

产气荚膜梭菌耐药及防控研究进展

张 辉*, 包红朵

(江苏省食品质量安全重点实验室-省部共建国家重点实验室培育基地,
江苏省农业科学院农产品质量安全与营养研究所, 南京 210014)

摘 要: 产气荚膜梭菌是一种能够引起人类食物中毒和动物坏死性肠炎的食源性病原, 在动物产品生产过程中引发疾病并通过加工环节传播, 威胁人类健康, 同时给养殖行业带来巨大经济损失。随着耐药问题的日益严峻以及 2020 年“饲料端全面禁抗”的实施, 利用生物防控技术进行产气荚膜梭菌防治将在养殖业中发挥巨大作用。本文针对目前产气荚膜梭菌的耐药特性, 详述了产气荚膜梭菌的防控现状, 总结了全面的综合防控策略, 为产气荚膜梭菌的防控提供参考。

关键词: 产气荚膜梭菌; 耐药; 生物防控; 噬菌体; 益生菌

Research progress of antimicrobial resistance and bio-control of *Clostridium perfringens*

ZHANG Hui*, BAO Hong-Duo

(Jiangsu Key Laboratory of Food Quality and Safety-State Key Laboratory Cultivation Base of MOST, Institute of Food Safety and Nutrition, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

ABSTRACT: *Clostridium perfringens* is a zoonotic pathogen that can cause human food poisoning and animal necrotizing enteritis. It causes diseases in the production process of animal products and spreads through processing link, which threatens human health and brings huge economic losses to animal breeding. With the increasingly serious drug resistance problem and the implementation of the "comprehensive prohibition of feedstuff resistance" in 2020, the use of biological control technology for *Clostridium perfringens* control will play a huge role in the breeding industry. In view of the current antimicrobial resistance characteristics of *Clostridium perfringens*, this paper detailed the current situation of control of *Clostridium perfringens*, summarized comprehensive prevention and control strategy, in order to provide reference for the prevention and control of *Clostridium perfringens*.

KEY WORDS: *Clostridium perfringens*; antimicrobial resistance; bio-control; phage; probiotics

1 引 言

产气荚膜梭菌(*Clostridium perfringens*, *Cp*)也称魏氏梭菌(*Clostridium welchii*), 革兰氏阳性厌氧菌, 广泛分布

于土壤、饲料、污水、动物消化道和粪便中, 是引起动物坏死性肠炎、肠毒血症以及人类的食物中毒和创伤性气性坏疽的重要食源性病原菌。在禽产品生产过程中, *Cp* 是健康禽肠道的常在菌, 当生长环境及日粮发生改变, 会引起

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFE0101900)、国家自然科学基金项目(31671955)、江苏省六大人才高峰项目(NY-034)

Fund: Supported by the National Key R&D Program of China (2018YFE0101900), the National Natural Science Foundation of China (31671955), and the the Six Talent Peaks Project in Jiangsu Province (NY-034)

*通讯作者: 张辉, 博士, 研究员, 主要研究方向为食源性病原菌监测及生物防控。E-mail: Huiz@jaas.ac.cn

*Corresponding author: ZHANG Hui, Ph.D, Professor, Institute of Food Safe and Nutrition, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China. E-mail: Huiz@jaas.ac.cn

该菌大量增殖并附着于肠道黏膜产生大量毒素和蛋白酶导致肠道黏膜损伤, 从而引起腹泻及肠炎等疾病^[1], 严重影响动物生产性能并造成巨大经济损失, 因此, 有效的控制耐药性 *Cp* 的产生和传播, 不仅能够提高动物生产性能, 亦能消除 *Cp* 给人类健康带来的威胁。

