

分类号：
学号：20232113013

密级：
单位代码：10759

石河子大学

硕士学位论文



牛源枯草芽孢杆菌分离鉴定及其对小鼠大肠杆菌性腹泻缓解作用的影响

学位申请人	赵洪锋
指导教师	申红 教授 杨华 研究员
申请学位类别	专业硕士
专业名称	农业
研究领域	畜牧
所在学院	动物科技学院

中国·新疆·石河子

2026年6月

分类号：
学号：20232113013

密级：
单位代码：10759

石河子大学

硕士学位论文



牛源枯草芽孢杆菌分离鉴定及其对小鼠大肠杆菌性腹泻缓解作用的影响

学位申请人	赵洪锋
指导教师	申红 教授 杨华 研究员
申请学位类别	专业硕士
专业名称	农业
研究领域	畜牧
所在学院	动物科技学院

中国·新疆·石河子
2026年6月

**Isolation and Identification of Bovine-Derived *Bacillus subtilis* and Its
Alleviating Effect on *Escherichia coli*-Induced Diarrhea in Mice**

Shihezi University

In Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of

Master of Agriculture

By

**Zhao Hong-feng
(Animal Husbandry)**

Dissertation Supervisor: Prof. Shen Hong & Res. Yang Hua

April, 2026
Shihezi, Xinjiang, China

石河子大学学位论文独创性声明及使用授权声明

学位论文独创性声明

本人所提交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名： 赵洪锋

时间： 2026 年 5 月 14 日

使用授权声明

本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名： 赵洪锋

时间： 2026 年 5 月 14 日

导师签名： 申红

时间： 2026 年 5 月 14 日

摘要

目的：为缓解牛养殖中大肠杆菌致犊牛腹泻高发、抗生素防控受限等问题，从健康成年新疆褐牛粪便中分离筛选优良芽孢杆菌菌株，以小鼠为研究对象，系统评价其生物学特性、体内安全性及对大肠杆菌感染性腹泻的缓解效果，为开发绿色饲用微生态制剂提供优质菌种资源与科学依据。

方法：以健康成年新疆褐牛新鲜粪便为试验材料，经热处理富集、平板划线纯化获得疑似芽孢杆菌菌株，以革兰氏染色、溶血性、抗生素敏感性为核心安全指标，通过相关试验完成初筛，通过 16S rRNA 基因测序完成分子生物学鉴定；体外系统测定目标菌株的生长特性、耐高温特性、pH 耐受特性、人工胃肠液耐受能力及体外抑菌活性；选取 40 只 C57BL/6 小鼠随机分为空白对照组 (CON) 及低剂量组 (LG, 1×10^8 CFU/mL XBH-2)、中剂量组 (MG, 1×10^9 CFU/mL XBH-2) 和高剂量组 (HG, 1×10^{10} CFU/mL XBH-2)；连续 21 d 梯度剂量灌胃菌株 XBH-2，结合临床体征观察、免疫器官指数、组织切片 (肠道、肝脏、肾脏) 分析完成菌株体内安全性评价；另选取 50 只 C57BL/6 小鼠，经四联抗生素预处理清除肠道菌群后，随机分为 5 组：分别为空白对照组 (CON)、模型组 (MOD)、低剂量组 (LDP)、中剂量组 (MDP)、高剂量组 (HDP)。除 CON 组外，其余各组均灌胃 1×10^9 CFU/mL 大肠杆菌菌液以构建腹泻模型；LDP、MDP、HDP 组分别灌胃 1×10^8 CFU/mL、 5×10^8 CFU/mL、 1×10^9 CFU/mL 的枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) XBH-2，通过临床症状观察、血清生化检测、结肠炎症因子水平测定、肠道组织形态学分析及盲肠菌群 16S rRNA 高通量测序，系统评价目标菌株对大肠杆菌性腹泻的缓解作用。

