

中草药对奶牛乳房炎病原菌的体外抑菌作用

吴静^{1,2}, 张彦明^{*}, 杨银萍

(1. 西北农林科技大学动物科技学院, 陕西杨凌 712100; 2. 塔里木大学动物科技学院, 新疆阿拉尔 843300)

摘要 [目的] 寻找治疗奶牛乳房炎的新途径。[方法] 选择常用7味中草药煎剂及5种复方制剂, 采用试管二倍稀释法, 对从患隐性乳房炎奶牛的乳汁中所分离的5种致病菌进行抑菌试验, 并测定最小抑菌浓度(MIC)和最小杀菌浓度(MBC)。[结果] 结果表明: 野菊花、黄连、大青叶、复方I及复方V对这5种病原菌均具有较强的体外抗菌活性。[结论] 该研究为研制防治奶牛乳腺炎中草药制剂的科学组方提供了理论依据。

关键词 中草药; 奶牛乳房炎; 病原菌; 体外抑菌作用

中图分类号 S852.2 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)28-08896-02

In vitro Bacteriostasis of Chinese Herbal Medicine against Mastitis Pathogens in Dairy Cows

WU Jing et al. (College of Animal Science, Northwest Sci-tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract The objective of this study was to explore new means of dairy cow mastitis treatment. The study used 7 decoction of Chinese herbal medicine and 5 kinds of compound preparations, used test tube 2-fold dilution method to conduct inhibitory test on 5 pathogens and determined the minimal inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). The result showed that Chrysanthemum indicum, Rhizoma coptidis, Fidi umisatidis, Compound preparation I and Compound preparation V had fairly strong in vitro bacteriostasis activities against 5 pathogens. The study provided theoretic background for the study on the control of dairy cow mastitis by applying the scientific prescription of Chinese herbal preparations.

Key words Chinese herbal medicine; Dairy cow mastitis; Pathogens; In vitro bacteriostasis

奶牛乳房炎是最常见、多发的奶牛疾病之一。随着奶牛饲养业和乳品工业的发展, 奶牛乳房炎的危害已引起人们的高度重视。该病的发生不仅使得奶牛的产奶量降低, 而且影响牛奶的营养成分^[1]。抗生素治疗奶牛乳房炎有较好的效果, 但长期大量使用抗生素会造成抗生素在牛奶中残存; 抗生素还会导致耐药菌株的出现, 影响对奶牛的治疗效果; 含有大量抗生素的动物排泄物还会造成水土污染^[2-4]。因此, 寻找一条治疗乳房炎的新途径势在必行。

中草药不仅含有生物碱、多糖、皂甙、挥发油、萜类和有机酸等生物活性物质, 而且含有矿物质、维生素及未知的营养因子, 兼有预防、治疗和营养的多重作用。中草药可通过调动动物自身免疫力, 达到防治疾病的目的^[5-6]。笔者采用试管二倍稀释法对中草药的体外抑菌活性进行了定量分析, 旨在为研制防治奶牛乳腺炎中草药制剂的科学组方提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 中草药。板蓝根、黄芩、鱼腥草、黄连、金银花、蒲公英、野菊花、大青叶各50g, 均购自阿拉尔绿洲大药房。复方I: 黄连、黄芩、野菊花; 复方II: 蒲公英、金银花、鱼腥草; 复方III: 蒲公英、金银花、野菊花; 复方IV: 蒲公英、金银花、野菊花、鱼腥草; 复方V: 大青叶、金银花、鱼腥草。

1.1.2 菌株。选取SMT检测为隐性乳房炎的奶牛乳汁, 用分离培养基进行培养。经过生化鉴定, 筛选出金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、无乳链球菌、停乳链球菌、铜绿假单胞菌5种主要致病菌。

1.1.3 主要试剂。牛肉膏(中国医药集团上海化学试剂公司), 氯化钠(南京化学试剂厂), 蛋白胨(中国医药集团上海化学试剂公司), 磷酸氢二钾(南京化学试剂厂), 琼脂粉(中

国医药集团上海化学试剂公司)、兔血清(滤膜除菌)等。

1.1.4 仪器设备。数显不锈钢电热培养箱(上海博迅实业有限公司生产, 型号: HPX-9272 MBE), 洁净工作台(上海博迅实业有限公司生产, 型号: SWCJ-ZF), 立式电热压力蒸汽灭菌锅(上海申安医疗器械厂, 型号: LDZX-50KB)。

