

引用格式:

王帅帅, 刘玉梅, 李双军, 李梦云, 谭世图, 张自强. 一株兔源A型产气荚膜梭菌的分离鉴定及其生物学特性和药物敏感性[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2025, 51(3): 55–62.

WANG S S, LIU Y M, LI S J, LI M Y, TAN S T, ZHANG Z Q. Isolation, identification, biological characteristics and drug sensitivity of a rabbit derived type A *Clostridium perfringens* strain[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2025, 51(3): 55–62.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



一株兔源A型产气荚膜梭菌的分离鉴定 及其生物学特性和药物敏感性

王帅帅¹, 刘玉梅^{1,2}, 李双军^{2,3}, 李梦云^{1,2}, 谭世图¹, 张自强^{1,2*}

(1. 河南科技大学动物科技学院, 河南 洛阳 471000; 2. 河南省兔业研发中心, 河南 洛阳 471000; 3. 河南德邻生物制品有限公司, 河南 新乡 453000)

摘要: 对河北省某规模化兔场中10只病死兔进行临床症状观察和剖检, 经分离培养、革兰染色、生化试验、16S rRNA基因序列比对、毒素分型、生长曲线测定、菌落计数、药敏试验、组织病理学观察和动物致病力试验确定引起该兔场发病的病原菌, 研究其生物学特性及药物敏感性。结果显示, 分离出的革兰阳性杆菌的生化特性与产气荚膜梭菌的一致; 其16S rRNA基因序列长度为1 380 bp, 与编号为MK156683.1的A型产气荚膜梭菌序列的相似性达到99%。分离菌毒素分型结果显示该基因只携带cpa毒力基因。动物致病力试验结果显示, 在感染24 h后试验组家兔全部死亡, 经鉴定, 家兔病变脏器的病原微生物与感染菌株为同一菌株。药物敏感性试验结果显示, 分离得到的A型产气荚膜梭菌对庆大霉素、卡那霉素、丁胺卡那、阿奇霉素、麦迪霉素、环丙沙星、诺氟沙星、恩诺沙星、氧氟沙星、头孢曲松这10种药物敏感。

关键词: 兔; A型产气荚膜梭菌; 菌株分离与鉴定; 生物学特性; 药物敏感性

中图分类号: S852.61

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2025)03-0055-08

Isolation, identification, biological characteristics and drug sensitivity of a rabbit derived type A *Clostridium perfringens* strain

WANG Shuaishuai¹, LIU Yumei^{1,2}, LI Shuangjun^{2,3}, LI Mengyun^{1,2}, TAN Shitu¹, ZHANG Ziqiang^{1,2*}

(1. College of Animal Science and Technology, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471000, China; 2. Henan Rabbit Industry R & D Center, Luoyang, Henan 471000, China; 3. Henan Delin Biological Products Co. Ltd., Xinxiang, Henan 453000, China)

Abstract: The clinical symptoms of 10 dead rabbits in a large-scale rabbit farm in Hebei Province were observed, and then the rabbits were dissected. The pathogenic bacteria that caused the disease in the rabbit farm were determined by isolation and culture, Gram staining, biochemical test, 16S rRNA sequence alignment, toxin typing, determination of growth curve, colony counting, antimicrobial susceptibility test, histopathological observation and animal pathogenicity test, and their biological characteristics and drug sensitivity were studied. The results showed that the biochemical characteristics of the isolated Gram-positive bacilli were consistent with those of *Clostridium perfringens*; its 16S rRNA sequence was 1 380 bp in length, and its similarity to the sequence of type A *Clostridium perfringens*(No. MK156683.1), reached 99%. The results of isolate toxin typing showed that this gene only carried the *cpa* virulence gene. The results of animal pathogenicity test

收稿日期: 2024-07-08

修回日期: 2024-09-02

基金项目: 河南省产业科技特派员服务团项目(2020LYCYTPY03); 家兔疫病检测关键技术研究及其产品的研发项目(20220084); 家兔病原性腹泻检测技术开发和应用项目(20230158)

作者简介: 王帅帅(1998—), 男, 河南商丘人, 硕士研究生, 主要从事家兔疾病预防和治疗研究, 1193993177@qq.com; *通信作者, 张自强, 博士, 教授, 主要从事家兔疾病防控与干细胞治疗等研究, ziqiangzhang@haust.edu.cn

showed that all rabbits in the test group died 24 h after infection. The pathogenic microorganism of the diseased organs of the rabbits and infecting strain were identified as the same strain. The results of the drug sensitivity test showed that the isolated *Clostridium perfringens* type A was sensitive to 10 drugs: gentamicin, kanamycin, butylcarbamazine, azithromycin, madicillin, ciprofloxacin, norfloxacin, enrofloxacin, oxifloxacin and ceftriaxone.