结果：

试验一：芽孢杆菌分离鉴定及筛选 从健康新疆褐牛新鲜粪便中经热处理富集和平板划线纯化，用抗生素敏感性试验筛选 3 株呈 γ 溶血特征且革兰氏染色均为阳性的疑似芽孢杆菌，获得 1 株无溶血特性且无耐药表型的菌株，命名为 XBH-2。16S rRNA 基因扩增、序列比对及系统发育分析鉴定 XBH-2 菌株为枯草芽孢杆菌。

试验二：菌株生物学特性及小鼠安全性试验 XBH-2 在 4~16 h 进入对数生长期，耐高温 (60 °C、70 °C 处理 60 min 存活率 >95%，80 °C 处理 60 min 存活率 51.5%)、耐胃肠液 (pH 3.0 人工胃液 3 h 存活率 63.98%，含 0.3% 胆盐人工肠液 3 h 存活率 49.32%)，对大肠杆菌和鼠伤寒沙门氏菌具有体外抑菌活性；小鼠 21 d 灌胃试验中，各剂量组小鼠生长状态正常，免疫器官指数、肠道组织形态与 CON 组无显著差异 ($P > 0.05$)，肝、肾组织无明显病理改变，安全性良好。

试验三：枯草芽孢杆菌 XBH-2 对腹泻小鼠缓解作用的影响 以 1×10^9 CFU/mL 为最佳感染剂量，成功构建大肠杆菌性小鼠腹泻模型；与 MOD 组相比，不同剂量的 XBH-2 菌株组均能降低血清 ALT 水平 ($P < 0.01$)，MDP、HDP 组能够升高 TP、Alb 水平 ($P < 0.01$)，各剂量组均能显著下调结肠的 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、IFN- γ 及 SIgA 的水平 ($P < 0.01$)，其中，HDP 组效果优于其它试验组；MDP 组小鼠的回肠、十二指肠的 V/C 值高于 MOD 组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)，而 HDP 组十二指肠

的 V/C 值升高 ($P<0.05$)；

盲肠菌群分析结果显示，与 MOD 组相比，在门水平上，MDP、HDP 组厚壁菌门(*Bacillota*)、疣微菌门(*Verrucomicrobiia*)等有益菌丰度显著升高($P<0.05$)；科水平上，LDP、MDP 组致病菌核心菌科—肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)相对丰度极显著升高($P<0.01$)，仅 HDP 组可改善致病菌富集趋势；属水平上，LDP、MDP 组肠杆菌属(*Enterobacteriaceae*)、克雷伯菌属(*Klebsiella*)、埃希氏菌-志贺氏菌属(*Escherichia-Shigella*)等致病菌丰度显著升高($P<0.05$)，HDP 组可显著降低埃希氏菌-志贺氏菌属(*Escherichia-Shigella*)等有害菌丰度($P<0.05$)，同时显著富集阿克曼氏菌属(*Akkermansia*)、杜氏菌属(*Dubosiella*)等有益菌属，其丰度显著优于其他各组($P<0.05$)。

结论：枯草芽孢杆菌 XBH-2 兼具优良的生物学特性、体外抑菌活性与体内安全性，可有效缓解大肠杆菌诱导的小鼠感染性腹泻，修复肠道黏膜损伤、重塑肠道菌群稳态，是一株理想的饲用益生菌候选菌株，可为犊牛细菌性腹泻的绿色防控及新型微生态制剂开发提供优质菌种资源。

关键词：枯草芽孢杆菌；大肠杆菌；腹泻；肠道菌群；牛源益生菌

Abstract

Objective:To alleviate the problems of high incidence of *Escherichia coli*-induced calf diarrhea and limited antibiotic control in cattle farming, superior *Bacillus* strains were isolated and screened from feces of healthy adult Xinjiang Brown Cattle. The biological characteristics, *in vivo* safety and alleviative effect of the strain on *Escherichia coli*-induced infectious diarrhea were systematically evaluated in mice. This study provides high-quality strain resources and scientific basis for the development of green feed microecological preparations.

