosan oligosaccharide affects antioxidant defense capacity and placental amino acids transport of sows. *BMC Veterinary Research*, 2016, 12(1): 243-251.
- [11] SHI B L, DR D F L, PIAO X S, et al. Effects of chitosan on

抗菌肽在生猪养殖中的应用

王德刚, 李嘉慧

(浙江省台州市农业科学研究院, 浙江台州 317000)

摘要: 抗生素的滥用造成细菌耐药性, 引发全球关注。在禁止使用饲用抗生素的大背景下, 探索抗生素有效替代品成为研究热点。基于此, 本文论述了抗菌肽的抗菌活性和抗菌机制, 以及对改善猪群生长性能、调节免疫功能、改善肠道健康方面的作用, 为生猪养殖中替抗产品的开发、应用提供参考。

关键词: 猪; 抗生素; 抗菌肽

中图分类号: S816.7 **文献标识码:** B **文章编码:** 1005-8567(2020)02-0020-04

抗生素的发现据今已有90多年历史, 被广泛应用于畜禽养殖中, 用以预防和治疗疾病、促进畜禽生长^[1]。2013年, 全球食用动物抗生素使用总量约为131109吨, 预计2030年将达到200235吨^[2]。抗生素的滥用造成的细菌耐药性, 如大肠杆菌存在粘菌素类药物抗性、沙门氏菌存在喹诺酮类药物抗性, 成为人类以及畜牧业面临的重大挑战^[3-4]。畜禽养殖过程的抗生素滥用被认为是造成细菌耐药性的重要原因^[5-6]。

2019年7月, 《农业农村部公告第194号》发布, 畜牧行业替抗势在必行。目前, 国内外研究方向主要聚集在: 酸化剂、酶制剂、益生菌、植物提取物、抗菌肽等^[7], 其中抗菌肽是最具潜力的抗生素替代物之一。

1 抗菌肽在生猪养殖中的应用

1.1 抗菌肽抗菌作用

抗菌肽是生物先天免疫的重要组成部分, 具有抗细菌、抗真菌、抗寄生虫、抗病毒活性。迄今为止, 有1200多种不同来源的抗菌肽被发现和预测^[8]。抗菌肽分为天然抗菌肽以及重组合成抗菌肽。天然抗菌肽按来源可分为动物、植物、微生物抗菌肽^[9], 其中动物抗菌肽在生产中较为常见, 如昆虫抗菌肽天蚕素、哺乳动物抗菌肽乳铁蛋白肽。

重组合成抗菌肽是利用基因工程技术、化学合成方法获得的具有抗菌活性的短肽, 如抗菌肽CWA^[10]。为了提高天然抗菌肽的抗菌效果, 也会利用基因工程技术对其进行改造。

通过抗菌肽数据库(Antimicrobial Peptide Databases: <http://aps.unmc.edu/AP/main.php>)比对, 发现大部分抗菌肽具有相同的特征: 分子小(由12~50个氨基酸残基构成), 含有正电荷以及两性结构^[8]。抗菌肽具有天然的抗菌特性、较小的细菌耐药性。有研究表明, 抗菌肽SNAPPs可以抑制多耐药性鲍曼不动杆菌且不产生任何耐药性^[11], 因此, 抗菌肽被认为是最具潜力的抗生素替代物。

抗菌肽经典作用机理与其破膜机制相关。细菌细胞膜是由带负电荷的脂质组成, 如磷脂酰甘油、心磷脂和磷脂酰乙醇胺^[12], 而革兰氏阴性菌细胞外侧含有脂多糖(LPS), 革兰氏阳性菌富含酸性多糖, 这些赋予细菌表面负电荷的分子往往成为抗菌肽表面正电荷的结合目标^[13]。吸附于细菌细胞膜表面的抗菌肽可以诱导多种膜缺陷, 如造成细胞膜形成孔隙、相分离、促进非层状脂质结构或破坏膜双层结构, 进而造成细胞质外泄, 引发细菌死亡^[14]。此外, 抗菌肽还可通过靶向抑制胞内蛋白质、核酸的合成、细胞分裂、蛋白质折叠, 抑制细胞壁合成, 抑制蛋白酶活性, 诱导胞内停止代谢,

收稿日期: 2020-02-01

作者简介: 王德刚(1962-), 男, 浙江路桥人, 硕士, 推广研究员, 主要从事畜牧与环境研究。E-mail: wdg@tzag.gov.cn

达到抗菌抑菌效果^[15]。

1.2 抗菌肽的促生长作用

众多研究表明,抗菌肽可以改善猪群生长性能。饲喂仔猪抗菌肽乳铁蛋白肽,仔猪平均日增重较饲喂常规饲料提高29.3%,仔猪体重提高13.3%,料重比下降11.5%,与饲喂金霉素组效果相当^[16]。另有研究表明,抗菌肽CWA可以显著增加仔猪日增重,但对料重比无显著影响^[10]。乳铁蛋白、天蚕素、防御素、菌丝霉素四种抗菌肽混合饲喂断奶仔猪,仔猪平均日增重、料重比显著改善^[17]。抗菌肽天蚕素可以显著增加断奶仔猪平均日采食量、平均日增重以及料重比^[18]。抗菌肽对仔猪生长性能的影响,与猪群免疫力的提升以及肠道健康状态的改善密切相关。

1.3 抗菌肽的免疫调节作用

抗菌肽是宿主防御系统的重要组成部分,是参与先天免疫的重要效应分子。研究表明,饲料中添加抗菌肽乳铁蛋白肽可以增加仔猪血清IgA、IgG和IgM水平^[19]。抗菌肽天蚕素AD饲喂大肠杆菌感染仔猪,可以增加空肠分泌型IgA水平以及血清IgA、IgG、白介素-1 β 和白介素-6的水平^[20]。此外,抗菌肽还可以诱导趋化因子的产生,趋化免疫细胞至损伤部位,发挥抗感染功能^[10]。研究表明,cathelicidin家族抗菌肽可以刺激巨噬细胞产生趋化因子CCL2、CCL5^[21],其中人源抗菌肽LL-37对外周血中性粒细胞、单核细胞、T细胞具有趋化作用^[22]。

1.4 抗菌肽改善肠道健康

肠道中的病原菌产生的毒素会引起肠道损伤,甚至引发腹泻。抗菌肽可以降低仔猪腹泻率,提高肠道上皮细胞紧密连接蛋白表达,促进受损肠道修复,改变肠道菌群,进而改善肠道屏障。研究表明,抗菌肽CWA可以显著降低断奶仔猪腹泻率,改善小肠形态,提高空肠紧密连接蛋白ZO-1、Occludin表达,提高粪便中乳酸杆菌/大肠杆菌比值^[10]。另有研究发现,抗菌肽KR-32可以改善断奶仔猪小肠形态,缓解ETEC K88感染引起的肠道脂肪酸吸收障碍^[23]。同时,猪源抗菌肽PR39可以提高大肠杆菌感染的猪肠道上皮细胞IPEC-1紧密连接蛋白Occludin表达,改善由于感染引起的细胞骨架紊乱排列、降低肠道通透性^[24]。

2 抗菌肽使用过程中存在的问题

2.1 抗菌肽前期筛选、分离纯化成本较高

不同抗菌肽抗菌效果差别较大,高效抗菌肽的抗菌促生长效果与抗生素相当^[10, 16],而很多抗菌肽虽然具有较广的抗菌谱,但抗菌活性较弱^[10],这就给抗菌肽前期筛选带来挑战。同时,由于抗菌肽的肽属性,会被肠道中的一些蛋白酶、肽酶降解,影响抗菌肽活性;而生物体表达的天然抗菌肽水平低,重组合成抗菌肽产量低,分离纯化困难^[10],这就给抗菌肽批量生产造成困难。因此,筛选高抗菌活性的抗菌肽,探索合理的抗菌肽维稳方式,比较不同抗菌肽间配伍效果,探寻批量生产抗菌肽模式,将会是未来抗菌肽研究重点。

2.2 抗菌肽存在一定的耐药性

抗菌肽存在抑菌杀菌功能^[25, 26],但是随着抗菌肽的使用,细菌也会表现出抵抗抗菌肽作用的能力。细菌通过影响抗菌肽结合或渗透到细胞中而阻止抗菌肽到达其靶标,如产生蛋白水解酶降解抗菌肽^[27-28],使用膜外排泵将抗菌肽排出^[29]。此外,细菌通过细胞表面重构规避抗菌肽作用。如通过对脂质A的修饰作用,以减少细胞表面净负电荷水平^[30]。

但即使病原体进化出这些防御机制,抗菌肽仍然具备有效的抑菌作用。与传统抗生素相比,抗菌肽的优势之一是其耐药性发展趋势低^[31]。抗菌肽的独特之处在于它可以表现出多种抑制作用,这些抑制作用既可以非选择性地作用于细胞表面,又可以选择性地针对一个或多个细胞内靶标,这些机制并不是独立发生的。在这样的多重选择压力下,同时通过基因突变以及改变细胞过程,产生多重抗药性的可能性非常低,因为这种剧烈的改变对于细菌而言代价太大^[15]。其次,抗菌肽除直接作用于细菌外,还可以调节宿主细胞的免疫功能,这可能抗菌肽不容易产生耐药性的另一原因。

3 结论

抗菌肽与抗生素同有抗菌、促生长功能,但是许多细菌对抗生素产生耐药性,且抗生素会破坏肠道稳态,损伤肠道屏障^[10],不利于猪群健康。

而抗菌肽的低趋势耐药性、免疫调节、改善肠道健康作用,使得抗菌肽成为具有减抗甚至替抗效果的潜力产品。

参考文献:

- [1] CROMWELL G L. Why and how antibiotics are used in swine production[J]. *Animal biotechnology*, 2002, 13(1):7-27.
- [2] VAN BOECKEL T P, GLENNON E E, CHEN D, et al. Reducing antimicrobial use in food animals[J]. *Science*, 2017, 357(6358):1350-1352.
- [3] ENGBERG J, AARESTRUP F M, TAYLOR D E, et al. Quinolone and macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *C. coli*; resistance mechanisms and trends in human isolates[J]. *Emerging infectious diseases*, 2001, 7(1):24.
- [4] LIU Y Y, WANG Y, WALSH T R, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study[J]. *The Lancet infectious diseases*, 2016, 16(2):161-168.
- [5] AARESTRUP F M, KRUSE H, TAST E, et al. Associations between the use of antimicrobial agents for growth promotion and the occurrence of resistance among *Enterococcus faecium* from broilers and pigs in Denmark, Finland, and Norway [J]. *Microbial Drug Resistance*, 2000, 6(1):63-70.
- [6] AARESTRUP F M. The livestock reservoir for antimicrobial resistance: a personal view on changing patterns of risks, effects of interventions and the way forward [J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2015, 370(1670):20140085.
- [7] 靳纯嘏, 叶耿坪, 唐新仁. 反刍动物饲用抗生素替代物研究进展[J]. *中国畜牧兽医*, 2018, 45(1):77-85.
- [8] LAI Y, GALLO R L. AMPed up immunity: how antimicrobial peptides have multiple roles in immune defense [J]. *Trends in immunology*, 2009, 30(3):131-141.
- [9] 陈珊. 抗菌肽 KR-22 的抗菌特性及其对巨噬细胞炎症反应的影响[D]. 硕士学位论文. 浙江:浙江大学, 2018.
- [10] 易宏波. 抗菌肽 CWA 对断奶仔猪肠道炎症和肠道屏障功能的作用及其机制[D]. 博士学位论文. 浙江:浙江大学, 2016.
- [11] LAM S J, O' BRIEN-SIMPSON N M, PANTARAT N, et al. Combating multidrug - resistant Gram - negative bacteria with structurally nanoengineered antimicrobial peptide polymers [J]. *Nature microbiology*, 2016, 1(11):1-11.
- [12] LOHNER K. New strategies for novel antibiotics: peptides targeting bacterial cell. *Gen. Physiol [J]. Biophys*, 2009, 28: 105-116.
- [13] BROGDEN K A. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria [J]. *Nature reviews microbiology*, 2005, 3(3):238.
- [14] LOHNER K, PRENNER E J. Differential scanning calorimetry and X-ray diffraction studies of the specificity of the interaction of antimicrobial peptides with membrane - mimetic systems [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1999, 1462(1-2):141-156.
- [15] LE C F, FANG C M, SEKARAN S D. Intracellular targeting mechanisms by antimicrobial peptides [J]. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2017, 61(4):e02340-16.
- [16] Tang X, Fatufe A A, Yin Y, et al. Dietary supplementation with recombinant lactoferrampin - lactoferricin improves growth performance and affects serum parameters in piglets [J]. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 2012, 11(14):2548-2555.
- [17] XIONG X, YANG HS, LI L, et al. Effects of antimicrobial peptides in nursery diets on growth performance of pigs reared on five different farms [J]. *Livestock Science*, 2014, 167: 206 - 210.
- [18] 黄荣春. 抗菌肽在猪生产中的应用研究[D]. 硕士学位论文. 广西:广西大学, 2017.
- [19] TANG Z, YIN Y, ZHANG Y, et al. Effects of dietary supplementation with an expressed fusion peptide bovine lactoferricin - lactoferrampin on performance, immune function and intestinal mucosal morphology in piglets weaned at age 21 d [J]. *British Journal of Nutrition*, 2008, 101(7):998-1005.
- [20] WU S, ZHANG F, HUANG Z, et al. Effects of the antimicrobial peptide cecropin AD on performance and intestinal health in weaned piglets challenged with *Escherichia coli* [J]. *Peptides*, 2012, 35(2):225-230.
- [21] COORENS M, SCHEENSTRA M R, VELDHUIZEN E J A, et al. Interspecies cathelicidin comparison reveals divergence in antimicrobial activity, TLR modulation, chemokine induction and regulation of phagocytosis [J]. *Scientific reports*, 2017, 7(1):1-11.
- [22] Yang D, Chen Q, Schmidt A P, et al. LL-37, the neutrophil granule-and epithelial cell-derived cathelicidin, utilizes formyl peptide receptor-like 1 (FPRL1) as a receptor to chemoattract human peripheral blood neutrophils, monocytes, and T cells [J]. *Journal of Experimental Medicine*, 2000, 192(7):1069-1074.
- [23] LIU H, CAO X, WANG H, et al. Antimicrobial peptide KR-32 alleviates *Escherichia coli* K88-induced fatty acid malabsorption by improving expression of fatty acid transporter protein 4 (FATP4) [J]. *Journal of animal science*, 2019, 97(6):2342-2356.
- [24] 夏溪. 猪抗菌肽 PR39 抗细菌感染和保护肠道屏障功能的作用及其机制研究[D]. 博士学位论文, 浙江:浙江大学, 2015.
- [25] RAJAMUTHIAH R, JAYAMANI E, CONERY A L, et al. A defensin from the model beetle *Tribolium castaneum* acts synergistically with telavancin and daptomycin against multidrug resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *PLoS One*, 2015, 10(6): e0128576.

- [26] PIRES J, SIRIWARDENA T N, STACH M, et al. In vitro activity of the novel antimicrobial peptide dendrimer G3KL against multidrug - resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2015, 59(12):7915-7918.
- [27] SCHMIDTCHEN A, FRICK I M, BJÖRCK L. Dermatan sulphate is released by proteinases of common pathogenic bacteria and inactivates antibacterial α -defensin [J]. *Molecular microbiology*, 2001, 39(3):708-713.
- [28] KOVÁCS M, HALFMANN A, FEDTKEET I, et al. A functional *dlt* operon, encoding proteins required for incorporation of d - alanine in teichoic acids in gram - positive bacteria, confers resistance to cationic antimicrobial peptides in *Streptococcus pneumoniae* [J]. *Journal of bacteriology*, 2006, 188(16):5797-5805.
- [29] WANG S, ZENG X, YANG Q, et al. Antimicrobial peptides as potential alternatives to antibiotics in food animal industry [J]. *International journal of molecular sciences*, 2016, 17(5): 603.
- [30] GUILHELMELLI F, VILELA N, ALBUQUERQUE P, et al. Antibiotic development challenges: the various mechanisms of action of antimicrobial peptides and of bacterial resistance [J]. *Frontiers in microbiology*, 2013, 4:353.
- [31] MARR A K, GOODERHAM W J, HANCOCK R E W. Antibacterial peptides for therapeutic use: obstacles and realistic outlook [J]. *Current opinion in pharmacology*, 2006, 6(5):468-472.

上接第19页

- growth performance and energy and protein utilisation in broiler chickens J. *British Poultry Science*, 2005, 46(4):4.
- [12] LI Q P, GOONERATNE S R, WANG R L, et al. Effect of different molecular weight of chitosans on performance and lipid metabolism in chicken J. *Animal Feed Science & Technology*, 2016, 211:174-180.
- [13] KHAMBUALAI O, YAMAUCHI K, TANGTAWEEWIPAT S, et al. Growth performance and intestinal histology in broiler chickens fed with dietary chitosan J. *British Poultry Science*, 2009, 50(5):592-597.
- [14] YAN L, LEE J H, MENG Q W, et al. Evaluation of dietary supplementation of delta - aminolevulinic acid and chito - oligosaccharide on production performance, egg quality and hematological characteristics in laying hens J. *Asian - Australasian Journal of Animal Sciences*, 2010, 23(8):1028-1033.
- [15] SWIATKIEWICZ S, ANNA A W, DAMIAN J. Feed enzymes, probiotic, or chitosan can improve the nutritional efficacy of broiler chicken diets containing a high level of distillers dried grains with solubles J. *Livestock Science*, 2014, 163(5): 110-119.
- [16] VRZHESINSKAIA O A, FILIMONOVA I V, KODENTSOVA O V, et al. Influence of chitosan feeding of laying hens on egg vitamin and cholesterol content J. *Voprosy Pitaniia*, 2005, 74(3):28.
- [17] HUANG R L, DENG Z Y, YANG C B, et al. Dietary oligochitosan supplementation enhances immune status of broilers J. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2007, 87(1):153-159.
- [18] YUAN S, CHEN H. Effects of dietary supplementation of chitosan on growth performance and immune index in ducks J. *Afr. J. Biotechnol.* 2012, 11, 3490 - 3495.
- [19] LIU Q H, LIANG X W, WANG G L. Effects of dietary supplementation of chitosan on dry matter intake and blood parameters for dry dairy cows C// *International Symposium on the Nutrition of Herbivores*. 2007.
- [20] VALLE T A D, PAIVA P G D, JESUS E F D, et al. Dietary chitosan improves nitrogen use and feed conversion in diets for mid - lactation dairy cows J. *Livestock Science*, 2017, 201: S1871141317301142.
- [21] LI T, NA R, YU P, et al. Effects of dietary supplementation of chitosan on immune and antioxidative function in beef cattle J. *Czech Journal of Animal Science*, 2015, 60(1):38-44.
- [22] ALAM M R, KIM W I, KIM J W, et al. Effects of Chitosan - oligosaccharide on diarrhoea in Hanwoo calves J. *Veterinárni medicína*, 2012, 57(8):385-393.

