

## 16种中草药对牛源致病性大肠杆菌的体外抑菌效果

阿琪玛<sup>1</sup> 敖日格乐<sup>1\*</sup> 王纯洁<sup>2</sup> 斯木吉德<sup>1</sup> 畅旺东<sup>1</sup> 阿日查<sup>1</sup> 郭雪梅<sup>1</sup> 陈玉洁<sup>3</sup>

(1. 内蒙古农业大学 动物科学学院, 呼和浩特 010018;

2. 内蒙古农业大学 兽医学院, 呼和浩特 01018;

3. 内蒙古农业大学 职业技术学院, 内蒙古 包头 014109)

**摘要** 为研究中草药对5种血清型牛源致病性大肠杆菌(*Escherichia coli* O<sub>1</sub>、*E. coli* O<sub>2</sub>、*E. coli* O<sub>8</sub>、*E. coli* O<sub>78</sub>和*E. coli* O<sub>86</sub>)的体外抑菌效果,通过牛津杯法测定中草药对致病性大肠杆菌的抑菌圈直径,通过微量稀释法和平板法测定最小抑菌浓度(MIC)和最低杀菌浓度(MBC)。结果表明:1)金银花和黄连对*E. coli* O<sub>1</sub>体外抑菌效果最好,抑菌圈直径分别为29.35和37.71 mm,五味子对*E. coli* O<sub>8</sub>体外抑菌效果最好,抑菌圈直径为28.97 mm。2)金银花和黄连对*E. coli* O<sub>1</sub>的MIC分别为0.016和0.008 g/mL,五味子对*E. coli* O<sub>8</sub>的MIC为0.008 g/mL,抑菌效果较好。3)虎杖的体外抑菌效果最差,没有检测出抑菌圈,MIC和MBC。结果显示金银花、黄连和五味子对5种血清型大肠杆菌的抑菌圈直径均大于15 mm达到极敏,地榆、穿心莲、虎杖、柴胡、黄柏和石榴皮不敏感,没有检测出抑菌圈。研究发现金银花、黄连、何首乌、地榆、五味子和秦皮对大肠杆菌抑菌效果较好。

**关键词** 中草药;致病性大肠杆菌;最低抑菌浓度;最低杀菌浓度;体外抑菌

中图分类号 S853.74

文章编号 1007-4333(2017)08-0037-06

文献标志码 A

## Antibacterial effects of Chinese herbal medicines on bovine pathogenic *Escherichia coli* in vitro

Aqima<sup>1</sup>, Aorigele<sup>1\*</sup>, WANG Chunjie<sup>2</sup>, Simujide<sup>1</sup>, CHANG Wangdong<sup>1</sup>,  
Aricha<sup>1</sup>, GUO Xuemei<sup>1</sup>, CHEN Yujie<sup>3</sup>

(1. College of Animal Science, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China;

2. College of Veterinary, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China;

3. Vocational and Technical College of Inner Mongolia Agricultural University, Baotou 014109, China)

**Abstract** The aim of this study was to study the antibacterial effects of 16 Chinese herbal medicines on 5 different serotypes of pathogenic *Escherichia coli* (O<sub>1</sub>, O<sub>2</sub>, O<sub>8</sub>, O<sub>78</sub> and O<sub>86</sub>) in vitro. The diameter of inhibition zone was determined by Oxford cup method. Micro dilution and plate method were determined by minimal inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). 1) *Lonicera japonica* and *Coptis chinensis* had the best inhibitory effects on *E. coli* O<sub>1</sub>, and the inhibition zones were 29.35 and 37.71 mm respectively. *Schisandra chinensis* had the best inhibitory effect on *E. coli* O<sub>8</sub> the inhibition zone was 28.97 mm. 2) The MIC of *L. japonica* and *C. chinensis* on *E. coli* O<sub>1</sub> were 0.016 and 0.008 g/mL respectively. The MIC of *S. chinensis* on *E. coli* O<sub>8</sub> was 0.008 g/mL. All herbs displayed better inhibitory effects. 3) *Polygonum cuspidatum* had the worst inhibitory effects, inhibition zone, MIC and MBC were not detected. The inhibition zone of *L. japonica*, *C. chinensis* and *S. chinensis* on 5 different serotypes were above 15 mm and reached significantly sensitive. *Radix sanguisorbae*, *Andrographis*, *P. cuspidatum*, *R. bupleuri*, golden cypress and *Pomegranate husk* were not sensitive. *L. japonica*, *C. chinensis*, *P. multiflorum*, *R. sanguisorbae*, *S. chinensis* and *Cortex fraxini* displayed better inhibitory effects on 5 different serotypes.