Methods:Fresh feces from healthy adult Xinjiang brown cattle were used as experimental materials. Heat treatment enrichment and streak plate purification were performed to obtain suspected *Bacillus* strains. Preliminary screening was conducted using Gram staining, hemolysis, and antibiotic susceptibility as core safety indicators, and molecular biological identification was completed via 16S rRNA gene sequencing. The growth characteristics, high temperature tolerance, pH tolerance, artificial gastrointestinal fluid tolerance, and *in vitro* antibacterial activity of the target strain were systematically determined *in vitro*. Forty C57BL/6 mice were randomly divided into a blank control group (CON), a low-dose group (LG, 1×10^8 CFU/mL XBH-2), a medium-dose group (MG, 1×10^9 CFU/mL XBH-2), and a high-dose group (HG, 1×10^{10} CFU/mL XBH-2). Strain XBH-2 was administered by gavage at gradient doses for 21 consecutive days, and the *in vivo* safety of the strain was evaluated through clinical sign observation, immune organ index determination, and histological section analysis (intestine, liver, kidney). Another 50 C57BL/6 mice were pretreated with quadruple antibiotics to clear the intestinal flora and then randomly divided into 5 groups: blank control group (CON), model group (MOD), low-dose treatment group (LDP), medium-dose treatment group (MDP), and high-dose treatment group (HDP). Except for the CON group, all other groups were gavaged with 1×10^9 CFU/mL *Escherichia coli* bacterial suspension to establish a diarrhea model. The LDP, MDP, and HDP groups were gavaged with *Bacillus subtilis* XBH-2 at concentrations of 1×10^8 CFU/mL, 5×10^8 CFU/mL, and 1×10^9 CFU/mL, respectively. The alleviating effect of the target strain on *E. coli*-induced diarrhea was systematically evaluated through clinical symptom observation, serum biochemical detection, colonic inflammatory factor level determination, intestinal histomorphological analysis, and 16S rRNA high-throughput sequencing of cecal flora.

Results:

Experiment 1: Isolation, Identification and Screening of *Bacillus* Strains Fresh feces of healthy Xinjiang Brown Cattle were used as the material, and suspected *Bacillus* strains were obtained through heat treatment enrichment and streak plate purification. Three suspected *Bacillus* strains with γ -hemolysis characteristic and Gram-positive staining were screened via antibiotic susceptibility test, from which one strain with non-hemolytic property and no drug resistance phenotype was obtained and named XBH-2. The

strain XBH-2 was identified as *Bacillus subtilis* through 16S rRNA gene amplification, sequence alignment and phylogenetic analysis.

Experiment 2: Biological Characteristics of the Strain and Safety Test in Mice Strain XBH-2 entered the logarithmic growth phase at 4–16 h. It exhibited excellent high temperature resistance (survival rate >95% after treatment at 60 °C and 70 °C for 60 min, and 51.5% survival rate after treatment at 80 °C for 60 min), favorable gastrointestinal fluid tolerance (63.98% survival rate after 3 h treatment in artificial gastric juice at pH 3.0, and 49.32% survival rate after 3 h treatment in artificial intestinal juice containing 0.3% bile salt), and favorable in vitro antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. In the 21-day mouse intragastric administration test, mice in all dose groups showed normal growth status, with no significant differences in immune organ index and intestinal tissue morphology compared with the blank control group (CON) ($P>0.05$), and no obvious pathological changes were observed in liver and kidney tissues, indicating the strain has good in vivo safety.

Experiment 3: Effects of *Bacillus subtilis* XBH-2 on alleviating diarrhea in mice The optimal infection dose of 1×10^9 CFU/mL was used to successfully establish a mouse diarrhea model induced by *Escherichia coli*. Compared with the MOD group, all different doses of *B. subtilis* XBH-2 groups decreased serum ALT levels ($P<0.01$). The MDP and HDP groups increased TP and Alb levels ($P<0.01$). All dose groups significantly downregulated the colonic levels of IL-6, IL-1 β , TNF- α , IFN- γ , and SIgA ($P<0.01$), and the HDP group showed the best effects among all treatment groups. The V/C ratios in the ileum and duodenum of the MDP group were higher than those in the MOD group ($P<0.05$ or $P<0.01$), while the HDP group showed an increased V/C ratio in the duodenum ($P<0.05$).

