

中药制剂对仔猪大肠杆菌性腹泻的治疗效果

赵坤 刘兴友 李培庆 王三虎 李军民 刘丽艳 梁美兰 (河南科技学院, 河南新乡 453003)

摘要 根据中兽医学理论和中医药理论在现代医学上的应用,以石膏、滑石、白头翁、苍术等组方制成中药制剂,药敏试验结果表明:该制剂对所分离大肠杆菌高度敏感(100%);对比及区域性治疗试验结果表明:其对仔猪黄白痢最高治愈率达96.3%,平均为94.6%。

关键词 中药制剂;猪大肠杆菌病;治疗试验;黄痢;白痢

中图分类号 S858.28 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2006)11-2408-02

产肠毒素性大肠杆菌(ETEC)是引起仔猪大肠杆菌性腹泻的主要病原,ETEC能借黏附因子的帮助黏附于小肠黏膜表面生长繁殖,同时产生耐热肠毒素(ST)或不耐热肠毒素(LT),引起肠道分泌增加,促使大量液体积聚于回肠中而出现腹泻^[1]。仔猪大肠杆菌性腹泻主要表现为仔猪黄痢和白痢,病原以O₈、O₄₅、O₆₀、O₁₀₁、O₁₁₅、O₁₃₈、O₁₃₉、O₁₄₁、O₁₄₉、O₁₄₇等群E.coli较为常见,多数具有K₈₈(L)表面抗原,能产生肠毒素,对养猪业的危害极大。近年来,由于抗菌药物的滥用,致使耐药菌株大量产生,临床上常用的庆大霉素、氯霉素、土霉素、诺氟沙星、恩诺沙星等药物的疗效也日益降低。为此,自1997年以来,笔者经过8次组方、试验、调整,最后以石膏、滑石、白头翁、苍术等制成中药制剂,试用于临床对仔猪大肠杆菌性腹泻的治疗,效果显著。

1 材料与方

1.1 病料的采集 无菌采集黄、白痢仔猪的粪便或病死仔猪肠内容物样品365份,涂片,革兰氏染色,镜检。

1.2 病原分离 每份取每批次所采集病料0.5g,加适量稀释液(KH₂PO₄ 4.5g + Na₂HPO₄ 6g + L-半胱氨酸0.5g + 琼脂1.0g + 吐温80 0.5g + 蒸馏水1000ml,灭菌)研磨,稀释10倍后过滤,离心,取上清液接种于普通琼脂平板上,37℃培养24h后,挑取隆起、光滑、湿润、半透明、边缘整齐的灰白色圆形菌落,分别接种于麦康凯琼脂、三糖铁、远藤氏琼脂、S-S琼脂、绵羊鲜血琼脂、伊红美兰琼脂和普通肉汤上,37℃培养24h后,挑取菌落涂片,革兰氏染色,镜检。

1.3 生化试验及血清型鉴定 生化试验按文献介绍方法进行^[2]。大肠杆菌“O”型单价阳性血清购于中国兽医药品监察所,用于鉴定大肠杆菌“O”型血清型。使用时按使用说明书配制和测定。

1.4 动物试验 肉汤培养物腹腔接种于10只健康小白鼠,每只0.2ml,小白鼠死后,无菌取心血分离细菌,涂片,革兰氏染色,镜检^[3]。

1.5 中药制剂 中药制剂由河南职业技术学院中兽医教研室大肠杆菌病课题组研制,主要由石膏、滑石、白头翁、苍术等11味中药组成,有散剂和针剂2种剂型,注射液呈淡棕色,2.5ml安瓿装,1ml注射液相当于1g原药(以下称“中药注射液”)。

1.6 药敏试验

1.6.1 药敏纸片:购自杭州市微生物试剂有限公司。所选药物有庆大霉素、丁胺卡那霉素、诺氟沙星、恩诺沙星、土霉素、氯霉素、氨苄青霉素等。

1.6.2 药敏试验用培养基:MH培养基(批号20021111)、营养肉汤(批号20020703)、营养琼脂(批号20030122)等干燥培养基及新鲜血平板,均由杭州市微生物试剂有限公司生产。

