

肉雞腸道健康模型的建立及在試驗研究中的應用

諾偉司國際有限公司 孫得發 博士

引言

動物腸道健康是目前動物營養研究的一個熱點，特別在全球抗生素在飼料中使用限制的大背景下。抗生素在家禽中的限制使用給實際生產帶來了諸多挑戰，在家禽中比較突出的問題是腸道健康導致的死亡率升高和飼料轉化率下降，這給家禽養殖帶來了很大的經濟損失。這在肉雞一條龍企業顯得尤為突出，因為這些企業在抗生素應用方面更為謹慎。基於以上現狀，抗生素替代研究成為當前家禽行業研究熱點之一。在很多企業的試驗研究中發現，抗生素替代研究很難去評估，因為試驗場的養殖環境往往很乾淨，動物的生長狀況很好，實驗人員也很負責，而實際生產中情況往往不是這樣。這影響到企業對抗生素替代方案的篩選。鑒於以上的原因，本文結合諾偉司在家禽腸道健康方面研究的實踐經驗，探討不同研究目的和條件下，不同肉雞腸道健康模型的正確應用，為飼料也養殖企業肉雞腸道研究提供參考。

1 肉雞腸道健康問題的類型分析

肉雞腸道健康問題的種類很多，不同企業可能面臨的挑戰不同，因此在研究肉雞腸道健康問題的方向也應該有區別，目前在肉雞腸道健康方面主要的問題有以下幾種。

1.1 梭菌型壞死性腸炎

亞臨床壞死性腸炎是由梭菌引起的(Dahiya,等 2006；Olkowskia 等，2008)，C 型產氣莢膜梭菌在腸道內屬於常見細菌，當梭菌的數量增加時，腸道菌群失衡。不同梭菌導致的腸炎問題表現有差異，表現為發病時間的差異以及死亡率時間的差異。因此在分析梭菌型腸炎時，需要根據發病的規律來判斷。梭菌導致的慢性臨床型腸炎很多時候是因為日糧因素導致的，如日糧中 NSP 含量高，特別是水溶性 NSP 導致的高粘性日糧更容易使腸道梭菌的滋生。高蛋白日糧，特別是不易消化的蛋白原料，如羽毛粉、肉骨粉也是導致梭菌型腸炎的主要因素之一。而急性致病性腸炎，則主要是高致病性梭菌感染導致的。壞死性腸炎的糞便為紅褐色或者黑焦油色，因為產生出血的位置在小腸中後段，血液已經被一定程度的氧化。這個需要和盲腸球蟲分開，盲腸型球蟲產生血便。也有報導發現一些案例中壞死性腸炎是由 A 型產氣莢膜梭菌導致的（Kerry，2009）。但是在實際生產中這種由 A 型產氣莢膜梭菌導致的壞死性腸炎不多見。

1.2 球蟲型腸炎

球蟲是導致腸炎的重要誘因之一，球蟲破解了腸粘膜表面，使得梭菌等有害菌通過破損的表面進入腸道，從而加速了炎症反應的產生。球蟲導致的腸炎往往有出血性壞死灶。解剖可以看到盲腸充血腫大。

1.3 大腸桿菌型腸炎

致病性大腸桿菌型腸炎主要是因為埃希大腸桿菌導致的疾病，致病性大腸桿菌導致的腸炎往往是急性的，致病力很強，而且導致多器官的感染，典型的心包炎症狀。非致病性大腸桿菌型腸炎是典型的條件性腸炎，如果飲水，飼料和墊料等大腸桿菌大量繁殖時，

就可能導致腸炎的產生。大腸桿菌導致的腸炎糞便多為綠色或者墨綠色，伴有尿酸鹽沉積等問題。

1.4 水樣便

肉雞水樣便是常見的腸道健康問題，水樣便的產生和梭菌的增殖有很大的關係。水樣便和日糧中非澱粉多糖的含量也有關。飼料鹽分過高、食糜蠕動速度過快都會導致水樣便的產生。水樣便只是一個表觀現象。給肉雞養殖帶來的問題是墊料過於潮濕，加快了墊料細菌的增生。同時雞舍的氨氣濃度會增加，肉雞腳墊的損傷也增加。