谷胱甘肽对畜禽生长性能和机体健康的影响

刘世龙^{1,2}, 朱晓萍^{1*}, 秦江帆¹, 尚秀国¹

(1. 佛山科学技术学院生命科学与工程学院, 广东 佛山 528000;

2. 广东省农业科学院动物科学研究所, 畜禽育种国家重点实验室, 农业农村部华南动物营养与饲料重点实验室, 广东省动物育种与营养公共实验室, 广东省畜禽育种与营养重点实验室, 广东 广州 510640)

摘要:谷胱甘肽是哺乳动物组织中重要的抗氧化剂, 在缓解氧化应激和改善机体健康等方面发挥重要作用。本文综述了谷胱甘肽在改善畜禽生长性能、氧化应激和肉品质等方面的应用效果, 以期为其在畜禽养殖生产中的合理应用提供理论参考。

关键词:谷胱甘肽; 生长性能; 氧化应激; 肉品质

中图分类号:S816.7 **文献标识码:**B **文章编码:**1005-8567(2020)02-0024-03

谷胱甘肽是以甘氨酸、谷氨酸和半胱氨酸三种氨基酸为基础, 是在 γ -谷胱酰胺半胱氨酸合成酶和谷胱甘肽合成酶的催化作用下形成的三肽, 基本存在于所有哺乳动物组织中。谷胱甘肽是一种低分子量的抗氧化剂, 可以参与非酶抗氧化防御, 也是一种有效的自由基清除剂。本文就谷胱甘肽作为生物活性添加剂在养殖生产中的应用效果进行综述。

1 改善禽畜生长性能

谷胱甘肽对禽畜生长性能影响的研究已有很多报道。谷胱甘肽能够调节机体生长轴相关激素、基因和受体等的表达, 进而影响生长性能。刘平祥等的研究表明, 适量的谷胱甘肽可以提高断奶仔猪平均日增重和饲料报酬, 促进仔猪生长^[3]。姜宁等的研究表明, 日粮中适量添加谷胱甘肽可以提高育肥羊的生长性能^[4]。宋增廷等的研究发现, 谷胱甘肽可以促进肉羊的生长, 提高饲料转化率^[5]。这些研究表明, 谷胱甘肽作为一

种具有生理活性的物质, 适量添加可以改善禽畜生长性能。

2 缓解仔猪断奶应激

规模化养殖中仔猪早期断奶的同时往往伴随饲料、环境、心理和管理等的变化, 造成仔猪肠道受损、免疫功能下降、食欲减退、甚至死亡等问题。这些因素会引起仔猪机体炎症, 激活身体防御系统, 炎症会将营养物质从供生长所需转变为产生与防御有关蛋白质和低分子化合物, 如谷胱甘肽等, 用以支持免疫细胞、肠细胞等的活动。正常情况下, 机体中超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶代谢活性氧, 氧化与抗氧化状态保持平衡。在断奶过程中, 断奶作为应激源, 引起仔猪体内自由基代谢状态紊乱, 机体氧化还原状态趋于氧化状态, 内源性活性氧产生与抗氧化防御之间失衡, 同时机体会产生过量自由基, 如一氧化氮、二氧化氮等, 脂质过氧化氢等, 会攻击细胞膜、核酸、蛋白等大分子会导致DNA链断裂、蛋白

收稿日期:2020-02-26

作者简介:刘世龙(1994-), 男, 河南平顶山人, 硕士研究生, 研究方向:动物营养与饲料科学。E-mail:2496662828@qq.com

*通讯作者:朱晓萍(1969-), 女, 博士, 副教授, 研究方向:动物营养与饲料科学。E-mail:535877344@qq.com

质结构改变、基因突变等,进而损伤细胞大分子,影响整个生物体的功能,甚至继发感染各种疾病。谷胱甘肽是机体内强大的内源性抗氧化成分之一,也是细胞的自由基清除剂,初生仔猪的肝脏和肠道是合成的重要位点^[6]。谷胱甘肽具有保护和代谢的功能,在不同病理状态下,其含量也会有所变化。Degroote等研究发现,在添加日粮中乳源性嗜酸杆菌,谷胱甘肽和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)的活性增高,提高了断奶仔猪的抗氧化能力^[7]。Su等研究表明,在断奶仔猪日粮中加入植物精油,血清中谷胱甘肽含量升高,机体抗氧化能力增强^[8]。在生产中,通过外源性补充植物精油、益生菌等有益物质,促进仔猪体内GSH/GSSG含量的提升,维持二者的平衡,进而提升机体抗氧化能力,修复氧化应激带来的损伤,保障机体健康。

3 改善家禽热应激/氧化应激

热应激是全球家禽饲养中最重要的环境压力因素之一,严重降低饲料摄入量、生长率、死亡率、产蛋量、孵化率等生产性能。热应激条件下家禽体内容易生成大量自由基,过量的自由基导致氧化和抗氧化防御系统失衡,导致脂质过氧化和蛋白质、DNA和其他生物分子的氧化损伤。在生产中,适量添加硒、氨基酸和维生素等对禽畜生长性能、抗应激和免疫功能等有正面影响。硒对机体抗氧化作用是通过谷胱甘肽含量、谷胱甘肽相关酶活性来实现。谷胱甘肽过氧化物酶可以催化还原型谷胱甘肽转化为氧化型谷胱甘肽,谷胱甘肽作为谷胱甘肽过氧化物酶的辅助因子,能够协助GSH-Px催化还原有毒的氧化物。GSH-Px属于抗氧化网络的第一级和第二级,参与调节许多重要的细胞通路,包括维持氧化还原平衡和信号传导,不同形式在机体的不同部位中发挥抗氧化保护作用,是家禽体内最重要的抗氧化防御机制。Surai等研究中证明,谷胱甘肽过氧化物酶可以吸收过氧化氢物发挥抗氧化功能,GSH-Px是生物膜中的重要抗氧化剂,其中发生脂质过氧化并产生脂质氢过氧化物,维生素E和GSH-Px之间的相互作用可以为生

物膜提供抗氧化防御^[9]。在家禽中,GSH-Px的活性发挥主要依赖于硒的作用,GSH-Px作为血浆中的重要抗氧化剂,可以与其他抗氧化剂一起维持抗氧化保护。Liu等研究证明,在鸡日粮中添加纳米硒可以显著提高GSH-Px的活性^[10]。郭亮研究表明,对北京鸭补充蛋氨酸,提高了血清中谷胱甘肽的含量,缓解了氧化应激^[11]。许兰娇研究表明,在乌骨鸡的日粮中添加硒,提高了谷胱甘肽和GSH-Px的含量,提高了鸡机体的抗氧化能力、缓解了热应激效应^[12]。由此表明,通过补充硒、蛋氨酸和维生素等元素,增加了禽类机体中GSH-Px和谷胱甘肽的含量,可以缓解氧化应激,降低养殖生产的经济损失。

4 改善肉类品质

畜禽屠宰后,肉类会氧化酸败,影响品质、色泽和口味,但谷胱甘肽会使肌肉和脂肪组织中的抗氧化酶活性升高,有利于肉品质的保持^[10]。Musatti等通过在屠宰前14天,对猪膳食补充羟蛋氨酸,增加了屠宰肌肉中的谷胱甘肽水平,缓解了屠宰后肉质氧化作用^[13]。Fang等通过在饲料中补充半胱胺盐酸盐,提高了肉品抗氧化能力,改善谷胱甘肽水平和抗氧化酶活性,延长了冷藏时间(屠宰后48小时),延缓肉品变色^[14]。宋增廷等研究表明,在60天的肉羊试验中,饲喂谷胱甘肽组滴水损失显著降低^[5]。谷胱甘肽可能通过减少自由基反应对细胞结构的破坏作用和肌红蛋白的氧化程度,从而提高了肌肉的系水力,改善肉的嫩度和肉色,提升肉类品质。

5 提高精子保存质量

在养殖业中,精液常经历跨地运输、低温保存和反复冻融等过程。精液在运输和冻融的过程中,会受到物理和生化方面的影响,导致精子膜的完整性、运动能力和受精能力下降,精子细胞的代谢也会发生变化。低温保存过程中,过量的活性氧的会加速脂质氧化的速率,进而造成精子不育。同时,精子的质膜中含有大量氧化性多不饱和脂肪酸,这些脂肪酸易被活性氧氧化,产生对细

胞有害的物质。因此,在诸多动物中会通过补充抗氧化剂冷冻培养基来提高精子结冻后的活力、膜功能和生育率。谷胱甘肽作为一类重要的抗氧化剂,可以直接与多种活性氧反应,能够减少精子与活性氧反应所导致的DNA链断裂。谷胱甘肽作为谷胱甘肽过氧化物酶的辅助因子,能够协助其催化还原有毒的氧化物。Masoudi等研究表明,在雄鸡精子冻融过程中,补充谷胱甘肽可以提高精子运动性、线粒体活性、顶体完整性、活力和生育力^[15]。胡文举等研究发现,在犬精液冷冻液中添加0.5~1.0 mmol/L的谷胱甘肽能够提高冻融后精子的质量和体外存活时间^[16]。由此进一步证明,谷胱甘肽消耗多余活性氧的抗氧化作用,对冷冻储存精子的质量和活力起到了保护作用,可将其作为一种冷冻保护剂用于精液的保存。

6 小结

谷胱甘肽的抗氧化作用已被大量研究所证实。但是关于口服谷胱甘肽吸收机制以及改善畜禽生产性能的其他机制目前研究仍不充分,对谷胱甘肽最佳使用量尚未知,而且使用成本太高,仍然还需要进一步探究。

参考文献:

- [1] MEISTER A, ANDERSON M. Glutathione. [J]. Annual Review of Biochemistry, 1983, 52 (1): 711-760.
- [2] KALININA E V, CHERNOV N N, NOVICHKOVA M D. Role of Glutathione, Glutathione Transferase, and Glutaredoxin in Regulation of Redox - dependent Processes [J]. Biochemistry, 2014, 79(13): 1562-1583.
- [3] 刘平祥,傅伟龙,刘丽,等.谷胱甘肽对断奶仔猪的生长及血清IGF-1水平、组织IGF-1mRNA表达的影响[C]//中国畜牧兽医学动物营养学会——第九届学术研讨会论文集,重庆,2004: 307.
- [4] 姜宁,张爱忠,宋增廷,等.谷胱甘肽对育肥羊生长性能及生长激素/胰岛素样生长因子-I轴调控作用的研究[J].动物营养学报,2009,21(3): 312-318.
- [5] 宋增廷,姜宁,张爱忠,等.谷胱甘肽对肉羊生长性能、屠宰性能及肉品质的影响[J].畜牧与兽医,2008,40(11): 14-17.
- [6] BRETENSKY M, NITRAYOVA S, PATRAS P, et al. Utilization of Amino Acids of Broken Rice in Growing Pigs [J]. Journal of Microbiology Biotechnology & Food Sciences, 2014, 3(4): 347-349.
- [7] DEGROOTE J, WANG W, VERGAUWEN H, et al. Impact of a Dietary Challenge with Peroxidized Oil on the Glutathione Redox Status and Integrity of the Small Intestine in Weaned Piglets. [J]. Animal : an International Journal of Animal Bioscience, 2019, 13(8): 56-58.
- [8] SU G, ZHOU X, YU W, et al. Effects of Plant Essential Oil Supplementation on Growth Performance, Immune Function and Antioxidant Activities in Weaned Pigs [J]. Lipids in Health & Disease, 2005, 17(1): 0-139.
- [9] SURAI P. Glutathione Peroxidases in Poultry Biology: Part 2. Modulation of Enzymatic Activities [J]. Worlds Poultry Science Journal, 2018, 16(4): 35-37.
- [10] LIU S M, EADY S J. Glutathione: Its Implications for Animal Health, Meat Quality, and Health Benefits of Consumers [J]. Australian Journal of Agricultural Research, 2005, 56(8): 50-53.
- [11] 郭亮.蛋氨酸的来源和水平对热应激北京鸭蛋氨酸代谢和肠道健康的影响[D].硕士学位论文.武汉:华中农业大学,2017.
- [12] 许兰娇.日粮添加硒对热应激条件下泰和乌骨鸡黑色素合成的影响及机理研究[D].博士学位论文.南昌:江西农业大学,2013.
- [13] MUSATTI A, MANZONI M, ROLLINI M. Post - fermentative Production of Glutathione By Baker's Yeast (s. Cerevisiae) in Compressed and Dried Forms [J]. N Biotechnol, 2013, 30(2): 219-226.
- [14] FANG Y Z, YANG S, WU G. Free Radicals, Antioxidants, and Nutrition [J]. Nutrition (burbank, Los Angeles County, Calif.), 2002, 18(10): 75-77.
- [15] MASOUDI R, SHARAFI M, SHAHNEH A Z, et al. Effects of Reduced Glutathione on the Quality of Rooster Sperm During Cryopreservation [J]. Theriogenology, 2019, 128: 149-155.
- [16] 胡文举,宋艳画.谷胱甘肽对犬精液冷冻保存效果的影响 [J].畜牧与饲料科学,2019,40(11): 65-69.

黑水虻生物学特点及其应用研究进展

萧鸿发¹, 王国霞², 彭凯², 黄燕华²

- (1. 湖南农业大学动物科学技术学院, 湖南长沙 410128;
2. 广东省农业科学院动物科学研究所, 农业农村部华南动物营养与饲料重点实验室, 广东省畜禽育种与营养研究重点实验室, 广东广州 510640)

摘要:黑水虻是一种应用前景十分广泛的资源型昆虫, 具有繁殖迅速, 生物量大, 食性广泛、吸收转化率高、成虫不扰民等特点。本文综述了黑水虻的生物学特性、营养价值、生产应用及其在畜牧水产中的应用研究现状, 以期对黑水虻的深度开发和资源化利用提供依据。

关键词:黑水虻; 生物学特性; 营养价值; 资源利用

中图分类号:S816.48 文献标识码:B 文章编号:1005-8567(2020)02-0027-07

Research progress on biologic characteristics and application of *Hermetia illucens* L.

XIAO Hongfa¹, WANG Guoxia², PENG Kai², HUANG Yanhua^{2,3,4}

- (1. College of Animal Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China;
2. Institute of Animal Science, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of South China Animal Nutrition and Feed, Ministry of Agriculture, Key Laboratory of Breeding and Nutrition of Livestock of Guangdong Province, Guangzhou 510640, China)

Abstract: *Hermetia illucens* L. is a kind of resource-oriented insect with wide application prospects. It has the characteristics of rapid reproduction, large biomass, wide appetite, efficient absorption and transformation, and its adults never disturb residents. This article summarizes the biological characteristics, nutritional value, the application of *Hermetia illucens* L. production and its research status in husbandry and aquaculture. This review provided a basis for the deep development and resource utilization of *Hermetia illucens* L.