**Keywords** Chinese herbs; pathogenic *Escherichia coli*; MIC; MBC; antibacterial in vitro

收稿日期: 2016-07-11

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31260570)

第一作者: 阿琪玛, 博士研究生, E-mail: aqima816@126.com

通讯作者: 敖日格乐, 教授, 主要从事牛生产学与产品品质研究, E-mail: aori6009@163.com

大肠杆菌病是指由致病性大肠杆菌所导致的多 种动物不同疾病的统称,主要包括动物的全身性或 局部性大肠杆菌感染、大肠杆菌性腹泻、败血症和毒 血症等,其表现形式各有不同,但多发生于幼龄动 物,给养殖业造成了严重的损失。病原性大肠杆菌 存在于成年牛肠道或发病犊牛的肠道及各组织器官 内<sup>[1]</sup>。随着抗生素的过量使用,不仅可以导致细菌 产生耐药性,而且还会破坏机体正常微生物菌群,使 人体正常菌群平衡发生紊乱,从而导致长期的腹泻 或引起维生素的缺乏等反应,因此,研究抗生素替代 品对促进养殖业的发展和保障人民健康具有十分重 要的现实意义和深远意义<sup>[2]</sup>。

中草药是我国所特有的中医药理论与实践的产 物,低毒、残留少、耐药性发生率低,具有药用、营养、 促生长等功效,已逐渐被国内外畜牧兽医工作者所 重视<sup>[3]</sup>。杨斯琴等<sup>[4]</sup>研究表明,蒙药对致病性大肠 杆菌有不同程度的抑菌效果,其中有 2 味蒙药对 5 种血清型牛源致病性大肠杆菌抑菌效果较好,达 到极敏和高敏。根据国内外的研究显示,中药或天 然植物提取物,可以发挥对病原菌的直接杀灭作用 及不产生耐药性<sup>[5]</sup>。目前中草药作为天然药物对牛 源致病性大肠杆菌研究报道较少,在前期研究中发现 对小鼠腹腔分别注射 5 种血清型大肠杆菌菌悬液 后,导致小鼠死亡,说明 5 种血清型大肠杆菌有很 强的致病性,而抗生素治疗会使动物产生耐药性和 肠道微生物菌群失调。因此,本研究拟从 16 种中草 药中筛选出对 5 种血清型具有较强体外抑菌效果的 中草药,为中医药学理论、小鼠体内试验以及与其他 药物的体外联合抑菌效果和中药复方的筛选提供理 论依据和参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

受试菌:牛源致病性大肠杆菌(*Escherichia coli*  $O_1$ 、*E. coli*  $O_2$ 、*E. coli*  $O_8$ 、*E. coli*  $O_{78}$  和 *E. coli*  $O_{86}$ ),分离自内蒙古自治区奶牛,从奶牛直肠粪样中 分离纯化。

16 种中草药:金银花 *Lonicera japonica* (产地 山东)、黄连 *Coptis chinensis* Franch(产地湖北)、何 首乌 *Radix polygoni multiflori* (产地云南)、地榆 *Sanguisorba officinalis* (产地湖北)、五味子 *Schisandra chinensis* (产地辽宁)、秦皮 *Fraxinus rhynchophylla* Hance (产地辽宁)、穿心莲