Keywords: rabbit; *Clostridium perfringens* type A; isolation and identification of strain; biological characteristics; drug sensitivity

产气荚膜梭菌又称魏氏梭菌,是一种广泛分布在自然环境中的厌氧型革兰阳性菌,其菌体为直杆状,两端钝圆,有荚膜无鞭毛,偶见排列成链状,菌落一般呈正圆形,边缘整齐,表面光滑^[1-2]。产气荚膜梭菌一般可分为A、B、C、D、E、F、G这7个毒素型^[3],不同毒素型的产气荚膜梭菌可感染牛、兔、羊、猪、鸡等多种动物。兔产气荚膜梭菌病主要是由A型产气荚膜梭菌引起,少数为E型^[4],产气荚膜梭菌为条件性致病菌,可长期寄生在健康的家兔消化道内,当家兔受到外界刺激导致消化道微生物菌群紊乱时,可能会引起兔产气荚膜梭菌病^[5],临床表现为急性腹泻、胃黏膜脱落、出血,且出现大小不一的黑色斑点、肠浆膜及黏膜出血、膀胱充满茶色尿液等症状^[6]。兔产气荚膜梭菌病无季节和年龄特异性,全年皆可发病,但常发生于冷热剧变的冬春季节^[7],严重阻碍了兔产业的发展。

本研究对河北省邯郸市某兔场的病兔进行剖检,采用无菌操作从病兔的肝、肺、气管、胃、盲肠等组织器官分离细菌,通过革兰染色、生化鉴定、16S rRNA基因序列比对和毒素分型对分离菌株进行鉴定,研究其生物特性,并进行药物敏感性试验,以期防治产气荚膜梭菌感染、减少兔场病兔的死亡提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 患病动物剖检及样品采集

于2024年1月16日在河北省邯郸市某兔场采集发病兔,其临床症状以急性腹泻、高死亡率为主,在无菌环境中采集病兔的气管、肺、心、肝、脾、肾、胃和盲肠等病变组织样品,称取一定质量样品并对其进行研磨,之后加入PBS稀释,混匀后静止20 s,12 000 r/min离心5 min,取上清液均匀涂于普通琼脂培养基上,在37 °C培养24 h。同时取病变严重的心、肝、胃、空肠等组织器官放

在4%多聚甲醛中进行固定。

1.2 主要试剂与仪器

普通琼脂培养基、麦康凯琼脂培养基、药敏纸片购自北京索莱宝科技有限公司。Premix Taq™(Ex Taq™ Version 2.0 plus dye)购自宝生物工程(大连)有限公司。4%多聚甲醛购自天津市丰华化学试剂厂。细菌基因组DNA小量提取试剂盒、DL2000 DNA Marker、Proteinase K购自北京庄盟国际生物基因科技有限公司。

1.3 组织病理学观察

用4%多聚甲醛固定组织器官,24 h后进行常规处理,经体积分数分别为70%、80%、90%、95%、100%的乙醇逐级脱水,之后用石蜡包埋,再切成厚度5 μm的切片,烘干后使用苏木素和伊红进行染色,染色后的切片使用不同体积分数的乙醇脱水,最后进行透明化处理并封片,在光学显微镜下采集照片,观察组织病理学变化。

1.4 菌株纯化和生化鉴定

将分离菌划线接种于普通琼脂培养基,于37 °C培养24 h,观察菌落的生长情况。之后挑取单个菌落接种于麦康凯琼脂培养基和伊红美蓝琼脂培养基,同样在37 °C培养24 h。挑取菌落进行涂片,革兰染色后镜检。菌落经进一步划线纯化后进行后续试验。依据《伯杰细菌鉴定手册》,将纯化培养后的菌液接种于生化鉴定管中,于37 °C厌氧培养24 h,观察并记录试验结果。

1.5 分离菌的16S rRNA基因比对

参照文献[8]合成产气荚膜梭菌16S rRNA基因引物序列(正向引物27F的序列为5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3',反向引物1492R的序列为5'-TACGTTACCTTGTTACGACTT-3')。按照细菌基因组提取试剂盒的说明书提取细菌的DNA,将其作为模板进行PCR扩增。使用2%琼脂糖凝胶电

泳，纯化并回收目的条带，之后将纯化产物送至北京擎科生物科技有限公司成都分公司进行测序。

1.6 分离菌毒素分型

根据文献[8–9]合成相关引物序列，见表1。以分离菌的DNA为模板，选择*cpa*、*cpb*、*netB*、*etx*、*cpe*、*ia*和*cpb2*这7种常见毒力基因进行PCR扩增。之后对PCR产物进行2%琼脂糖凝胶电泳。

