

“连葛口服液”对人工诱发鸡大肠杆菌病的治疗试验

李定刚¹, 张铁², 韩旭东¹, 雷思琦¹, 邵谱¹, 郭立佳¹

(1. 保定冀中药业有限公司, 河北保定 071500; 2. 河北农业大学动物医学院, 河北保定 071000)

摘要 [目的] 为“连葛口服液”的大规模生产及应用提供科学依据。[方法] 应用“连葛口服液”来治疗人工诱发的鸡大肠杆菌病, 并探索“连葛口服液”对鸡湿热泻痢证的临床防治效果。[结果] 攻毒试验选用细菌培养液 10^{-4} 倍稀释液, 最佳剂量为 0.5 ml/只。经剖检和生化试验鉴定为大肠杆菌, 通过血清学鉴定确定为 O₁ 抗原型。[结论] “连葛口服液”高、中剂量组对人工感染鸡大肠杆菌病均有良好防治效果, 其疗效与氟苯尼考相当, 推荐剂量为 1.0 ml/kg 体重。

关键词 连葛口服液; 大肠杆菌病; 治疗

中图分类号 S853.7 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2014)26-09044-03

Treatment Test of “Liangge” Oral Liquid on Artificially-induced Chicken Colibacillosis

LI Ding-gang et al (Baoding Jizhong Pharmaceutical Co., Ltd., Baoding, Hebei 071500)

Abstract [Objective] The research aimed to provide scientific basis for large-scale production and application of “Liangge” oral liquid. [Method] “Liangge” oral liquid was used to treat artificially-induced chicken colibacillosis. The clinical treatment effects of “Liangge” oral liquid on chicken dysentery syndrome were investigated. [Result] 10^{-4} diluted solution of bacterium culture solution was used in virus challenge test and its optimum dose was 0.5 ml/ind. The bacteria was identified as *Escherichia coli* by autopsy and biochemical test. And it was confirmed as O₁ antigen. [Conclusion] Better prevention and control effects on artificially-induced chicken colibacillosis were obtained in high-dose of “Liangge” oral liquid group and medium-dose of “Liangge” oral liquid group, and their curative effects were equivalent with florfenicol. And its recommended dose was 1.0 ml per each kilogramme of body weight.

Key words “Liangge” oral liquid; Colibacillosis; Treatment

鸡大肠杆菌病是由致病性血清型大肠杆菌引起的各种症候的总称, 不同品种不同日龄的鸡均可发病^[1-2], 其临床表现多种多样, 如食欲下降、精神沉郁、羽毛松乱、呼吸急促、腹泻等, 剖检多见肝周炎、心包炎、腹膜炎、气囊炎、脐炎、眼炎和大肠杆菌肉芽肿等病变^[3]。按照中兽医理论类似于湿热泄泻, 大多由外感暑湿、疫毒之邪, 或饮食不洁、湿热郁结肠内、胃肠受损、运化失常、湿热内生, 致使气血阻滞, 湿郁热蒸, 肠胃气化被阻, 气血与暑湿热毒搏结而造成湿热泄泻, 治宜燥湿解表, 健脾补中, 清热解毒, 生津止泻^[4]。

“连葛口服液”是保定冀中药业有限公司根据此观点进行组方研制而成的新兽药。该复方制剂具有较强的清热解毒、燥湿止痢、活血化瘀、抗菌消炎等作用。笔者应用“连葛口服液”来治疗人工诱发的鸡大肠杆菌病(湿热泻痢证模型之一), 以验证“连葛口服液”对鸡湿热泻痢证的临床防治效果, 以期为其大规模生产及应用提供科学依据。

1 材料与方

1.1 试验动物 1 日龄伊莎褐蛋鸡 500 只, 购于石家庄金羽祖代鸡场。使用不含任何抗菌药物的雏鸡饲料, 按照《中华人民共和国农业部颁布 NY/T33-2004 蛋鸡饲养标准》饲养至 15 日龄。以活泼健康、体重均匀为标准, 选取 90 只用于鸡大肠杆菌病造模试验, 另外 300 只用于连葛口服液治疗试验。

1.2 试验药品与试剂 ①连葛口服液, 由保定冀中药业有限公司中试生产, 批号为 100801, 主要成分为黄连、黄芩、葛根、甘草、大黄; ②氟苯尼考可溶性粉, 购于张家港市恒盛药用化学有限公司, 批号为 FB20090448; ③麦康凯琼脂, 购于杭