1.2 方法

1.2.1 中药的制备。单味中药的制备采用水提法, 以中药板蓝根为例。取板蓝根50g, 置于烧杯中, 加5~10倍纯化水浸泡4h后煎煮, 武火加热至沸后文火维持30min, 用4层纱布过滤, 滤出煎液, 滤渣按上述方法再煎煮1次, 合并2次滤液, 浓缩至生药含量1g/ml, 1000r/min离心10min, 取上清液, 100℃通蒸汽灭菌10min后, 置4℃冰箱中保存备用(1周内用完)。按一定的比例取煎制好的单味中药, 混合均匀即得复方制剂。

1.2.2 培养基的制备。血清琼脂平板、普通琼脂平板、血清琼脂斜面、普通琼脂斜面、普通肉汤、血清肉汤, 均按常规方法自行制备。

1.2.3 测试菌液的制备^[7]。在已分离鉴定的保存菌株中挑取2~3接种环, 接种于含5ml营养肉汤中(链球菌接种于血清肉汤中), 置37℃培养箱中培养24h后, 取0.5ml于普通琼脂平板上培养8~12h(链球菌接种于血清琼脂平板中培养12~18h)后, 用L棒刮下菌苔, 用5ml灭菌的生理盐水稀释, 与标准麦氏比浊管比浊。根据比浊管所含的细菌浓度换算出所需的菌悬液浓度, 即每毫升含 1.5×10^8 个菌。

1.2.4 中药对病原菌最小抑菌浓度(MIC)和最小杀菌浓度(MBC)的测定方法^[8]。以大肠杆菌对板蓝根的敏感性为例, 将灭菌的装有1ml普通肉汤(链球菌培养于血清肉汤中)的试管排成一排, 编上管号。在第1管内加1ml药液, 混匀后吸取1ml至第2管, 依次类推至第9管弃去1ml, 第10管为不含药液的肉汤对照, 第11管为只含药物而不含肉汤的药物对照。然后, 向每管加入0.1ml已稀释到每毫升含1.5亿个菌的菌液。根据第1管内的药物浓度为原液的1/2, 第2

作者简介 吴静(1978-), 女, 江苏徐州人, 在读硕士, 讲师, 从事兽医微生物的教学和研究。* 通讯作者。

收稿日期 2007-06-20

管为第1管的1/2,依次类推,第1至9管药物浓度分别为500、250、125、62.5、31.3、15.7、7.8、3.9、2.0 ng/ml。

1.2.5 孵育。在恒温摇床内37℃培养18~24 h后,观察混浊度。

1.2.6 结果判定。以肉眼观察培养物透明、不发生浑浊变化的最高药物稀释浓度作为该药物的最低抑菌浓度(MC)。从透明管取培养物0.01 ml接种到普通琼脂平板(链球菌接种于血清琼脂平板),37℃培养24~48 h,计菌落数。菌落数少于3个视为无细菌生长,以无细菌生长的药物最低浓度作为该药物的最小杀菌浓度(MBC)。

2 结果与分析

由表1可知,野菊花、黄连、大青叶、复方、复方对大肠杆菌分离株有较强的抗菌活性,其中黄连MC最小,为31.3 ng/ml,野菊花、大青叶、复方、复方的MC为62.5 ng/ml;野菊花、黄连、金银花、大青叶、复方、复方、复方对金黄色葡萄球菌分离株有较强的抗菌活性,其中黄连、大青叶MC最小,为15.7 ng/ml,野菊花、金银花、复方、复方的MC为31.3 ng/ml,复方的MC为62.5 ng/ml;除鱼腥草和板蓝根外,其余中药无乳链球菌和停乳链球菌的抑菌作用都较强;野菊花、黄连、金银花、复方、复方对铜绿假单胞菌分离株