*Andrographis paniculate* (产地广东)、甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch(产地甘肃)、蒲公英 *Taraxacum mongolicum* (产地内蒙古)、夏枯草 *Prunella vulgaris* (产地河南)、虎杖 *Polygonum cuspidatum* (产地湖北)、柴胡 *Radix bupleuri* (产地 陕西)、黄柏 *Cortex Phellodendri* (产地吉林)、苦参 *Sophora flarescens* (产地河北)、石榴皮 *Polygonum cuspidatum* (产地广东)、板蓝根 *Isatis indigotica* Fort(产地甘肃)购于内蒙古京远大药房。

中草药水煎剂制备:在天平上分别称取上述中 草药各 50 g,分别将其放入滤药袋中,加水 500 mL, 浸泡 30 min 后,小火煮沸 30 min,过滤药液,将药液 倒入另一烧杯。滤渣加水 250 mL,小火煮沸 30 min,然后过滤药液。归并 2 次药液,小火煎煮至 50 mL,制成生药含量 1 g/mL 的中药水煎剂, 121 °C 高压灭菌,4 °C 保存备用<sup>[6]</sup>。

普通营养琼脂培养基,普通肉汤等由广东环凯 微生物科技有限公司提供。

### 1.2 主要仪器

生化培养箱(型号为 JC-SPJ-480),济南精诚实 验仪器有限公司;净化工作台,上海新苗医疗器械制 造有限公司;全自动立式电热压力蒸汽灭菌器,上海 博讯实业有限公司医疗设备厂;电子分析天平(型号 为 CP224C),上海奥豪斯仪器有限公司;微量移液 器、电炉、牛津杯和 96 孔板,涂布器。

### 1.3 试剂方法

#### 1.3.1 菌液制备

使用前将斜面保存的 *E. coli*  $O_1$ 、*E. coli*  $O_2$ 、 *E. coli*  $O_8$ 、*E. coli*  $O_{78}$  和 *E. coli*  $O_{86}$  接种于普通营养 琼脂上,放入 37 °C 培养 24 h,培养完毕后分别在培 养基中加入 3 mL 灭菌生理盐水,然后用涂布棒把 菌层刮下,用移液枪把刮下的菌液放入试管中,此菌 液为原始菌液。然后将其 10 倍稀释 5 次,在  $OD_{630}$  波长下测 OD 值,选择 OD 值为 0.08~0.10 的菌 液,此时菌液为  $1 \times 10^8$  cfu/mL。

#### 1.3.2 牛津杯法抑菌试验

取已将菌液调整为 0.08~0.10 的菌液 100  $\mu$ L 于琼脂平板中,用涂布器将琼脂上的菌液顺时针均 匀涂抹,使菌液均匀地覆盖在琼脂表面。将高压后 的牛津杯放入带有菌层的平皿内,取 200  $\mu$ L 中草药 液于牛津杯中,37 °C 培养 24 h。培养完毕后用游标 卡尺测量抑菌圈直径,每种细菌设 3 个平行试验,结 果取平均值。

**1.3.3 最小抑菌浓度 (MIC) 及最低杀菌浓度 (MBC) 的测定<sup>[7]</sup>**

采用二倍稀释法,将 16 种中草药水煎剂用肉汤依次进行 2 倍稀释,分别稀释 11 个梯度,依次加入 96 孔板中的 11 个孔,每孔加入 100  $\mu\text{L}$ ,然后每孔加入  $1 \times 10^6$  cfu/mL 的菌液 100  $\mu\text{L}$ , (用生理盐水将  $1 \times 10^8$ 。空白对照组为第 12 孔加入 100  $\mu\text{L}$  肉汤和 100  $\mu\text{L}$  纯菌液。37  $^\circ\text{C}$  培养 18~24 h,观察结果。为了方便观察可在培养后的酶标板中加入 5 g/L 的 TTC(氯化三苯四氮唑,溶剂为 20 g/L 的琥珀酸钠生理盐水,否则 TTC 不溶。常用:TTC 0.01 g,琥珀酸钠 0.04 g,0.9%生理盐水 2 mL)5~10  $\mu\text{L}$ ,35  $^\circ\text{C}$  培养 1~3 h,观察结果。加入 TTC 有助于准

