

大肠埃希氏菌 SY-30 菌株预防初生仔猪大肠杆菌病的研究

何 明 清

(四川农学院,四川雅安)

SY-30 是埃希氏菌属 (*Escherichia*) 的一株大肠杆菌,该菌株产生大肠菌素,无致病性,对致病性大肠埃希氏菌具有明显的拮抗作用,我们将该菌制成活菌制剂,对 101 例初生仔猪大肠杆菌病临床效果观察及 1330 例效果累计表明,对该病的预防效果是肯定的。

对 SY-30 菌株的分离鉴定,生物学特性,大肠菌素与肠毒素测定,毒性试验及预防效果观察等方面进行了系统研究,现将研究结果报道如下。

一、菌种分离

从四川雅安、温江等地的健康仔猪肛拭采粪 35 份,分别接种在麦康凯 (MacConkey) 琼脂培养基上,37℃ 培养 18—24 小时,每个平皿选择 3—5 个光滑、湿润、边缘整齐呈红色的菌落,再接种在普通琼脂斜面上,37℃ 培养 18—24 小时放 4℃ 冰箱保存待检。

二、SY-30 菌株的生物学特性及血清学鉴定

(一) 生物学特性

1. 形态与染色: 革兰氏阴性杆菌,两端纯

圆,有鞭毛,无芽孢及荚膜。

2. 培养特性: 在普通肉汤及琼脂培养基上生长良好,厌氧肉肝汤生长不良,在家兔鲜血琼脂培养基上生长快,无溶血环。

3. 生化反应: 能产生靛基质; M.R 试验阳性; V.P 反应阴性; 柠檬酸盐不利用; 尿素不分解; 硫化氢不产生; 能分解葡萄糖、麦芽糖、甘露醇、鞣糖、鼠李糖、山梨醇产酸不产气; 对乳糖、卫茅醇只产酸不产气; 不分解蔗糖、肌醇及侧金盏花醇。

(二) 血清学鉴定^[1]

SY-30 菌株经成都生物制品所用大肠埃希氏菌国际标准菌种制备的 O 及 OK 血清作试管定量凝集试验,鉴定血清型为 O₇:K⁺。

三、SY-30 菌株的肠毒素与大肠菌素的测定

1. 肠毒素的测定^[2]: 给 3—7 日龄健康仔猪的小肠结扎段 (试验段) 注射 SY-30 菌株经 37℃ 18—24 小时肉汤培养的混菌液 1 ml。对照段有两段,分别注射已知产肠毒素大肠杆菌的肉汤培养液 1 ml 及普通肉汤 1 ml。经反复试

验,注射SY-30菌株的结扎段无肠液增加和肠管内扩张现象,证明SY-30菌株不产生肠毒素。

2. 大肠菌素的测定^[3]:按Abbott等方法,将SY-30菌株接种在鲜血胰蛋白胨黄豆琼脂培养基上,35℃培养24小时,于培养基底处加入2—3ml三氯甲烷,作用10—15分钟后,用打孔器(φ6—8mm)取出培养基,放入已接种了致病性大肠埃希氏菌O₈型菌株的平皿上,37℃培养8—12小时后,出现明显的抑菌环。证明SY-30菌株产生的大肠菌素对致病性大肠埃希氏菌O₈型菌株有明显的拮抗作用。

四、SY-30菌株的毒性试验

1. 小白鼠:取18—22g健康小白鼠8只,雌雄不分,每只腹腔注射SY-30菌株的菌液0.5ml,每毫升菌液含20—30亿活菌。观察1—2周,成活7只死亡1只。

2. 乳猪:选1日龄健康乳猪9头(同窝)分为四组。A、B组各2头,A组每头注射氯化可

的松2mg,B组每头注射4mg,12小时后两组每头口服含200—300亿SY-30活菌菌液,C组2头不注射药物,每头口服含400—600亿活菌菌液,D组3头不作处理(对照)。观察14天,试验组和对照组均健康成活,无异常表现。