1.6.3 药敏试验方法:按世界卫生组织(WHO)推荐的Kirby-Bauer氏法进行。在普通营养琼脂平板上挑取典型菌落1个接种于5ml营养肉汤管中,37℃培养16h,用无菌棉拭子蘸取含菌培养液,于管壁挤去多余液体,在MH平板培养基上均匀涂布,盖上平皿盖,在室温下放置20min,用无菌眼科镊子将药敏纸片轻轻紧贴于平板上,37℃培养16~18h后,观察结果并测量抑菌圈直径。

1.6.4 判定标准:抑菌环>15mm为高敏;10~15mm为中敏;<10mm为不敏感(耐药),以“-”表示。

1.7 试验性对比治疗试验 对于临床收治的1086头黄、白痢患猪,分别给以庆大霉素、丁胺卡那霉素、诺氟沙星、土霉素、氯霉素和中药注射液药物,进行对比治疗试验^[4]。

1.8 区域性治疗试验 在河南省北部8个养猪密集的地区,对以发病日龄为1~3d,腹泻,排黄、黄白或乳白色糊状稀粪为主要临床特征的病仔猪进行治疗。中药注射液,1ml/kg体重,1次/d,连用3d。

2 结果与分析

2.1 染色镜检及鉴别培养 镜下观察,该菌为两端略显钝圆的短小杆菌,单个或成对存在,两极着色较深,革兰氏染色阴性。在鉴别培养基上的生长情况见表1。

表1 供试菌在各种培养基上的生长情况

培养基	培养特性
麦康凯琼脂	红色菌落
三糖铁	底部产酸产气,斜面变黄,H ₂ S阴性
远藤氏琼脂	红色菌落
S-S琼脂	红色菌落
绵羊鲜血琼脂	溶血
伊红美兰琼脂	紫黑色带金属光泽的菌落

2.2 生化试验及血清型鉴定(表2) 该菌可发酵葡萄糖、麦芽糖、乳糖、鼠李糖、甘露醇,产酸产气;吲哚试验和M.R.试验呈阳性,枸橼酸盐利用试验和V.P.试验呈阴性。共检出10株大肠杆菌,其血清型分别为O₈、O₉、O₄₅、O₆₀、O₁₀₁、O₁₁₅、O₁₃₈、O₁₃₉、O₁₄₁、O₁₄₉。

基金项目 河南省自然科学基金项目(0511031600)。

作者简介 赵坤(1968-),男,河南南阳人,硕士,副教授,从事动物疫病控制及病原学的教学与研究工作。

收稿日期 2006-03-21

表2 106株细菌的生化特性

试验内容	生化特性
葡萄糖	产酸产气100%(106/106)
麦芽糖	产酸产气100%(106/106)
乳糖	产酸产气94%(100/106),产酸6%(6/106)
甘露醇	产酸产气77%(82/106),产酸20%(21/106), 阴性3%(3/106)
蔗糖	产酸产气35%(37/106),产酸28%(30/106), 阴性37%(39/106)
木糖	产酸产气14%(15/106),产酸69%(73/106), 阴性17%(18/106)
鼠李糖	产酸产气19%(20/106),产酸64%(68/106), 阴性17%(18/106)
V.P. 试验	阴性100%(106/106)
M.R. 试验	阳性100%(106/106)
吲哚试验	阳性100%(106/106)
枸橼酸盐利用试验	阴性100%(106/106)

表3 10株不同血清型 E.coli 药敏试验结果

药物	抑菌圈直径 mm										敏感率 %			
	O ₈	O ₉	O ₁₅	O ₆₀	O ₁₀₁	O ₁₁₅	O ₁₃₉	O ₁₃₈	O ₁₄₁	O ₁₄₉	高敏	中敏	不敏感	总敏感率
中药注射液	24	21	20	26	22	22	20	22	25	19	100	0	0	100
庆大霉素	18	17	14	15	12	11	14	16	-	16	40.0	50.0	10.0	90.0
丁胺卡那	16	16	-	18	15	16	18	-	17	20	70.0	10.0	20.0	80.0
氯霉素	11	14	14	17	16	23	18	11	17	-	50.0	40.0	10.0	90.0
诺氟沙星	10	11	-	13	11	-	11	-	16	15	10.0	60.0	30.0	70.0
恩诺沙星	11	10	10	12	14	15	13	12	17	-	10.0	80.0	10.0	90.0
土霉素	-	-	11	-	14	15	-	-	-	-	0	30.0	70.0	30.0
氨苄青霉素	-	15	-	-	-	14	-	13	15	-	0	40.0	60.0	40.0