表1 中草药对奶牛乳房炎5种病原菌的MC和MBC值 ng/ml

中药	大肠杆菌		金黄色葡萄球菌		无乳链球菌		停乳链球菌		铜绿假单胞菌	
	MC	MBC	MC	MBC	MC	MBC	MC	MBC	MC	MBC
鱼腥草	125.0	125.0	-	-	250.0	250.0	125.0	250.0	125.0	125.0
野菊花	62.5	62.5	31.3	31.3	62.5	62.5	31.3	62.5	62.5	125.0
黄连	31.3	31.3	15.7	31.3	31.3	31.3	31.3	31.3	62.5	62.5
黄芩	250.0	250.0	125.0	125.0	62.5	62.5	62.5	62.5	250.0	250.0
蒲公英	250.0	250.0	250.0	250.0	125.0	125.0	62.5	125.0	125.0	125.0
金银花	125.0	125.0	31.3	62.5	15.7	31.3	31.3	31.3	62.5	62.5
大青叶	62.5	125.0	15.7	15.7	31.3	62.5	31.3	31.3	125.0	250.0
板蓝根	250.0	250.0	125.0	125.0	125.0	125.0	125.0	125.0	-	-
复方I	62.5	125	31.3	62.5	15.7	31.3	31.3	31.3	62.5	62.5
复方II	125.0	125.0	62.5	62.5	31.3	62.5	31.3	31.3	125.0	125.0
复方III	125.0	250.0	125.0	125.0	62.5	62.5	62.5	62.5	250.0	250.0
复方IV	250.0	250.0	125.0	125.0	62.5	62.5	62.5	62.5	125.0	250.0
复方V	62.5	62.5	31.3	62.5	31.3	31.3	15.7	31.3	62.5	125.0

有较强的抗菌活性,MC值为62.5 ng/ml。

3 讨论

诱发奶牛乳腺炎的病原菌很多,主要是由大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、无乳链球菌和停乳链球菌引起的,占发病牛的90%以上^[9]。该试验所用菌株直接从患病奶牛乳汁中分离、鉴定,用中草药提取物对5种细菌的抗菌活性进行测定。该试验结果与文献^[10]报道不一致。研究表明,中草药对细菌的抑制作用较强。野菊花、黄连、大青叶及复方、复方等对引起奶牛乳房炎的5种病原菌都有较强的抑制作用;鱼腥草、黄芩、蒲公英、板蓝根对5种病原菌的抑制作用较差。同时,复方制剂的抑菌效果比单味草药的抑菌作用强。

中草药的提取方法决定了药液的成分和含量,从而影响药物的作用效果。该试验采用传统的水煎法。该法所需设备简单,操作方法简便,可以在较短的时间内完成大量中草药的筛选,故适宜生产单位用于临床实践。但中草药提取液普遍为悬浊液,成分复杂。其中含有的大量化学成分具有挥发性或对热敏感,在煎煮过程中可能挥发或者失效。同时,

有些有效成分可能不溶于水或遇热分解,从而导致某些药物的抑菌能力下降。

参考文献

- [1] 孔雪旺,陈功义.奶牛乳房炎病原菌的分离鉴定及药敏试验[J].中国奶牛,2007(1):43-44.
- [2] 顾有方.治疗和控制牛乳房炎的最新进展[J].国外兽医学畜禽疾病,1996(3):24-26.
- [3] 胡松华,俞斌.乳房炎治疗后牛奶中的抗生素残留[J].中国兽医杂志,1999(5):52-53.
- [4] 张森涛,丛日华.中药对奶牛隐性乳房炎的防治作用及产奶量的影响[J].黑龙江畜牧兽医,2005(10):23-24.
- [5] 甘志华.复方丹参液治疗奶牛隐性乳房炎试验[J].湖南农学院学报,1995(1):84-88.
- [6] 张乃峰,刁其玉,张从娥.中草药添加剂对奶牛乳房炎及生产性能的影响[J].中国奶牛,2007(2):2-3.
- [7] 姚火春.兽医微生物学实验指导[M].北京:中国农业出版社,2004.
- [8] 崔一喆,张秀英,王秋菊.中草药对奶牛乳房炎致病菌的体外抑菌试验[J].中兽医医药杂志,2006(3):35-36.
- [9] 刘桂华,白翠华,孔翔云,等.当归与白芷水煎提取液杀菌效果的试验观察[J].中国消毒学杂志,2000,17(1):36-37.
- [10] 吴国娟,张中文,李焕荣,等.中草药对奶牛乳房炎6种致病菌的抑菌效果观察[J].北京农学院学报,2003,3(18):195-198.