州天和微生物试剂有限公司; ④营养琼脂, 购于杭州天和微生物试剂有限公司; ⑤营养肉汤, 购于北京双旋微生物培养基制品厂; ⑥细菌微量生化反应管, 购于杭州天和微生物试剂有限公司; ⑦大肠杆菌 O 因子诊断血清, 购于中国兽医药品监察所。

1.3 试验菌种 鸡源大肠杆菌 O₁ 型标准菌株(CVCC249), 购自中国兽医药品监察所菌种室。

1.4 主要仪器 电热鼓风干燥箱, 由北京市永光明医疗仪器厂生产; 生化培养箱(SPX-250B-Z), 由上海博迅实业有限公司医疗设备厂生产; 恒温培养振荡器(ZHWY-103D), 由上海智城分析仪器制造有限公司生产; 电子天平(MR200A), 由上海第二天平仪器厂生产; 超净工作台(LGJ-10), 由北京四环科学仪器厂生产。

1.5 试验方法

1.5.1 攻毒预试验。 先将保存的鸡大肠杆菌 O₁ 型菌株接种到血琼脂平板, 再挑选典型菌落接种于肉汤中, 将分离纯化后的肉汤培养液作为攻毒菌。

随机选取 90 只 15 日龄伊莎褐蛋鸡, 分为 18 组, 分别以原细菌培养液及其 10^{-1} 倍稀释液、 10^{-2} 倍稀释液、 10^{-3} 倍稀释液、 10^{-4} 倍稀释液、 10^{-5} 倍稀释液稀释液为攻毒液, 胸部肌肉注射攻毒, 每个稀释度分成 1.00、0.50、0.25 ml 3 个剂量, 接种后观察各组试验鸡的精神、采食、饮水、粪便和呼吸等临床情况; 对死亡鸡进行病理剖检, 取肝脏进行细菌分离培养。观察 48 h 后记录死亡情况。以半数致死量作为攻毒剂量。

1.5.2 治疗试验。

1.5.2.1 试验动物分组及处理。 将 300 只雏鸡随机分为 6 组, 每组 50 羽, 待稳定后进行试验。根据预试验结果, 确定攻毒菌液稀释浓度和剂量, 除阴性对照组以外, 每组鸡胸肌

2.2.2 剖检病变。剖检病死鸡出现鸡大肠杆菌病的典型病变:气管黏液增多,肝脏大多有散在的出血点,病程稍长的表现出典型纤维索性心包炎、肝周炎变化,同时伴有肠粘膜肥厚,肠腔有多量黄色泡沫,肾脏稍肿。

2.2.3 分离菌株的鉴定。从病死鸡肝脏可分离到细菌,经革兰氏染色镜检可见红色阴性小杆菌,多数单个散在,个别成双排列,两端钝圆,边缘整齐,表面光滑湿润,符合大肠杆菌的形象特征。经生化试验鉴定为大肠杆菌(表4),血清学鉴定O抗原型为O₁。

表4 分离菌的生化鉴定结果

生化试验	试验结果	生化试验	试验结果
VP	-	乳糖	⊕
MR	+	麦芽糖	⊕
靛基质	+	蔗糖	⊕
H ₂ S	-	甘露醇	⊕
葡萄糖	⊕	枸橼酸盐	-

注:⊕表示产酸、产气;+表示阳性;-表示阴性。

2.2.4 药物治疗效果。由表5可知,饮水给药7 d后4个药

物治疗组(“连葛口服液”高、中、低剂量组以及氟苯尼考组)鸡的死亡率、治愈率、保护率和相对增重率与阳性对照组差异均达到极显著水平($P < 0.01$)。因此,临床试验结果表明不同剂量“连葛口服液”及氟苯尼考对人工感染鸡大肠杆菌病均有一定的防治效果。

“连葛口服液”低剂量组在治愈率和相对增重率方面与氟苯尼考组差异显著($P < 0.05$),说明低剂量的“连葛口服液”对人工感染鸡大肠杆菌病的防治效果不佳,不及氟苯尼考;“连葛口服液”高、中剂量组与氟苯尼考组相比,死亡率、治愈率、保护率、相对增重率方面均差异不显著($P > 0.05$),说明高、中剂量的连葛口服液对人工感染鸡大肠杆菌病的防治效果与氟苯尼考相当;“连葛口服液”高、中剂量组各项指标差异不显著($P > 0.05$),表明对人工感染鸡大肠杆菌病的防治效果无显著差异。