Keywords: *Hermetia illucens* L., biological characteristics, nutritional value, resource utilization

黑水虻(*Hermetia illucens* L.)属双翅目水虻科, 又称亮斑扁角水虻, 起源于美洲热带、亚热带和温带地区, 目前在45°N, 40°S的热带和暖温带地区分布广泛^[1]。在我国, 黑水虻在华北、华南以及东

南沿海地区分布较多, 其它地区分布较少, 地区分布不平衡^[2]。近年来, 黑水虻的资源优势和生物学功能被人们逐渐挖掘, 其被应用于动物饲料、动物保健品、药学、生物石油等领域。由于黑水虻可将

收稿日期:2019-12-04

基金项目:广东省现代农业产业技术体系创新团队(2019KJ115);省级乡村振兴战略专项资金(不同品种黑水虻成分分析及作为优质蛋白饲料的应用研究);广东省农业科学院学科团队建设(201614TD);广东省农业科学院院长基金-面上项目(201910)

作者简介:萧鸿发(1995-), 男, 汉, 硕士研究生, 主要研究方向水产动物营养与饲料。E-mail:623860318@qq.com

*通信作者:黄燕华(1969-), 女, 汉, 研究员, 主要研究方向水产动物营养与饲料。E-mail:huangyh111@126.com

体积庞大的有机废弃物转化为高附加值生物物质, 现在黑水虻主要被用于商业化处理粪便和其他有机废弃物, 可减少环境污染, 提高资源利用率。本文综述了黑水虻的生物学特性、营养价值和应用研究现状, 并对黑水虻的应用前景和发展趋势进行了展望, 以期在黑水虻的规模化生产和利用提供参考。

1 黑水虻发育周期

黑水虻是一种完全变态昆虫, 包含卵、幼虫、蛹、成虫四个阶段, 历时 35 天左右, 条件适宜时 28 天即可繁殖一代^[3, 4]。黑水虻产卵具有选择性, 一般不会将卵直接产于食料上, 而是会选择附近较为干燥的缝隙中进行一次性产卵。黑水虻产卵场所的选择受食物信息的诱导和影响, 卵孵化时长受季节、温度和地区的影响, 一般历期 4 ~ 14 天^[5]。黑水虻幼虫共有六个龄期, 幼虫期可达 15 天, 在缺乏食物或者食物不充足时, 幼虫期可持续 4 个月, 一龄幼虫几乎不进行摄食活动, 从二龄开始, 幼虫会大量进行摄食, 食物主要为各种各样的腐烂有机物, 如水果、蔬菜、咖啡渣、谷物类酒糟、鱼下脚料、动物尸体, 尤其是动物粪便和人体排泄物等^[6-7]。黑水虻幼虫后期称为预蛹期, 此时不再摄食, 而是进行化蛹和休眠。黑水虻蛹的表皮比较坚硬, 体色色泽呈深褐色, 黑水虻蛹期时间长短差异大, 一般为 9 ~ 10 天, 当环境不适时, 最长可达 5 个月^[8]。黑水虻成虫体积较大, 体长为 15 ~ 20 mm, 具有飞行能力。成虫一般不再进行摄食活动, 只需食用少量的水, 而人工进行养殖, 只需投喂少量的糖或者蜂蜜即可。黑水虻生命周期长短不一, 从几周到几个月不等^[9, 10]。

2 影响黑水虻生长发育的因素

黑水虻是一种生命力顽强的昆虫, 能够抵制干旱、食物缺乏和厌氧环境, 但是同样有很多环境因素能影响黑水虻自身的生长发育, 其中光照强度、温度和湿度对黑水虻的生长发育和生活行为有

较大影响。

光照是动物生长、生活中必不可少的环境条件, 对动物的生命活动、物质代谢和生产性能均具有重要的作用^[11]。同时, 光照是黑水虻交配繁衍的必要条件, 且对其生长发育也有重要的影响, 能够控制黑水虻幼虫生长发育的进程^[12]。研究学者做了不同强度人工光照对六龄黑水虻幼虫的影响试验, 研究发现, 在 1000 Lux 碘钨灯光照射条件下, 黑水虻幼虫的体长和体重均最优, 能明显促进黑水虻幼虫的生长发育和取食速度, 进而提高对废弃垃圾的转化效率, 而在完全遮光和碘钨灯 2000 Lux 光强两种条件下, 黑水虻的生长均受到了抑制。在自然光照下, 黑水虻幼虫生长缓慢, 人工光照条件比自然光照条件更有利于黑水虻幼虫的生长^[13]。

温度的高低会影响黑水虻的摄食活动、繁殖行为和飞行能力。在冬季或者阴天, 温度过低, 黑水虻很少摄食, 会进入不食不动的静止期, 因为温度对黑水虻消化酶在内的所有内分泌活动具有重要的影响, 包括影响消化酶分泌的种类和消化酶活性, 从而影响黑水虻的摄食^[14]。黑水虻适宜生长的温度为 27 ~ 30 °C, 在温度低于 26 °C 时, 黑水虻成虫很少交配和产卵^[15]。温度会影响昆虫的飞行能力, 温度低于 8 °C 或高于 25 °C 时, 昆虫的飞行能力降低, 而黑水虻是一种具有飞行能力的昆虫, 因此断定温度会影响黑水虻的飞行能力^[16]。

湿度对黑水虻的生长发育至关重要, 会影响成虫交配和产卵, 当湿度达到 60% 以上时成虫才进行产卵。除了自然环境中湿度会影响黑水虻的生长发育以外, 人工饲料湿度也会影响黑水虻幼虫的生长性能。研究表明, 投喂低水分的饲料会导致黑水虻幼虫出现死亡, 黑水虻饲料含水量在 75% ~ 85% 之间有利于黑水虻幼虫的生长和增加预蛹的重量^[6, 17]。

3 黑水虻的营养价值

黑水虻预蛹具有很高的营养价值, 粗蛋白含量约为 42.1%, 脂肪含量约为 34.8%, 粗纤维为

7.0%，水和灰份约占 16.1%^[18]。黑水虻幼虫和预蛹一样具有很高的营养价值，据研究，黑水虻幼虫干物质的粗蛋白质含量约为 45%~47%，灰分含量约为 7%。其中，黑水虻幼虫的脂肪含量受所摄食物影响较大，猪粪饲喂的幼虫脂肪含量大约为 28%，牛粪饲喂的幼虫脂肪含量为大约 35%，富含油脂食物残渣(餐厨垃圾)饲喂的幼虫脂肪含量为 42%~49%^[19-21]。黑水虻还富含钾、钙、镁、铁、锌、硒等矿物质元素和养殖业所必需脂肪酸如亚油酸和亚麻酸，是养殖饲料中的优良添加剂。黑水虻幼虫氨基酸组成均衡，且含有的必需氨基酸模式与鱼粉相似，某些必需氨基酸含量较高，如赖氨酸、蛋氨酸和亮氨酸，其中赖氨酸含量占粗蛋白的 6%~8%，常用于替代鱼粉和豆粕被添加到动物饲料中，是一种优质的蛋白源饲料^[22]。

4 黑水虻的应用

4.1 黑水虻在畜禽粪便处理中的应用

随着现代畜禽养殖业的发展，养殖过程中产生大量的粪便会造成环境污染。黑水虻营腐生生活，生长速度快、易繁殖、饲料转化效率高，可将体积庞大的有机废弃物转化为高附加值生物物质，因此黑水虻常被用于处理畜禽粪便^[7]。无需借助额外资源，黑水虻可减少 50%以上粪便的堆积。Netwon 等利用黑水虻幼虫对猪粪进行 15 天处理，发现猪粪的堆积率减少 56%，粪便中的氮、磷、钾去除率分别达到 55%、44%和 53%，并能将大量的蛋白质及脂肪转换能量用于机体构建，从而维持自身的机体代谢^[23]。据报道，黑水虻幼虫能利用 8%的鸡粪转换为粗蛋白和粗脂肪，还能将牛粪中的有机物转化为糖源，因此经过黑水虻处理的粪便成为了优质的有机肥料^[24-25]。Kim 等研究发现，黑水虻幼虫肠道具有丰富的淀粉酶、脂肪酶和蛋白酶活性，可有效消化粪便中的有机成分^[26]。黑水虻能够用于处理粪便，除了其体内种类丰富的酶以外，还与其独特的肠道菌群有关。Zheng 等报道，在黑水虻的任何生活阶段中，拟杆菌门和变形菌门为肠道菌群优势菌^[27]。黑水虻还

可使粪便中大肠杆菌和沙门氏菌的数量大量降低，降低粪便恶臭味散发，从而减少对周围环境的污染^[28]。因此，由于黑水虻体内种类丰富的酶与其独特的肠道菌群，使得黑水虻能降解不同畜禽产生的粪便，并且对粪便中有机质的消化率和转化效率更高。

4.2 黑水虻对家蝇的驱除效果

在畜禽粪便中养殖黑水虻，可以有效地驱除家蝇，降低有关传染性疾病的传播，改善周围环境，有利于养殖动物和人类的健康。与家蝇不同，黑水虻本身为一种非疾病媒介载体，且黑水虻从不在腐烂有机质上产卵^[7]。研究表明，黑水虻幼虫使粪便变得更湿，家蝇成虫不适合在黑水虻取食过的粪便中产卵，并且经过黑水虻处理的粪便不适合家蝇幼虫生长，因此其为家蝇幼虫的竞争者。研究表明，黑水虻幼虫可以减少猪粪便中 94%~100%家蝇数量，可以减少鸡粪便 100%家蝇数量，外国学者认为这与黑水虻幼虫能产生某种驱除家蝇的物质有关^[29-30]。家蝇是公认的疾病传播的主要媒介，因此黑水虻有助于控制卫生条件较差的畜牧养殖场和家庭中家蝇的数量，减少家蝇的滋生和疾病的传播，从而改善动物和人们的健康状况。

4.3 黑水虻在生物柴油提取上的应用

近年来，随着能源资源供应的日益紧张，利用可再生生物质作为原料制作能源物质和化工产品已成为人们关注的焦点。生物柴油是利用动植物油脂发生酯交换反应得到的产物，具有环保、可再生和来源丰富等特点，符合可持续发展的路线^[31]。黑水虻幼虫富含油脂，并且油脂含量还受所摄食物影响，是一种制备生物柴油的优质原料。林启训等采用超临界流体萃取技术成功地从黑水虻幼虫中提取油脂成分，并通过分析柴油特征值指标，发现该油脂可利用于实际生产^[32]。有学者利用不同的畜禽的粪便分别投喂 1000 只黑水虻幼虫，饲喂 10 天后通过酯化和酯交换作用来制备生物柴油，结果显示，利用牛粪、猪粪和鸡粪饲喂黑水虻幼虫所得到的生物柴油量是不同的，分

别为 35.5 g、57.8 g 和 91.4 g, 这可能与粪便中不同的蛋白质含量有关^[33]。利用黑水虻生产生物柴油不仅能降低传统油脂生产产生的污染, 还能节约化工原料, 为能源的可持续发展做出贡献。

4.4 利用黑水虻生产抗菌肽

由于抗生素的滥用, 致病菌对抗生素的耐药性不断增强, 并且抗生素的副作用和残留污染问题已成为世界难题, 一些多耐药菌株的出现也增大了临床治疗的困难^[34]。因此, 寻找新的抗菌药物已经成为药物领域的焦点。昆虫抗菌肽是由昆虫体产生的一种小分子活性肽, 能够抵御细菌、真菌、病毒和寄生虫等病原体对生物体的入侵, 在免疫中起到重要的作用^[35]。夏媯等通过黑水虻可使鸡粪中大肠杆菌和沙门氏菌的量降低, 黑水虻幼虫能在体内消化多种病原微生物以及黑水虻能有效地抑制家蝇的生长等特点推断, 黑水虻有着比家蝇更强大的免疫系统, 并且认为发挥免疫功能的物质与抗菌肽有关^[36]。为了探讨黑水虻抗菌肽的最佳提取方法, 夏媯等分别采用菌液注射诱导法、菌液针刺浸泡诱导法、超声波诱导法以不同诱导时间及诱导剂量诱导黑水虻幼虫产生抗菌肽, 最终发现这些方法都能诱导黑水虻产生抗菌肽, 并且不同诱导方法产生的抗菌肽的抑菌活性不同, 试验中用菌液针刺浸泡 60 s, 诱导后饲喂 24 h 提取出的抗菌肽抑菌效果最好。经诱导产生的黑水虻抗菌肽具有分子量小、热稳定性强、抗菌广谱、作用机制独特等特点, 并且具有抑菌、抗病毒以及抗肿瘤等作用, 尤其是对耐药菌的抗菌效果更显著。黑水虻抗菌肽还具有一定的免疫识别功能, 其不作用于正常的真核细胞, 只对原核细胞及发生病变的真核细胞起作用, 能降低临床就诊的副作用^[37-38]。虽然黑水虻抗菌肽的研究才刚刚起步, 但它已经受到药物研发领域的广泛关注。

4.5 黑水虻在水产养殖中的应用

鱼粉具有适口性好、氨基酸平衡、易消化等特点, 是水产动物配合饲料主要的蛋白质来源。近年来, 随着水产养殖产业的不断增长和鱼粉资源

的紧缺, 导致鱼粉的需求量和产量之间的矛盾急剧加大, 迫切需要新的蛋白源来替代鱼粉, 从而保证水产养殖的可持续发展。植物性蛋白源对于肉食性水产动物具有适口性差、饲料转化率低和氨基酸组成不平衡等缺点。昆虫蛋白是动物性蛋白的一种, 具有来源广、饲养成本低、氨基酸组成平衡和营养价值高等优点, 黑水虻是一种被较早开发利用的优质昆虫蛋白。有关黑水虻替代鱼粉、豆粕在水产养殖领域的研究已有大量报道, 并且研究表明黑水虻适宜替代鱼粉、豆粕不会影响水产动物的生长性能, 甚至还能增强水产动物的某些生理性能。目前, 有关黑水虻作为替代蛋白源, 已在锦鲤(*Cyprinus carpio* L)^[39]、杂交鳊[乌鳊(*Channa argus*) ♂×斑鳊(*C. maculata*) ♀]、罗非鱼(*Oreochromis*)、黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)、草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)、斑点叉尾鮰(*Ictalurus punctatus*)等淡水鱼中进行研究^[39-45]。研究发现, 黑水虻部分替代鱼粉对水产动物的生长性能无影响, 甚至适宜的替代比例能提高水产动物的生长性能。例如, 黄文庆等研究发现, 黑水虻幼虫粉替代 40% 以下的鱼粉对草鱼的生长性能无显著影响, 但黑水虻幼虫替代 20% 鱼粉时能提高草鱼的生长性能和抗氧化能力^[43]。石洪玥等用黑水虻幼虫替代饲料直接投喂锦鲤, 发现黑水虻能提高锦鲤的增重率、特定生长率以及抗氧化能力和非特异性免疫功能, 从而保障鱼体的健康机制^[39]。适宜的黑水虻替代比例还可以促进水产动物的新陈代谢、维护肝功能及降低脂肪沉积率。陈晓瑛等利用黑水虻幼虫粉替代 30% 鱼粉, 发现可改善肌肉品质和降低黄颡鱼血清谷草转氨酶和谷丙转氨酶的活性以及尿素和甘油三酯的浓度^[42]。胡俊茹^[46]研究发现, 在豆粕含量为 35% 的罗非鱼基础饲料中, 黑水虻幼虫培养基可替代豆粕用量的 45% 显著降低了罗非鱼全鱼粗脂肪含量以及肝体比, 以此减少鱼体的体脂比, 改善肌肉品质, 提高鱼体的味觉效果^[46]。黑水虻在鲈鱼(*Lateolabrax japonicus*)^[47]和大黄鱼(*Larimichthys crocea*)^[48]等海水性鱼类中也有研

究。胡俊茹等报道,黑水虻幼虫粉在鲈鱼饲料中低比例替代鱼粉对鲈鱼的生长性能无显著影响,但高比例替代鱼粉会造成鱼体脂肪沉积,并对鱼体肝脏和肠道造成一定的损伤,甚至引发组织病^[47]变。韩星星研究表明,脱脂黑水虻粉替代适宜比例鱼粉能提高大黄鱼消化酶活性和生长性能,且当脱脂黑水虻粉替代20%鱼粉时,大黄鱼体必需氨基酸、非必需氨基酸和氨基酸总量均最高,改善大黄鱼的肌肉品质^[48]。黑水虻在鱼类中的研究报道较多,但在甲壳动物中也具有相关研究,例如,凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)。凡纳滨对虾对黑水虻幼虫粉的干物质、能量、粗蛋白、粗脂肪及氨基酸的表现消化率都超过80%,略高于其它动物蛋白源(肉骨粉、鸡肉粉和肠膜蛋白粉)^[49]。有关研究表明,黑水虻幼虫粉替代凡纳滨对虾饲料中30%以下的鱼粉可提高凡纳滨对虾的生长性能,并提高抗氧化能力^[50]。综上所述,有关黑水虻在水产动物中的研究较多,黑水虻养殖水产动物也逐渐被行业和终端养殖户所认可,黑水虻势必将成为水产养殖中的一种新型优质的蛋白源。

4.6 黑水虻在畜禽养殖中的应用

随着人口的增加,人类对粮食的需求量将持续增长,相应地对肉质产品的需求量也将增加,而现在人类最主要的肉产品是畜禽肉产品。目前畜牧业所依赖的蛋白饲料资源主要为血浆蛋白粉、豆粕和鱼粉。由于这三种蛋白来源受限、用量受限及价格增高,因此需要开发新的蛋白质替代资源来解决我国畜牧业发展过程中蛋白质饲料原料短缺问题^[51]。

研究发现,在猪日粮饲料中,黑水虻虫粉和预蛹粉替代适宜比例豆粕、鱼粉和血浆蛋白粉等蛋白质原料猪生长性能、血清指标、腹泻率和养分消化率无不良影响,甚至用餐厨垃圾饲喂的黑水虻全部替代鱼粉和豆粕在肥育猪中试验,发现肥育猪的生长性能、养分消化率和机体免疫能力均有改善,说明猪日粮中用黑水虻虫粉替代豆粕、鱼粉和血浆蛋白粉等蛋白质原料是可行的^[52-53]。余苗等

研究发现,在肥育猪饲料中添加4%黑水虻幼虫粉可提高机体对营养物质的消化吸收、增加必需氨基酸含量和改善机体代谢平衡机制,这与黑水虻幼虫粉能提高肥育猪结肠食糜中对肠道健康有利菌属的丰度和数量有关^[54]。

黑水虻除了在猪饲料中有所应用,研究者在肉鸡饲料中也有应用。研究表明,黑水虻幼虫粉能提高肉鸡的饲料转化率、增加肉鸡的胸肌相对比重,且不影响肉鸡的摄食量,表明肉鸡饲料中添加黑水虻幼虫粉可改善肉鸡的生产性能^[55]。这与Hale利用干燥黑水虻幼虫粉作为肉鸡饲料添加剂得到的结果是一致的^[56]。以上研究表明,黑水虻可部分替代血浆蛋白粉、豆粕和鱼粉应用于畜禽饲料的,有利于减低养殖成本,促进畜牧业的可持续发展。

5 小结与展望

黑水虻具有繁殖迅速,生物量大,食性广泛、吸收转化率高、成虫不扰民等特点,是一种可资源化利用的昆虫,具有广阔的应用前景和发展空间。同时,黑水虻是一种腐生性的资源昆虫,能够取食畜禽粪便和生活垃圾,生产高价值的动物蛋白饲料,这是一种低能耗高产值的废弃物资源化利用的新型处理模式,有利于改善生态环境。黑水虻可生产生物柴油和抗菌肽等具有高附加值价值的产品,增加了自身的经济效益。黑水虻蛋白质、脂肪含量高,且必需氨基酸模式与鱼粉相似,是极具应用前景的昆虫。因此,黑水虻作为饲料蛋白源越来越受到社会关注。