本文综述了产气荚膜梭菌防控的研究现状, 为相关监管部门对产气荚膜梭菌的防控提供参考。

2 *Cp* 的致病特性

Cp 属于厚壁门梭状芽孢杆菌属, 有荚膜, 无鞭毛, 是引起食源性胃肠炎最常见的病原之一, 可引起典型的食物中毒爆发, 在美国因 *Cp* 引发的食物中毒事件约占细菌性食物中毒的 30% (<https://www.cdc.gov/foodborneburden/2011-foodborne-estimates.html>), 严重威胁人类健康。*Cp* 肠毒素(Clostridium-Perfringens-Enterotoxin, CPE)是引起食物中毒的致病因子, 可产生的毒素有 16 种(α 、 β 、 γ 、 ϵ 、 ι 、 θ 等), 近年来又发现了一些新毒素(Net B, Tpe L), 根据分泌毒素不同进行分类可将 *Cp* 分为 A(α)、B(α 、 β 、 γ 、 ϵ)、C(α 、 β)、D(α 、 ϵ)和 E(α 、 ι)5 种血清型^[2]。 α 毒素是 *Cp* 最主要的毒素之一, 且所有的 *Cp* 均可产生该毒素。 α 毒素具有磷脂酶 C 和鞘磷脂酶的活性, 能够通过破坏细胞膜的完整性导致细胞的裂解和死亡, 也是被公认的引起鸡坏死性肠炎(necrotic enteritis, NE)的主要致病因子。先前研究表明, A 型产气荚膜梭菌可引起鸡 NE, 随后又有报道称坏死性肠炎主要由 A 型产气荚膜梭菌引起^[3], 而少数可由 C 型菌株诱发^[4], 由此可见, 具有特异性毒力因子的 *Cp* 才能对家禽致病。而国外的研究表明 α 毒素并非是引起鸡 NE 的必须致病因子^[5]。另有报道从健康鸡和 NE 鸡样品中均可检测到 β 2 毒素基因^[6], 推测鸡 NE 的发生也可能与该毒素有关。

3 耐药性现状

Cp 是引起动物 NE 的主要病原, 造成较大经济损失且不利于动物福利, NE 广泛分布于世界各地, 呈全球流行态势, 2015 年全球因 NE 导致的禽养殖业损失高达 60 亿美元^[7]。在欧美国家中, 由于抗生素的限制性使用, NE 发病率呈上升趋势(10%~50%)^[8], 而在我国, 由于长期通过在饲料中添加抗生素等促生长剂的方法来预防和控制禽 NE, 耐药菌株不断产生导致防治失败, 给家禽养殖业带来巨大经济损失。

Cp 因长期存在于动物肠道中, 从而在动物性食品屠宰加工中极易污染畜禽产品, 在肉类熟食中的污染达 38.96%, 其中烧鸡高达 39.41%, 分离株对青霉素、新霉素、氨曲南等耐药高达 96.67%^[9]。在对 30 株气载 *Cp* 耐药监测中, 对庆大霉素的耐药性最强(86.7%), 其次为青霉素(43.3%), 对头孢噻肟耐药率最低(1%)^[10]。来源鸡的 *Cp* 分离株中, 健康鸡群中的分离率达 68%, 死亡鸡群中分离率

达 81%, 53% 的分离株均出现多重耐药特性, 主要针对链霉素、庆大霉素、红霉素及四环素等^[11,12]。在养殖场的饲料样品中 *Cp* 的分离率为 33.89%, 其对庆大霉素(100%)、四环素(96.67%)、加替沙星(93.33%)、环丙沙星(86.67%)、氧氟沙星(86.67%)和林可霉素(86.67%)均高度耐受^[12]。目前有关 *Cp* 的耐药机制主要是耐药基因, 其中包括四环素(*tetK*、*tetL*、*tetA*、*tetP* 等)、大环内酯类耐药基因(*ermB*、*ermP*、*mefA* 等)、林可胺类(*lnuA*、*lnuB*、*lnuP* 等)、氯霉素(*catP*、*catQ*)、杆菌肽锌(*bcrABDR*)耐药基因等。其中四环素耐药基因 *tetM* 编码核糖体结合蛋白, 可促进结合于细菌 30S 亚基的四环素移位, 降低四环素的抑制作用, 从而产生耐药^[13]。而 *tetK*、*tetL* 和 *tetA* 等编码的功能基本相似, 以外排泵蛋白为主。此外, 接合型质粒 pCW3 是动物源 *Cp* 接合转移的另一个重要模式质粒^[14]。其 *tcp*(接合转移功能)区, 由 11 个基因组成, 区被鉴定为该质粒发挥接合功能的核心功能区, 在已鉴定的大多数 *Cp* 接合型质粒中均高度保守。而转座子 Tn4451、Tn4452、Tn4453 和 Tn4455 等也在 *Cp* 耐药相关基因转移中发挥着至关重要的作用^[15]。对于大环内酯类药物的耐药机制主要有靶位改变和主动外排, 其中 *erm* 基因主要是通过 23SrRNA 甲基化使抗生素不能与其靶位结合而出现耐药。目前在猪和人类源梭菌上检测到 *ermBP* 和 *ermQ* 基因, 在环境中分离的 *Cp* 检测到 *ermB*、*ermQ* 和 *mefA* 基因, 从而表明耐药基因已广泛存在^[16,17]。随着动物源产气荚膜梭菌耐药机制的研究深入, 新的耐药基因将会被不断发掘。随着全基因组测序技术和功能基因组学的快速发展, 新的转座子以及接合型转座子将会不断发现, 其在产气荚膜梭菌耐药基因及毒素基因的水平转移中发挥的作用尚需进一步的深入认识。

