

國立嘉義大學獸醫學院獸醫系

產學合作計畫結案報告

計畫名稱：產品抗菌評估實驗

計畫委託單位：鈺民有限公司

計畫期間：2019年9月至2020年12月

計畫主持人：郭鴻志教授



試驗目的

依據畜牧場所分離之病原性細菌進行產品敏感性試驗並進行商品療效之統整評估，針對欲試產品進行細菌最小抑制濃度檢測並建立該產品抗菌基本資料，針對目標細菌-豬赤痢短螺旋體 *Brachyspira hyodysenteriae* 共 38 株進行試驗。從送檢病例或牧場中進行致病性細菌分離，將分離出的細菌經純化及鑑定後再進行產品敏感性試驗，找出產品針對不同來源之豬赤痢短螺旋體具有殺菌或抑菌之適用的濃度。

材料與方法

1. 實驗材料

- A. 試驗產品 (由立欣有限公司提供)
- B. 培養基：Blood agar (含 blood agar base、5%脫纖維綿羊血及稀釋之欲試驗產品)
- C. 菌株：*Brachyspira hyodysenteriae* 田間分離株共 38 株，及試驗品質管控之標準菌株 *B. hyodysenteriae* ATCC 27164^T。

2. 實驗流程

將該產品以兩倍稀釋連續稀釋成 8 種不同濃度，4,000 mg/L 為最高濃度，最低濃度為 31.25mg/L。敏感性試驗如下：

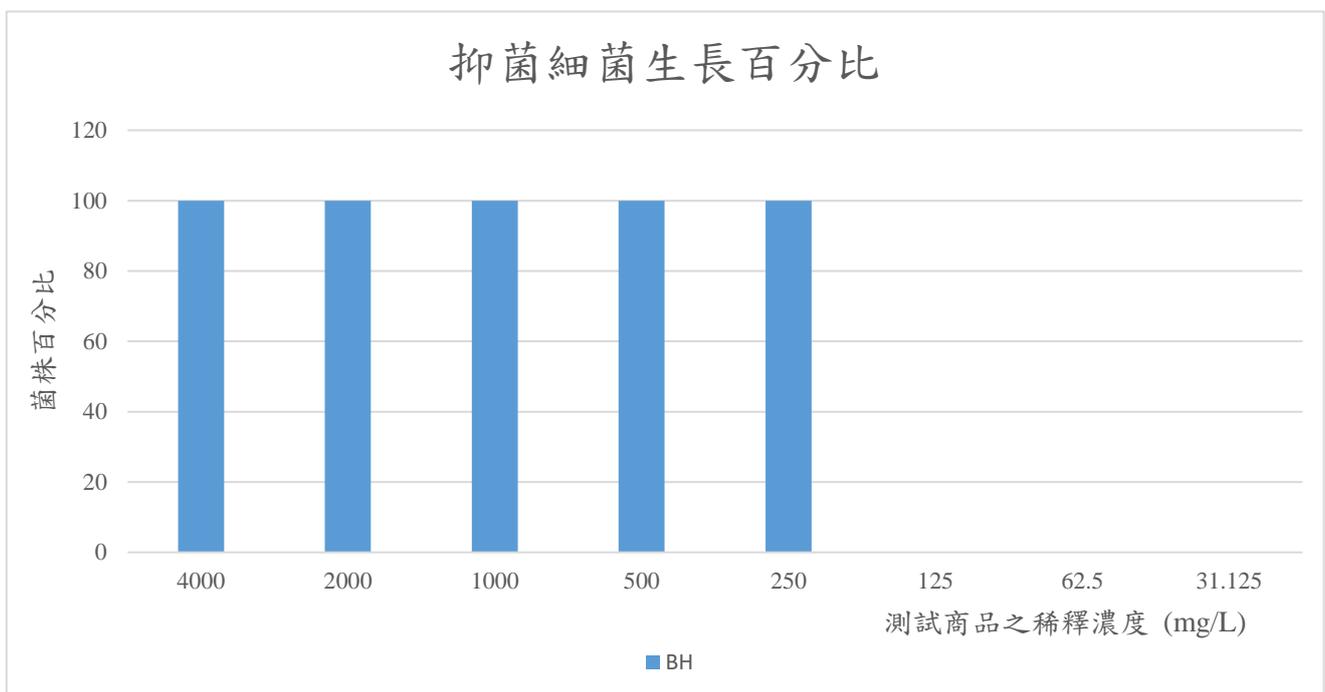
- A. 將現場病例所分離且經鑑定過的 *Brachyspira hyodysenteriae* 菌株依據美國臨床和實驗室標準化單位 (Clinical & Laboratory Standards Institute; CLSI) 對厭氧性細菌之標準操作方法進行 MIC 試驗 [CLSI, 2014]，使用瓊脂稀釋法以連續兩倍稀釋法稀釋欲試驗產品。將上述藥物與 5% DSB-TSA 均勻混合後，待培養基凝固進行細菌接種。

B. 將待測菌株於試驗前重新繼代，以 5% DSB-TSA 置於 37 °C 厭氧環境下培養 96 小時進行增菌，以無菌操作方式切取增菌後的培養基約 1 gm，置入含無菌玻璃珠及 3 mL BHIB 的均質瓶中進行均質化 [Clothier *et al.*, 2011]，之後將菌液接種至製備完成的已含欲試驗商品之培養基上，並培養於 37°C 厭氧環境中 96 小時後進行判讀。

結果

將試驗產品以連續兩倍稀釋獲得 8 種濃度，最高濃度為 4,000 ppm，最低濃度為 31.25 ppm。實驗結果：*Brachyspira hyodysenteriae* 其 MIC₅₀ 及 MIC₉₀ 皆為 250 ppm (圖一)。

圖一. 試驗產品對 *Brachyspira hyodysenteriae* 之最小抑制濃度



討論

藉由標準最小抑制濃度試驗，將該產品之抑菌效力進行定量分析。根據實驗結果，於 250 ppm 劑量下可有效抑制所有由田間所分離之致病性 BH 菌株，但由於本產品藥物動力學及機制未知，無法排除其他干擾因素，若能進行體外試驗或是針對田間豬隻進行體內試驗以做評估，可獲得更多的臨床參考依據。

參考文獻

- Clothier KA, Kinyon JM, Frana TS, Naberhaus N, Bower L, Strait EL, Schwartz K. Species characterization and minimum inhibitory concentration patterns of *Brachyspira* species isolates from swine with clinical disease. J Vet Diagn Invest 23: 1140-1145, 2011.
- Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacterial isolated from animals approved standard M31-A2. NCCLS, Wayne, PA. USA, 2014.