Cecal microbiota analysis revealed that, compared with the MOD group, at the phylum level, the relative abundances of beneficial phyla such as *Bacillota* and *Verrucomicrobiota* were significantly increased in the MDP and HDP groups ($P<0.05$); at the family level, the relative abundance of the core pathogenic bacterial family *Enterobacteriaceae* was extremely significantly elevated in the LDP and MDP groups ($P<0.01$), and only the HDP group reversed the enrichment trend of pathogenic bacteria; at the genus level, the abundances of pathogenic genera including *Enterobacter*, *Klebsiella* and *Escherichia-Shigella* were significantly increased in the LDP and MDP groups ($P<0.05$), while the HDP group significantly reduced the abundance of harmful bacteria such as *Escherichia-Shigella* ($P<0.05$) and simultaneously significantly enriched beneficial genera such as *Akkermansia* and *Dubosiella*, whose abundances were significantly higher than those in all other groups ($P<0.05$).

Conclusion: *Bacillus subtilis* XBH-2 has excellent biological characteristics, in vitro antibacterial activity and in vivo safety. It can effectively alleviate *Escherichia coli*-induced infectious diarrhea in mice, repair intestinal mucosal damage and reshape intestinal microbial homeostasis. As an ideal candidate

probiotic strain for feed application, it provides high-quality microbial resources for the green prevention and control of bacterial diarrhea in calves and the development of new microecological preparations.

Key words: *Bacillus Subtilis*; *Escherichia Coli*; Diarrhea; Intestinal microflora; Bovine-derived probiotics

缩略词

缩略词	英文全称	中文全称
ALT	Alanine Aminotransferase	丙氨酸氨基转移酶
Alb	Albumin	白蛋白
CFU	Colony-Forming Unit	菌落形成单位
DNA	Deoxyribonucleic Acid	脱氧核糖核酸
EFSA	European Food Safety Authority	欧洲食品安全局
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay	酶联免疫吸附测定
ETEC	Enterotoxigenic Escherichia coli	产肠毒素性大肠杆菌
HE	Hematoxylin-Eosin Staining	苏木精-伊红染色
IFN- γ	Interferon-gamma	γ -干扰素
IL-1 β	Interleukin-1 β	白细胞介素-1 β
IL-6	Interleukin-6	白细胞介素-6
K-B	Kirby-Bauer Method	纸片扩散法
MH	Mueller-Hinton Agar	Mueller-Hinton 琼脂
OD	Optical Density	光密度
OTU	Operational Taxonomic Unit	操作分类单元
PBS	Phosphate Buffered Saline	磷酸盐缓冲液
PCR	Polymerase Chain Reaction	聚合酶链式反应
rRNA	Ribosomal RNA	核糖体核糖核酸
SIgA	Secretory Immunoglobulin A	分泌型免疫球蛋白 A
TP	Total Protein	总蛋白

目录

摘要.....	I
Abstract.....	III
缩略词.....	VI
第1章 绪论.....	1
1.1 研究目的和意义.....	1
1.2 国内外研究现状.....	2
1.2.1 牛养殖产业现状.....	2
1.2.2 大肠杆菌感染相关研究.....	3
1.2.3 益生菌及其在畜牧业中的应用研究.....	5
1.2.4 芽孢杆菌益生特性及肠道调控研究.....	6
1.3 小鼠大肠杆菌性腹泻模型的建立和应用.....	8
1.4 研究内容与技术路线.....	9
1.4.1 研究内容.....	9
1.4.2 技术路线.....	10
第2章 试验研究.....	11
试验一 芽孢杆菌的分离鉴定及筛选.....	11
2.1 材料与方法.....	12
2.1.1 试验材料.....	12
2.1.2 试验仪器.....	12
2.1.3 试验方法.....	13
2.2 结果与分析.....	14
2.2.1 芽孢杆菌分离纯化及溶血性初筛.....	14
2.2.2 芽孢杆菌革兰氏染色.....	15
2.2.3 芽孢杆菌抗生素敏感性.....	15
2.2.4 芽孢杆菌分子生物学鉴定.....	16
2.3 讨论.....	17
2.4 小结.....	17
试验二 枯草芽孢杆菌 XBH-2 的生物学特性及对小鼠安全性试验.....	19
2.5 材料与方法.....	20