1.5 過料便

每年的冬春交替和秋冬交替季節，在我國主要的肉雞養殖區域都會發生過料便的問題。發生過料便的肉雞生長速度受到嚴重影響，料比也高。導致過料便的因素很多，其中梭菌型腸炎也會導致過料便。在南美洲肉雞養殖業也常常發生飼料便現象(圖 1)。



圖 1 典型的肉雞飼料便

有人認為，過料便和豆粕中胰蛋白酶抑制因數有關，Ruiz (2012)發現，當豆粕中脲酶活性高於 0.08，胰蛋白酶抑制因數高於 4.0 mg/g，容易發生飼料便的風險(表 1)。這可能是因為胰蛋白酶抑制因數直接影響到飼料蛋白質的消化。

表 1 豆粕脲酶活性和胰蛋白酶抑制因數和過料便的關係 (Ruiz, 2012)

國家	脲酶活性 (pH 單位)	胰蛋白酶抑制因數 mg/g	是否有過料便
厄瓜多爾	0.1	1.90	否
哥倫比亞	0.2	2.20	否
厄瓜多爾	0.3	2.40	否
哥倫比亞	0.3	2.40	否
哥倫比亞	0.5	2.60	否
委內瑞拉	0.6	2.80	否
秘魯	0.8	4.00	是

哥倫比亞	0.8	4.04	是
秘魯	0.9	4.20	是
哥倫比亞	0.14	4.82	是
厄瓜多爾	0.17	5.50	是
委內瑞拉	0.19	5.60	是
哥倫比亞	0.25	6.00	是
哥倫比亞	0.28	6.80	是
哥倫比亞	0.29	5.90	是
哥倫比亞	0.33	7.29	是

2. 選擇正確的腸道健康模型

鑒於以上常見的肉雞腸道健康問題，企業需要根據不同的狀況和養殖條件，選擇和應用不同的腸道健康模型，用於研究營養和添加劑對肉雞腸道健康的影響。目前常見的腸道健康模型有以下四種類型，一一進行詳述。

2.1 高黏度日糧模型

以小麥、黑麥為主要能量來源的黏性日糧是研究肉雞腸道健康的常見模型（McDevit, 等 2006；Kaldhusdal 等，1992）。高黏度日糧模型使用梭菌攻毒肉雞死亡率往往高於玉米豆粕梭菌攻毒後的死亡率，玉米豆粕型日糧的死亡率在 0-12%，而小麥黑麥日糧日糧使用梭菌攻毒的死亡率高到 26-35%（Riddell, 等 1992）。使用球蟲攻毒模型中，玉米豆粕日糧的死亡率也要低於小麥豆粕型日糧（Branton, 1987）。Craven（2000）研究發現，使用玉米豆粕型日糧小腸中梭菌的數量為 1.2-1.5 log₁₀ 菌落單位，比黑麥型日糧低 50%。但是不同的地區使用日糧模型有所不同，比如在中國黑麥就不應該作為這種腸道健康模型的日糧，因為黑麥在中國不常見。同時也要注意小麥的類型，如硬質小麥和軟質小麥產生的黏度不一樣，硬質小麥的黏度要高於軟質小麥，如果使用硬質小麥作為日糧模型，不能全部使用小麥，通常在肉雞的前期使用 30-40%，而中後期用到 50-60%。如果使用軟質小麥，可以全部用小麥替代玉米（Banfield, 1999）。該方法的缺點是，如果做顆粒飼料，顆粒料的硬度太大，影響肉雞的採食量，小麥粉碎的細微性也會直接影響到腸道的黏度，因此要做到小麥粉碎細微性的標準化，建議的粉碎細微性應該在 300 微米以下。也有人用瓜爾豆膠作為黏性日糧的模型（Adam 和 Assoc, 2012），瓜爾豆膠不僅導致黏性問題，而且也導致葡萄糖吸收的障礙。