表1 引物序列

Table 1 Primer sequence		
引物名称	引物序列(5'—3')	序列长度/bp
<i>cpa</i> -F	GCTAATGTTACTGCCGTTGA	325
<i>cpa</i> -R	CCTCTGATACATCGTGTAAAG	
<i>cpb</i> -F	GCGAATATGCTGAATCATCTA	196
<i>cpb</i> -R	GCAGGAACATTAGTATATCTTC	
<i>netB</i> -F	GGAAGGCAACTTTAAGTGGAAC	680
<i>netB</i> -R	GTTTGTTCTCTCGCCATTGAGT	
<i>etx</i> -F	GCGGTGATATCCATCTATTTC	656
<i>etx</i> -R	CCACTTACTTGTCTCTACTAAC	
<i>cpe</i> -F	GGAGATGGTTGGATATTAGG	233
<i>cpe</i> -R	GGACCAGCAGTTGTAGATA	
<i>ia</i> -F	ACTACTCTCAGACAAGACAG	446
<i>ia</i> -R	CTTTCCTTCTATTACTATACG	
<i>cpb2</i> -F	AGATTTTAAATATGATCCTAACC	567
<i>cpb2</i> -R	CAATACCCTTCACCAAATACTTC	

1.7 生长曲线和菌落数量的测定

取0.5 mL分离纯化培养的菌液加入50 mL的液体培养基中，在37 °C厌氧条件下培养24 h，每隔 2 h 取适量的菌液测其吸光值(OD₆₀₀)，同时取0.1 mL菌液用灭菌处理的生理盐水稀释至1×10⁶ mL，然后吸取0.01 mL稀释液滴至普通琼脂培养基上，重复

以上操作，24 h后使用显微镜分别统计其生长菌落数量。

1.8 分离菌的动物致病力试验

将20只50日龄家兔分为对照组和试验组，每组10只家兔。用PBS将分离菌液浓度调整为10⁹ cfu/mL，试验组每只家兔腹腔注射0.2 mL的菌液，对照组家兔腹腔注射等量的PBS。试验期间正常饲喂，观察记录家兔精神状态、发病和死亡情况；剖检死亡家兔，再次分离病原菌。

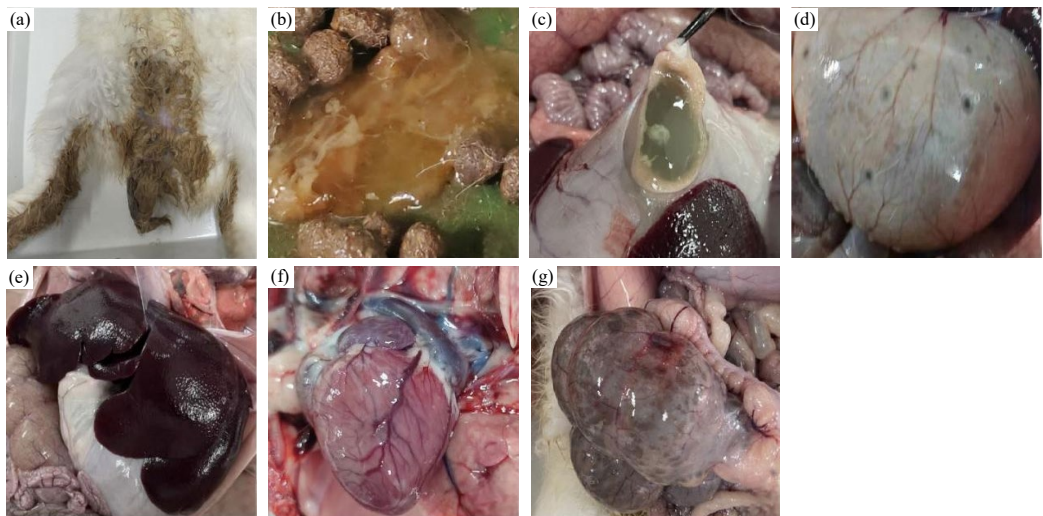
1.9 药物敏感性试验

按照美国临床检验标准委员会(NCCLS，2004年第14版)推荐的K-B纸片法进行试验操作及结果判定。本次药敏试验选用氨基糖苷类(庆大霉素、新霉素、卡那霉素、丁胺卡那)、大环内酯类(红霉素、阿奇霉素、麦迪霉素、替米考星)、多肽类(多黏菌素B)、喹诺酮类(环丙沙星、诺氟沙星、恩诺沙星、氧氟沙星)、四环素类(多西环素)、头孢菌素类(头孢曲松、头孢拉定)、氯霉素类(氟苯尼考)和喹噁啉类(痢菌净)8大类别药物，检测分离菌对这些药物的耐药性。