确的判断 MIC 值,当孔内不显示红色时,即为中草药的 MIC。在未见细菌生长的各孔中,分别取 100  $\mu\text{L}$ ,接种于普通琼脂培养基上,37  $^\circ\text{C}$  培养 24 h,生长的菌落数小于 5 个为 MBC。

**1.4 数据统计**

应用 Excel 软件对测定数据进行处理和分析,试验数据用“平均数 $\pm$ 标准差”表示。

**2 结果与分析**

**2.1 抑菌圈测定结果**

由表 1 可知, $\text{O}_1$  血清型致病性大肠杆菌对金银花、黄连和五味子极敏;对秦皮和夏枯草高敏;对何首乌等 11 种中药不敏感。 $\text{O}_2$  血清型致病性大肠杆

**表 1 16 种中草药对 5 种血清型致病性大肠杆菌的体外抑菌直径**

Table 1 Diameters of the inhibition zone of 16 Chinese herbs against 5 serotypes of pathogenic *Escherichia coli in vitro* mm

中药名称 Chinese herbs ID	血清型 Serotype				
	$\text{O}_1$	$\text{O}_2$	$\text{O}_3$	$\text{O}_{78}$	$\text{O}_{86}$
金银花	29.35 $\pm$ 0.23	22.01 $\pm$ 0.18	24.40 $\pm$ 0.07	23.63 $\pm$ 0.05	24.77 $\pm$ 0.08
黄连	37.71 $\pm$ 0.10	27.91 $\pm$ 0.31	18.73 $\pm$ 0.25	28.27 $\pm$ 0.05	24.19 $\pm$ 0.24
何首乌	—	10.45 $\pm$ 0.16	—	14.95 $\pm$ 0.11	—
地榆	—	—	—	—	—
五味子	27.31 $\pm$ 0.46	28.05 $\pm$ 0.08	28.97 $\pm$ 0.07	25.09 $\pm$ 0.19	24.91 $\pm$ 0.10
秦皮	12.73 $\pm$ 0.08	13.66 $\pm$ 0.17	12.49 $\pm$ 0.08	11.81 $\pm$ 0.08	11.08 $\pm$ 0.26
穿心莲	—	—	—	—	—
甘草	—	8.09 $\pm$ 0.08	—	—	—
蒲公英	—	11.77 $\pm$ 0.19	—	—	14.60 $\pm$ 0.09
夏枯草	12.99 $\pm$ 0.32	12.28 $\pm$ 0.11	9.43 $\pm$ 0.31	11.31 $\pm$ 0.31	12.67 $\pm$ 0.20
虎杖	—	—	—	—	—
柴胡	—	—	—	—	—
黄柏	—	—	—	—	—
苦参	—	11.49 $\pm$ 0.19	—	—	—
石榴皮	—	—	—	—	—
板蓝根	—	9.95 $\pm$ 0.13	—	—	—

注:抑菌圈直径  $R \geq 15$  mm 为极敏;10 mm  $\leq R < 15$  mm 为高敏;8 mm  $\leq R < 10$  mm 为低敏; $R < 8$  mm 为不敏感。“—”代表未产生抑菌圈。

Note: Inhibition zone  $R \geq 15$  mm is significantly sensitive; 10 mm  $\leq R < 15$  mm is highly sensitive; 8 mm  $\leq R < 10$  mm is low sensitive and  $R < 8$  mm is dull. — represents no inhibition zone.