但是目前黑水虻产业发展仍面临挑战。一方面,黑水虻在养殖过程中受环境和地域因素影响较大,导致黑水虻的养殖难度大、产量受限。另一方面,黑水虻孵化、加工等各环节中存在一定的技术瓶颈,幼虫富含高油脂以及生产设备落后等问题限制了黑水虻的加工与产量,导致当前黑水虻的规模化生产和使用还需要经历很长的路。同时,我们不能对黑水虻的认知只停留在“替代鱼粉”的层面上,有必要对它的营养成分、特殊营养

因子、功能性成分、限制性因子等进行一系列连续的试验研究,为产业化发展提供理论依据,我们相信黑水虻产业未来具有广阔的发展空间和良好的应用前景。

参考文献:

- [1] MAKKAR H P S , TRAN G , HEUZÉ, et al. State-of-the-art on use of insects as animal feed [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2014, 197:1-33.
- [2] 柴志强,王付彬,郭明昉,等.水虻科昆虫及其资源化利用研究[J].*广东农业科学*, 2012, 39(10):182-185.
- [3] LONGYU Z, YANFEI H, WU L, et al. Biodiesel production from rice straw and restaurant waste employing black soldier fly assisted by microbes[J]. *Energy*, 2012, 47(1): 225-229.
- [4] 李来刚.优质活体饵料生物——黑水虻[J].*科学养鱼*, 2016(07):68-69.
- [5] 靳任任,刘杰.黑水虻繁育技术[J].*农村新技术*, 2016(07): 30-31.
- [6] 刘宏宇,喻国辉,夏婧.黑水虻研究进展[J].*养殖与饲料*, 2015(12):4-7.
- [7] VAN H, VAN I J, KLUNDER H, et al. Edible Insects - Future Prospects for Food and Feed Security [J]. *FAO Forestry Paper*, 2013: 171.
- [8] 唐晓琴,卢杰.黑水虻人工饲养及其应用[J].*农业开发与装备*, 2015(09):152-155.
- [9] 唐文倩,王安皆,周丽霞,等.浅谈山东省黑水虻养殖及开发利用前景[J].*农业知识*, 2018(03):9-12.
- [10] TOMBERLIN J K, SHEPPARD D C. Factors influencing mating and oviposition of black soldier flies (Diptera : stratiomyidae) in a colony [J]. *Journal of Entomological Science*, 2002, 37(4): 345-352.
- [11] 李满雨,赵秀华,马渭青,等.光照时间和波长对籽鹅繁殖性能及蛋品质的影响[J].*中国家禽*, 2019, 41(04):28-32.
- [12] 常向前,吕亮,张舒.人工光照及温度对冬季黑水虻生殖行为的影响[J].*湖北农业科学*, 2017, 56(22):4304-4306.
- [13] 赵竟伽,罗强,江明锋.光照因素对黑水虻幼虫生长发育影响初探[J].*畜禽业*, 2018, 29(12):7-10.
- [14] 徐健.发酵饲料对黑水虻生长性能的影响及黑水虻消化酶活和肠道菌群的特征研究[D].*华南农业大学*, 2016.
- [15] TOMBERLIN J K, SHEPPARD D C. Factors influencing mating and oviposition of black soldier flies (Diptera: Stratiomyidae) in a colony [J]. *Journal of Entomological Science*, 2002, 37(4): 345-352.
- [16] 刘向东,翟保平,张孝羲.蚜虫迁飞的研究进展[J].*昆虫知识*, 2004(04):301-307.
- [17] 杨慕童,黎文兵,江明锋.不同含水量豆腐渣对黑水虻生长的影响[J].*畜禽业*, 2018, 29(11): 26-29.
- [18] 安新城,吕欣.黑水虻的生物学特性及营养价值[J].*养殖与饲料*, 2007(11):67-68.
- [19] 郑丽卿,崔锦良,王月晖,等.黑水虻幼体营养成分分析研究 [J]. *甘肃畜牧兽医*, 2019, 49(02):55-56.
- [20] NEWTON G L, BOORAM C V, BARKER R W, et al. Dried *Hermetia illucens* larvae meal as a supplement for swine [J]. *Journal of Animal*, 1977 (44) :395-400.
- [21] BARRY T. Evaluation of the Economic, Social, and Biological Feasibility of Bioconverting Food Wastes With the Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) [D]. *University of Texas*, 2004.
- [22] 黄超,沈侨,朱定,等.黑水虻幼虫氨基酸组成及营养价值评估[J].*广东饲料*, 2018, 27(09):22-24.
- [23] NEWTON G L, SHEPPARD D C, WATSON D W, et al. The black soldier fly, *Hermetia illucens*, as a manure management/resource recovery tool [C]. *Symposium on the state of the science of Animal Manure and Waste Management*. 2005:5-7.
- [24] LI Q, ZHENG L, CAI H, et al. From organic waste to biodiesel: Black soldier fly, *Hermetia illucens*, makes it feasible [J]. *Fuel*, 2011, 90: 1545-1548.
- [25] DIENER S, ZURBRUGG C, TOCKNER K. Conversion of organic material by black soldier fly larvae: establishing optimal feeding rates [J]. *Waste Manage Res*, 2009, 27:603-610.
- [26] KIM W, BAE S, PARK K, et al. Biochemical characterization of digestive enzymes in the black soldier fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) [J]. *Journal of Asia - Pacific Entomology*, 2011, 14(1): 11-14.
- [27] ZHENG L, CRIPPEN T L, SINGH B, et al. A survey of bacterial diversity from successive life stages of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) by using 16S rDNA pyrosequencing [J]. *Journal of medical entomology*, 2013, 50(3): 647-658.
- [28] ERICHSON M C, ISLAM M, SHEPPARD C, et al. Reduction of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella enterica* serovar enteritidis in chicken manure by larvae of the black soldier fly [J]. *Journal of Food Protection*, 2004, 67(4): 685-690.
- [29] SHEPPARD D C, NEWTON G L, Thompson S A, et al. A value added manure management system using the black soldier fly [J]. *Bioresource Technology*, 1994, 50(3):275-279.
- [30] BRADLEY S, SHEPPARD D. House fly oviposition inhibition by larvae of *Hermetia illucens* the black soldier fly [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 1984, 10(6):853-859.

- [31] 杨阳阳, 陈树宾, 徐东芳, 等. 生物柴油的研究进展及发展方向[J]. 山东化工, 2019, 48(10):85-88.
- [32] 林启训, 臧志清, 傅坤仁, 等. 超临界CO₂萃取昆虫水虻油脂的实验研究[J]. 福建农业大学学报, 1998(04):84-87.
- [33] BONOMO R. Multiple antibiotic-resistant bacteria in long-term-care facilities: an emerging problem in the practice of infectious diseases[J]. Clin Infect Dis, 2000(31):1414-1422.
- [34] 李云香, 姚倩, 任玫, 等. 抗菌肽作用机制研究进展[J]. 动物医学进展, 2019, 40(09):98-103.
- [35] 刘建涛, 苏志坚, 王方海, 等. 昆虫抗菌肽的研究进展[J]. 昆虫天敌, 2006(01): 36-43.
- [36] 夏婧, 赵启凤, 廖业, 等. 黑水虻抗菌肽诱导条件优化及粗提物活性研究[J]. 环境昆虫学报, 2013, 35(01): 44-48.
- [37] 马宝林, 宋宝珍. 昆虫抗菌肽研究和应用现状[J]. 生物技术通讯, 2007(06): 1043-1045.
- [38] ANDRÄ J, BERNINGHAUSEN O, LEIPPE M. Cecropins, antibacterial peptides from insects and mammals, are potent fungicidal against *Candida albicans* [J]. Medical Microbiology & Immunology, 2001, 189 (3): 169-173.
- [39] 石洪玥, 陈雨滢, 孙学亮, 等. 黑水虻幼虫替代饲料直接投喂对锦鲤生长消化、肝胰脏氧化酶和血清非特异性免疫指标的影响[J]. 饲料研究, 2019, 42(06): 17-22.
- [40] 王国霞, 莫文艳, 范怡杰, 等. 黑水虻对杂交鳢生长、肌肉组成和血清指标的影响[J]. 水产科学, 2019, 38(05): 603-609.
- [41] 黄文庆, 胡俊茹, 王国霞, 等. 黑水虻餐厨虫沙替代豆粕对罗非鱼幼鱼生长性能、体成分和血清生化指标的影响[J]. 饲料工业, 2019, 40(18): 59-64.
- [42] 陈晓瑛, 胡俊茹, 王国霞, 等. 黑水虻幼虫粉替代鱼粉对黄颡鱼幼鱼生长性能、肌肉品质及血清生化指标的影响[J]. 动物营养学报, 2019, 31(06): 2788-2799.
- [43] 黄文庆, 黄燕华, 米海峰, 等. 3种动物蛋白质源替代鱼粉对草鱼生长性能、肌肉营养成分、消化酶活性、血清生化和抗氧化指标的影响[J]. 动物营养学报, 2019, 31(05): 2187-2200.
- [44] STHILAIRE S, SHEPPARD C, TOMBERLIN J K, et al. Fly Prepupae as a Feedstuff for Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss* [J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2010, 38 (1): 59-67.
- [45] BONDARI K, SHEPPARD D C. Soldier fly larvae as feed in commercial fish production [J]. Aquaculture, 1981, 24(81): 103-109.
- [46] 胡俊茹, 王绥涛, 邱世殿, 等. 黑水虻幼虫培养基替代豆粕对吉富罗非鱼生长、体组成和血清生化指标的影响[J]. 淡水渔业, 2016, 46(06): 98-103.
- [47] 胡俊茹, 王国霞, 莫文艳, 等. 黑水虻幼虫粉替代鱼粉对鲈鱼幼鱼生长性能、体组成、血浆生化指标和组织结构的影响[J]. 动物营养学报, 2018, 30(02):613-623.
- [48] 韩星星. 脱脂黑水虻虫在大黄鱼幼鱼配合饲料中的应用研究[D]. 硕士学位论文. 厦门:集美大学, 2019.
- [49] 易昌金, 胡俊茹, 胡毅, 等. 凡纳滨对虾对黑水虻幼虫粉营养物质的表现消化率[J]. 饲料工业, 2018, 39(04):21-26.
- [50] 胡俊茹, 王国霞, 黄文庆, 等. 黑水虻幼虫粉替代鱼粉对凡纳滨对虾幼虾生长性能、体组成、血清生化指标和抗氧化能力的影响[J/OL]. 动物营养学报, 2019: 1-9.
- [51] FAO. Global agriculture towards 2050 [Z]. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2009.
- [52] 张放, 朱建平, 张政, 等. 黑水虻虫粉对育肥猪生长性能、血清指标和养分消化率的影响[J]. 河南农业科学, 2017, 46 (06): 130-133.
- [53] SPRANGHERS T, MICHIELS J, VRANCX J, et al. Gut antimicrobial effects and nutritional value of black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) prepupae for weaned piglets [J]. Animal Feed Science & Technology, 2017, 235:S0377840117307721.
- [54] 余苗, 李贞明, 陈卫东, 等. 黑水虻幼虫粉对育肥猪营养物质消化率、血清生化指标和氨基酸组成的影响[J]. 动物营养学报, 2019, 31(07): 3330-3337.
- [55] CHOI Y C, PARK K H, NAM S H, et al. The Effect on Growth Performance of Chicken Meat in Broiler Chicks by Dietary Supplementation of Black Soldier Fly Larvae, *Hermetia illucens* (Diptera : Stratiomyidae) [J]. Biochemical Society Transactions, 2013, 51(1):30-35.
- [56] HALE O M. Dried *Hermetia illucens* larvae (Diptera: Stratiomyidae) as a feed additive for poultry [J]. Journal of the Georgia Entomological Society, 1973, 8:16-20.

新冠疫期间畜禽养殖场消毒防疫

马新燕, 刘志昌, 余苗, 马现永, 李书宏, 彭广辉, 容庭*

(广东省农业科学院动物科学研究所; 畜禽育种国家重点实验室; 农业农村部华南动物营养与饲料重点实验室; 广东省畜禽育种与营养研究重点实验室; 广东畜禽肉品质量安全控制与评定工程技术研究中心, 广东 广州 510640)

摘要:新型冠状病毒(COVID-19)感染肺炎感染性强、传播速度快、危害极大, 严重危及人们的生命安全。新冠疫期间, 如何做好养殖场复工复产的消毒防控工作尤为重要。笔者结合养殖场实际情况, 将从畜禽养殖场在新冠疫情期间在消毒剂的选择、消毒方式及防控措施等几个方面进行叙述, 以期为养殖场提供参考。

关键词:新冠疫; 畜牧养殖场; 消毒药; 防控措施

中图分类号:S815 **文献标识码:**C **文章编码:**1005-8567(2020)02-0034-03

新冠疫情期间, 全国乃至全世界人民皆为命运共同体、责任共同体。习近平总书记高度重视, 亲自指挥, 亲自部署, 各基层党员领导牢牢谨记生命重于泰山, 疫情就是命令、防控就是责任。目前, 尚无特效药物治疗新冠病毒感染, 疫苗正加紧步伐研制。新冠疫, 无疑给畜牧业带来巨大考验, 如今正值复工复产之际, 作为畜牧工作者, 如何做好畜禽养殖场的防控是现阶段重中之重的工作, 笔者根据工作实践, 总结以下见解供参考。

1 新冠疫概念及流行特点

新冠疫是指新型冠状病毒(COVID-19)感染肺炎疫情, 简称“新冠疫”。根据《环球时报》报道, 中国-世卫组织联合考察专家组发现, 新冠病毒是一种新的病原体, 各年龄阶段均易感; 患者平均年龄51岁, 30~69岁患者占77.8%, 77.5%的病例来自湖北; 呼吸道飞沫和接触传播是主要传播途径, 粪便检测出新型冠状病毒, 存在粪-口传播风险,

还可能存在气溶胶传播, 但不是主要传播方式; 蝙蝠可能是新冠病毒的宿主, 穿山甲可能是新冠病毒的中间宿主之一; 聚集性传染性强。畜牧养殖场, 是人员的聚集之地, 人员、车辆进出流动性较大, 势必要做好防疫工作。当前, 消毒防疫、隔离、提高自身免疫力等是比较可靠的防控措施。尤其, 畜牧养殖场消毒是预防疾病的有效方式, 针对不同病原体, 选择合适的消毒剂、消毒方式、浓度等, 消灭病原体或者阻断传播途径。

2 消毒药的选择

根据新冠病毒特点及中新网公布的消毒剂, 有效杀灭新冠病毒的消毒液是75%酒精(乙醇)和84消毒液, 其中84消毒液属于氯制剂类消毒剂。畜牧养殖场常用的氯制剂类有二氯异氰尿酸钠粉(有效氯含量:20%和40%)和三氯异氰尿酸粉(有效氯含量:30%)。

收稿日期:2020-02-25

项目来源:东源县规模鸡场消毒配套技术的研究与推广应用(项目编号:2016A020212016)

作者简介:马新燕(1985-), 女, 畜牧师, 主要从事畜牧推广工作。E-mail:dk051maxy@163.com

*通讯作者:容庭(1983-), 男, 高级畜牧师, 研究方向:生态养殖与环境控制。E-mail:155320782@qq.com

3 消毒方式的选择

畜禽养殖场需要根据不同的对象,选择合适的消毒剂、消毒方式,把握好消毒剂的浓度,才能做到有效消毒。乙醇和氯制剂均可采用喷洒或喷雾、浸泡、擦拭等方式进行消毒。

75%酒精可用于手、接触物体及使用完丢弃口罩,切记进行衣物等可燃物体喷洒消毒,也不可用于空气消毒。酒精易燃,消毒期间忌明火。有些养殖场为幼畜禽防寒保暖,设炉罩增温,此场所严禁酒精消毒,以免引发火灾。

氯制剂可用于地面、厩舍、车辆、排泄物、鞋类、周围环境等消毒。氯制剂消毒,可采用喷洒、浸泡、擦拭等方式消毒,也可以用其干粉直接处理排泄物或其他污染物品。消毒操作人员要佩戴防护用品,以免消毒药物刺激眼、手、皮肤及黏膜等造成伤害^[1]。需要注意,根据畜禽舍面积、存栏数量等配制相应的浓度,浓度过高会造成物体腐蚀或者伤害畜禽呼吸道;浓度过底,则不能有效消毒,甚至导致消毒失败。建议养殖场,选用两种或两种以上的消毒剂按一定的时间间隔交替使用,确保消毒效果。

4 消毒防疫措施

防控新冠疫,畜牧养殖场需要从人员、物质、流程等方面做好消毒防疫的监督、管理,切断病毒感染途径,保护易感人群。

4.1 领导层面高度重视,成立新冠疫防控小组

公司领导层要高度重视新冠疫,积极响应党和政府决策,认真领会把握2月21日中央政治局会议作出的“防控工作取得阶段性成效”、“全国疫情发展拐点尚未到来”等最新判断,要全面落实党中央精神和工作要求。落实疫情防控重点地区分区分级精准防控策略,积极召开公司内部动员大会,落实分管领导人负责制,成立防控工作小组,制定防疫方案,落实防疫职责,责任到岗到人,一律从严管理,确保养殖场办公区、生活区、养殖区等密集场所全方位防控措施,坚决打赢防疫攻坚战。

4.2 做好人员防护,避免交叉感染

(1)公司配备防疫物资,保证库存充足。(2)公司派专人负责人员配、送餐服务,避免聚集吃饭交流。(3)注意做好人员防护,勤洗手,强制要求穿工作服或防护服、雨鞋、戴口罩、一次性帽子、手套。(4)进出场区时须严格消毒,更换场区时应更换鞋帽,严格消毒,以避免交叉污染,防止人和物成为传播源。(5)各场区、生产车间、生活区做好通风。