2.2 口服梭菌攻毒

口服梭菌攻毒是在做標準化腸道健康模型常用的一種實驗方法，這種方法需要實驗室有成熟的梭菌培養體系，計數方法和飼喂方法。口服梭菌能夠量化肉雞食入梭菌的數量，是較為標準化的腸道健康模型。該方法的缺點是工作量大，實驗研究的處理不能多。Olkowska 等（2006）在壞死性腸炎的試驗研究中設計了兩種模型，一種是長期攻毒模型，試驗雞隻每天口服 1 ml (1.0 或 2×10^8 CFU/ml) C 型產氣莢膜梭菌，連續攻毒 7 天；而一次性攻毒是一次口服 1 ml (3×10^{10} CFU/ml) C 型產氣莢膜梭菌。試驗發現這兩種模型對肉雞壞死性腸炎的臨床沒有表現出差異。由於涉及到梭菌的培養等生物安全環節，該模型不適合飼料企業和養殖企業使用。

2.3 口服球蟲疫苗

弱毒性球蟲疫苗攻毒也是研究肉雞壞死性腸炎常用的攻毒模型，艾美爾球蟲容易誘導產生壞死性腸炎（William 等，2005）。球蟲破壞小腸粘膜組織上皮，致使組織蛋白外漏，這為產氣莢膜梭菌提供了豐富的營養物質，使得 C 型產氣莢膜梭菌快速繁殖並產生毒素（Van Immerseel，2008）。由此，研究者常用艾美爾球蟲屬的球蟲卵和 C 型產氣莢膜梭菌一起攻毒來產生壞死性腸炎模型。為了獲得較好的壞死性腸炎模型，先用球蟲攻毒破壞腸粘膜上皮，然後再用梭菌攻毒（Dahiya 等，2006）。球蟲疫苗攻毒的時間非常重要，球蟲攻毒的時間要早於梭菌攻毒，先讓球蟲攻毒破壞腸粘膜，然後讓梭菌侵入造成腸炎。如果球蟲攻毒時間很短，腸道還沒有破損，就用梭菌攻毒，效果往往不好，用梭菌攻毒看不到顯著的腸道病變（Timbermont 等，2009）。

球蟲攻毒的用量也非常重要，Baba 等（1997）用 $2 \times 10^4 E$ Necatrix 球蟲成功誘導出 NE。如果使用球蟲弱毒疫苗，10 倍的疫苗推薦劑量也可以產生 NE，低於這個劑量可能無效（Gholami 和 ehkordi 等，2007；Timbermont 等，2009）。在諾偉司的腸道健康研究中，大多在小麥-黑麥型日糧中用 3 倍的弱毒球蟲疫苗攻毒。

2.4 高蛋白日糧（動物源性原料）

在諾偉司的腸道模型研究中，常常會用到高蛋白日糧作為誘導 NE 的模型（Kaldhusdal 等 1996；Kaldhusdal，2000），特別是在日糧中添加肉雞難以消化的動物源性飼料，如高劑量的羽毛粉和肉骨粉，這些沒有被肉雞消化的動物蛋白到後腸段成為梭菌的食物，從而刺激了梭菌的大量增殖。這種模型日糧往往和小麥-黑麥日糧聯合使用，甚至可以把肉雞前期日糧的粗蛋白做到 30%。如在一個研究蛋白酶對腸道健康影響的模型中，對照組日糧用了高蛋白同時添加量全禽粉（見表 2，Julie，2010），這個模型可以正確的評估蛋白酶對於腸道健康的影響。

表 2 肉雞高粘度日糧試驗配方

日糧組分	正常蛋白水準%	高蛋白水準%
豆粕 (48%)	32.36	31.87
小麥	25.00	25.00
黑麥	20.00	20.00
雞肉粉	0.00	14.36
玉米	13.32	4.57
豆油	4.32	3.29
氫鈣	1.89	0.00
石粉	1.33	0.00
其它	1.78	0.91
總計	100.00	100.00
營養值（計算值）		
代謝能 (kcal/kg)	3000	3000
粗蛋白(%)	22.12	30

可消化 Lys,%	1.21	1.39
可消化 TSAA,%	0.89	0.89
可消化 Thr, %	0.79	0.86
鈣,%	1.05	1.05
非植酸磷,%	0.47	0.47
鈉, %	0.22	0.22

3 正確選擇腸道健康模型

在企業實踐的試驗研究中，需要選擇正確的腸道健康模型，這對於反映添加劑以及日糧在實際生產中的效果極為重要。因為研發農場的生產管理條件和實際商業化飼養差異較大。企業應該根據不同的產品和日糧選擇不同的健康模型。以下是諾偉司結合不同的評估目的建立的腸道健康模型。