2 结果

2.1 病理剖检结果

临床剖检发现病兔严重腹泻，肛门处被粪便污染(图1(a))，且有冻胶样内容物排出(图1(b))。打开腹腔可闻见一股特殊的腥臭味，胃部膨胀(内含



(a) 肛门；(b) 冻胶样内容物；(c) 胃和脾；(d) 胃；(e) 肝脏；(f) 心脏；(g) 盲肠
图1 家兔病理剖检结果

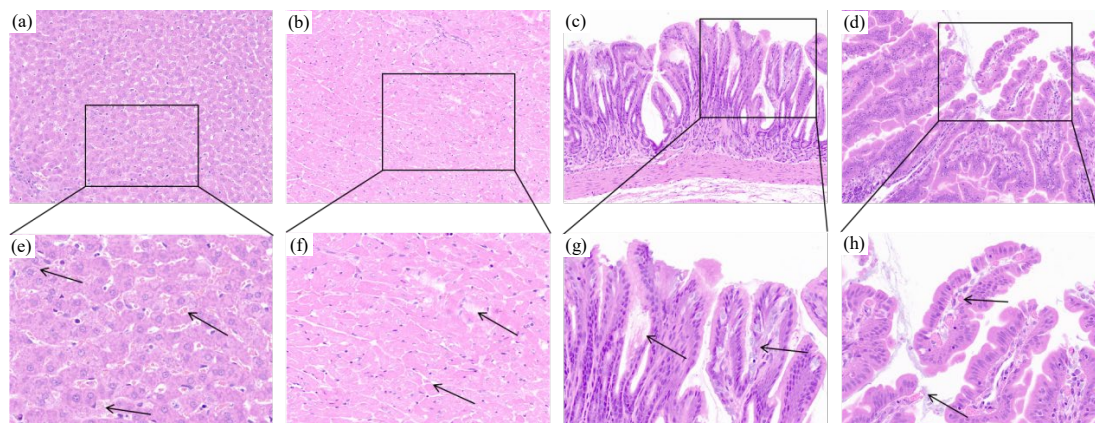
Fig.1 Pathological anatomy results of rabbits

气体和未完全消化的饲料),有大小不等的黑色溃疡斑点,胃黏膜脱落,脾脏萎缩呈深褐色(图1(c)和图1(d))。肝脏淤血发黑,质地脆软(图1(e))。心脏表面血管呈树枝状扩张(图1(f))。盲肠浆膜弥漫性充血,黏膜条纹状出血,肠壁变薄(图1(g))。

2.2 组织病理学结果

取病兔的肝脏、心脏、胃、空肠并用4%多聚甲醛固定,HE染色后进行组织病理学观察。结果显示,肝细胞胞浆内有部分空泡,周围出现大量红细胞,肝索排列紊乱且出现溶解现象,少量炎

性细胞浸润(图2(a)和图2(e))。肌纤维有轻微溶解,肌纤维周围出现少量红细胞(图2(b)和图2(f))。胃黏膜单层柱状上皮细胞坏死,有些脱落至胃腔中,黏膜上皮出现断裂,胃小凹严重损伤(图2(c)和图2(g))。空肠肠绒毛黏膜上皮断裂甚至脱落,一些柱状细胞坏死,纹状缘界限不清,中央乳糜管内有大量红细胞(图2(d)和图2(h))。以上结果表明A型产气荚膜梭菌对家兔肝脏、心脏、胃和空肠造成严重损伤。



(a) 肝脏,放大200倍; (b) 心脏,放大200倍; (c) 胃,放大200倍; (d) 空肠,放大200倍; (e) 肝脏,放大400倍;

(f) 心脏,放大400倍; (g) 胃,放大400倍; (h) 空肠,放大400倍

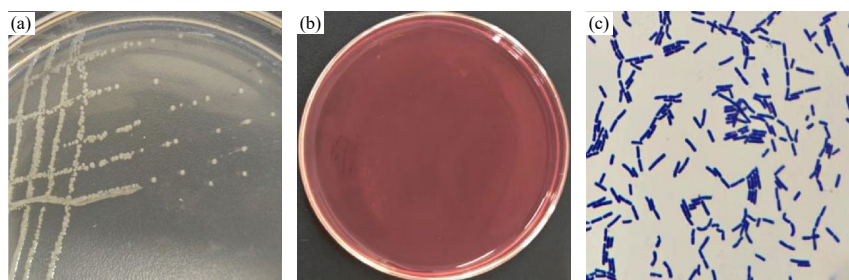
图2 组织病理学结果

Fig.2 Histopathological results

2.3 分离菌的形态及培养特性

在37 °C培养24 h后,分离菌在普通琼脂培养基上长出圆形的乳白色菌落,表面湿润光滑,边缘整齐,半透明(图3(a));在麦康凯琼脂培养基未

长出菌落(图3(b))。分离菌经革兰染色后,呈现出两端钝圆、直杆状、蓝紫色的特征,与革兰阳性杆菌的特征一致(图3(c))。



(a) 普通琼脂培养基; (b) 麦康凯琼脂培养基; (c) 革兰染色后镜检结果

图3 分离菌的形态学特征

Fig.3 Morphological characteristics of isolates

2.4 分离菌的生化试验结果

对纯化后的菌落进行生化管穿刺试验,于37 °C 孵育24 h 后观察。结果(表2)显示,纯化后的分离菌可发酵葡萄糖、麦芽糖、乳糖、蔗糖;同

时能水解明胶;硝酸盐还原试验结果为阳性;不能发酵果糖、木糖、鼠李糖、甘露醇、靛基质、尿素。上述特性基本符合产气荚膜梭菌的生化特性,初步判断分离菌株为产气荚膜梭菌。

