

# 鱼腥草与TMP对仔猪黄痢病原菌的联合抑菌作用

王思芦<sup>1</sup>, 杨柳<sup>2</sup>, 孙建容<sup>1</sup>, 王新宇<sup>1</sup>

(1. 西昌学院 动物科学系, 四川 西昌 615013; 2. 重庆市药品检验所, 重庆 401121)

**【摘要】**利用鱼腥草与TMP联合用药进行仔猪黄痢病原菌的体外抑菌试验, 探讨中西药结合的抗菌效果。结果表明, 鱼腥草和TMP对致病性大肠杆菌的最小抑菌浓度分别为1.25g/mL和1.25mg/mL; 二者联合用药后, 鱼腥草和TMP的最小抑菌浓度分别下降至0.625g/mL和0.625mg/mL, 抗菌作用表现为相加作用, 抑菌效果显著。

**【关键词】**鱼腥草; TMP; 仔猪黄痢; 联合抑菌

**【中图分类号】**S858.28 **【文献标识码】**A **【文章编号】**1673-1891(2008)02-0023-02

仔猪黄痢是由致病溶血性大肠杆菌引起的初生仔猪发病率高、急性致死性的肠道传染病。仔猪出生后12小时即可发病, 并主要危害出生后一周以内的仔猪, 发病仔猪出现排出黄色浆状稀粪, 内含凝乳小片, 很快消瘦、昏迷死亡。剖检病变为肠粘膜呈急性卡他性炎症变化, 其中以十二指肠最严重。该病无明显的季节性, 一有发作则经久不断, 难以彻底根治。目前该病的防治多用抗生素和化学抗菌药防治, 极易使病原菌产生耐药性而疗效甚微, 本试验通过微量棋盘稀释法探讨了鱼腥草与抗菌增效剂TMP对致病性大肠杆菌的联合抑菌效果。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 药液 自制TMP溶液(10mg/mL); 鱼腥草提取物溶液(5g/mL)。

1.1.2 病原菌 仔猪黄痢病原菌为笔者2007年9月从患病仔猪采集并分离纯化, 经鉴定为致病性大肠杆菌。

1.1.3 培养基 固体培养基为M-H培养基, 液体培养基为M-H营养肉汤。(杭州天和微生物试剂有限公司)。

1.1.4 仪器 高压灭菌锅、生化培养箱、分析天平、麦氏比浊管、pH试纸及各种玻璃仪器。

### 1.2 方法

1.2.1 菌液制备 将已纯化鉴定的致病性大肠杆菌菌株, 挑取单个菌落, 接种于肉汤培养基中, 置37℃培养箱中培养8~10h, 用灭菌生理盐水将其稀释至15% mL。

1.2.2 10mg/mL TMP溶液的制备 精密称定1g TMP粉, 溶解于10mL冰醋酸中, 再用蒸馏水稀释到100mL, 混匀后4℃冷藏备用。

### 1.2.3 TMP与鱼腥草MIC的测定

准备10支灭菌试管, 1~10管每管加M-H肉汤

1mL, 第1管加配好的TMP溶液1mL或鱼腥草提取物溶液1mL, 混合后取1mL加入第2管, 依次倍比稀释到第9管; 第10管以不含药物的肉汤作对照, 然后每管加入0.1mL菌液, 于37℃培养18~24h, 观察结果。结果判定: 细菌生长完全被抑制的抗菌药物最低稀释度即为该药物的MIC。

### 1.2.4 联合抑菌试验-微量棋盘稀释法

用灭菌后的96孔微孔板, 在第1~6行沿X轴方向(从左到右)每孔中依次加入: 普通肉汤、1/2MIC、1MIC、2MIC、4MIC、8MIC的鱼腥草药液各25 μL, 以同样的方法在第A~F列沿Y轴方向(从上到下)每孔中依次加入8MIC、4MIC、2MIC、1MIC、1/2MIC、普通肉汤的TMP药液各25 μL, 将两药混合均匀。然后加入制备好的菌液50 μL, 使最终抗菌药物浓度与计划稀释度相同, 加液完毕盖上消毒玻板, 振荡混匀, 放入垫有湿纱布的方盘内, 37℃培养18~24h, 观察结果。结果判断以部分抑菌浓度(fraction inhibitory concentration, FIC)指数为判断标准: FIC指数≤0.5为协同作用; 0.5~1为相加作用; 1~2为无关作用; >2为拮抗作用。