4 疫苗及中药在 *Cp* 防控中的应用

目前由 *Cp* 造成的经济损失在动物性食品生产中已占居主导地位, 预计 95% 的禽体内均携带 *Cp*, 并引发临床和亚临床感染。感染给鸡群造成损失的同时也严重影响禽产品, 从而给公共卫生与健康带来威胁。目前欧盟已禁止在禽养殖中运用抗生素类促生长剂, 美国也针对部分抗生素进行了限定和禁用, 从而导致 NE 的频繁发生, 因此, 针对 *Cp* 利用其疫苗及除抗生素外的预防性措施, 将有助于降低疾病的发生。

4.1 *Cp* 疫苗

针对 NE 流行和发病状况, 可以通过接种多价疫苗进行疾病的预防, 或者选用当地流行株制备的疫苗进行免疫。动物接种疫苗后可产生特异性的抗体, 抗体能阻止毒素破坏组织, 从而减少动物发病^[18]。目前, 我国已研制出针对 A 型产气荚膜梭菌的疫苗和针对鹿出血性肠炎的疫苗, 国外也生产了甲醛灭活苗, 且这些疫苗的免疫效果也都比

较理想^[19,20]。

工程疫苗的研制也是防控 *Cp* 感染的主要方法之一,有研究通过口服表达 *Cp* NetB 毒素的重组植物乳酸杆菌疫苗来抑制禽类 *Cp* 的感染^[21],亦有通过获取可溶性 α 毒素蛋白进行基因工程亚单位疫苗进行保护效果评价,在小鼠攻毒保护实验中效率高达 100%^[22]。亦有针对外毒素 α (CPA)突变体合成基因片段 *Gcpa_{m4}* 重组表达并通过佐剂乳化免疫家兔,最终免疫组攻毒后保护效果达 100%^[23]。陈宏亮^[24]用重组减毒沙门菌运送 α 毒素 C 末端及 NetB 也能够有效诱导特异性 IgG 抗体及肠道特异性 SIgA 抗体。此外,还有将 α 、 β 2、 ϵ 和 β 1 与 GFP 融合后表达于干酪乳杆菌菌体表面构建多价疫苗等^[25],都为 *Cp* 疫苗的研发提供了必要参考。

4.2 中药在抑制 *Cp* 中的应用

通常情况下,厌氧菌对临床常用的氨基糖苷类、磺胺类药物天然耐药,也可以通过诱导产生酶、基因突变等方式对 β -内酰胺类抗生素产生高水平耐药^[26],从而给 *Cp* 在药物选择中带来一定的局限性。在防控 *Cp* 的策略中,中药因其天然、多功能、无抗药性等已受到广泛关注,其不仅能够有效抑制 *Cp* 的生长且无残留,经济环保。在现有的中药中已证明有 400 多种中药都具有抗菌或抑菌作用,50 多种中药对病毒有杀灭或抑制作用。在先前的研究中用 6 种中药水提物对产气荚膜梭菌进行体外抑菌分析,其中黄芩、黄连的抑菌效果较理想,最小抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC)在 3.9 mg/mL,可以完全抑制 *Cp* 生长^[27]。而在另一项研究中,应用 10 种中药成分组成复方,如黄连、黄柏、黄芩、乌梅散和白头翁汤对 *Cp* 均有不同程度的抑制作用,且黄连、黄柏、乌梅散敏感度更高。而在单味中药中黄连的抑菌效果最好,在此项研究中 MIC 仅为 0.98 mg/mL^[28]。同样,也有利用甘草总黄酮治疗鸡 NE,结果表明肠道病变得明显缓解,炎症因子显著降低^[29]。在利用黄连解毒汤治疗 *Cp* 感染中,中药中含有的有机酸类、多糖类、苷类、生物碱类和挥发油类等物质,能够使机体自身的适应力和免疫功能得到充分发挥和全面调整,进而达到预防疾病的目的。中药和西药各有所长,中西药合用乃至中西药复方制剂的研制与生产,是我国中西药合璧发展的一种重要形式,对寻求有效的抑制 *Cp* 的药物有重大意义。