2.5.1 试验菌株	20
2.5.2 试验试剂和仪器	20
2.5.3 试验方法	20
2.5.4 数据统计与分析	22
2.6 结果与分析	22
2.6.1 枯草芽孢杆菌 XBH-2 的生长曲线	22
2.6.2 枯草芽孢杆菌 XBH-2 耐高温特性	23
2.6.3 枯草芽孢杆菌 XBH-2 的 pH 耐受性	23
2.6.4 枯草芽孢杆菌 XBH-2 的人工胃肠液耐受特性	24
2.6.5 枯草芽孢杆菌 XBH-2 的体外抑菌特性	24
2.6.6 枯草芽孢杆菌 XBH-2 体内安全性试验	25
2.7 讨论	27
2.8 小结	27
试验三 枯草芽孢杆菌 XBH-2 对小鼠大肠杆菌性腹泻缓解作用的影响	29
2.9 材料与方法	29
2.9.1 试剂和仪器	29
2.9.2 试验动物	30
2.9.3 试验方法	30
2.9.4 数据统计与分析	33
2.10 结果与分析	33
2.10.1 腹泻小鼠的临床症状	33
2.10.2 XBH-2 对腹泻小鼠免疫器官指数的影响	33
2.10.3 XBH-2 对腹泻小鼠血清生化指标的影响	34
2.10.4 XBH-2 对腹泻小鼠结肠炎症与免疫因子的影响	34
2.10.5 XBH-2 对腹泻小鼠肠道绒毛长度与隐窝深度的影响	35
2.10.6 XBH-2 对腹泻小鼠盲肠菌群结构的影响	35
2.11 讨论	40
2.11.1 XBH-2 菌株对腹泻小鼠临床症状及系统性损伤的改善作用	40
2.11.2 XBH-2 菌株对腹泻小鼠肠道免疫效果的影响	41
2.11.3 XBH-2 菌株对腹泻小鼠肠道菌群作用	42
2.12 小结	46
第 3 章 结论	47
第 4 章 创新点	48
参考文献	49

致谢	59
作者简介	60

第1章 绪论

1.1 研究目的和意义

大肠杆菌是引发牛多种细菌性疾病的重要病原体，尤其对新生犊牛腹泻危害严重，不仅造成较高的发病率和死亡率，还会影响后续生长性能，给养牛业带来显著的经济损失^[1,2]。

目前针对大肠杆菌感染的防控主要依赖抗生素，但随着耐药性问题日益突出，传统治疗手段的效果不断下降^[3]，开发安全有效的替代方案已成为行业关注的焦点。芽孢杆菌因其良好的抗逆性和多重益生功能，被认为是最具应用潜力的益生菌之一^[4]，但其益生效果存在明显的菌株特异性^[5]，从健康新疆褐牛粪便中分离同源芽孢杆菌具备更好的胃肠道适应能力和安全性保障，但目前关于从该来源筛选芽孢杆菌并开展系统性研究的工作仍相对较少。