综上所述,“连葛口服液”高、中剂量组对人工感染鸡大肠杆菌病的防治效果良好,与氟苯尼考疗效相当。高、中剂量“连葛口服液”组各指标均无显著性差异,因此以中剂量为推荐剂量。

表5 连葛口服液对人工感染鸡大肠杆菌病的疗效

组别	死亡数//只	死亡率//%	治愈率//%	保护率//%	相对增重率//%
I组(连葛高剂量组)	8	16 Bc	76 Aa	84 Aa	85.85 Bb
II组(连葛中剂量组)	9	18 Bc	70 ABa	82 Aa	84.84 Bb
III组(连葛低剂量组)	15	30 Bb	56 Bb	70 Ab	74.19 Bc
IV组(氟苯尼考组)	10	20 Bbc	72 ABa	80 Aab	82.35 Bb
V组(阳性对照组)	26	52 Aa	8* Cc	48* Bc	10.54 Cd
VI组(阴性对照组)	0	-	-	-	100.00 Aa

注:*表示自愈或症状自行缓解。同列不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$);同列不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 鸡大肠杆菌病的治疗药物 鸡大肠杆菌病是鸡的一种常见传染病,目前该病的防治多以使用抗菌的化学药物为主,但随着时间的延长,大肠杆菌对抗菌的化学药物的耐药性问题越来越突出。另外,畜产品无公害化生产的要求使抗生素的选择范围越来越小。中药治疗效果受菌株耐药性的影响较小,且毒性小、副作用小、几乎无残留,所以研究应用中药防治鸡大肠杆菌病具有重要的现实意义。

3.2 鸡大肠杆菌病辩证施治 鸡大肠杆菌病按中兽医理论属于湿热壅积肠道的里热证、泄泻证,大多由外感暑湿、疫毒之邪,或饮食不洁,湿热郁结肠内,胃肠受损,运化失常,湿热内生,致使气血阻滞,湿郁热蒸,肠胃气化被阻,气血与暑湿热毒搏结,造成湿热泄泻,治宜健脾补中,清热解毒,燥湿止痢。“连葛口服液”正是根据此观点进行组方,所组的复方制剂具有较强的清热解毒和杀菌作用,还能综合调理机体的各种生物机能,增强机体免疫力。

3.3 连葛口服液对鸡大肠杆菌病的疗效作用 “连葛口服液”是由经典中药方剂“葛根芩连汤”改良而成的具有清热解毒、燥湿止痢、活血化瘀、抗菌消炎等作用的新型中草药制

剂,由黄连、黄芩、葛根、甘草、大黄5味药组成,以黄连为君药,取其大苦能燥湿、大寒可泻热之功,发挥清热解毒、燥湿止痢的作用;以黄芩、葛根同为臣药,黄芩具有清热燥湿、泻火解毒之功,葛根退热生津、升阳止泻,二者共助黄连清热解毒、燥湿止泻之功;以炙甘草为佐药,补脾益气,使君臣药物攻而不致伤正、补亦不致助邪;以大黄为使药,既可增强君臣药物燥湿解毒之功,又能活血化瘀、通肠泻热、推陈出新、快速排出毒素,同时引诸药入脾、胃、大肠经。诸药同用,共奏清热燥湿、通肠排毒之功。因此,对由大肠杆菌引起的湿热壅积肠道的“湿热泻痢证候”模型具有较好的治疗作用。

“连葛口服液”采用饮水给药,这种给药方式比混料更加方便,同时鸡只发病时往往引起采食量下降,但饮水量下降不明显,因此饮水给药能保证鸡体内药物的有效浓度,从而达到较好的疗效。

参考文献

- [1] 卡尔尼克 B W. 禽病学[M]. 9版. 北京:农业出版社,1991:126-128.
- [2] 甘孟侯,李文刚,陈洪科. 禽病诊断与防治[M]. 北京:中国农业出版社,1996:120.
- [3] 甘孟侯. 中国禽病学[M]. 北京:中国农业出版社,1999:167-168.
- [4] 刘钟杰,许剑琴. 中兽医学[M]. 4版. 北京:中国农业出版社,2011:81-105.