5 生物防控措施

目前,国内对 NE 的研究主要针对 *Cp* 的病原学和分子流行病学,而对该病的生物防控尚处于起步阶段,国内研究的潜在的抗生素替代品包括益生菌和噬菌体。

5.1 益生菌

拮抗 *Cp* 的益生菌研究表明,芽孢杆菌^[30,31]和乳酸杆

菌^[32,33]等益生菌对 *Cp* 具有潜在的抑制效果,对因抗生素长期使用导致的肠菌群紊乱具有一定的调节和改善作用。益生菌制剂“枯草芽孢杆菌 PB6”与日粮中添加恩拉霉素相比,能显著减轻肉鸡 *Cp* 的感染,提高成活率^[31]。丁酸梭状芽孢杆菌因其产生丁酸也被开发用于抑制肠道中的致病菌,促进肠道中有益菌如双歧杆菌和乳杆菌的生长^[34],2009 年农业部允许将丁酸梭菌作为益生菌添加剂至畜禽的日粮中,如牧丁宝、丁益健等均为以丁酸梭菌作为主成分的益生菌产品,现已用于动物保健及疾病防控。

而在国外,由于抗生素的限制性使用,对 *Cp* 引发 NE 的防控研究给予高度重视。目前对 *Cp* 的防控策略也是使用益生菌,英国、美国、韩国、印度、巴西等国家均有益生菌拮抗 *Cp* 的相关研究。在预防家禽 NE 的商用微生物饲料添加剂产品中使用较多,如美国默沙东动物保健公司的产品 Aviguard®(>200 种益生菌)、美国 Pacific Vet group 公司产品 FloraMax® B-11(11 种乳酸菌与灭活酿酒酵母)、益生菌产品 Finelact™(乳酸菌 *L. reuteri*)、英国 Nimrod 公司的益生菌 BROILACT®(细菌混合物)、新加坡百奥明公司的产品 PoultryStar®(6 种细菌和 1 种益生元)。早在 2004 年,英国一项动物实验研究表明,使用约氏乳酸菌(*Lactobacillus johnsonii*) F19785 有效减少肉鸡体内 *Cp* 数量^[35]。在芽孢杆菌属中,枯草芽孢杆菌是最常用的益生菌,大量实验研究表明,在肉鸡饲料中添加多种枯草芽孢杆菌可以改良肠道菌群,提高生长性能,促进肠道健康,抵制 *Cp* 的感染^[36-38]。而且,有研究表明,混合使用鼠李糖乳杆菌(*Lactobacillus rhamnosus* GG)、布氏酵母菌(*Saccharomyces boulardii*)和抗生素可以有效地预防 *Cp* 相关性腹泻^[39]。由此可见,益生菌已从动物保健逐步发挥着替代抗生素的潜能。

5.2 噬菌体

噬菌体来源于环境,作为一类细菌依赖性病毒,专门侵袭细菌,面对生素残留及细菌耐药现象的频发,噬菌体又成为了新型抗菌制剂的候选。由于其具有自我高效复制、特异针对病原、不影响正常菌群且不产生抗性等特点,目前在国外已有较多成功应用的报道,尤其在治疗多重耐药菌方面有着极大的优势。因此针对 NE 主要病原 *Cp* 因芽孢传播而难以清除等特点,利用噬菌体的特异性裂解优势,抑制并清除 *Cp*,不仅可以预防亦可用于 NE 的治疗。

国内目前针对 *Cp* 噬菌体的相关研究鲜见报道,其作用效果及机制尚不尽清楚,仅有针对 A 型 *Cp* 噬菌体裂解酶 Cp51 重组蛋白抑制 A 型 *Cp* 的报道^[40],但其作用机制及应用范围等均有待进一步研究。针对 *Cp* 噬菌体的生物学特性及体外杀菌效果的基础研究较多,例如, *Cp* 噬菌体 UCP390 和 UCP26F 和 Φ CP90, Φ CP130, Φ CP26F, Φ CP340 在体外抑菌研究表明,这些噬菌体可有有效裂解 *Cp* 菌株^[41,42]。美国噬菌体公司 Intralytix 开发的抗 *Cp* 的噬