犊牛作为大型经济动物，开展临床试验存在周期长、成本高、个体差异大、伦理约束多等诸多局限，难以实现标准化控制与大规模候选益生菌的快速筛选验证，无法满足实验室机制研究的要求。小鼠作为疾病病因学、病理学及干预措施研究的经典模式动物，被公认为探究疾病发生发展规律与防治效果的重要工具。相较于犊牛等反刍动物，小鼠具有饲养成本低、操作简便、个体差异小、繁殖能力强、试验条件易控制、适合标准化管理等显著优势，其肠道生理结构、黏膜屏障及免疫调控机制与幼龄反刍动物具有较高相似性，是研究犊牛细菌性腹泻发病机制与评价益生菌效果的理想试验动物，已被广泛应用于相关病原与功能菌株的评价研究。小鼠感染致病性大肠杆菌后，其肠道病理损伤、炎性因子变化及菌群紊乱规律与犊牛高度相近，便于系统观察腹泻发生过程与致病机制，可为研发防控犊牛大肠杆菌性腹泻的新型微生态制剂提供可靠研究基础。

基于此，本研究以健康成年新疆褐牛新鲜粪便为材料，分离筛选优良芽孢杆菌菌株，先通过体外试验系统评价其生物学特性与抑菌活性，再以小鼠为研究对象验证其体内应用安全性及对大肠杆菌感染性腹泻的缓解效果。

本研究旨在通过标准化小鼠模型快速完成优质菌株的筛选与功能验证，明确其益生潜力与安全剂量范围，为后续开展犊牛体内临床试验、优化微生态制剂配方提供科学依据，最终为新疆褐牛源益生菌资源的挖掘利用及抗腹泻绿色饲用微生态制剂的开发奠定坚实的菌种基础与实验支撑。

1.2 国内外研究现状

1.2.1 牛养殖产业现状

1.2.1.1 集约化养殖牛腹泻困境

我国牛养殖产业规模化、集约化水平快速提升，新疆作为全国重要的牛养殖与良种繁育基地，牛存栏与出栏量常年位居全国前列，标准化养殖已成为主流模式。集约化养殖在提升生产效率的同时，也带来了突出的疫病防控难题，幼龄犊牛消化道疾病高发成为制约产业健康发展的核心问题。

规模化牛场中 0~60 日龄犊牛腹泻发病率高达 25%~60%，细菌性病原（以致病性大肠杆菌为主）占腹泻总数的 60%~75%，病死率可达 10%~40%。患病犊牛即便存活，也会出现日增重下降、出栏延迟、养殖成本大幅增加等问题，给牛场造成严重经济损失。

1.2.1.2 多病原混合感染的协同致病机制

犊牛腹泻病例多为多种病原交织作用，病毒性病原通常是腹泻的“始动因子”，会特异性感染肠道绒毛顶部的成熟上皮细胞，造成黏膜屏障损伤^[6]。

在病毒损伤黏膜屏障后，肠道内原有的致病性大肠杆菌、沙门氏菌、产气荚膜梭菌等细菌会迅速增殖，引发继发性细菌感染^[7]。病原学鉴定结果显示，犊牛腹泻病例中大肠杆菌检出率高达 65%~80%，其中肠产毒性大肠杆菌（ETEC）占比约 40%~60%，是继发感染中最主要的病原菌。ETEC 通过菌毛黏附素定植于小肠上皮细胞，分泌热不稳定毒素（LT）和/或热稳定毒素（ST）^[8]，激活腺苷酸环化酶或鸟苷酸环化酶，导致氯离子通道开放、水和电解质大量分泌进入肠腔，引发严重的分泌性腹泻。

沙门氏菌是另一种重要的继发感染病原。沙门氏菌病在我国北方规模化牛场尤为猖獗^[9]，牛群感染率 10%~30%，犊牛病死率 20%~50%。该菌能产生内毒素和外毒素，侵袭肠黏膜上皮细胞和固有层吞噬细胞，引发严重的炎症反应和组织坏死^[10]。受感染牛只出现高热（40~42℃）、带血的恶臭稀便及严重脱水^[11]。更为严重的是，一旦肠黏膜损伤跨越临界点，沙门氏菌可穿越肠屏障进入血液循环，引发败血症，并进一步扩散至脑、肺、关节及子宫，导致怀孕母牛流产（流产率 15%~25%），造成核心种群的不可逆损失^[12]。

