



不同枯草芽孢杆菌制剂对产气荚膜梭菌的抑制作用

阳艳林, 肖建根

(建明工业(珠海)有限公司技术部, 广东珠海 519040)

摘要: 克洛生®中所富含的PB6活性菌株是一种从健康鸡肠道中分离出来的枯草芽孢杆菌, 它通过分泌多种细菌素来抑制产气荚膜梭菌的生长, 其抑菌能力与市面上常见的其它6种枯草芽孢杆菌微生态制剂及恩拉霉素相比, 存在着明显的差异, 即克洛生对产气荚膜梭菌抑菌圈的直径均显著大于其它微生态制剂及恩拉霉素。

关键词: 克洛生; 微生态制剂; 恩拉霉素; 产气荚膜梭菌; 抑菌圈

中图分类号: Q938.1 **文献标识码:** B

产气荚膜梭菌(*Clostridium Perfringens*)又称魏氏梭菌, 是一种常见的革兰氏阳性厌氧菌, 可形成孢子, 在土壤、灰尘、粪便、饲料和垫料中广泛存在。在正常情况下, 产气荚膜梭菌不致病, 但在卫生条件差、饲养管理不良、饲料突然改变、搭配不当、粗纤维不足等不利条件下, 畜禽肠道内环境正常菌群失衡, 从而很容易引起产气荚膜梭菌的大量繁殖, 产生毒素进而导致坏死性肠炎的发生。依据产气荚膜梭菌所产生的毒素类型的不同, 可将该菌分为A、B、C、D和E 5型。通常为A或C型产气荚膜梭菌, 可引起鸡、猪的坏死性肠炎。本文就市场上常见的几种枯草芽孢杆菌微生态制剂对产气荚膜梭菌的抑制效果进行研究, 为临床应用提供一些理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 枯草芽孢杆菌

克洛生 SP11 是枯草芽孢杆菌 PB6 活性菌株的微生态制剂, 由建明工业(珠海)有限公司提供, 其孢子含量为 2×10^{11} cfu/kg。A、B、C、D、E、F 枯草芽孢杆菌单一或复方的微生态制剂, 由建明工业(珠海)有限公司从市场上收集并提供。A 产品为枯草芽孢复方微生态制剂, 但孢子总数不详; B、C、D、E、F 产品的孢子总数或活菌总数分别为 2×10^{10} cfu/g、 2×10^8 cfu/g、 1.5×10^9 cfu/g、 5×10^{10} cfu/g 和 1.0×10^9 cfu/g。

1.1.2 指示菌

产气荚膜梭菌 CVCC A、C 型, 购买于中国兽医药品监察所。

1.1.3 培养基

胰蛋白胨大豆培养基(TSA), 多价蛋白胨-酵母膏培养基(PY), 水解酪蛋白(Mueller-Hinton)培养基, 均购置于广东环凯微生物科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 枯草芽孢杆菌处理液的制备

取 5 g 的益生菌,加入 45 mL 生理盐水中,涡旋混匀后取出 1 mL 加入 100 mL 高压灭菌的 TSB (胰蛋白胨大豆)液体培养基中,在 37℃ 下 200 rpm 振荡培养过夜。培养液经 5 000 rpm 离心 5 min, 上清液用 0.22 μm 的无菌过滤器过滤, 所得滤液放入冰箱内,保存待用。

1.2.2 产气荚膜梭菌悬液的准备

从产气荚膜梭菌 CVCC A、C 型的斜面培养基上取单菌落至 5 mL 多价蛋白胨-酵母膏液体培养基中,在 37℃ 下厌氧培养 12 h 后,用生理盐水稀释到 0.5 个麦氏比浊浓度(约为 10⁶cfu/mL),待用。

1.2.3 牛津杯法

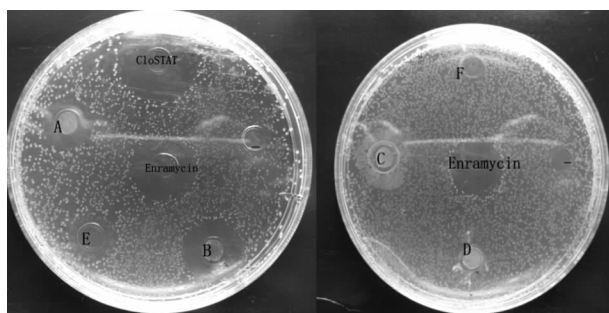
取 100 μL 稀释好的产气荚膜梭菌培养液,放入水解酪蛋白琼脂平板培养基上,然后用棉签将菌液涂匀,自然干燥 10 min。用镊子将无菌的牛津杯轻轻的平置于涂有指示菌的培养基上,轻轻一按,固定在培养基上,使不倒地为宜。然后分别取益生菌的处理液 100 μL,小心加入牛津杯中,避免处理液溢出牛津杯外。置于 37℃ 厌氧培养箱内,培养过夜。每个平板均设有 1 个为阴性对照 (100 μL 生理盐水),1 个为阳性对照(100 μL 20 mg/kg 恩拉霉素)。每个样品做 3 个重复,测定各抑菌圈直径,取平均值。

2 结果与分析

如实验结果图 1 所示,克洛生® SP11 对产气荚膜梭菌的抑菌圈要明显大于微生态制剂 A、B、E 和阳性抗生素。微生态制剂 C、D、F 对产气荚膜梭菌无明显的抑菌作用,与阴性对照结果相似。微生态制剂 C 的抑菌圈内还长有益生菌,这可能与其处理液中还含有未孢子化的芽孢,使得其孢子在检测菌的平板上活化后生长,影响了抑菌圈结果的判断。

表 1 表明,克洛生 SP11 对产气荚膜梭菌各型均有明显的抑制效果,且抑菌圈直径均大于其它的同类产品和阳性对照组,与恩拉霉素组相比,存在着显著差异;根据药物敏感实验的判断标准,说明克洛生 SP11 对产气荚膜具有非常明显的抑制作用;克洛生 SP11 对产气荚膜梭菌的不同血清型,抑制效果也存

在着差异,其中对 CVCC A 型的抑菌效果要明显优于 CVCC C 型。产品 A、B、E 对产气荚膜梭菌 CVCC A 型、C 型均有效,但抑菌直径均小于克洛生 SP11;产品 C、D、F 对所有供试的产气荚膜梭菌均未见抑制作用。



其中“-”为 negative control 组

图 1 PB6 等益生菌抑菌产气荚膜梭菌的结果

表 1 7 种微生态制剂对产气荚膜梭菌的抑菌圈直径 mm

	克洛生®	A	B	C	D	E	F	Enramycin
CVCC A	22	16	16	0	0	12	0	18
CVCC C	16	15	0	0	0	11	0	14

3 结论

克洛生® 的主要成分是建明工业从健康鸡的肠道中分离出来的具有专利的枯草芽孢杆菌 PB6 活性菌株。实验证明,其对产气荚膜梭菌的抑制作用要明显优越于其它商品化的枯草芽孢杆菌产品,与恩拉霉素相比有明显差异。因此,PB6 活性菌株的出现为解决梭菌引起的坏死肠炎提供了另一种绿色、环保、高效的选择。▲

参考文献(略),欢迎垂询 yanlin.yang@kemin.com

本文由建明工业(珠海)有限公司推荐。欲获取原文及参考文献请与建明工业或本编辑部联系。

Email: jiangen.xiao@kemin.com