菌体产品(INT-401TM)已被FDA授权用于清除活禽养殖中的细菌污染。如Miller等^[42]的研究表明,噬菌体产品INF-401能够有效控制由Cp引起的鸡NE,并且混合噬菌体往往优于单一噬菌体。用不同方式(灌胃、饮水和饲料)连续饲喂 2.5×10^9 PFU 5天,可显著降低NE鸡死亡率,同时还能提高肉鸡体重和饲料转化效率。Heo等^[43]在针对Cp噬菌体研究中发现,将Cp噬菌体P4和P3组成cocktail,并与细菌素结合应用,不仅能够抑制Cp生长,当噬菌体加入后能够协同将Cp完全清除。Kim等^[44]也将商品化噬菌体cocktail [其中包含针对沙门氏菌 *Salmonella* (*Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella cholerasuis*), 金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*), 大肠杆菌(k88, k99及f41)及Cp A及C型噬菌体, CTC Bio, Inc., Korea]与乳酸菌联用,有效提高猪的生长性能。除了噬菌体外,其主要裂解功能的裂解酶也能够同样发挥抑菌作用,针对Cp噬菌体裂解酶的重组表达蛋白产物也能够有效抑制Cp生长。利用约氏乳杆菌体表重组表达Cp噬菌体裂解酶CP25L,将重组乳杆菌与Cp共培养后能够降低Cp的生长性能^[45]。裂解酶LysCPS2来源于Cp噬菌体CPS2,能够耐受高温和高盐环境,并且比噬菌体CPS2裂解范围更广,在体外作用40 min,能够显著降低Cp数量^[46]。然而,相对于益生菌的竞争性定植而言,噬菌体在裂解细菌中发挥的作用方式更为直接,虽然在体内的有效应用还需深入,但其开发前景已得到国际认可,相信在未来的无抗养殖中将发挥巨大潜力。

6 结论

Cp在动物性食品生产和加工中引发安全隐患,误食Cp污染的食品能引发中毒,而在动物养殖环节中,由于Cp耐药性毒力菌株的不断增多以及“禁抗、减抗”的逐步实施,NE发病率势必迅速攀升。目前,在动物养殖中疫苗仍以预防病毒为主,中药治疗效果较缓慢,益生菌在目前无抗养殖中已成为主要防控策略。然而,在规模化养殖环境中益生菌通过竞争性生长降低Cp的定植,而噬菌体将有可能抑制Cp生长从而有效防控NE的发生,并且通过噬菌体cocktail多价效应,其在替代抗生素的生物制品中已成为热点,从而为养殖行业提供新的防控手段,保障动物性食品的质量安全。

参考文献

- [1] Van-Immerseel F, De-Buck J, Pasmans F, et al. *Clostridium perfringens* in poultry: An emerging threat for animal and public health [J]. *Avian Pathol*, 2004, 33(6): 537–549.
- [2] Ellemor DM, Baird RN, Awad MM, et al. Use of genetically manipulated strains of *Clostridium perfringens* reveals that both alpha-toxin and theta-toxin are required for vascular leukostasis to occur in experimental gas gangrene [J]. *Infect Immun*, 1999, 67(9): 4902–4907.
- [3] Parish WE. Necrotic Enteritis in the fowl (*Gallus gallus Domesticus*): I. histopathology of the disease and isolation of a strain of *Clostridium welchii* [J]. *J Comp Pathol Ther*, 1961, 71: 377–393.
- [4] Engström BE, Fermér C, Lindberg A, et al. Molecular typing of isolates of *Clostridium perfringens* from healthy and diseased poultry [J]. *Vet Microbiol*, 2003, 94(3): 225–235.
- [5] Keyburn AL, Sheedy SA, Ford ME, et al. Alpha-toxin of *Clostridium perfringens* is not an essential virulence factor in necrotic enteritis in chicken [J]. *Infect Immun*, 2006, 74(11): 6496–6500.
- [6] Martin TG, Smyth JA. Prevalence of *netB* among some clinical isolates of *Clostridium perfringens* from animals in the United States [J]. *Vet Microbiol*, 2009, 36(1–2): 202–205.
- [7] Wade B, Keyburn AL. The true cost of necrotic enteritis [J]. *World Poultr*, 2015, 31: 16–17.
- [8] Kaldhusdal M, Lovland A. The economical impact of *Clostridium perfringens* is greater than anticipated [J]. *World Poultry*, 2000, 16: 50–51.
- [9] 王艳红, 李昊宇, 韩立君, 等. 肉类熟食中产气荚膜梭菌污染及耐药状况调查[J]. *中国卫生检验杂志*, 2014, 24(10): 2993–2994.
Wang YH, Li HY, Han LJ, et al. Report on *Clostridium perfringens* contaminations and drug tolerance in cooked meat [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2014, 24(10): 2993–2994.
- [10] 钟召兵, 王宁, 孙红华, 等. 规模羊场环境气载产气荚膜梭菌耐药性及其ERIC-PCR分型[J]. *中国动物检疫*, 2018, 35(3): 76–80.
Zhong ZB, Wang N, Sun HH, et al. Study on drug resistance and ERIC-PCR typing of airborne *Clostridium Perfringens* in scaled sheep farms [J]. *Chin Anim Health Inspect*, 2018, 35(3): 76–80.
- [11] Bannam TL, Teng WL, Bulach D, et al. Functional identification of conjugation and replication regions of the tetracycline resistance plasmid pCW3 from *Clostridium perfringens* [J]. *J Bacteriol*, 2006, 188(13): 4942–4951.
- [12] Udhayavel S, Thippichettyalayam-Ramasamy G, Gowthaman V, et al. Occurrence of *Clostridium perfringens* contamination in poultry feed ingredients: Isolation, identification and its antibiotic sensitivity pattern [J]. *Anim Nutr*, 2017, 3(3): 309–312.
- [13] Burdett V. Purification and characterization of Tet (M), a protein that renders ribosomes resistant to tetracycline [J]. *J Biol Chem*, 1991, 266(5): 2872–2877.
- [14] Mwangi S, Timmons J, Fitz-coy S, et al. Characterization of *Clostridium perfringens* recovered from broiler chicken affected by necrotic enteritis [J]. *Poult Sci*, 2018, 98(1): 128–135.
- [15] Abraham LJ, Rood JI. Identification of Tn4451 and Tn4452, chloramphenicol resistance transposons from *Clostridium perfringens* [J]. *J Bacteriol*, 1987, 169(4): 1579–1584.
- [16] Berryman DI, Rood JI. The closely related *ermB-ermAM* genes from *Clostridium perfringens*, *Enterococcus faecalis* (pAM beta 1), and *Streptococcus agalactiae* (pIP501) are flanked by variants of a directly repeated sequence [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1995, 39(8): 1830–1834.
- [17] Soge OO, Meschke JS, No DB, et al. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant coagulase-negative *Staphylococcus spp.* isolated from US West Coast