1.2.1.3 细菌耐药性

抗生素在牛养殖中的长期、大量使用，导致细菌耐药性问题日益严峻^[13-15]。国内多省市监测结果显示，牛源致病性大肠杆菌对四环素、氨苄西林、磺胺嘧啶、链霉素等常用药物的耐药率分别达 65%~85%、55%~75%、50%~70%和 45%~65%。多重耐药菌株（同时对 3 类及以上抗生素耐药）的比例已超过 45%，部分地区的牛场甚至检出对头孢

噻唑、氟苯尼考等临床备用药物耐药的菌株^[14,16,17]。

耐药基因在养殖环境中的传播进一步加剧了防控难度^[18-20]。研究表明, 牛场粪便、污水、土壤等环境样品中可检出 β -内酰胺酶基因、四环素耐药基因、磺胺耐药基因等多种耐药基因^[21], 这些基因可通过质粒、转座子等可移动遗传元件在不同菌株甚至不同菌种之间水平转移, 加速耐药性扩散^[14,15]。耐药性上升直接导致传统抗生素治疗失败率显著增加, 经验性抗生素治疗的有效率已从 10 年前的 80% 以上下降至目前的 50% 以下, 部分牛场甚至出现无药可用的困境^[22]。这一现状迫使养殖业必须寻求益生菌等绿色替代技术, 成为犊牛大肠杆菌性腹泻防控的必然趋势。

1.2.2 大肠杆菌感染相关研究

1.2.2.1 大肠杆菌感染疾病类型研究现状

大肠杆菌是畜禽养殖中最重要的条件性病原菌之一, 由其引起的疾病十分常见。根据感染部位和致病机制的不同, 通常将其分为肠道感染和肠外感染两大类^[23]。

肠道感染主要是由产肠毒素性大肠杆菌 (*enterotoxigenic Escherichia coli*, ETEC) 引起, 该菌是导致幼龄动物腹泻的最主要病原。在仔猪、犊牛、羔羊等新生动物中^[24-27], 感染后往往表现为急性水样腹泻、脱水、酸中毒, 严重时可在数日内死亡^[28]。在未采取有效干预措施的犊牛群中^[29,30], 大肠杆菌性腹泻的发病率可达 30% 以上, 死亡率也居高不下。产志贺毒素大肠杆菌 (*Shiga toxin-producing Escherichia coli*, STEC) 则可引起出血性肠炎, 临床表现为腹泻带血、腹痛, 严重病例可发展为溶血性尿毒综合征。这类感染在幼龄动物中危害极大, 是造成养殖业早期死亡率居高不下的重要原因之一。

肠外感染涉及更为复杂的临床表现。大肠杆菌可突破肠道屏障进入血液循环, 引发败血症, 尤其在新生动物中病情凶险, 常因多器官功能衰竭而死亡^[26]。此外, 该菌还可引起脑膜炎、肺炎、子宫内膜炎、乳房炎以及泌尿系统感染等^[31]。

大肠杆菌感染所致疾病的类型、流行病学特征及其危害已有较为系统的认识, 但在不同地区、不同养殖模式下, 优势菌型、流行特点仍存在差异, 这为后续防控工作的精准化提出了更高要求。

1.2.2.2 大肠杆菌致病机制研究进展

随着分子生物学和基因组学技术的发展, 对致病性大肠杆菌的毒力因子、致病通路以及与宿主相互作用的认识不断深化。黏附和定植是感染发生的首要环节^[32,33]。大肠杆菌通过菌毛或非菌毛黏附素识别并附着于宿主细胞表面, 抵抗肠道蠕动等物理清除机制^[34,35]。不同菌株携带的菌毛类型决定了其组织特异性, 例如 K99 菌毛常见于牛源菌株, 而 K88 菌毛则多见于猪源菌株^[35]。同时缺失菌毛和某些非菌毛黏附素的突变株, 其定植能力显著下降, 表明黏附系统存在功能互补^[35]。毒素的产生是造成组织损伤的直接原因。