## 2 结果

### 2.1 TMP与鱼腥草MIC的测定

鱼腥草对实验菌株的MIC为1.25g/mL, TMP为对实验菌株的MIC为1.25mg/mL。

### 2.2 鱼腥草和TMP的联合抑菌作用

由表1可知鱼腥草和TMP联合应用后, TMP在0.625 μg/mL时, 可使鱼腥草对实验菌株的MIC降低至0.625 μg/mL, 即为原来MIC的1/2; FIC指数=0.625/1.25+0.625/1.25=1, 因此, 二者联合使用的抑菌效果是相加作用。

## 3 讨论

3.1 本试验选用的微量棋盘稀释法为目前实验室常用的定量方法, 将联合作用的两种药进行不同浓度

表1 鱼腥草与TMP对致病性大肠杆菌联合抑菌作用

鱼腥草(g/mL)	1	2	3	4	5	6	编号
2.5	-	-	-	-	-	-	A
1.25	-	-	-	-	-	-	B
0.625	+	+	+	-	-	-	C
0.313	+	+	+	+	-	-	D
0.156	+	+	+	+	-	-	E
0	+	+	+	+	-	-	F
	0	0.156	0.313	0.625	1.25	2.5	TMP(mg/mL)

注：“+”表示有细菌生长，“-”表示细菌生长被抑制，药物有抑菌作用

的组合,来观察联用后药物之间的作用,发现TMP可以使鱼腥草对受试菌株的MIC降低至1/2,增强了鱼腥草的抗菌活性。分析原因可能为联合用药的抗菌药物对大肠杆菌的作用机制不同,如作用于大肠杆菌生长的不同阶段或作用于菌体的不同部位,从而发挥了二者的相加作用,但还需做进一步研究。

3.2 据研究鱼腥草具有抗菌、消炎、解热作用,抗菌活性成分为挥发油中的癸酰乙醛、月桂醛。本试验所用的鱼腥草提取物溶液是将鱼腥草通过水蒸气蒸馏法制备的。试验结果表明,鱼腥草对致病性大

肠杆菌有明显的抑制作用,但其MIC值较高,单独使用成本较高;而TMP作为一种人工合成广谱抗菌药,对大肠杆菌虽然高度敏感,但也极易使其产生耐药性。本试验将TMP作为抗菌增效剂与鱼腥草联合使用,取得显著的抑菌效果,并能有效的减少药物用量,降低了用药成本。

3.3 本试验将鱼腥草与TMP的联合应用,减少了化学药物的使用,有利于保护仔猪肠道的正常菌群,提高机体对病原的抵抗力;降低了细菌产生耐药性的风险;减少药物残留带来的公共卫生和食品安全问题;为临床用药和该病的防治提供科学依据。

注释及参考文献:

- [1]陈正伦. 兽医中药药理学[M].北京:中国农业出版社,1995.
- [2]姚火春. 兽医微生物学实验指导[M].北京:中国农业出版社,2004.
- [3]华南农学院. 兽医药理学[M].北京:中国农业出版社,1999.

### The Combination Use of Heartleaf Houltuynia Herb and TMP on Pathogenic Bacterium of Yellow Scour of Newborn Piglets

WANG Si-lu<sup>1</sup>, YANG Liu<sup>2</sup>, SUN Jian-rong<sup>1</sup>, WANG Xin-yu<sup>1</sup>

(1. Department of Animal Science, Xichang College, Xichang, Sichuan 615013;

2. Chongqing Medicine Check Institute, Chongqing 401121)

**Abstract:**The bacteriostasis test which is in vitro of the combination use of heartleaf houltuynia herb and TMP on pathogenic bacterium of yellow scour of newborn piglets was studied.And the bacteriostatic action of the combination use of Chinese herbal medicine and western medicine was investigated. The result indicated that the minimal inhibitory concentration, MIC of heartleaf houltuynia herb and TMP was respectively 1.25g/mL and 1.25mg/mL; when they were used together, the MIC of them respectively descended to 0.625g/mL and 0.625mg/mL, the antibacterial action was addition effect and the antibacterial effect was significant.

**Key words:**Heartleaf houltuynia herb; TMP; Yellow scour of newborn piglets; Associated bacteriostasis