- public marine beaches [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2009, 64(6): 1148–1155.
- [18] 王光华, 黄生莲, 周继章, 等. 产气荚膜梭菌 ϵ 毒素及其疫苗研究进展 [J]. *动物医学进展*, 2009, 30(5): 73–75.
Wang GH, Huang SL, Zhou JZ, *et al*. Progress on *Clostridium perfringens* epsilon toxin and its vaccine [J]. *Progress Vet Med*, 2009, 30(5): 73–75.
- [19] 柴同杰, 刘文波. 魏氏梭菌毒素疫苗研制及其免疫家兔抗体消长规律 [J]. *中国兽医学报*, 2005, 25(3): 259–262.
Chai RJ, Liu WB. Development of *Clostridium perfringens* toxin vaccine and the law of antibody growth and decline in immunized rabbits [J]. *Chin J Vet Sci*, 2005, 25(3): 259–262.
- [20] 赵立峰. 鹿出血性肠炎疫苗研制及魏氏梭菌 β 毒素基因序列分析[D]. 太谷: 山西农业大学, 2005.
Zhao LF. Preparation of the vaccine against cervus Hemorrhagic enteritis of Shanxi province and nucleotide sequencing of the beta-toxin of *Clostridium perfringens* [D]. Taigu: Shanxi Agricultural University, 2005.
- [21] 张艳, 周庆民, 冯万宇, 等. 产气荚膜梭菌 NetB 毒素基因重组植物乳杆菌疫苗免疫的组织学研究[J]. *中国家禽*, 2018, 40(12): 15–20.
Zhang Y, Zhou QM, Feng WY, *et al*. Histological study of immunized *Lactobacillus plantarum* recombinant vaccine carried NetB toxin gene from *Clostridium perfringens* [J]. *Chin Poult*, 2018, 40(12): 15–20.
- [22] 孙雨, 杨林, 王传彬, 等. 产气荚膜梭菌 α 蛋白的高效可溶性表达与基因工程亚单位疫苗的制备[J]. *中国草食动物科学*, 2017, 37(3): 40–45.
Sun Y, Yang L, Wang CB, *et al*. Efficient and soluble expression of α protein of *Clostridium perfringens* and the preparation of genetic engineering subunit vaccine [J]. *Chin Herbit Sci*, 2017, 37(3): 40–45.
- [23] 杜吉革, 薛麒, 朱真, 等. 产气荚膜梭菌 α 毒素突变体的表达及免疫保护力评价[J]. *中国兽医学报*, 2019, 39(2): 265–280.
Du JG, Xue Q, Zhu Z, *et al*. Expression and protective efficacy of *Clostridium perfringens* α toxin derivative [J]. *Chin J Vet Sci*, 2019, 39(2): 265–280.
- [24] 陈宏亮. 新型沙门菌制剂抗禽坏死性肠炎效果的评价[D]. 吉林: 吉林农业大学, 2017.
Chen HL. Evaluation of novel attenuated *Salmonella* formulation against avian Necrotic enteritis [D]. Jilin: Jilin Agricultural University, 2017.
- [25] 孙刘妹. 产气荚膜梭菌四联外毒素基因 α - β - ϵ - β 1 在重组干酪乳杆菌表达及遗传稳定性分析[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2016.
Sun LM. Expression and genetic stability analysis of α - β - ϵ - β 1 fusion toxin genes of *Clostridium perfringens* in *Lactobacillus casei* [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2016.
- [26] 段凯文, 彭新宇, 郭世宁, 等. 6 种中药对鸡源产气荚膜梭菌的体外抑菌试验[J]. *广东农业科学*, 2011, 12: 107–108.
Duan KW, Peng X, Guo S, *et al*. *In vitro* inhibitory effects of six Chinese herbs on *Clostridium perfringens* from chicken [J]. *Guangdong Agric Sci*, 2011, 12: 107–108.
- [27] 段凯文, 黄小红, 邓海英, 等. 中药及组方对产气荚膜梭菌的体外抑菌作用[J]. *江西畜牧兽医杂志*, 2019, 4: 37–39.
Duan KW, Huang XH, Deng HY, *et al*. *In vitro* inhibition of clostridium perfringens by traditional Chinese medicine and formula [J]. *Jiangxi J Animal Husb Vet Med*, 2019, 4: 37–39.
- [28] 刘宗争, 邓旭明, 王建锋. 甘草总黄酮对鸡产气荚膜梭菌坏死性肠炎的治疗作用[J]. *中国兽医学报*, 2019, 39(4): 716–721.
Liu ZZ, Deng XM, Wang JF. Therapeutic effect of glycyrrhiza flavonoid on necrotic enteritis caused by *Clostridium perfringens* [J]. *Chin J Vet Sci*, 2019, 39(4): 716–721.