表4 试验性对比治疗结果

药物	治疗头数	用药方法及剂量	病程 d	治愈头数	治愈率 %
中药注射液	260	肌注1 ml/kg, 2次 d, 3d	4	247	95.0
庆大霉素	176	肌注1500 IU/kg, 3次 d, 4d	6	106	60.2
丁胺卡那	180	肌注10 ml/kg, 2次 d, 4d	6	146	81.1
诺氟沙星	220	肌注2.5 ml/kg, 2次 d, 3d	5	129	58.6
氯霉素	107	肌注30 ml/kg, 2次 d, 4d	6	81	75.7
土霉素	143	肌注10 ml/kg, 2次 d, 4d	6	79	55.2

表5 中药注射液区域性治疗结果

场地	治疗头数	症状	病原	治愈头数	治愈率 %
新乡县段村猪场	1650	黄白痢	O ₈ O ₉ O ₆₀ O ₁₀₁ O ₁₁₅ O ₁₃₉ O ₁₄₉	1589	96.3
武陟县城关猪场	206	黄痢	O ₈ O ₄₅ O ₁₃₈ O ₁₄₁	195	94.7
修武县某猪场	180	白痢	O ₈ O ₆₀ O ₁₀₁ O ₁₁₅ O ₁₃₉ O ₁₄₉	167	92.8
新乡县关堤猪场	960	黄白痢	O ₈ O ₆₀ O ₁₀₁ O ₁₁₅ O ₁₃₉	904	94.2
延津县城关某猪场	850	黄痢	O ₈ O ₄₅ O ₁₀₁ O ₁₃₈ O ₁₄₁	798	93.9
焦作市郊某猪场	1260	白痢	O ₉ O ₆₀ O ₁₃₈ O ₁₄₉	1192	94.6
林州市某猪场	1080	黄白痢	O ₈ O ₉ O ₁₃₈ O ₁₃₉ O ₁₄₉	1004	93.0

2.3 药敏试验 由表3可以看出,所有分离血清型大肠杆菌对中药注射液均表现出高度敏感,而对于常用抗生素则多数表现出中度敏感或不敏感。

2.4 试验性对比治疗 由表4可见,中药注射液治疗组治愈率明显高于其他抗菌药物治疗组。

2.5 中药注射液区域性治疗结果 由表5可见,中药注射液的治愈率均在93%以上,平均治愈率约为94.6%。

3 小结与讨论

(1) 该中药制剂原方源于河南南阳农村(当地农民用来煎汁灌仔猪以治疗腹泻),经按照中医药君、臣、佐、使,标本兼治的组方原则,添味筛选而成。

(2) 上述地区猪场均采用市售多价苗进行过预防,但这些地区存在着较多的 E.coli 血清型(至少有10种),所以预防效果并不十分理想。该试验结果表明,中药注射液对猪源性 E.coli 的抑菌效果优于多种抗生素,敏感率达100%,比其他药物高出10~50个百分点。该中药散剂对鸡大肠杆菌病

性腹泻平均治愈率为84.0%^[5]。

(3) 从试验性对比治疗结果看,中药注射液治疗仔猪大肠杆菌病不仅所用时间最短(3d),病程也短(4d),治愈率最高(95.0%),而且在减少耐药菌株的产生及无残留、无毒副作用方面优于其他抗菌药物。

(4) 从区域性治疗结果看,尽管病原血清型较多,差异较大,但治愈率仍然较高(平均治愈率为94.6%),说明中药注射液的可靠和高效。

参考文献

- [1] 费恩阁,李德昌,丁壮. 动物疫病学[M]. 北京:中国农业出版社,2004.
- [2] 曹澍泽,郭玉璞,董国雄,等. 兽医微生物学及免疫学技术[M]. 北京:北京农业大学出版社,1992:34-95.
- [3] 郑新勇,沈咏舟,程建整,等. 合肥市鲜猪肉致病性大肠杆菌的分离与鉴定[J]. 安徽农业科学,2000,28(3):367,369.
- [4] 李敬玺,莫建华,董国栋,等. 9381 杀灭剂对鸡大肠杆菌病的防治效果[J]. 中国兽医科技,1997,27(4):38-40.
- [5] 赵坤,赵恒章,王三虎,等. 中药克痢散对鸡大肠杆菌病防治效果研究[J]. 中国家禽,2003,25(23):16-18.