菌对金银花、黄连和五味子极敏;对何首乌、秦皮、蒲公英、夏枯草和苦参敏感;对地榆等8种中草药低敏或不敏感。 $O_8$ 血清型致病性大肠杆菌对金银花、黄连和五味子极敏;对秦皮高敏;对何首乌等12种中草药低敏或不敏感。 $O_{78}$ 血清型致病性大肠杆菌对金银花、黄连和五味子极敏;对何首乌、秦皮和夏枯草高敏;对地榆等10种中草药不敏感。 $O_{86}$ 血清型致病性大肠杆菌对金银花、黄连、五味子极敏;对秦皮、蒲公英和夏枯草高敏;对何首乌等10种中草药不敏感。其中,金银花、黄连和五味子对5种血清型效果较好,具有进一步研究开发的价值。

## 2.2 MIC和MBC测定结果

16种中草药对致病性大肠杆菌的最低抑菌浓度(MIC)和最小杀菌浓度(MBC)试验结果见表2。由表2可知,对*E. coli*  $O_1$ 血清型致病性大肠杆菌抑

菌作用最好的中草药为黄连其MIC为0.008 g/mL;其次为金银花和五味子其MIC为0.016 g/mL, MBC为0.016~0.063 g/mL。对*E. coli*  $O_2$ 血清型致病性大肠杆菌抑菌作用最好的中草药为五味子,其MIC为0.016 g/mL, MBC为0.125 g/mL;对*E. coli*  $O_8$ 血清型致病性大肠杆菌抑菌作用最好的中草药为五味子,其MIC为0.008 g/mL, MBC为0.016g/mL;其次为黄连和地榆, MIC为0.031 g/mL, MBC为0.125 g/mL。对*E. coli*  $O_{78}$ 血清型致病性大肠杆菌抑菌作用最好的中草药为五味子,其MIC为0.016 g/mL, MBC为0.063 g/mL。对 $O_{86}$ 血清型致病性大肠杆菌抑菌作用最好的中草药为金银花和五味子,其MIC为0.016 g/mL, MBC为0.016和0.063 g/mL。其中,金银花、黄连和五味子具有较好的体外抑菌效果,可以在组方中优先考虑。

表2 中草药对5种血清型致病性大肠杆菌的MIC和MBC

Table 2 MIC and MBC of Chinese herbs against 5 serotypes of pathogenic *Escherichia coli* g/mL

中药名称 Chinese herb ID	血清型 Serotype									
	$O_1$		$O_2$		$O_8$		$O_{78}$		$O_{86}$	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
金银花	0.016	0.063	0.031	0.125	0.063	0.125	0.031	0.063	0.016	0.016
黄连	0.008	0.016	0.031	0.250	0.031	0.125	0.063	0.125	0.031	0.031
何首乌	0.250	1.000	0.063	0.250	0.250	1.000	0.125	1.000	0.063	0.250
地榆	0.031	0.125	0.031	0.250	0.031	0.125	0.031	0.125	0.031	0.125
五味子	0.016	0.016	0.016	0.125	0.008	0.016	0.016	0.063	0.016	0.063
秦皮	0.125	1.000	0.250	1.000	0.250	1.000	0.125	0.500	0.250	0.050
穿心莲	0.250	—	0.125	1.000	0.250	1.000	0.250	1.000	0.250	1.000
甘草	1.000	—	1.000	—	1.000	—	1.000	—	1.000	—
蒲公英	0.125	0.500	0.125	0.500	0.125	0.250	0.125	0.500	0.125	0.050
夏枯草	0.500	1.000	0.250	1.000	0.500	0.500	0.500	1.000	0.500	—
虎杖	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
柴胡	0.500	—	1.000	—	—	—	0.500	—	1.000	—
黄柏	0.250	0.500	0.250	—	0.500	—	0.250	0.250	0.500	—
苦参	0.500	—	1.000	—	1.000	—	1.000	—	0.500	—
石榴皮	0.125	0.250	0.250	0.500	0.500	0.500	0.250	1.000	0.250	0.250
板蓝根	0.500	—	0.250	1.000	0.500	—	0.500	—	0.250	1.000