- [29] Wu Y, Shao Y, Song, *et al*. Effects of *Bacillus coagulans* supplementation on the growth performance and gut health of broiler chickens with *Clostridium perfringens*-induced necrotic enteritis [J]. *J Anim Sci Biotechnol*, 2018, 9(1): 9.
- [30] 李鑫, 何雅林. 枯草芽孢杆菌 PB6 对肉鸡产气荚膜梭菌的控制效果研究[J]. *四川畜牧兽医*, 2016, 1(305): 30–33.
Li X, He YL. The control effect of *Bacillus subtilis* PB6 against *Clostridium perfringens* on chicken [J]. *Sichuan Anim Vet Sci*, 2016, 1(305): 30–33.
- [31] Cao L, Yang X, Li Z, *et al*. Reduced lesions in chickens with *Clostridium perfringens*-induced necrotic enteritis by *Lactobacillus fermentum* 1.20291 [J]. *Poult Sci*, 2012, 91(12): 3065–3071.
- [32] Li Z, Wang W, Liu D, *et al*. Effects of *Lactobacillus acidophilus* on the growth performance and intestinal health of broilers challenged with *Clostridium perfringens* [J]. *J Anim Sci Biotechnol*, 2018, 91(1): 25.
- [33] 刘砚涵, 宫晓玮, 夏兆飞. 丁酸梭菌在畜禽养殖中的应用[J]. *中国兽医杂志*, 2019, 55(5): 65–67.
Liu YH, Gong XW, Xia ZF. Application of clostridium butyrate in livestock and poultry breeding [J]. *Chin J Vet Med*, 2019, 55(5): 65–67.
- [34] La-Ragione RM, Narbad A, Gasson MJ, *et al*. *In vivo* characterization of *Lactobacillus johnsonii* FI9785 for use as a defined competitive exclusion agent against bacterial pathogens in poultry [J]. *Lett Appl Microbiol*, 2004, 38(3): 197–205.
- [35] Jayaraman S, Das PP, Saini PC, *et al*. Use of *Bacillus Subtilis* PB6 as a potential antibiotic growth promoter replacement in improving performance of broiler birds [J]. *Poult Sci*, 2017, 96(8): 2614–2622.
- [36] Jeong JS, Kim IH. Effect of *Bacillus subtilis* C-3102 spores as a probiotic feed supplement on growth performance, noxious gas emission, and intestinal microflora in broilers [J]. *Poult Sci*, 2014, 93(12): 3097–4103.
- [37] Lin Y, Xu S, Zeng D, *et al*. Disruption in the cecal microbiota of chickens challenged with *Clostridium perfringens* and other factors was alleviated by *Bacillus licheniformis* supplementation [J]. *PLoS ONE*, 2017, 12(8): e0182426.
- [38] Golić N, Veljović K, Popović N, *et al*. *In vitro* and *in vivo* antagonistic activity of new probiotic culture against *Clostridium difficile* and *Clostridium perfringens* [J]. *BMC Microbiol*, 2017, 17(1): 108.
- [39] 吕梦娜, 龙航宇, 王丽梅, 等. A 型产气荚膜梭菌噬菌体裂解酶 Cp51 的原核表达及活性检测[J]. *华北农业大学学报*, 2017, 38(5): 19–23.
Lü M, Long H, Wang L, *et al*. Prokaryotic expression and activity detection of bacteriophage lysin Cp51 against *Clostridium perfringens* type A [J]. *J South Chin Agri Uni*, 2017, 38(5): 19–23.
- [40] Seal BS, Fouts DE, Simmons M, *et al*. *Clostridium perfringens* bacteriophages Φ CP390 and Φ CP26F: genomic organization and proteomic analysis of the virions [J]. *Arch Virol*, 2011, 156(1): 25–35.
- [41] Oakley BB, Talundzic E, Morales CA, *et al*. Comparative genomics of four closely related *Clostridium perfringens* bacteriophages reveals variable evolution among core genes with therapeutic potential [J]. *BMC*