4.3 严格场区人、物监管,落实日常记录

畜禽养殖场实行封闭式管理,原则上不接待任何来访者,场内人员不得随意进出场区,对许可出入场区的一切人员、运载工具必须进行消毒并记录在案^[2]。

首先,应在出入场区、畜禽舍的主要通道设置消毒池,为进出车辆消毒,消毒池内投放氯制剂类消毒剂,池上方最好设顶棚,防止日晒雨淋;每栋畜禽舍门前设脚踏消毒池,为进出舍内人员消毒。消毒池内的消毒液定期更换。其次,防控工作小组,做好疫情期间本场人员体温检测与记录,每天至少进行体温检测2次,早晚各1次。再次,对于外来上班人员,强制要求宿舍自我隔离监测14天,每天做好体温检测记录。最后,如有咳嗽、发烧、乏力等不良症状,尽快就医并上报。

4.4 健全、落实卫生防疫制度

(1)落实消毒工作,疫情期间,每日开展环境、生活区、场舍及设施设备消毒,定期开展带畜(禽)消毒。(2)落实卫生清洁制度,疫情期间,生活区,场区均配备防疫用品专用垃圾筒,每日执行清洁卫生,防疫用品、烟头等进行无害化处理。定期开展灭鼠、灭蚊、灭蝇、灭蟑螂等活动。(3)落实生活用品登记,严格做好生活用品来源及去向使用登记,做到“一品一人”,标记好人员名字;发现来源不明或标记不明的物品应进行无害化处理。(4)落实畜禽入场消毒查验,临床检查发现异常、无动物检疫合格证明及畜禽标识的不得入场。(5)落实场区外消毒防疫,严格按照规定对运输工作人员进行体温检测,同时对运输饲料或畜禽的车辆或处理设备等进行消毒。非本场人员

及车辆等物品,一律不得入内;如急需用品,须严格进行消毒后方可入场。(6)落实无害化处理,严格按照国家规定对场区人员用过的物品,包括工作服或防护服(或防护罩)、雨鞋、戴口罩、一次性帽子、手套等均进行无害化处理。处理方式:采用焚烧方式,或用消毒液喷洒或浸泡物品后进行焚烧。

5 小结

新冠疫传染性之强,感染性之高,各养殖场务必高度重视,不可存在侥幸心理,疫情防控务必保持清醒头脑,毫不懈怠、全力以赴。坚决做好复工复产的防控工作,成立防控小组,实行最严格的岗位责任制,落实专人负责防疫工作,细化落实省市防控指引,严格量体温、戴口罩、勤洗手、常消毒、

有距离、分餐制等措施,建立“零报告”制度^[3]。公司领导要加强监督检查,全面排查风险点,堵塞漏洞,做到防疫在前、有序开工。保护公司人员的人身安全,对抗拒疫情防控等违法行为要及时向上级部门汇报,依法严肃处理。新型冠状病毒感染肺炎治疗药物和疫苗有序进行,将进一步推进各省市公共防控体系建设与完善。

参考文献:

- [1] 朱云芬. 肉鸽产业技术与探讨[J]. 中国家禽, 2012, 34(17):36-43.
- [2] 张洪升. 肉鸡生产中生物安全体系的建立[J]. 江西饲料, 2010(1):38-41.
- [3] 范俊生, 杨旗. 北京市新冠肺炎疫情防控工作领导小组召开第二十六次会议[EB]. 北京日报, 2020-02-18.



《广东畜牧兽医科技》 (双月刊) **ISSN 1005-8567**
 (1976年创刊, 大16开本, 正文52页) **CN 44-1243/S**

主管单位: 广东省农业科学院

主办单位: 广东省农业科学院畜牧研究所、广东省农业科学院动物卫生研究所、广东省畜牧兽医学会

定 价: 每期定价 10.00 元, 全年 60.00 元(含平寄邮费)

订阅方式: 本刊实行自办发行。读者可通过邮局直接汇款至本刊编辑部。

注意事项: 汇款时请注明订阅份数、邮政编码、详细收刊地址、单位名称、收件人姓名、电话等相关资料, 以免误投。

地 址: 广州市天河区五山大丰一街 1 号 103 室《广东畜牧兽医科技》编辑部(邮编: 510640)

电 话: 020-87576452

传 真: 020-87576452

投稿邮箱: gdxmsykj@163.com

欢迎订阅

欢迎投稿

欢迎刊登广告

非瘟背景下,如何全面减少生猪养殖对环境的污染

马现永¹, 马新燕¹, 李家洲¹, 邓盾¹, 刘志昌¹, 容庭¹, 李书宏^{1*}, 杜宗亮^{1,2*}

(1. 广东省农业科学院动物科学研究所, 农业农村部华南动物营养与饲料重点实验室, 畜禽育种国家重点实验室, 广东省畜禽育种与营养研究重点实验室, 广东省畜禽肉品质量安全控制与评定工程技术研究中心, 广东广州 510640;
2. 清远龙发种猪有限公司, 广东 清远 513000)

摘要:非洲猪瘟给中国养猪业带来巨大的损失,但也加快了我国生猪产业升级的步伐,为提升我国养殖环境和生物安全水平创造了契机。如何全面减少生猪养殖对环境的污染,对中国养猪业的可持续发展至关重要。本文从政策实施、加大宣传、减少养殖废弃物排放的技术措施(源头减少、过程控制、末端处理)等方面进行阐述,以期对生猪养殖与环境保护和谐共处提供理论参考。

关键词:非洲猪瘟; 生猪养殖; 环境

中图分类号:S815.4 **文献标识码:**C **文章编号:**1005-8567(2020)02-0037-03

在非瘟背景条件下,随着畜牧业养殖小区、全自动封闭式养殖场建设的不断推进,生猪养殖集约化程度不断提高,生物安全、疫病防控体系不断完善,但是粪污处理与利用、病死猪掩埋处理与防疫的矛盾及不足逐渐暴露出来,不仅影响生猪健康养殖,也对环境造成严重污染。因此,不仅从意识上要高度重视,制定切实可行的措施,还要保障措施能落地有效实施。通过一系列措施,从养殖各环节及末端处理进行有效控制与无害化处理,最大限度降低养殖对环境的污染,推动健康养殖、生态养殖的可持续发展。本文将重点从以下几方面阐述减少养殖环境污染措施。

1 加大政策扶持力度,落实政策保障

1.1 猪场建设指引

猪场建设时,对用地、环保、排水、防疫等规划

进行相应的框架指导,长远考虑如何减少废弃物的排放,以及废弃物如何处理的问题。明晰科学研究、推广应用、市场运行等主体,畜禽标准化生产、粪污处理设施标准化改造、种养一体化实施等具体任务,建立长效的鼓励性机制,引导畜禽粪污处理与资源化利用方向。

1.2 资金支持

在资金方面给予大力支持,积极引导金融机构等加大对生猪信贷支持力度,支持养猪业。统筹并优先解决畜禽粪污处理利用的用地问题,落实农业用电政策,实行畜禽粪污处理利用装备的农机购置补贴政策,对沼气、天然气、有机肥项目进行税收、贷款优惠。

1.3 技术培训

加强基层动物防疫队伍建设,完善疫病监测相应的设施,积极引导企业与科研单位加强合作,鼓

收稿日期:2020-02-13

项目来源:广东省农业科学院人才项目(201803),清远市创新创业科研团队项目(2018002),广东省现代农业产业创新团队(2019KJ115, 2019KJ112)。

作者简介:马现永(1972-),女,山东日照人,博士研究生,研究员,主要从事动物营养与饲料研究、生态养殖与环境控制研究。E-mail: 407986619@qq.com

*通讯作者:李书宏,男,高级兽医师,主要从事动物保健品及环境控制产品研发工作。E-mail:455465173@qq.com;杜宗亮,男高级畜牧师,主要从事生态养殖工作。E-mail:577077972@qq.com

励技术人员开展企业培训及技术指导,加强疫病预防,将疫病发生的可能性降至最低,减少生猪发病率及死亡率。最终,减少畜禽病死猪处理的环保压力。

1.4 生猪产业法律保障

健全生猪产业法律制度体系,具体细化实施。针对不同的养殖模式,根据实际情况,细化相应的标准与要求,并通过当地的主管部门贯彻落实。不仅使养殖业有法可依、有章可循,还要真正贯彻落实。

通过这些政策的落地实施,从猪场的建设到生猪养殖的各环节,

监管、指导到位,从政策上鼓励养殖业减少废弃物排放、推进废弃物无害化处理与综合利用的长效机制

2 加强宣传教育,重视养殖对环境的污染问题及危害

提倡养殖地区举办技术培训讲座,增强饲料企业及养殖企业的环保意识,了解造成养殖污染的原因,在饲料配制及养殖过程中尽量减少或避免污染物的产生。重视畜禽养殖废弃物的排放问题,做到养殖场人人了解畜禽养殖污染处理条例、畜禽养殖污染物排放标准。饲料厂的饲料配方要符合目前养殖的需求但要合理,避免过多的氮磷及重金属排放,造成环境污染。在非瘟条件下,各种预防非瘟病毒的药物或添加剂应用剂量比以往有所加大,对环境也造成污染^[1],应引起足够的重视。

3 减少养殖废弃物排放的技术措施

3.1 从养殖源头减少排放,减少环境污染

(1)合理调配饲料配方,精准饲养,减少氮、磷、重金属等排放,减少环境污染。应用抗生素替代物质、微生态制剂、酶制剂或发酵饲料、生态型饲料,提高饲料的利用效率,改善猪的消化吸收功能,减少废弃物包括臭气的排放。

(2)提高生猪机体免疫力,减少疾病发生,降低死亡率,减少病死猪对环境的污染。据不完全统计,我国每年因为生猪亚健康状态造成的损失高达数百亿元,生猪一旦处于亚健康状态,身体会自发调动相关机能抵抗疾病的入侵,造成生猪体能下

降,食欲不振,生长缓慢,甚至出现体重下降。如果再碰上“非瘟”,“亚健康”就会演变成“非健康”,甚至全军覆没。病死生猪在处理过程中,存在疫病传播、环境污染的风险。通过饲料及饮水添加免疫增强剂,改善猪舍内环境、优化自动化设施,实施精准管理模式等,全方位提高机体的免疫功能和抗病能力,减少细菌、病毒入侵,减少病死畜禽对养殖场及周围环境的污染^[2]。

3.2 养殖固体废弃物进行无害化处理及利用

固体废弃物的处理技术有很多,但是目前能够全面彻底地解决养殖场污染的技术还有待进一步优化综合,降低养殖场的处理成本,尤其是在非瘟背景下的集约化生产模式。彻底厌氧发酵是防止非瘟通过固体废弃物传播的有效方法,该方法操作简单,成本低。此外固体废弃物集中处理也逐渐显示出其优越性,但是在将固体废弃物运出猪场外到达废弃物集中处理中心前,应该首先进行预处理,确保不会对环境及动物造成危害。养殖固体废弃物无害化处理,主要针对病死猪和粪便的处理。

(1)病死猪无害化处理。国家对该类废弃物的处理技术体系相对比较成熟全面,政府引导相对规范,但是在养殖场中仍存在技术采用率低、实效性差、扩散面窄、监管难等现实问题。如何提高养殖户无害化处理技术的接受度,并能严格有效实施是关键。国内主要按照技术规范进行消毒深埋、焚烧、化制、高温、化学处理、生物发酵或昆虫过腹等技术处理病死猪,委托集中处理和资源化处理是技术发展的主要趋势^[3-4]。在现有技术的基础上,建立养殖企业、无害化处理中心、动物防疫部门、政府或推广组织之间的关系,保障病死畜禽无害化处理技术的有效实施,具体见图1所示。

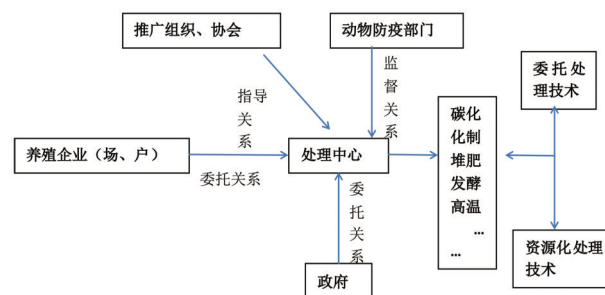


图1 病死猪无害化集中处理程序简图

(2)粪便无害化处理。粪便无害化处理技术目前相对成熟,主要包括好氧发酵、厌氧发酵、昆虫过腹技术等。但是在非瘟情况下,选择厌氧发酵是最安全的方式,可以预防病毒传播扩散。厌氧发酵后制作有机肥,变废为宝,改良土壤,提高土壤肥力,还可以减少化肥使用量。制作有机肥需进行相应的除臭措施,因为制作有机肥的过程是粪便中各种有机物分解的过程,产生臭气较多,苍蝇、蚊子较多,严重污染环境。需尽可能通过相应的技术,改进制作有机肥的设施、筛选良好的菌种,缩短堆肥的时间,减少臭气排放^[5]。

粪便集中处理也是一种重要的发展模式,集中处理模式需要各方分工协作,互惠互利。养殖业主是养殖场内粪便收集的实施主体,应主要承担养殖场内的粪便收集和贮存。因此,养殖场内须有粪便收集和贮存设施。按照两两分建模式,实现固液分离、雨污分离,建设暗沟输送管道,配备密闭型粪污运输车等。粪便收集运输至集中处理中心,需有专业化收集队伍与设施、粪便收集区域划分与管理、集中处理技术优化、有机肥的土地消纳利用、行业部门监管等诸多方面有效实施。畜禽粪便集中处理涉及养殖场内的粪便收集贮存设施建设、收集体系建立和土地匹配等环节,单靠企业难以开展,需要地方政府大力支持。

3.3 对养殖废水进行无害化处理与利用

目前,养殖废水排放不达标的主要原因是生化需氧量过高,主要是由于废水经过净化排放作为灌溉水时,水中仍然含有机质,耗氧微生物分解水中有机物需消耗溶解氧量,使废水发酵不充分、后续的废水经过生化反应过程不彻底造成的。化学需氧量是衡量水中有机质含量的一个重要指标,其值高是因为水中含有有机物过多。改进的措施有:(1)改进废水发酵的技术,或改良发酵所应用的微生物菌种及种类,完善发酵用菌种及发酵技术流程,最大限度消耗废水中的有机质,降低废水处理成本。(2)检测废水运行系统,不只简单地根据设定的程序,经过几个步骤处理的水就是达标水质。应根据养殖场排泄废弃物不同情况进行检测,根据检测情况对后续处理步骤、生化反应的时间与加入化

学试剂的用量等进行调整优化,直至测定的净化水水质达标,才是处理程序步骤与程序完善。此外,间隔一段时间进行跟踪查看。这个过程应当设定相应的专题,吸引专家研究、技术创新,并推广应用。

3.4 对臭气排放的处理措施

加强对除臭设施的研发与应用力度,目前在这方面仍然是一个薄弱环节,优化除臭设施,降低成本及操作难度,最大限度满足养殖场的需求。加强对除臭微生物的筛选或改良,提高除臭效率;研发安全有效成本较低,且与目前除臭设施相匹配应用的除臭剂,并大面积推广应用,或者将生物处理与设施结合起来,最大限度减少臭气排放。此外,在不影响人类健康的前提下,合理修订畜禽养殖废气排放标准,做到既能减少养殖压力,又能保障生猪养殖业的可持续发展。

4 加大对畜禽养殖废弃物处理与利用方面的科技创新支持

政府搭建平台,引导、鼓励高校、科研院所的科研人员根据目前生产状况与生产需求进行科技创新与技术研发,为畜禽养殖业的发展提供源动力。

如今低碳养殖越来越受人们的认可与欢迎,以零排放零污染为特点的生态健康养殖模式越来越受到人们的欢迎,做好相关的养猪环境控制措施,中国的养殖业发展未来可期。

参考文献:

- [1] 唐万勇.“非瘟”形势下的猪场培训和生物安全[J].北方牧业 2019,(05):21.
- [2] 赵楠.科技加持,猪业突围——“非瘟、环保、减抗”背景下的中国猪业复兴之路[J].中国畜牧杂志,2019,55(10):177-181.
- [3] 李燕凌,车卉,王薇.无害化处理补贴公共政策效果及影响因素研究[J].湘潭大学学报(哲学社会科学版),2014,38(05):42-47.
- [4] 司瑞石,陆迁,张淑霞.畜禽养殖废弃物处理技术供给模式创新研究-以病死猪无害化处理技术为例[J].农村经济,2019,(02):117-122.
- [5] 李春枚,何俊静,石清.畜禽养殖废弃物无害化处理技术及资源化利用分析[J].畜牧兽医科技信息,2018,(05):62-63.