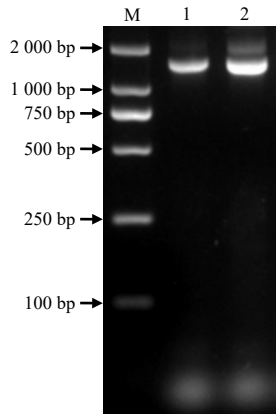
表2 分离菌的生化试验结果

Table 2 Biochemical test results of the isolated strain			
项目	结果	项目	结果
葡萄糖	+	明胶	+
麦芽糖	+	果糖	-
乳糖	+	木糖	-
蔗糖	+	鼠李糖	-
甘露醇	-	胨基质	-
硝酸盐	+	尿素	-

注：“+”表示阳性；“-”表示阴性。

2.5 分离菌16S rRNA基因鉴定与分析结果

以菌株DNA为模板，用16S rRNA基因引物进行PCR扩增，得到的产物经2%琼脂糖凝胶电泳后，在1 000~2 000 bp处出现目的条带(图4)。经测序，扩增产物序列长度为1 380 bp，将测得的序列输入NCBI中进行 BLAST 比对，发现其与编号为MK156683. 1(KM-1株) 的A型产气荚膜梭菌的序列相似性达到 99% ，进一步表明分离菌为产气



M表示DL2000 plus Marker；1和2均为分离菌株的16S rRNA基因扩增产物。

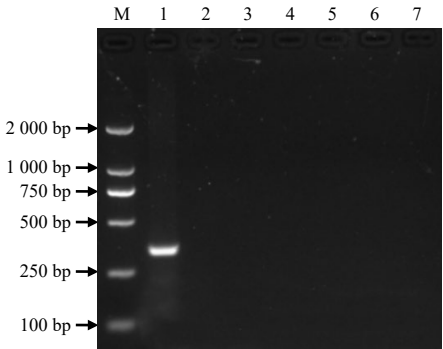
图4 分离菌16S rRNA 基因的PCR扩增产物电泳结果

Fig.4 Electrophoresis results of PCR amplified products of 16S rRNA gene of isolated strain

荚膜梭菌。

2.6 分离菌毒素分型

7种毒力基因PCR扩增产物经2%琼脂糖凝胶电泳后，仅在250~500 bp处出现目的条带，与cpa基因序列长度相符，未扩增出cpb、netB、etx、cpe、ia和cpb2基因(图5)，表明该分离菌为A型产气荚膜梭菌。



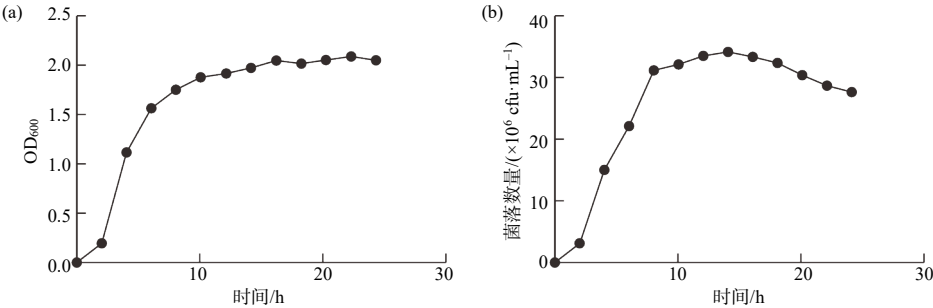
M表示DL2000 plus Marker；1~7分别表示cpa、cpb、netB、etx、cpe、ia、cpb2基因扩增结果。

图5 分离菌的毒力基因PCR扩增产物电泳结果

Fig.5 Electrophoretic results of PCR amplified products of virulence genes of isolated strain

2.7 生长曲线和菌落数量测定结果

分离菌生长曲线测定结果(图6(a))显示，[0，2] h为生长迟缓期，(2，10] h为对数生长期，(10~24] h为生长稳定期。分离菌菌落数量测定结果(图6(b))显示，[0，2] h内菌落数量增长缓慢，(2，8] h内菌落数量快速增加，(8，18] h内菌落数量保持稳定，(18，24] h内菌落数量缓慢下降。生长曲线和菌落数量的趋势基本一致，表明分离菌处于相对稳定的状态。