3.1 蛋白酶的評估模型：

從理論上講，蛋白酶對肉雞的腸道健康有一定的幫助，因為蛋白酶降低了蛋白質到達肉雞後腸段的幾率，從而降低了腸道後段梭菌的繁殖。該研究需要通過腸道健康模型來證明，因為在正常的日糧中不會正好是在本次開展的試驗中看到肉雞出現腸道健康問題，而正好蛋白酶發揮了作用。諾偉司研發中心通過設計具有挑戰的日糧（Challenged diets），通過在日糧中添加蛋白酶判斷該蛋白酶對肉雞腸道健康的影響。如在研究蛋白酶和複合酶互作對腸道梭菌數量影響的研究中，試驗使用小麥（25%）黑麥型（38.4%）日糧，同時添加 7%的羽毛粉，在這種日糧條件下可以更清楚的看到蛋白酶和非澱粉多糖酶的作用條件和合作關係（Julia, 2010, Novus 未發表資料）。

通過以上的挑戰性的日糧設計，可以判斷蛋白酶和非澱粉多糖酶的功效，從圖 2 可以看出，在黏性日糧下，蛋白酶可以提高肉雞的增重，但是和非澱粉多糖酶相比，在黏性日糧條件下，非澱粉多糖酶對肉雞的生產性能改善更為明顯，這說明在黏性日糧條件，改善腸道食糜的粘度更為重要。當蛋白酶和非澱粉多糖酶互作時，生產性能最佳。通過腸道食糜梭菌數量也可以看出（圖 3），在高黏性日糧中單獨使用蛋白酶反而增加了梭菌的數量，而非澱粉多糖酶 CSM 互作極顯著地降低了腸道食糜梭菌的數量。該試驗表明，研究蛋白酶對肉雞腸道健康的影響使用黏性日糧模型是不太適宜的。

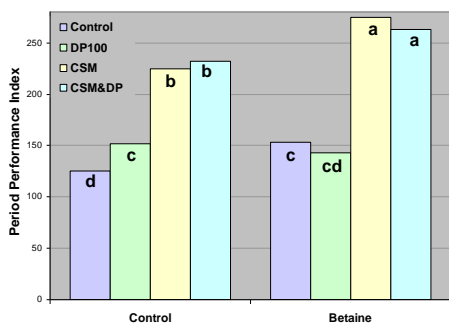


圖 2 複合酶和蛋白酶互作對肉雞生產指數的影響

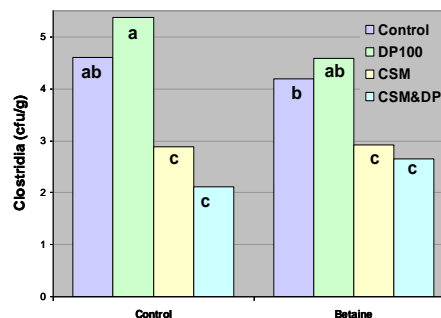


圖 3 複合酶和蛋白酶互作對肉雞腸道梭菌的影響

3.2 非澱粉多糖酶 (CSM) 的評估模型

非澱粉多糖的評估可以採用高黏性日糧，這種模型在諾偉司研發研究中常常採用，但是在試驗條件下，並非高黏性日糧就會產生腸道病變。在高黏性日糧條件下梭菌攻毒，更為有效的產生腸道健康問題模型。諾偉司和中國農業大學對非澱粉多糖酶進行了研究。採用小麥-豆粕型日糧，同時在仔雞第 14 至 20 日齡時，試驗組肉雞均採用嗉囊每日強飼 A 型產氣莢膜梭菌 (2.0×10^8 菌/ml, 1.0 ml/只；實測值 1.6×10^8 菌/ml)，對照組則每日強飼無菌培養基 (1.0 ml/只)。通過肉雞的生產性能可以看出，在梭菌強飼攻毒組，黏性日糧反而增加了肉雞 0-28 天和 0-35 天的採食量，但料肉比顯著地高於不攻毒組。而添加非澱粉多糖酶 CSM (諾偉司產品) 後，梭菌攻毒組和不攻毒組無顯著差異，和不添加複合酶的組相比，CSM 添加組顯著降低了肉雞 28 和 35 天的料肉比(見表 3)。

