



# 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,它能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  $2 \times 10^{11}$ 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  $2 \times 10^{10}$ cfu/g、 $2 \times 10^8$ cfu/g、 $1.5 \times 10^9$ cfu/g、 $5 \times 10^{10}$ cfu/g 和  $1.0 \times 10^9$ 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10<sup>6</sup>cfu/mL),待用。

### 1.2.3 牛津杯法

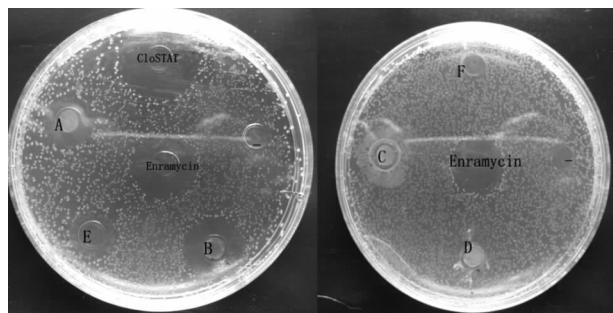
取100 μL稀释好的产气荚膜梭菌培养液,放入水解酪蛋白琼脂平板培养基上,然后用棉签将菌液涂匀,自然干燥10 min。用镊子将无菌的牛津杯轻轻的平置于涂有指示菌的培养基上,轻轻一按,固定在培养基上,使不倒地为宜。然后分别取益生菌的处理液100 μL,小心加入牛津杯中,避免处理液溢出牛津杯外。置于37℃厌氧培养箱内,培养过夜。每个平板均设有1个为阴性对照(100 μL生理盐水),1个为阳性对照(100 μL 20 mg/kg恩拉霉素)。每个样品做3个重复,测定各抑菌圈直径,取平均值。

## 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





**编者按：**质量是铸就品牌的基石。华都峪口禽业作为中国蛋种鸡领域中的领袖企业，长期致力于解决“产不出”、“卖不出”两大难题，凭借自身长期积累的蛋鸡及种鸡饲养管理经验，在推出健康养殖理念的同时，不断创新，其具有自主知识产权的4A级雏鸡质量生产体系为推动我国蛋鸡行业健康持续发展做出了突出贡献，视为行业典范。我们推出的峪口禽业“4A级雏鸡质量管理”技术顾问专栏，邀请来自峪口禽业的专家们与您一起分享其4A级雏鸡质量管理精髓。

## 鸡群产蛋后期管理关键点

秦永翠

(北京市华都峪口禽业有限责任公司,北京 101206)

一般鸡群产蛋率下降到85%以下时，就转入了产蛋后期。此阶段，鸡群的生理特点会发生很大变化，根据鸡只生理变化情况，做好产蛋后期的鸡群饲养管理，需要做好以下几方面：

### 1 合理控制产蛋后期饲料中的营养成分

#### 1.1 适时降低能量与蛋白质水平

鸡群的骨骼、肌肉在产蛋后期停止发育，细胞分裂速度大幅下降，用于合成体组织的营养需求减少，因此在营养供给上应相应地减少蛋氨酸、磷等营养素的添加量。同时，随着鸡只产蛋性能的逐渐下降，产蛋的营养物质会被转化成脂肪，导致其脂肪沉积能力大大增强，使得鸡只过肥，易患肝破裂、脂肪肝等疾病，又会加速鸡只产蛋能力的降低，最终形成恶性循环。因此，要及时、适当地将饲料的能量和蛋白水平降低，保证产蛋后期饲料营养的合理供给。

#### 1.2 及时补钙

经过产蛋高峰期，鸡只对钙的消耗很大，且对钙的吸收利用能力降低，因此要将日粮中钙的水平提

高，保证鸡只有充足的钙摄入。另外，饲料中的粗纤维含量也可适当提高一些。为了防止产蛋率下降过快，高峰期料和产蛋后期料的转换要有7~10 d的过渡期。光照时间逐渐增加到每天16 h，或者增加夜间光照，但全天光照一定不可超过17 h。

#### 1.3 正确补充维生素

笼养鸡到产蛋后期会出现很多裸毛鸡，这除了笼具磨擦的原因外，还可能与饲料中维生素B<sub>12</sub>和硫不足有关。鸡体裸区增多后，散热量大大增加，在寒冷季节会导致鸡只采食量大大增加，造成饲料无意义的消耗；裸区增多还能引起鸡只互啄，增加后期的死淘率。通过给鸡只正确、合理的补充硫、维生素B<sub>12</sub>等，可以降低裸毛对鸡产生的不利影响，同时减少饲料的浪费。

### 2 严抓产蛋后期的饲养管理

#### 2.1 稳定鸡舍饲养人员

提高饲养员对鸡群后期管理的重视程度，每天对鸡群指标进行认真记录，增强对(下转第61页)