- Genom, 2011, 12(1): 282.
- [42] Miller RW, Skinner EJ, Sulakvelidze A, *et al.* Bacteriophage therapy for control of necrotic enteritis of broiler chickens experimentally infected with *Clostridium perfringens* [J]. Avian Dis, 2010, 54(1): 33–40.
- [43] Heo S, Kim MG, Kwon M, *et al.* Inhibition of *Clostridium perfringens* using bacteriophages and bacteriocin producing strains [J]. Korean J Food Sci Anim Res, 2018, 38(1): 88–98.
- [44] Kim KH, Ingale SL, Kim JS, *et al.* Bacteriophage and probiotics both enhance the performance of growing pigs but bacteriophage are more effective [J]. Anim Feed Sci Technol, 2014, 196: 88–95.
- [45] Gervasi T, Lo-Curto R, Minniti E, *et al.* Application of *Lactobacillus johnsonii* expressing phage endolysin for control of *Clostridium perfringens* [J]. Lett Appl Microbiol, 2014, 59(4): 355–361.
- [46] Ha E, Son B, Ryu S. *Clostridium perfringens* virulent bacteriophage CPS2 and Its thermostable endolysin LysCPS2 [J]. Viruses, 2018, 10(5): 11.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介

张 辉, 博士, 研究员, 主要研究方向为食源性病原菌监测及生物防控。
E-mail: Huiz@jaas.ac.cn

“食物过敏与食品致敏原”专题征稿函

随着科技进步和经济发展, 食品安全性受到越来越多人重视, 食物过敏这一食源性疾病已引起广大食品消费者、生产者和研究者普遍关注。食物过敏在相当程度上影响着过敏人群健康, 食物过敏性疾病的发病率明显上升, 已成为影响人类健康最常见的全球性疾病之一。

鉴于此, 本刊特别策划了“食物过敏与食品致敏原”专题, 由中国农业大学食品科学与营养工程学院车会莲老师担任专题主编, 主要围绕食物过敏的免疫学机制、致敏原的结构与致敏性、致敏原的分析检测与确证、致敏原的致敏性评价以及致敏原的风险评估与风险管理等领域展开讨论, 计划在 2020 年 6~7 月出版。

鉴于您在该领域的成就, 学报主编吴永宁研究员和专题主编车会莲老师特邀请您为本专题撰写稿件, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。综述、实验报告、研究论文均可, 请在 2020 年 5 月 10 日前通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并经审稿合格后优先发表。

同时烦请您帮忙在同事之间转发一下, 谢谢您的参与和支持!

投稿方式(注明 2020 专题: 食物过敏与食品致敏原专题):

网站: www.chinafoodj.com(备注: 投稿请登录食品安全质量检测学报主页-作者登录-注册投稿-投稿选择“2020 专题: 食物过敏与食品致敏原”)

E-mail: jfoodsq@126.com(备注: 2020 专题:食物过敏与食品致敏原专题投稿)

《食品安全质量检测学报》编辑部