表 3 CSM 在梭菌攻毒和不攻毒條件下對生產性能的影響 (孫秋娟和高于明, 2012)

CSM 組	攻毒	0-28 日齡		0-35 日齡	
		採食量	料肉比	採食量	料肉比
0	+	1.613 ^a	1.613 ^a	2.985 ^a	1.790 ^a
	-	1.565 ^b	1.565 ^b	2.930 ^{ab}	1.741 ^{ab}
500	+	1.532 ^b	1.532 ^b	2.836 ^b	1.669 ^b
	-	1.549 ^b	1.549 ^b	2.917 ^{ab}	1.707 ^{ab}

通過本攻毒試驗可以看出，在做非澱粉多糖酶腸道健康研究的試驗設計時，需要考慮使用黏性日糧和梭菌攻毒互作，才可以正確的看出是否非澱粉多糖酶對肉雞的腸道健康有幫助。

3.3 有機酸的評估模型

有機酸在肉雞飼料中的應用往往存在爭議，因為在企業的試驗場中評估有機酸的效果總是不穩定。但是在一些肉雞一條龍企業的大規模試驗結果看，有機酸能夠提高肉雞的腸道健康。為什麼會有這樣的差異，主要是因為肉雞的養殖環境的差異。在實際生產中我們都知道，一個新的養殖場即使不用有機酸，生產性能同樣很好，但是對於老的養殖場，養殖場存在的微生物比較複雜，與新養殖場環境完全不同，因此有機酸的效能就會表現出來。在企業的試驗場如何評判有機酸的效果？諾偉司在巴西的一個試驗研究是很好的案例。試驗採用沙門氏菌攻毒，試驗分組如下：

處理組	處理組的描述
T1 Control 對照	No challenge 不攻毒
T2 Control 對照	No challenge 不攻毒+ ACTIVATE DA (4 kg/ton)
T3 攻毒處理 1	<i>Salmonella typhimurium</i> (1 st day) (5.0×10^2 CFU)
T4 攻毒處理 2	T3 + ACTIVATE DA (4 kg/ton)

該研究的攻毒方法是比較極端的，但是可以通過這個試驗驗證有機酸是否能夠在嗉囊和胃內殺菌。在沒有攻毒時，有機酸增加了肉雞的採食量和體增重，但是並沒有顯著降低

肉雞的料肉比（圖 4），但是在攻毒情況下，有機酸組顯著降低了 0-14 日齡的料肉比（圖 5），同時提高了肉雞全期的體增重。

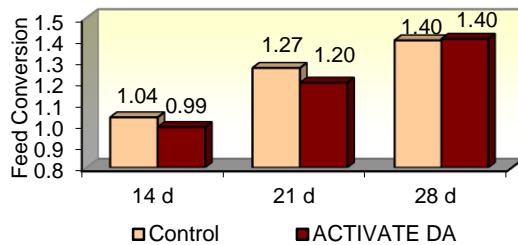


圖 4 不攻毒有機酸對肉雞料肉比的影響

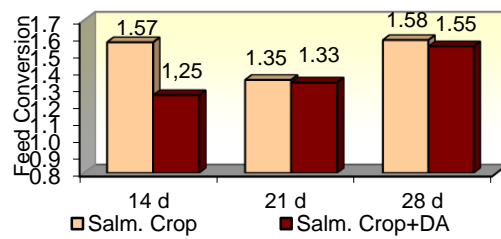


圖 5 沙門氏菌攻毒條件下有機酸對肉雞料肉比的影響

4 總結

肉雞腸道健康的試驗研究需要一定的挑戰模型，這有助於企業正確的評估腸道健康類產品，飼料企業和養殖企業不能簡單的認為自己在試驗場做出來的結果就代表你的商業養殖場的結果。在商業養殖場肉雞面臨的腸道健康問題要比試驗場多的多。因此，在企業研發農場做肉雞腸道健康試驗時，需要從日糧的結構、微生物的數量等方面做一些改變，這樣才能夠較為正確的評估動物腸道類產品，而不同腸道健康產品的評估方法也應該有所差異。只有這樣做，才能為企業肉雞無抗飼養提供研發依據。

參考文獻 (略)