徐州地区犬细小病毒发病率调查与防治

王海军¹, 宗猛², 陈吉登³

(1. 徐州生物工程职业技术学院, 江苏 徐州 221006;

2. 徐州润珑宠物医院, 江苏 徐州 221000;

3. 徐州丰县新丰宠物医院, 江苏 徐州 221700)

摘要:犬细小病毒病是犬的多发、致死性传染病, 早诊断、早治疗是降低患犬死亡率的关键。本文通过对徐州地区犬细小病毒病例进行统计分析, 了解该病发病情况; 并随机选择部分病例进行治疗试验。治疗试验结果表明, 该犬细小病毒病的治愈率可达60%。

关键词:徐州; 细小病毒; 发病率; 防治

中图分类号:S852.65*5 **文献标识码:**B **文章编码:**1005-8567(2020)02-0040-03

犬细小病毒病是犬的烈性传染病, 发病率高, 传染性强, 临床上幼龄犬多发^[1-2]。1978年美国首次报道了该病, 此后在世界各地迅速蔓延^[3-4]。临床上一般将犬的细小病毒病分为心肌炎型、肠炎型两种, 前者病程短, 先兆性症状不明显, 有的突发呼吸困难和心力衰竭, 在短时间出现死亡^[5]。后者以剧烈呕吐、出血性肠炎为主要特征。病毒以犬细小病毒-2型(Canine parvovirus, CPV-2)为主, 最先侵入和破坏快速分裂的细胞, 如骨髓干细胞, 肠腺隐窝上皮细胞^[6-7], 并最终引起细小病毒性肠炎。

笔者于2019年1月5日至6月28日期间对江苏省徐州地区的宠物医院经确诊的犬细小病毒患犬进行了调查, 了解流行病学特征。在此基础上随机选择10个病例进行治疗试验, 以验证治疗方案是否有效, 并提出综合性预防措施。

1 发病率调查

1.1 调查数据

徐州地区的宠物医院调查期间, 收集到犬细小病毒病确诊病例319例, 主要记录患犬的基本资料, 如性别、年龄、品种等, 还了解患犬是否接种疫苗,

发病时间等信息。

1.2 影响犬细小病毒病发病率的因素

1.2.1 犬细小病毒病发病与月份的关系

319例确诊的病例分布情况见表1。

表1 各月份的发病率

月份	病例数(例)	发病率(%)
1	27	8.46
2	39	12.23
3	63	19.75
4	71	22.26
5	96	30.09
6	23	7.21

表1数据表明, 该病每年1月到6月都有可能发生, 但依然存在一定的季节性差异, 2月到5月, 犬外出活动增多, 一旦接触到患犬的粪便, 与病原接触后感染, 且感染随气温增加而变得严重。而6月份的发病率又显著降低, 说明病毒不耐热, 在外界存活时间短。

1.2.2 犬细小病毒病发病率与年龄的关系

319例确诊的病例中, 1月龄以内的发病3例,

收稿日期:2020-01-05

作者简介:王海军(1977-), 男, 江苏南通人, 副教授, 高级兽医师, 研究方向:宠物外科, 动物临床诊疗。E-mail:whj6481@126.com

1到6月龄发病207例,7到12月龄发病98例,1岁以上发病11例。

表2 各年龄的发病率

年龄	病例数(例)	发病率(%)
1月龄以内	3	0.94
1到6月龄	207	64.89
7到12月龄	98	30.72
1年龄以上	11	3.45

从表2可知,1月龄以内幼犬由于得到母源抗体的保护,发病率很低,但1月龄以上的犬,发病率较高,但发病率与年龄呈现负相关趋势,这说明犬的抵抗力大小是决定是否发病的重要因素。

1.2.3 犬细小病毒病发病率与品种的关系

319例确诊的病例中,纯种犬发病234例,杂种犬发病63例,田园犬发病22例。

表3 各品种的发病率

品种	病例数(例)	发病率(%)
纯种犬	234	73.35
杂种犬	63	19.75
田园犬	22	6.9

从表3可知,不同品种的犬均有可能感染到犬细小病毒,但高发犬种为纯种犬。杂种犬和田园犬自身抵抗力比较高,发病率就比较低。但这种发病分布情况也可能是由于徐州地区纯种犬饲养量大的原因。

1.2.4 犬细小病毒病发病率与免疫状况的关系

319例确诊的病例中,未接受免疫的犬只发病183例,接受免疫的犬只发病26例,免疫不全的犬只发病110例。

表4 不同免疫状况的发病率

免疫情况	病例数(例)	发病率(%)
未接受免疫	183	57.37
免疫全套	26	8.15
免疫不全	110	34.48

从表4可知,接受免疫的犬发病率最低,未接受免疫的发病率最高。有些宠主不重视犬的免疫接种,有些犬只接受了首次免疫程序,未接受每年的加强免疫,这都会增加犬只感染犬细小病毒的可能性。因此,犬进行免疫对降低发病率有着极为重要的意义。

2 诊断方法

2.1 初步诊断

患犬一般精神沉郁,不吃不喝,大多有呕吐现象,呕吐物为粘液状物质,体温升高,拉恶臭的带血软便,脱水等。依据临床检查初步建立诊断。确诊通过CPV快速检测试剂卡检测(江苏福斯达生物科技有限公司生产)。(图1)



图1 CPV快速检测

2.2 CPV快速检测

用棉签棒从犬肛门进入,取直肠内的分泌物,与稀释液混匀后,滴取2至3滴于CPV快速检测试剂卡NC膜试纸区,如图1箭头所指。结果判断:C、T线对应处出现红线,记为阳性;C线对应处出现红线,T线对应处不出现红线,记为阴性;C线对应处不出现红线,测试无效。确诊最好结合血液检查结果,如白细胞数量减少,红细胞数量降低等信息综合判断。

3 治疗试验

从319例患犬中,随机选择10个病例,进行治疗试验。经CPV快速检测,同时排除CDV(犬瘟热病毒)和CCV(犬冠状病毒)感染可能。为跟踪治疗过程,所有被试犬全部住院输液治疗。

3.1 治疗原则

治疗时,主要考虑调节酸碱平衡,应用抗体保

护, 抗菌抗病毒, 止血止吐, 调理胃肠功能以及对症治疗。

3.2 治疗方法

3.2.1 治疗用药。

治疗的药物有:(1)0.9%氯化钠注射液, 5%葡萄糖注射液, 头孢曲松钠, 50%葡萄糖注射液, 雷尼替丁, 三磷酸腺苷二钠, 辅酶 A, 复方氨基酸, 复合水溶性维生素, 酚磺乙胺, 氨甲苯酸等。以上药物分组进行静脉注射。(2)铁草干扰素, 五联血清, 经皮下注射。

3.2.2 对症下药, 科学施治。

根据呕吐腹泻情况评估患犬脱水程度, 确定是否输液及输液量。根据血液检查结果及血气分析, 判断血象及电解质水平, 合理输液。广谱抗生素, 营养类, 止吐类药物及生物制剂如血清单抗的配合使用, 有效缓解了病症, 提高了治疗效果。如有呕吐情况, 按体重皮下注射马罗吡坦; 如有腹泻情况, 按体重静脉输液雷尼替丁, 奥美拉唑等, 同时给予蒙脱石散口服; 如有血泻情况, 按体重静脉注射酚磺乙胺和氨甲苯酸, 如拉血严重, 按体重皮下注射白眉蛇毒血凝酶。如患犬长期没有食欲, 采用完全肠胃外补充营养, 按体重静脉注射营养如氨基酸, 三磷酸腺苷二钠, 辅酶 A, 复合水溶性维生素等。如有体温大于 39.5℃ 的情况, 体温一直降不下, 可静脉注射头孢菌素类抗菌药进行消炎或者肌肉注射腾达宁; 如有体温过低的情况, 将犬送入保温箱。

3.2.3 治疗期间的护理

每天早晚检查体温、心率及体重。注意保暖, 保持室内空气畅通。及时更换消毒垫子, 记录犬只的吐拉情况。刚开始禁食禁水, 治疗几天后, 患犬吐拉情况好转后尝试给予易消化的食物, 如调理胃肠道的罐头、鲜封包等, 如果后期没有呕吐, 可以开始少量多次喂食。出院后服用一段时间的益生菌, 等到大便正常以后, 便开始重新正确的接种全套疫苗。

3.2.4 治疗效果

被试 10 条犬, 完全康复 6 例, 治愈率为 60%;

病情得到控制, 精神食欲正常, 无呕吐腹泻情况, 但体内带毒 2 例; 死亡 2 例。死亡犬为老龄犬, 其中一只未接受免疫。治疗结果表明, 以上综合性治疗方案行之有效, 能否治愈要视患犬自身抵抗力和病情轻重而论。

4 小结

对犬细小的治疗要尽早, 加强护理, 能有效提高治愈效果。治疗中发现, 经过免疫的比未受免疫的犬只治愈效果要好; 年龄大的比年龄小的犬只治疗效果要好; 纯种犬的治愈率大大低于杂种犬和田园犬。但是, 在 CPV 毒力较强的情况, 任何年龄的犬只死亡均较高。该病的预防, 最好的方法就是正确接种疫苗, 而未正确接种疫苗原因有很多, 如主人在不正规的地方接种了疫苗, 在网上购买疫苗自行接种等等。另外, 在疫苗接种的过程中, 不要让犬与陌生的狗接触, 避免交叉感染。接种后不要洗澡, 因为洗澡容易导致接种部位感染; 因洗澡导致着凉感冒后还可导致犬免疫力下降^[8]。目前, 很多家庭会饲养两条及以上的犬, 一旦其中有一只被确诊感染, 应立即将其隔离, 加强消毒, 对其它犬只注射高免血清, 并注意观察。

参考文献:

- [1] 赵光长, 王天坤, 谷建福等. 北京市昌平区犬细小病毒病的流行特点 [J]. 畜牧与兽医, 2013(45):77-78.
- [2] 卓国荣. 江苏省泰州地区犬细小病毒流行现状调查与治疗效果 [J]. 江苏农业科学. 2015(43):216-217.
- [3] 鞠厚斌, 周锦萍, 刘健, 等. 上海地区犬细小病毒的分离及 VP2 基因序列分析 [J]. 中国动物传染病学, 2013(21):37-41.
- [4] 沈永刚. 南通地区犬细小病毒流行病学调查 [J]. 山东畜牧兽医. 2011(32):60-61.
- [5] 彭春平, 丁柯, 赵战勤, 等. 洛阳地区犬细小病毒病的流行病学调查 [J]. 河南农业科学, 2014(43):156-159.
- [6] 理查德. 小动物内科学 [M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2012.
- [7] 摩根. 小动物临床手册 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2004.
- [8] 耿志贤. 犬细小病毒病的流行现状调查 [J]. 中国畜牧兽医, 2009(36):135-137.

两例宠物兔的绝育手术报告

罗声扬, 戴溢铨, 熊惠军*

(华南农业大学兽医学院, 广东 广州 510000)

摘要:本文分别介绍雄宠物兔和雌宠物兔的绝育病例各一例, 简单地介绍雄性和雌性宠物兔绝育的术前检查、术前准备、麻醉、术式、术后护理及注意事项等, 以期推动宠物兔医疗的普及和发展, 为今后宠物兔医疗作参考。

关键词:宠物兔; 绝育; 麻醉; 监护

中图分类号:S857.1 **文献标识码:**B **文章编码:**1005-8567(2020)02-0043-04

荷兰兔、侏儒兔、垂耳兔等宠物兔拥有很高的智商和互动性, 能跟主人建立深厚的友谊。近年来, 它们的饲养者数量越来越多, 也给宠物医疗行业带来了新的机遇和挑战。广州有多所动物医院已经开展了兔子的诊疗服务, 今后, 相关的异宠诊疗一定会越来越多, 也越来越专业。与犬猫相似, 宠物兔在性成熟后会表现出发情症状(如雄兔喷尿, 雌兔扯毛、易怒等), 同时也会增加某些疾病的发病率。有报道显示4岁以上的雌兔患子宫腺癌的概率高达60%^[1]。因此兔子适龄绝育, 可以防止意外怀孕, 预防疾病, 是值得推广的观念。

1 基本情况

病例一:五月龄雌兔(下称雌兔), 1.52 kg, 未出现发情症状, 该兔日常吃牧草和兔粮, 精神状态良好, 食欲正常, 大小便正常。主人带兔子到医院进行适龄绝育。

病例二:一岁龄雄兔(下称雄兔), 2.40 kg, 有喷尿和骑跨行为, 该兔日常吃牧草和兔粮, 兔粮比例较高, 精神状态良好, 食欲正常, 大小便正常。主人带兔子到医院进行适龄绝育。

2 术前检查

2.1 基本检查

轻轻地保定雌兔, 视诊观察到该兔子精神状

态良好, 被毛干净, 外耳道干净, 门齿整齐, 呼吸53次/min, 心率240次/min, 神态较为紧张。雄兔精神状态良好, 屁股上的被毛被尿液污染, 外耳道干净, 门齿整齐, 呼吸60次/min, 心率226次/min, 神态紧张。

2.2 血液学检查

表1 血液细胞分析仪检验报告

参数	雌兔结果	雄兔结果	单位	参考值
WBC 白细胞	4.23	5.48	10 ⁹ /L	5-12
NEU# 中性粒细胞	0.68 L	1.34 L	10 ⁹ /L	1.75-6.6
Lym# 淋巴细胞数目	3.07	2.63	10 ⁹ /L	1.25-7.2
Mon# 单核细胞数目	0.29	0.86	10 ⁹ /L	0.1-1.2
Eos# 嗜酸性粒细胞数目	0.01	0.1	10 ⁹ /L	0-0.6
Bas# 嗜碱性粒细胞数目	0.18	0.55	10 ⁹ /L	0.1-0.96
RBC 红细胞数目	4.17	6.16	10 ¹² /L	4-8
HGB 血红蛋白	88	136	g/L	80-175
HCT 红细胞压积	25.4 L	40.1	%	30-50
MCV 平均红细胞体积	60.9	65.1	fL	58-75
MCH 平均红细胞血红蛋白含量	22.1	22.1	pg	17.5-23.5
MCHC 平均红细胞血红蛋白浓度	347	339	g/L	290-370
PLT 血小板数目	322	387	10 ⁹ /L	290-650
MPV 平均血小板体积	6.1	6.6	fL	-
PDW 血小板分布宽度	15.6	15.5		-
PCT 血小板压积	0.196	0.256	%	-

收稿日期:2019-08-20

作者简介:罗声扬(1995-), 兽医本科, 华南农业大学硕士就读, 异宠和外科方向。E-mail:932441456@qq.com

*通讯作者:熊惠军(1962-), 教授, 博士, 华南农业大学兽医学院, 影像诊断、外科方向。E-mail:hjxiong@scau.edu.cn

表2 血液生化分析仪检验报告

参数	雌兔结果	雄兔结果	单位	参考值
TP 总蛋白	69.6	56	g/L	54-75
AST 天门冬氨酸氨基转移酶	25	-	U/L	14-113
ALT 丙氨酸氨基转移酶	54	-	U/L	14-80
CRE 肌酐	91	81	μmol/L	29.75-154.7
BUN 尿素氮	6.83	4.49	mmol/L	-
LDH 乳酸脱氢酶	58	-	U/L	34-129
CK 肌酸激酶	382	-	U/L	-
GLU 血糖	10.34 H	8.8	mmol/L	4.17-8.33
BUN/CRE 尿素肌酐比	75.055	-	-	-
ALP 碱性磷酸酶	-	55	U/L	4-70

雌兔和雄兔的血常规结果如表1所示, 雌兔和雄兔生化结果如表2所示, 参考值采集自《Exotic Animal Formulary》^[2]。

整体上看, 雄兔子的健康状态良好, 肝肾功能正常; 雌兔血糖升高, 判断为应激反应, 也可以进行绝育手术。

3 手术

3.1 术前准备

在兔子的耳缘静脉放置24~26 G的留置针, 该静脉留置针软管亦可以用于少量的采血(见图1)。图1A显示, 宠物兔耳缘静脉放置方式, 静脉位于外侧缘; 进针时, 可以看着血管流向缓慢推进; 固定留置针时要在耳后侧垫纱布块, 可防止耳朵过度变形, 水肿。由于特殊的解剖结构导致兔子不会呕吐, 因此兔子术前不需要禁食^[3]。术区备皮, 清洁消毒, 注意雄兔在阴茎两侧有一折叠, 内有腹股沟腺, 会产生黑褐色的分泌物, 在绝育前将这些分泌物清理干净。

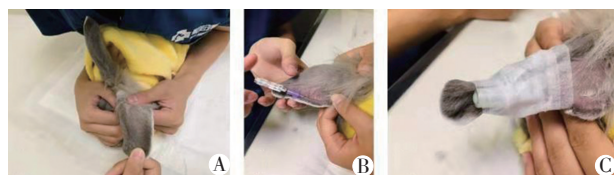


图1 放置留置针

3.2 术前用药

文中两病例的术前用药一致: 肌肉注射咪达唑仑0.3 mg/kg, 肌肉注射布托啡诺0.3 mg/kg, 皮下注射恩诺沙星5 mg/kg。

3.3 麻醉

雌兔使用右美托咪定静脉注射(100~150 μg/kg)诱导麻醉, 随后在内窥镜的帮助下, 使用管径2.5 mm的气管插管进行插管, 并用气体维持麻醉, 通过消化道内窥镜可以清晰地看到气管开口的位置(见图2)。如宠物兔的心率过低, 可以使用阿托品(0.1~0.5 mg/kg)治疗心动过缓。诱导麻醉后, 以1%~2%异氟烷浓度维持。

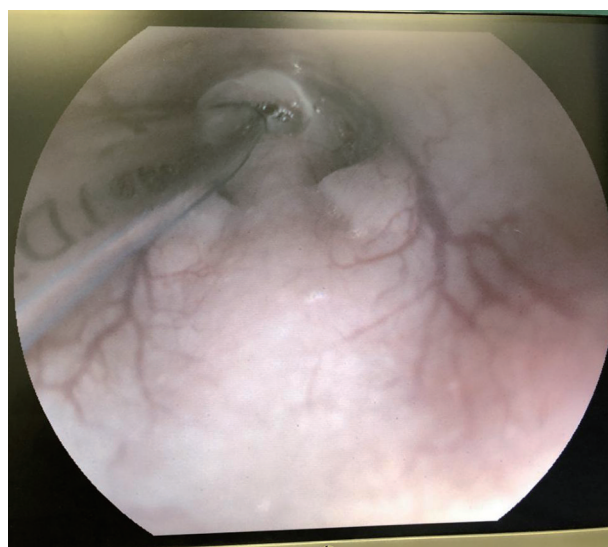


图2 气管开口位置

雄兔由于手术时间短, 采用面罩气体诱导麻醉, 方法为: 先预吸氧2 min, 后用面罩盖住兔子的鼻子, 将异氟烷浓度调到1%, 维持2 min, 重复这个行为, 每2 min异氟烷浓度上调1%, 直到异氟烷浓度为5%后, 再维持2 min。随后可进行气管插管。这种循序渐进的气体诱导麻醉方式, 可以防止兔子发生“屏息”行为。诱导麻醉后, 以3%~4%异氟烷浓度维持。