(a)分离菌的生长曲线；(b)分离菌的菌落数量变化

图6 分离菌的生长曲线和菌落数量变化

Fig.6 Growth curves and number changes of colonies of the isolated strain

2.8 分离菌的动物致病力试验结果

对照组家兔精神状态良好,在24 h内未见死亡(图7)。试验组家兔在感染6 h后开始出现精神萎靡、呼吸急促、四肢无力等症状,感染10 h后家兔开始出现死亡,死亡家兔有明显的腹泻症状,并伴随有冻胶样内容物排出,在感染24 h后试验组家兔全部死亡。对家兔病变脏器的病原菌再次进行分离纯化,经鉴定后确定其与感染菌株为同一菌株。结果表明,分离的A型产气荚膜梭菌可引起健康家兔发病,为该场家兔暴发疾病的病原菌。

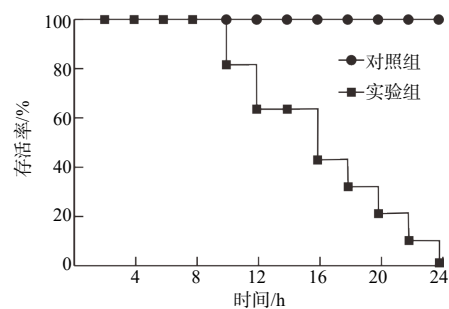


图7 家兔感染分离菌株后24 h内的存活率

Fig.7 Survival rate of rabbits within 24 h of infection with isolated strain

2.9 分离菌的药物敏感性试验结果

药物敏感性试验结果(表3)显示,分离菌对庆大霉素、卡那霉素、丁胺卡那、阿奇霉素、麦迪

表3 分离菌的药敏试验结果

Table 3 Antibacterial effect of different drugs on isolated bacteria			
药物种类	药物名称	产气荚膜梭菌	
		抑菌圈直径/mm	敏感程度
氨基糖苷类	庆大霉素	22	S
	新霉素	0	R
	卡那霉素	22	S
	丁胺卡那	25	S
大环内酯类	红霉素	0	R
	阿奇霉素	34	S
	麦迪霉素	24	S
	替米考星	0	R
多肽类	多黏菌素B	0	R
喹诺酮类	环丙沙星	25	S
	诺氟沙星	25	S
	恩诺沙星	33	S
	氧氟沙星	25	S
四环素类	多西环素	11	R
头孢菌素类	头孢曲松	34	S
	头孢拉定	14	R
氯霉素类	氟苯尼考	13	I
唑啉类	痢菌净	10	R

注: S表示敏感; I表示介于敏感与耐药之间; R表示耐药。

霉素、环丙沙星、诺氟沙星、恩诺沙星、氧氟沙星、头孢曲松10种药物敏感,对氟苯尼考不敏感,对新霉素、红霉素、替米考星、多黏菌素B、多西环素、头孢拉定、痢菌净7种药物有较强的抗性。以上结果表明分离菌具有多重耐药性,但对大部分氨基糖苷类和喹诺酮类药物敏感。

3 讨论

产气荚膜梭菌病是一种重要的人兽共患传染病,产气荚膜梭菌虽为条件性致病菌,但感染后发病率较高,且有着较强的致病力。目前,关于感染产气荚膜梭菌致病的报道主要集中在牛、猪、羊、鸡、犬、鸭、鹅等家畜[10-16],以及野生动物如梅花鹿、水貂、朱鹮、东北虎、狼、袋鼠等[17-22],有关兔感染产气荚膜梭菌的报道较少。本研究从河北省邯郸市某兔场发病兔的胃部、肺、肝、盲肠等组织器官分离致病菌,通过革兰染色、生化试验、16S rRNA基因序列鉴定和细菌毒素分型确定引起家兔发病的病原菌是A型产气荚膜梭菌,组织病理学结果显示病兔的肝脏、心脏、胃和空肠组织出现严重病变。

产气荚膜梭菌主要通过分泌外毒素和酶类对机体产生伤害,其中外毒素是主要的致病因子。外毒素具有种属特异性,毒性强且具有高度特异性,目前已发现的外毒素有20多种(*cpa*、*cpb*、*etx*、*itx*、*netB*、*cpe*、*cpb2*等)[23-25],根据这些外毒素可以把产气荚膜梭菌分成7个血清型,其中包括A型(*cpa*)、B型(*cpa*、*cpb*、*etx*)、C型(*cpa*、*cpb*、*+/-cpe*)、D型(*cpa*、*etx*、*+/-cpe*)、E型(*cpa*、*itx*、*+/-cpe*)、F型(*cpa*、*cpe*)、G型(*cpa*、*netB*)[26]。相关研究表明,兔产气荚膜梭菌病主要是由A型引起,少数为E型[4],这与本研究从家兔中分离出A型产气荚膜梭菌的结果相符。A型产气荚膜梭菌24 h的生长曲线和菌落数量的变化结果表明,两者前期变化趋势基本相同,但生长曲线进入稳定期后基本没有较大的变化,而菌落数量进入稳定期之后会逐渐减少,这可能是因为生长曲线是通过测量光线透射或散射程度(以OD₆₀₀表征)来间接反映溶液中细菌的浓度,随着时间的增加,细菌会死亡,但溶液中的细菌浓度不会产生较大的变化,所以测定菌落数量变化可能更能体现细菌的