### 3 讨 论

1) 不同中药水煎剂对细菌的抑菌活性不同, 大多数中药水煎剂对细菌和病毒等都有一定的作用。本研究结果表明, 虎杖对 5 种不同血清型大肠杆菌均没有检测出抑菌圈直径和 MIC 值, 说明没有体外抑菌效果, 代如意等<sup>[8]</sup> 研究表明, 虎杖对鸡白痢沙门氏菌有一定的抑杀效果且 MIC 和 MBC 值均为 15.60 mg/mL, 与本研究结果略有不同。结果的不同可能是由于本试验中的中药为水煎剂, 而代如意等的中药为乙醇提取物浓缩浸膏, 导致抗菌有效成分较多, 因此抗菌效果较好。杨斯琴等<sup>[4]</sup> 研究表明, 蒙药朝您·哈日莫各对 5 种血清型大肠杆菌抑菌圈直径均为 20 mm 以上达到极敏, 与本试验中金银花、黄连、五味子研究结果一致, 均具有较好的抑菌效果。陈辉等<sup>[9]</sup> 研究表明, 五味子对溶藻弧菌的体外抑菌圈直径为 20.24 mm 达到极敏, 与本研究结果一致, 五味子对 5 种血清型大肠杆菌均有体外抑菌效果且敏感程度均达到极敏。陈辉等<sup>[9]</sup> 进一步研究表明, 五味子药液 pH 为 2.983 时抑菌圈直径为 20.24 mm, 而将药液 pH 调整为中性 6.996 时, 抑菌圈直径仅为 11.24 mm, 推测原因可能是因为五味子的酸性抑制了细菌的生长和繁殖, 不是抗菌活性物质发挥了作用。徐良梅等<sup>[10]</sup> 研究指出, 在日粮中添加五味子提取物可以显著降低鸡盲肠中大肠杆菌的数量, 有利于乳酸杆菌的增长, 说明五味子提取物具有减少肠道有害菌和提高有益菌数量的作用。

2) 彭练慈等<sup>[11]</sup> 研究表明, 地榆、蒲公英和苦参对无乳链球菌的 MIC 分别为 16.50、62.50 和 250.00 mg/mL, 均优于本试验中对 5 种血清型大肠杆菌的体外抑菌效果, 结果的不同可能是由于彭练慈采用的是中药提取物, 导致抗菌有效成分含量较多所导致的, 也有可能是由于细菌的不同导致的, 野生大肠杆菌需要更高的药物浓度才能杀灭。代如意等<sup>[12]</sup> 的研究表明, 夏枯草对金黄色葡萄球菌的 MIC 为 1.95 mg/mL, 本试验中夏枯草对 5 种大肠杆菌的 MIC 为 0.250~0.500 g/mL, 与本研究结果不同, 结果的不同可能与提取方法有关, 本试验中采用的是水煎剂法, 代如意采用的是超声波乙醇提取法, 导致抗菌有效成分总黄酮含量较高, 而夏枯草有效部位总黄酮有增强杀菌的作用。

3) 李国旺等<sup>[13]</sup> 研究发现, 黄连对沙门氏菌的

MIC 为 0.008 g/mL, 与本试验中黄连对 *E. coli* O<sub>1</sub> 的结果一致, 说明在此浓度下可以杀灭细菌。周小楠等<sup>[14]</sup> 研究表明, 黄连对痢疾杆菌的抑菌圈直径为 22.76 mm 达到极敏, 与本试验中黄连对 5 种大肠杆菌的抑菌圈结果基本一致, 说明黄连对上述细菌具有很强的体外抑菌效果。孟静思等<sup>[15]</sup> 研究结果显示, 蒲公英水提物对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、绿脓杆菌和粪肠球菌均具有体外抑菌效果, 分别为 0.054、0.054、0.054 和 0.108 g/mL 都可在较低浓度检测出 MIC, 与本试验结果略有不同, 本试验中蒲公英对 5 种大肠杆菌的 MIC 为 0.125 g/mL, 结果的不同可能是提取方法的不同, 也有可能是不同菌株对药物的敏感性不同所导致的。