3.4 术式

雌兔绝育: 兔子作仰卧保定, 固定四肢, 从剑状软骨到耻骨联合广泛备皮。在脐孔处作2~3 cm的切口, 小心将卵巢拉出, 注意不要扯断细长的输

卵管。与犬猫绝育不一样的是, 雌兔的绝育需要额外结扎阔韧带上的丰富的血管丛, 应该血管根部进行结扎。结扎完阔韧带血管丛后, 依次结扎两端卵巢血管, 随后结扎子宫颈分叉处。确认结扎无误后, 关闭腹腔, 用4-0或3-0可吸收缝线连续缝合肌肉层, 皮下层, 随后间断缝合皮肤。如图3所示, 摘除的一侧卵巢和子宫颈(黑色小箭头), 另一侧卵巢(黑色大箭头)、子宫阔韧带血管丛(白色大箭头)和子宫颈分叉(白色小箭头)尚未结扎。

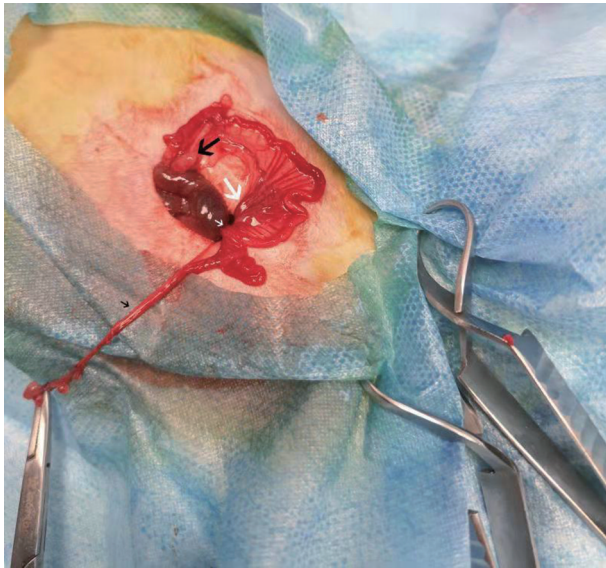


图3 摘除卵巢和子宫颈

雄兔绝育: 兔子作仰卧保定, 固定四肢, 阴囊附近区域备皮。在雄兔睾丸大弯处切开阴囊皮肤, 暴露睾丸鞘膜。充分分离鞘膜和皮下组织后, 切开鞘膜, 使睾丸挤出。附睾的尾部与鞘膜之间连接着韧带, 可以通过钝性或锐性分离的方式撕开, 使睾丸分离出来(图4)。图4A显示, 雄兔绝育前广泛备皮, 注意右上角有错误剃毛导致的损伤。4B显示: 从切口牵出睾丸, 可见具有脂肪垫的附睾头(黑色大箭头)、附睾尾(白色大箭头)、输精管(白色小箭头)和睾丸血管(黑色小箭头)。结扎时, 将输精管和睾丸血管一同结扎, 随后切除睾丸, 残端可放回鞘膜内, 随后用4-0或3-0可吸收缝线连续或间断缝合鞘膜(防止产生阴囊疝气)。鞘膜缝合后, 还纳阴囊内, 阴囊皮肤无需缝合。

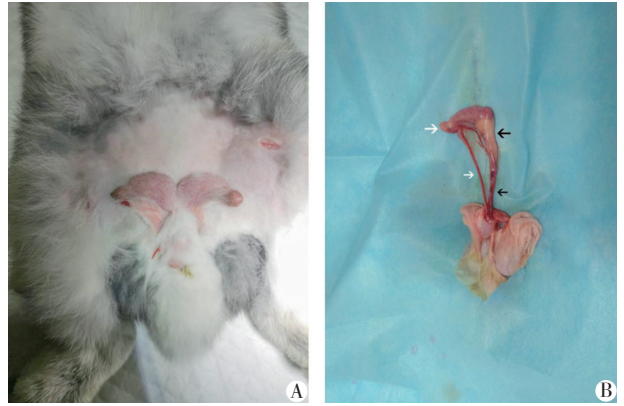


图4 分离睾丸

3.5 术后护理

兔子术后需要保温(正常直肠温度 38.5 ~ 40 °C)和防止低血氧。尽管适当提高二氧化碳浓度可以刺激呼吸, 但整体上来说不能让兔子的血氧饱和度低于90%。两兔在苏醒后就可以给予食物和水。本文介绍的病例术后统一口服0.5 mg/kg美洛昔康止痛, 皮下注射恩诺沙星5 mg/kg。兔子很少啃咬创口, 因此通常不需要带头套。但发现有啃咬行为时, 依然需要带头套。

4 讨论

4.1 术前检查及术前用药

兔子的头静脉与耳缘静脉都可以用于采血, 但耳缘静脉更常用于放置留置针, 因此常用头静脉采血。宠物兔的术前评估与犬猫相似, 要系统地评判心肺功能, 肝肾功能和整体状况, 血常规和血液生化是非常建议的两个术前检查项目。寻常的犬猫检测仪器也能检查兔子的血样, 除了参考值不一样以外, 其他的判读原则与犬猫相似。

宠物兔常规手术的术前需要使用镇静和止痛药物, 可使麻醉更加平稳和安全, 有效地降低麻醉死亡率。兔子非常容易发生应激, 对疼痛非常敏感, 在许多手术术后, 会因疼痛而厌食, 从而继发致命的胃肠蠕动过缓。

4.2 麻醉及监护

结合两兔和文献记录, 总结: 宠物兔在整个麻醉过程中都需要提供100%的纯氧。在诱导麻醉前, 应先预吸氧5 min以上。面罩诱导麻醉具有很

高的安全性,但异氟烷具有较大的气味,可能会刺激到兔子发生“屏息”(停止呼吸20~30 s),使用七氟烷可以减少屏息的可能性。此外,按每2 min上升1%气体麻醉浓度的方式可以减少屏息,使麻醉更安全。丙泊酚和右美托咪定静推都可以用于宠物兔的诱导麻醉,但笔者在习惯上更偏爱右美托咪定,因为丙泊酚必须非常缓慢地推注,且容易造成呼吸抑制。右美托咪定诱导时会升高血压,造成反射性心率降低。一般而言,心率在120~160次/分钟是安全的。如果兔子的心率低于120次/分钟,应肌肉或静脉使用阿托品(0.1~0.5 mg/kg)防止心动过缓。

使用气体诱导麻醉时,有文献记载前脚的疼痛反射(用止血钳夹前脚)是最为准确判断兔子失去知觉的监护指标,此外,呼吸,心率,眼睑和角膜反射,曲腿反射,都是诱导麻醉中需要监护的指标。当兔子进入麻醉后,角膜反射、眼睑反射。心率、呼吸、血氧饱和度等指标依然可以用于麻醉监护。通常情况下,用眼睑反射来监护麻醉深度是不准确的,笔者习惯以脚趾疼痛和屈腿反射的来评估麻醉深度。耳朵的疼痛反射和下颚张力的消失是进入手术麻醉期的标志。呼吸速率,深度和呼吸模式是麻醉中需要特别注意的麻醉监护指标,因为兔子非常容易低血氧。如果呼吸次数低于每分钟4次,则要考虑是否有呼吸抑制^[4]。

文中介绍的手术在监护麻醉时存在挑战,因为国内大多数监护设备都是犬猫专用的,因此依赖仪器检测可能会得出不准确的数据。有记载常见的监护仪参数中,血氧饱和度、呼末二氧化碳、体温、心率(ECG)是较为准确的,相反,无创血压往往是不可信的。除去仪器,CRT,呼吸率,呼吸形态和深度,反射等都是重要的监护项目。兔子在麻醉中最常见出现低血氧,因此气管插管对于麻醉安全而言有重要意义。面罩麻醉可用于健康动物需要轻度麻醉或短时间麻醉的情况,若麻醉时间超过30 min,建议进行气管插管。

4.3 手术及体会

对于经验丰富的外科医生而言,雌雄宠物兔的绝育手术较为简单,绝大部分原则都与犬猫绝育手术相似。需要注意雄兔的腹股沟环终生不闭合,正常状态下阴囊也可能会回缩到腹腔内。睾丸鞘膜必须缝合,否则日后有阴囊疝的风险。雄兔阴囊皮肤跟雄猫的阴囊类似,不需要缝合也可以很快地愈合。雌兔绝育时,需要特别注意宠物兔的子宫阔韧带拥有丰富的血管丛,需要额外的结扎。肥胖的兔子悬韧带上堆积满了脂肪,在牵拉与结扎的时候不易看到血管。雌兔的卵巢通常位于腹腔深处,较难牵出体外;其外侧连接着细长、松弛且脆弱的输卵管,在牵扯时,容易被扯断,因此要特别小心。此外,雌兔的子宫颈松弛,非常容易牵出体外。这个解剖特点决定绝育手术切口起点需要定在脐孔处,以便更好地牵拉出卵巢。子宫颈的结扎部位也有相关讲究:结扎太靠近头侧,可能会引起子宫的残留;结扎太靠近阴道,有结扎到输卵管或术后漏尿的风险。笔者经验是结扎至子宫颈分叉处往尾侧0.5 cm左右的子宫颈处,暂无发现异常。

在理解宠物兔的麻醉方式和手术差异后,宠物兔的绝育手术其实难度较低,可以作为异宠医疗最先开展起来的项目。现在饲养宠物兔的人越来越多,为了减少疾病和行为异常,应大力普及宠物兔的绝育。今后,对宠物兔医疗的需求必然越来越多,对于宠物医师而言又是一个巨大的挑战和机遇。

参考文献:

- [1] HARRY S N. Greene. Uterine adenomata in the rabbit [J]. Princeton, New Jersey, 1941:73, 273 - 292.
- [2] JAMES W. Carpenter. Exotic Animal Formulary [M]. St. Louis, Missouri: ELSEVIER Inc, 2013: 657-720
- [3] O' Malley B. Clinical Anatomy and Physiology of exotic specise [M]. Philadelphia: ELSEVIER Inc, 2005:165-187
- [4] Varga M. Textbook of rabbit medicine [M]. St. Louis, Missouri: ELSEVIER Inc, 2014:182-207.

灭活因素对胚毒苗鸡新城疫(La Sota株) 半成品效价的影响

邓智昕

(肇庆大华农生物药品有限公司, 广东 肇庆 526238)

摘要:为提高鸡新城疫(La Sota株)半成品灭活后效价,在实验室条件下,对灭活因素“灭活温度”、“灭活时间”及“灭活剂浓度”进行摸索试验。试验结果表明,灭活时间对鸡新城疫半成品效价影响较大。0.18%甲醛终浓度、恒温灭活时间为20小时,常温下灭活,对鸡新城疫半成品效价有较大的提升,为改进鸡新城疫半成品生产工艺参数提供参考。

关键词:鸡新城疫; 灭活剂; 灭活时间; 灭活温度

中图分类号:S852.65 **文献标识码:**A **文章编码:**1005-8567(2020)02-0047-03

鸡新城疫病毒(New castle disease virus NDV)属于副黏病毒亚科腮腺炎病毒属的禽副黏病毒 I 型^[1], NDV 囊膜上有两种表面糖蛋白:血凝素-神经氨酸酶 HN 蛋白和融合 F 蛋白,前者参与宿主细胞的吸附,后者通过与细胞膜的融合侵入宿主细胞。F 和 HN 蛋白也是 NDV 引发免疫反应的主要保护性抗原蛋白。病毒囊膜内侧为基质 M 蛋白,能抑制宿主细胞基因的转录和翻译,破坏宿主细胞的骨架结构,参与病毒的组装和释放。通过 RNA 编辑途径翻译的两种非结构蛋白 V 和 W,前者主要抑制宿主细胞干扰素的产生,有利于病毒复制。该病毒主要危害鸡的呼吸系统、神经系统和消化系统^[2]。世界动物卫生组织(OIE)将其列为风险 2 组病原微生物,我国将其列为 I 类动物疫病^[3]。国内家禽 ND 免疫采用小天龄鸡免疫活疫苗,20 天左右鸡使用灭活疫苗免疫。本公司生产的疫苗,使用低毒力 La Sota 株进行制备,按《鸡新城疫 La Sota 株灭活疫苗制备试行规程》进行灭活疫苗的生产。实际生产中,疫苗半成品灭活后抗原效价比疫苗所用病毒液效价低 1~2log₂,为了提高免疫效果、提升疫苗的抗体水平,对半成品效价的提升变得尤为必要。根据 OIE《陆生动物诊断试验与疫苗手册》上卷,第 2.3.14 章所述“制备灭活苗时,用

甲醛(最终浓度为 1:1000)或 β-丙内酯(最终浓度为 1:4000~1:2000)灭活收获到的尿囊液,所需时间必须能保证完全灭活病毒。大多数灭活苗都不浓缩;灭活后的尿囊液通常使用矿物油或植物油乳化。具体配方一般是商业秘密^[4]。而对灭活效果的研究,多从灭活剂进行探索,就紫外线、β-丙内酯和二乙烯亚胺、盐酸聚六亚甲基胍及甲醛比较,甲醛为目前理想的灭活剂^[5]。考虑到实际生产中病毒液内含有其他杂菌,故本试验甲醛灭活剂终浓度含量范围选在大于 1.5‰,小于或等于 2.0‰。为使灭活后胚液的效价能达到较高值,本试验还从甲醛的灭活时间及灭活温度进行试验。各组试验重复 5 次,试验结果评价指标为:菌检、半成品效价、灭活效果。

1 材料与方法

1.1 主要材料

NDV La Sota 株购自中国兽医药品监察所,11 天龄生产鸡胚购自温氏禽蛋公司,SPF 鸡胚购自新兴禽蛋公司,无菌检验培养基购自北京中海生物科技有限公司。生化培养箱购自韶关市泰宏医疗器械有限公司。试验用 ND 病毒液采自肇庆大华农 GMP 车间,微生物限度小于 50*10⁴ CFU/ml。

收稿日期:2019-10-09

作者简介:邓智昕(1984-),女,广东肇庆人,本科,执业兽医师,主要从事禽生物制品研发,质量监控。E-mail:xiaosansan1@126.com

1.2 试验分组

1.2.1 灭活剂终浓度

甲醛灭活终浓度分别为1.6‰、1.8‰和2.0‰。灭活温度均为37℃、灭活时间均为24小时，共3组，每组均用活菌计数量低于 50×10^4 CFU/ml的病毒液10 L。使用10 L不锈钢桶盛装，甲醛添加量分别为16 ml、18 ml、和20 ml，置37℃温室内灭活，每2小时摇晃一次不锈钢桶，共灭活24小时。

1.2.2 灭活时间

灭活时间分别为16小时、20小时和24小时，甲醛灭活终浓度均为1.8‰，灭活温度均为37℃，共分3组，每组均用活菌计数量低于 50×10^4 CFU/ml的病毒液10 L。使用10 L不锈钢桶盛装，甲醛添加量为20 ml，置37℃温室内灭活，每2小时摇晃一次不锈钢桶，分别灭活16小时、20小时和24小时。

1.2.3 灭活温度

灭活温度分别为25.0℃、37.0℃，甲醛灭活终浓度为1.8‰，灭活时间为20小时，共分2组，每组均用活菌计数量低于 50×10^4 CFU/ml的病毒液10 L。使用10 L不锈钢桶盛装，甲醛添加量为20 ml，分置37℃温室及25℃常温灭活，每2小时摇晃一次不锈钢桶，共灭活20小时。

1.3 试验评价

分别评价各试验样品的无菌检验结果、灭活结果和半成品效价。检验方法均按照《中华人民共和国兽药典》三部附录及《鸡新城疫灭活疫苗制造及检验试行规程》进行。

1.3.1 无菌检验方法

接种TG小管、GA斜面各2支，每支接种半成品0.2 ml，1支置37℃培养，1支置25℃培养，另取0.2 ml，接种1支GP小管置25℃培养，均培养7日，应无菌生长。

1.3.2 灭活效果检验

各样本接种10日龄SPF鸡胚，每个样本接种6枚鸡胚，0.1 ml/枚，置37℃孵化，每日照胚2次，孵化120小时，随时取出死亡鸡胚并置4℃冰箱。120小时后，取出所有鸡胚置4℃冰箱过夜，逐个收获尿囊液并测定HA，HA效价为0的样本视为灭活彻底。

1.3.3 血凝效价检测

参见《中华人民共和国兽药典》“红细胞凝集试验”内述。

2 试验结果

2.1 灭活剂终浓度不同组

结果见表1所示。由甲醛灭活终浓度为1.6‰、1.8‰和2.0‰的半成品效价分别为 7.6 ± 0.55 、 7.6 ± 0.55 、 7.2 ± 0.45 可知，在菌检及灭活效果均合格的情况下，甲醛终浓度为1.6‰及1.8‰，所得半成品效价较高，但批间的差异较甲醛终浓度为2.0‰大，考虑到病毒液所含杂菌量，甲醛终浓度定为1.8‰更符合生产要求。

2.2 灭活时间不同组

结果见表2所示。由灭活时间为16小时、20小时、24小时半成品效价分别为 8.6 ± 0.42 、 $8.0 \pm 0.72 \pm 0.45$ 可知，4小时的灭活时间能引起半成品效价有0.6~0.8log₂的波动。20小时的灭活时间批间差异最少，考虑到生产实际所需灭活的病毒液量较大，故生产灭活时间参数可调整为20小时。

2.3 灭活温度不同组

结果见表3所示。由灭活温度为25℃及37℃所得半成品效价分别为 8.2 ± 0.45 、 7.7 ± 0.57 可知，常温灭活对半成品效价的提升有一定作用，常温灭活所得半成品效价较37℃灭活所得半成品效价高。

表1 甲醛灭活剂终浓度为1.6‰、1.8‰和2.0‰半成品检测参数结果

样本号	1.6‰			1.8‰			2.0‰		
	菌检	HA(log ₂)	灭效	菌检	HA(log ₂)	灭效	菌检	HA(log ₂)	灭效
1	阴性	8	灭活彻底	阴性	8	灭活彻底	阴性	8	灭活彻底
2	阴性	7	灭活彻底	阴性	7	灭活彻底	阴性	7	灭活彻底
3	阴性	8	灭活彻底	阴性	7	灭活彻底	阴性	7	灭活彻底
4	阴性	7	灭活彻底	阴性	8	灭活彻底	阴性	7	灭活彻底
5	阴性	8	灭活彻底	阴性	8	灭活彻底	阴性	7	灭活彻底