生长特性。

研究表明,球虫、大肠埃希菌和产气荚膜梭菌都可能导致宿主发生肠毒血症和坏死性肠炎^[27-29],但A型产气荚膜梭菌病呈现发病快、病程短、死亡率高等特点。邓桂珍^[30]对感染A型产气荚膜梭菌的病兔进行剖检,发现其胃黏膜,出现大小不一的黑色溃疡;肠系膜淋巴结充血肿胀;小肠肠管扩张,肠壁变薄,肠壁弥漫性充血,内含大量稀薄液体;盲肠浆膜出血明显,呈横行条带形;肝肿大、瘀血,质地变脆。王晓丽等^[6]研究发现感染A型产气荚膜梭菌的家兔的胃底黏膜脱落,常伴随出血或黑色溃疡;肠壁弥漫性充血或出血,小肠充满气体或稀薄的内容物,肠壁薄而透明,有腥臭气味;心外膜血管呈树枝状;肝脏淤血、质地脆。而本研究通过动物致病力试验发现感染A型产气荚膜梭菌的病兔临床症状主要为严重腹泻,且有冻胶样内容物排出;剖检后可见胃有大小不等的黑色溃疡斑点,胃黏膜脱落;肝脏淤血发黑,质地脆软;心脏表面血管呈树枝状扩张;盲肠浆膜弥漫性充血,黏膜条纹状出血。本试验结果与以上研究结果基本一致,这表明A型产气荚膜梭菌能够引起家兔各组织器官出现病变,严重危害家兔的生长发育,阻碍了兔养殖业的发展。

根据A型产气荚膜梭菌的流行特点可知,兔场要有效控制和预防感染的发生,一方面要提高家兔机体的免疫力,有效抵御病原的感染;另一方面要改善兔场的环境卫生条件,通过日常消毒和控制温度等方式减少环境中的病原菌。同时,家兔感染A型产气荚膜梭菌后有很强的传染性,因此,需要快速使用相应药物,以防止疾病在家兔之间出现大面积暴发。依据药物敏感性试验结果,分离株A型产气荚膜梭菌对庆大霉素、卡那霉素、丁胺卡那、阿奇霉素、麦迪霉素、环丙沙星、诺氟沙星、恩诺沙星、氧氟沙星、头孢曲松等10种药物敏感,对其他药物则有不同程度的耐药性。此次家兔发病期间,兔场选用环丙沙星和庆大霉素对感染家兔进行了治疗,使其病情得到了良好控制。

4 结论

本研究对病死兔进行临床剖检、细菌分离、纯

化培养、革兰染色、生化鉴定、16S rRNA基因序列比对和细菌毒素分型,结果表明致病菌为A型产气荚膜梭菌,该菌株对家兔有较强的致病性,对庆大霉素、卡那霉素、丁胺卡那等药物敏感,对新霉素、红霉素等药物表现出耐药性。研究结果可为家兔A型产气荚膜梭菌病的预防和治疗提供参考。

参考文献:

- [1] 赵凤利. 动物魏氏梭菌病的诊断和治疗[J]. 中国畜牧业, 2023(4): 99-100.
- [2] 罗润波, 吴丹, 黄家旗, 等. 青藏高原地区牦牛源产气荚膜梭菌流行病学调查及耐药性分析[J]. 中国兽医学报, 2023, 43(9): 1851-1858.
- [3] 黄紫贝, 罗健雅, 赵以恒, 等. 肉鸡源产气荚膜梭菌的分离鉴定及耐药性分析[J]. 中国畜牧兽医, 2024, 51(3): 1298-1307.
- [4] 张世强. 一例兔魏氏梭菌病的诊治体会[J]. 中国动物保健, 2021, 23(12): 111-115.
- [5] 吴克, 冯航, 王娟, 等. 动物源产气荚膜梭菌的流行率与耐药性分析[J]. 国外医药(抗生素分册), 2022, 43(1): 37-41.
- [6] 王晓丽, 马树芳, 赵小勇, 等. 一例兔产气荚膜梭菌的分离与鉴定[J]. 中国养兔, 2015(5): 16-18.
- [7] 余华, 邓小红. 兔魏氏梭菌病的研究进展[J]. 中国动物保健, 2008(8): 48-50.
- [8] 王燕春. 鸡源产气荚膜梭菌的分离鉴定及耐药性研究[J]. 食品安全导刊, 2024(7): 60-63.
- [9] 王冬经, 吴金措姆, 曾江勇. 牦牛源A型产气荚膜梭菌的分离鉴定及生物学特性研究[J]. 中国畜牧兽医, 2024, 51(1): 229-241.
- [10] 马紫薇, 马学军, 马亚楠, 等. 新疆喀什某规模化安格斯牛场牦牛产气荚膜梭菌的分离鉴定及耐药性分析[J]. 中国畜牧兽医, 2024, 51(5): 2188-2197.
- [11] 扎西旺堆, 王辰龙, 柳泉, 等. 加查县3株藏猪源产气荚膜梭菌的分离鉴定及耐药性研究[J]. 甘肃畜牧兽医, 2023, 53(5): 89-92.
- [12] WU K, FENG H, MA J G, et al. Prevalence, toxin-typing and antimicrobial susceptibility of *Clostridium perfringens* in sheep with different feeding modes from Gansu and Qinghai provinces, China[J]. Anaerobe, 2022, 73: 102516.
- [13] DANESHMAND A, KERMANSHAH H, MOHAMMED J, et al. Intestinal changes and immune responses during *Clostridium perfringens*-induced necrotic enteritis in broiler chickens[J]. Poultry Science, 2022, 101(3): 101652.
- [14] 葛学忠, 毕明玉, 王龙. 犬魏氏梭菌感染临床诊断1例[J]. 中国工作犬业, 2023(11): 54-55.
- [15] 毕文文, 田琴, 张黔东, 等. 鸭肠炎病毒和A型产气

- 荚膜梭菌共感染对鸭十二指肠代谢组学影响的研究[J]. 中国预防兽医学报, 2022, 44(9): 927-933.
- [16] 刘佳琪, 李仕楷, 苏文楠, 等. 鹅源产气荚膜梭菌的分离鉴定与药物敏感性试验[J]. 中国兽医学报, 2023, 43(6): 1194-1202.
- [17] 罗柳, 汤德元, 曾智勇, 等. 梅花鹿感染产气荚膜梭菌的诊断及中西医结合治疗[J]. 野生动物学报, 2022, 43(1): 184-187.
- [18] 刘新江, 王刚, 徐晓东. 一例水貂魏氏梭菌病的诊治[J]. 特种经济动植物, 2019, 22(5): 8.
- [19] 蒋佳能, 王娟, 杨增岐. 朱鹮源大肠埃希氏菌、肺炎克雷伯氏菌和产气荚膜梭菌的分离鉴定及药敏检测[J]. 动物医学进展, 2023, 44(4): 72-78.
- [20] 柏永明, 王俊飞, 杨智. 东北虎魏氏梭菌感染诊治一例[J]. 吉林畜牧兽医, 2022, 43(7): 103-104.
- [21] 董秀梅, 李秀云, 刘念, 等. 狼源产气荚膜梭菌的分离鉴定及分子分型[J]. 中国预防兽医学报, 2022, 44(8): 831-836.
- [22] 陈闰峥, 汤德元, 杨志刚, 等. 贵州野生动物园一例袋鼠产气荚膜梭菌的分离鉴定[J]. 野生动物学报, 2022, 43(2): 475-479.
- [23] KIU R, HALL L J. An update on the human and animal enteric pathogen *Clostridium perfringens*[J]. Emerging Microbes Infections, 2018, 7(1): 141.
- [24] UZAL F A, FREEDMAN J C, SHRESTHA A, et al. Towards an understanding of the role of *Clostridium perfringens* toxins in human and animal disease[J]. Future Microbiology, 2014, 9(3): 361-377.
- [25] 赵晓军, 王美玲, 段跃强, 等. 重组产气荚膜梭菌 α 毒素对家兔的安全性和免疫效力评价[J]. 中国预防兽医学报, 2023, 45(4): 429-433.
- [26] ROOD J I, ADAMS V, LACEY J, et al. Expansion of the *Clostridium perfringens* toxin-based typing scheme[J]. Anaerobe, 2018, 53: 5-10.
- [27] 许崇利, 许崇波, 宫语晨. A型魏氏梭菌 α 毒素氨基端 *plc* 基因的生物学活性探究[J]. 基因组学与应用生物学, 2017, 36(10): 4184-4187.
- [28] 罗艺晨, 朱买勋, 林春发, 等. 中药复方提取物的抗兔球虫效果[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2020, 46(1): 93-98.
- [29] 坤清芳, 耿毅, 余泽辉, 等. 四川兔源大肠埃希菌的耐药性及耐药基因检测[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2018, 44(5): 549-552.
- [30] 邓桂珍. 一起兔魏氏梭菌病的诊治和体会[J]. 福建畜牧兽医, 2015, 37(3): 54.

责任编辑: 伍锦花

英文编辑: 张承平