五、SY-30菌株预防初生仔猪大肠杆菌病的效果

1. 试验方法:在1979年7—9月初生仔猪大肠杆菌病发生和流行的季节,对四川内江种猪场202头初生仔猪进行了效果控制试验,作法是在初生仔猪吃初乳前,每头口服含90—150亿活菌菌液,日服一次,连服3次。试验组和对照组各101头,以7天内试验组不发生下痢为有效。同时,从初生仔猪下痢的分离物中检出产肠毒素大肠埃希氏菌O₈等菌型。另外,在内江、乐山等10个种猪场连续使用SY-30大肠埃希氏菌活菌制剂*口服预防初生仔猪大肠杆菌病的效果试验,其方法与控制试验基本相同。

表1 SY-30活菌制剂预防初生仔猪大肠杆菌病的效果

	内江场			乐山市			乐山农科所等场			合计		
	仔猪数	发病数	发病率%	仔猪数	发病数	发病率%	仔猪数	发病数	发病率%	仔猪数	发病数	发病率%
试验组	*101	19	18.8	229	30	13.1	354	78	22.2	101	19	18.8
	747	174	23.3							1330	282	21.2
对照组	*101	76	75.2	56	43	76.8	152	128	84.2	101	76	75.2
	473	324	68.5							681	495	72.7
										782	571	73

*表示效果控制试验结果。

2. 试验结果:见表1。

表1结果说明,内江等10个种猪场的1431头初生仔猪(包括控制试验的)口服SY-30活菌制剂,在1—2周发病的301头,发病率21%,保护率79%。对照组782头中发病的571头,发病率73%,试验组与对照组的发病率经统计学处理, $t=31.01 > 9.952$, $P < 0.01$,表明两组有明显差异,也说明了SY-30活菌制剂预防初生仔猪大肠杆菌病有非常明显的效果。后又经试验场地75头母猪中,产仔猪723头,经SY-30

活菌制剂预防,2个月后成活675头,成活率93.3%,表明该制剂预防本病使用安全,无副作用。

六、讨论

1. 本试验结果表明,初生仔猪大肠杆菌病病原是一些产肠毒素的血清型为O₈、O₆₄、O₁₂₈、O₁₄₁、O₁₄₇、O₁₄₉、O₁₅₇等的大肠埃希氏菌^[4]。若在

* SY-30活菌制剂的制法:取SY-30菌株1ml接种在100ml普通肉汤内,37℃培养24小时,经检验无杂菌后备用。

仔猪出生后肠道还处于相对无菌状态时^[5],先接种正常菌即需氧的SY-30菌,不仅能促进分枝杆菌、拟杆菌等厌氧菌的生长,对外袭菌入侵宿主机体亦具有一定程度的拮抗作用^[6]。本试验1431头初生仔猪口服SY-30活菌制剂,保护率79%,对照组782头,发病率为73%,也显示出产大肠菌素的SY-30菌株在动物体内能拮抗致病性大肠埃希氏菌的侵袭,和排斥致病菌的定植和繁殖。但在临床上也有少数仔猪未得到保护,是否由于致病菌在仔猪肠内大量繁殖的缘故,此问题尚待研究。

2. 大肠杆菌活菌制剂国外较多,国内方定一^[6]等用大肠杆菌与乳酸杆菌混合制成NY-10

活菌制剂预防仔猪黄痢,效果显著。我们用SY-30菌株制成活菌制剂预防初生仔猪大肠杆菌病效果良好,本制剂生产方法简单,成本低廉(一头仔猪约需一分钱),具有推广价值。

参 考 文 献

- [1] 何明清等: 兽医科技杂志, 7: 18—21, 1981。
- [2] 何明清等: 兽医科技杂志, 5: 20—26, 1980。
- [3] Mackie et al.: Handbook of Bacteriology 10th. ed. 600—601, 1962.
- [4] Dune, W. H.: Diseases of Swine 4th. ed. 658—666, 1975.
- [5] 魏曦、康白: 第七届国际悉生生物学会议的论文, 1981, 日本, 东京。
- [6] 方定一: 家畜传染病, 1: 66—73, 1980。