表2 灭活时间为16小时、20小时、24小时半成品检测参数结果

样本号	16小时			20小时			24小时		
	菌检	HA(log2)	灭效	菌检	HA(log2)	灭效	菌检	HA(log2)	灭效
1	阴性	9	灭活彻底	阴性	8	灭活彻底	阴性	7	灭活彻底
2	阴性	8	灭活彻底	阴性	8	灭活彻底	阴性	7	灭活彻底
3	阴性	8.5	灭活彻底	阴性	8	灭活彻底	阴性	7	灭活彻底
4	阴性	8.5	灭活彻底	阴性	8	灭活彻底	阴性	7	灭活彻底
5	阴性	9	灭活彻底	阴性	8	灭活彻底	阴性	8	灭活彻底

表3 灭活温度分别为25.0℃和37.0℃半成品检测参数结果

样本号	25℃			37℃		
	菌检	HA(log2)	灭效	菌检	HA(log2)	灭效
1	阴性	8	灭活彻底	阴性	8.5	灭活彻底
2	阴性	9	灭活彻底	阴性	8	灭活彻底
3	阴性	8	灭活彻底	阴性	7	灭活彻底
4	阴性	8	灭活彻底	阴性	7.5	灭活彻底
5	阴性	8	灭活彻底	阴性	7.5	灭活彻底

3 讨论

3.1 灭活参数实验室试验结果

从试验结果看,灭活剂终浓度、灭活时间和灭活温度三个灭活参数中,影响半成品效价较大的参数为灭活时间。在无菌检验、灭活效果均符合规定的情况下,甲醛灭活剂终浓度选取1.6‰,灭活时间选取16小时,灭活温度选取25℃,所得半成品效价为相同参数内容结果最好的。

3.2 大生产中灭活参数的选取

大生产中所需灭活的病毒液量常在50万ml~300万ml,就目前的生产控制方法,病毒液很难达到无菌状态,收获量越大,病毒液内所含杂菌数越多。故其甲醛灭活剂终浓度在1.8‰~2.0‰之间能保证杂菌失活;甲醛灭活剂效力在37℃时活力最佳,使用全自动灭活系统,温度常设置在37℃±0.2℃范围;灭活时间为最容易调整的灭活参数,由于常温条件下甲醛的灭活能力依然有效,故灭活

时间可以根据《鸡新城疫灭活疫苗制造及检验规程》中所述“37℃恒温灭活16小时”(玻璃瓶工艺),设定为16小时灭活,然后在灭活罐夹层通入冷凝水,使罐内温度在常温状态下保存4小时后,半成品再进入下步生产工序。如此,既能提高半成品效价,又能保证杂菌的失活,使菌检及灭活检验结果均符合规定要求。

参考文献:

- [1] 李景芬,刘莉.新城疫病毒F蛋白的研究进展[J].安徽农业科学.2010,38(5):2386-2388.
- [2] 丁铲.新城疫病毒核衣壳蛋白的结构和功能[J].中国预防兽医学报.2011,33(1):80-84.
- [3] 田献礼,宁红梅,银梅,等.新城疫病毒囊膜糖蛋白生物学特性的研究进展[J].中国畜牧兽医.2011,38(8):189-192.
- [4] 农业部兽医局 组译.OIE陆生动物诊断试验与疫苗手册(哺乳动物、禽类与蜜蜂)[M].中国农业出版社,2012,第7版,上卷,第2.3.14章.
- [5] 徐守振,王新,尹燕博.四种不同灭活剂对新城疫病毒的灭活效果研究[J].中国家禽,2011,33(14):15-19.

鸡白痢沙门氏菌的分离鉴定与药敏试验

刘洋, 王占新, 严专强, 覃健萍, 鲁俊鹏

(广东温氏食品集团股份有限公司, 广东 云浮 527439)

摘要:本试验从一群糊肛严重、死淘率和跛脚鸡高达2%的鸡群中, 随机挑精神状态差、瘦小、糊肛严重、跛脚的鸡若干, 采集其肝脏和关节进行沙门氏菌的分离与鉴定。成功分到10株鸡白痢沙门氏菌, 其中6株源自肝脏, 4株源自关节; 药敏试验结果表明, 10株鸡白痢沙门氏菌对头孢噻唑钠、卡那霉素、庆大霉素、硫酸新霉素、复方磺胺氯达嗪和氧氟沙星可溶性粉均表现出高度敏感, 但对阿莫西林、氨苄西林可溶性粉、盐酸林可霉素、酒石酸泰乐菌素、盐酸土霉素可溶性粉等呈多重耐药。因此, 对鸡白痢沙门氏菌的治疗应根据药敏试验结果筛选敏感药物指导临床科学合理用药。

关键词:鸡白痢沙门氏菌; 分离鉴定; 耐药性

中图分类号:S852.61 **文献标识码:**A **文章编码:**1005-8567(2020)02-0050-03

鸡白痢沙门氏菌具有宿主高度适应专一性的特点, 引起雏鸡精神萎靡、下痢甚至死亡, 发病率和死亡率都很高; 成年鸡亦可被感染, 常导致产蛋率、孵化率和出雏率下降, 是严重危害养鸡生产的重要疾病之一^[1-2]。我国自20世纪80年代便开始实行大规模鸡白痢净化方案, 但因各鸡场规模、品种、基础设施和人员素质参差不齐, 导致白痢阳性率居高不下^[3]。此外, 我国地方品种鸡和黄羽肉鸡白痢抗体水平显著高于引种鸡和培育蛋鸡品种, 由于抗体阳性率与病原阳性率并不一致, 即使种鸡场采用淘汰抗体阳性鸡的措施来防控鸡白痢, 效果也并不显著, 而药物治疗极易产生耐药性^[4-5], 因此, 鸡白痢沙门氏菌给鸡场健康养殖造成极大困扰。

本研究从一群死淘率和跛脚率均较高的竹丝鸡中分离并鉴定沙门氏菌, 通过药物敏感性试验筛选敏感药物, 为生产上查找鸡群前期死淘率和跛脚率较高的原因以及指导临床用药提供参考依据。

1 材料与方

1.1 病料来源

前期死淘率和跛脚率较高的竹丝鸡, 无菌采

集精神状态差、瘦小、糊肛严重、跛脚鸡的肝脏和关节。

1.2 培养基和试剂

亚硒酸盐胱氨酸增菌液(SC)、胰蛋白胨大豆肉汤培养基(TSB)、沙门氏菌属显色培养基、XLT4琼脂培养基、麦康凯营养琼脂、沙门氏菌的生化鉴定盒等均购自广东环凯生物科技公司; Ex Taq 酶购自宝生物工程(大连)有限公司(TaKaRa); 氨苄西林可溶性粉购自拜耳(四川)动物保健有限公司, 氟甲喹购自河北远征药业有限公司, 盐酸林可霉素、复方磺胺嘧啶混悬液和氧氟沙星可溶性粉购自江苏恒丰强生物技术有限公司, 头孢噻唑钠、阿莫西林可溶性粉等16种药物均购自广东温氏大华农生物科技有限公司。

1.3 细菌分离

无菌取竹丝鸡的肝脏和关节, 剪碎后分别接至亚硒酸盐胱氨酸增菌液(SC)37℃增菌培养24h, 取一环增菌液划线接种于沙门氏菌属显色培养基, 置于37℃培养18h, 挑取疑似沙门氏菌的单菌落分别接种于XLT4培养基、SS培养基和麦康凯琼脂培养基进行纯化培养, 观察菌落生长情况和形态。

收稿日期: 2019-11-18

作者简介: 刘洋, 女, 湖南长沙人, 硕士研究生, 主要从事禽病诊断与分子生物学研究。E-mail: oceanly2014@163.com

*通讯作者: 鲁俊鹏, 男, 博士研究生, 主要从事禽病诊断与分子生物学研究。E-mail: junpenglu@126.com

1.4 革兰氏染色

取纯化好的单菌落以适量生理盐水稀释,将菌悬液涂片固定后,滴加结晶紫初染1 min,水洗;碘液媒染1 min,水洗;酒精脱碘30 s,水洗;蕃红复染1 min,水洗;晾干,于显微镜下观察细菌的形态。

1.5 生化鉴定

取适量菌液分别接种于沙门氏菌的生化鉴定管中(三糖铁、蛋白胨水、尿素、氰化钾、赖氨酸脱羧酶、甘露醇、山梨醇、 β 半乳糖苷、卫矛醇),37℃培养24 h后观察并记录结果。

1.6 PCR鉴定

根据鸡白痢沙门氏菌特异性引物进行PCR扩增^[6],20 μ L反应体系:Ex Taq酶10 μ L,无菌水8 μ L,上下游引物各0.5 μ L,菌液1 μ L。PCR反应程序:95℃预变性5 min;94℃变性30 s,55℃退火30 s,72℃延伸30 s,30个循环;72℃后延伸10 min。PCR反应结束后将产物以3%琼脂糖凝胶进行电泳检测,扩增产物目的片段为161 bp。

1.7 药敏试验

取鉴定后的鸡白痢沙门氏菌接种于胰蛋白胨大豆肉汤中,37℃恒温振荡培养18 h后,取细菌悬液均匀涂布在TSA营养琼脂培养基上,采用牛津杯法对21种药物进行药敏试验,37℃培养16~18 h量取抑菌圈。

2 结果

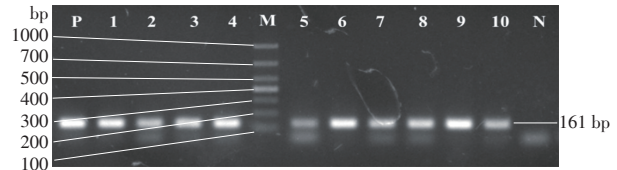
2.1 细菌分离结果

分离株在沙门氏菌显色琼脂培养基上长成圆形、光滑突起的紫红色菌落,在XLT4琼脂培养基上呈圆形、无色透明的菌落,在SS琼脂培养基上长出圆形、光滑、无色半透明的菌落,在麦康凯培养基上显现圆形、光滑、露珠状、无色透明的菌落。分离菌株经革兰氏染色后,在油镜下观察到两端钝圆的红色短小杆菌,呈革兰氏阴性(图1,图见第52页)。

2.2 鉴定结果

生化试验结果表明分离株在三糖铁琼脂(TSI)试验中均产酸、斜面变红,蛋白胨、尿素、氰化钾、山梨醇、卫矛醇和 β -半乳糖苷酶试验均为阴性,甘露醇和赖氨酸脱羧酶试验阳性,参照生化鉴定试剂盒说明书判断所有分离株均为沙门氏菌;将分离株进行鸡白痢沙门氏菌特异性PCR扩增,分离株

均能扩增到目的片段(图2);综合生化试验和PCR鉴定结果,本研究从病鸡肝脏和关节样品中共分离鉴定10株鸡白痢沙门氏菌,其中6株分离自肝脏、4株分离自关节。



注:M: DNAMarker DL2000;P: 阳性对照;N: 阴性对照;1-4:4个关节分离株;5-10: 6个肝脏分离株

图2 分离株扩增目的片段

2.3 药敏试验结果

10株鸡白痢沙门氏菌对21种药物的敏感性判定参照美国临床实验室标准化委员会(NCCLS, 2009)公布的标准。结果表明:10株鸡白痢沙门氏菌对头孢噻唑钠、卡那霉素、庆大霉素、硫酸新霉素、复方磺胺氯达嗪和氧氟沙星可溶性粉均表现出高度敏感,对阿莫西林、氨苄西林可溶性粉、盐酸林可霉素、酒石酸泰乐菌素、盐酸土霉素可溶性粉等均耐药,对其余10种药物的敏感性具有差异(表1)。

3 讨论

鸡白痢是由鸡白痢沙门氏菌引起的一种急性系统性疾病,传染速度较快、发病率高,可引起种蛋受精率、孵化率和健苗率降低,死胚率、弱胚率和弱雏率升高,还可导致继发感染或混合感染^[7],严重制约养鸡业的健康发展。目前国内鸡白痢沙门氏菌并无有效的商品化疫苗,国内种鸡场主要采用抗菌药物结合定期检疫淘汰阳性鸡的方法进行鸡白痢的防控^[8],但不同场的防控效果具有较大差异,且长时间使用抗生素药物容易导致耐药性和药物残留等问题。

本研究通过细菌分离纯化、染色镜检、生化试验和特异性PCR鉴定,成功从糊肛、跛脚、精神状态差的竹丝鸡中分离出10株鸡白痢沙门氏菌,其中6株分离自肝脏,4株分离自肿胀的关节。药敏试验结果表明,所有分离株对头孢噻唑钠、卡那霉素、庆大霉

表1 10株鸡白痢沙门氏菌药物敏感性试验结果

药物名称	S菌株数	I菌株数	R菌株数
头孢噻呋钠	10	0	0
阿莫西林可溶性粉	0	0	10
氨苄西林可溶性粉	0	0	10
硫酸链霉素	6	4	0
卡那霉素	10	0	0
庆大霉素	10	0	0
硫酸新霉素	10	0	0
注射用青霉素钠	0	10	0
替米考星可溶性粉	3	7	0
盐酸林可霉素	0	0	10
酒石酸泰乐菌素	0	0	10
硫氰酸红霉素	5	5	0
复方磺胺氯达嗪	10	0	0
复方磺胺嘧啶混悬液	7	2	1
氟甲唑	0	4	6
氧氟沙星可溶性粉	10	0	0
氟苯尼考粉	3	5	2
盐酸多西环素	2	6	2
盐酸土霉素可溶性粉	0	0	10
盐酸大观-林可霉素	8	2	0
硫酸黏菌素	5	3	2

注:S表示敏感,I表示中介,R表示耐药

素、硫酸新霉素、复方磺胺氯达嗪和氧氟沙星可溶性粉6种药物均高度敏感,在临床用药时可作为首选,而对阿莫西林、氨苄西林可溶性粉、盐酸林可霉素、酒石酸泰乐菌素、盐酸土霉素可溶性粉具有多重耐药性,对其他10种药物的敏感性各菌株具有一定差异。由于各鸡场和各地区用药习惯和用药频率不同,导致药敏试验结果存在一定的差异^[9-10]。因此,根据药敏试验结果选择敏感药物,通过交替和轮换使用抗菌药物,再配合科学的饲养管理,对临床科学合理用药具有重要的指导意义。

Guo等(2019)报道从跛脚、患有细菌性关节炎的商品鸡中分离鉴定鸡白痢沙门氏菌,并成功复制关节炎病例,说明病原的多样化程度越来越高,一些新型沙门氏菌能够诱发鸡关节炎^[11]。本研究中鸡群早期跛脚率高、死淘严重是否由于感染关节型还是肝脏型鸡白痢沙门氏菌引起,还需要后期通过动物试验进行验证。

参考文献:

[1] 李玉娟. 包头地区鸡白痢沙门氏菌的分离鉴定与药敏试验[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2016(14):142-143.

[2] 廖洁丹, 刘敏芳, 谭华龙, 等. 竹丝鸡鸡白痢沙门氏菌的分离鉴定与药敏试验[J]. 中国家禽, 2017(16):57-60.

[3] 王真, 成杰, 沈思, 等. 禽沙门氏菌病防控策略及其疫苗研究概述[J]. 北京农学院学报, 2015(02):133-136.

[4] 刘洋, 王传彬, 霍斯琪, 等. 种鸡场沙门血清学与病原学监测结果比较与分析[J]. 中国兽医杂志, 2018(02):3-6.

[5] 刘洋, 顾小雪, 杨卫铮, 等. 种鸡场鸡白痢净化效果及可行性分析[J]. 中国家禽, 2017(11):71-73.

[6] 徐桂云. CN104846066A-鸡白痢沙门氏菌的PCR检测引物及检测方法[P]. 2014.

[7] 秦卫红, 徐君. 鸡大肠杆菌与鸡白痢沙门氏菌混合感染的诊治[J]. 中国禽业导刊, 2010(06):48.

[8] KEBEDE A, KEMAL J, ALEMAYEHU H, et al. Isolation, Identification, and Antibiotic Susceptibility Testing of Salmonella from Slaughtered Bovines and Ovines in Addis Ababa Abattoir Enterprise, Ethiopia: A Cross-Sectional Study [J]. International Journal of systematic Bacteriology, 2016, 2016:1-8.

[9] 谢静, 周雯, 李芙蓉, 等. 鸡源沙门菌的分离鉴定与耐药性分析[J]. 中国家禽, 2016, 38(05):60-63.

[10] 郭伟娜, 路振香, 刘利晓, 等. 滁州活禽市场鸡源沙门菌的分离鉴定与药敏试验[J]. 动物医学进展, 2017, 38(06):107-111.

[11] GUO R, LI Z, ZHOU X, et al. Induction of arthritis in chickens by infection with novel virulent Salmonella Pullorum strains [J]. Veterinary Microbiology, 2019, 228:165-172.

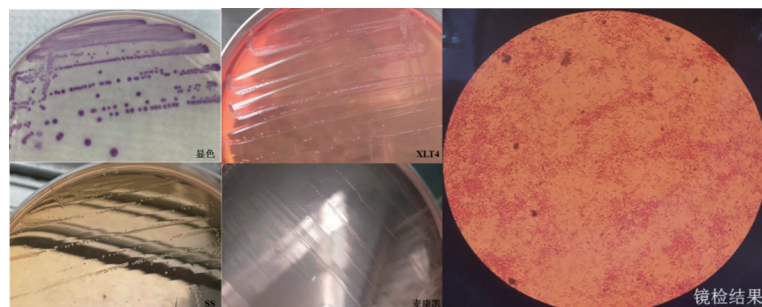


图1 分离株在不同培养基上的形态和染色镜检结果