4) 本试验采用牛津杯法和微量稀释法来研究 16 种中草药对 5 种血清型致病性大肠杆菌的体外抑菌效果, 为了防止试验结果的片面性<sup>[16]</sup>。杨斯琴等<sup>[4]</sup> 研究表明, 某些药物通过 2 种方法得到的抑菌结果并不一致, 与本试验研究结果一致。在试验中发现, 药物放入牛津杯后培养一段时间, 还可以看到明显的抑菌圈, 但是随着培养时间的延长, 抑菌圈直径越来越小直至消失, 但是用微量稀释法检测其抑菌效果较好。原因可能是由于, 在牛津杯法中药物本身有抑菌效果, 随着培养时间的延长, 细菌的生长进入对数期, 导致抑菌圈的消失。微量稀释法, 是在 96 孔板的液体环境中, 药物与细菌可以充分混合, 因此加大了细菌与药物接触的面积, 导致细菌被抑制, 没有给细菌进入对数增长提供条件, 导致细菌有较低的 MIC, 却没有抑菌圈直径的原因, 原因有待于进一步研究。在后续试验中, 发现金银花、黄连和五味子对 3 种革兰氏阴性菌和 3 种革兰氏阳性菌均达到极敏, 具有广谱抑菌效果。

目前由于抗生素的滥用和动物耐药性的产生, 中草药中的抗菌物质, 是否可以代替抗生素来治疗动物疾病具有很高的应用价值, 有待于进一步研究。本试验研究中草药对牛源致病性大肠杆菌的体外抑菌效果, 并且筛选出具有较好体外抑菌作用的中草药。各中药对小鼠的体内抑菌效果和免疫生化指标的影响, 牛津杯法和微量稀释法哪种方法与体内抑菌效果更接近, 还有待于进一步论证。

### 参考文献 References

[1] 吴清明, 苏敬良, 王川庆. 兽医传染病学[M]. 北京: 中国农业大

- 学出版社,2002
- Wu Q M, Su J L, Wang C Q. *Veterinary Epidemiology*[M]. Beijing: China Agricultural University Press, 2002 (in Chinese)
- [2] 孙锡斌, 王自振, 许益民. 动物性食品卫生学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006
- Sun X B, Wang Z Z, Xu Y M. *Animal Food Hygiene* [M]. Beijing: Higher Education Press, 2006 (in Chinese)
- [3] 李树明, 张凤鸣, 雷燕, 李雪梅. 50种中药对8种畜禽病原菌抑菌对比研究[J]. 中兽医学杂志, 2000(4): 5-8
- Li S M, Zhang F M, Lei Y, Li X M. 50 kinds of Chinese herbal medicine for 8 kinds of livestock and poultry pathogens bacteriostatic contrast research [J]. *Journal of Veterinary Science Journal*, 2000(4): 5-8 (in Chinese)
- [4] 杨斯琴, 敖日格乐, 王纯洁, 斯木吉德, 包永光. 蒙药对牛源致病性大肠杆菌的体外抑菌效果研究[J] 中国农业大学学报, 2015, 20(1): 124-128
- Yang S Q, Ao R G L, Wang C J, Si M J D, Bao Y G. Antibacterial effects of Mongolian medicines on bovine pathogenic *Escherichia coli in vitro* [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2015, 20(1): 124-128 (in Chinese)
- [5] 王国强. 中兽药应用的现状及发展方向[J]. 养殖技术顾问, 2012(7): 214
- Wang G Q. The present application situation and development direction of veterinary medicine [J]. *Breeding Technology Consultant*, 2012(7): 214 (in Chinese)
- [6] 郁建生, 杨冰, 周芳英, 黄雪飞, 姚红燕, 裴庆元. 20种中草药制剂抑菌试验初报[J]. 中兽医学杂志, 1995(1): 2-5
- Yu J S, Yang B, Zhou F Y, Huang X F, Yao H Y, Pei Q Y. Bacteriostatic report of 20 kinds of Chinese herbal [J]. *Medical Journal of Veterinary*, 1995(1): 2-5 (in Chinese)
- [7] Skovgaard S, Larsen M H, Nielsen L N, et al. Recently introduced qacA/B genes in *Staphylococcus epidermidis* do not increase chlorhexidine MIC/MBC [J]. *Antimicrob Chemoth*, 2013, 68(10): 2226-2233
- [8] 代如意, 李莉, 殷中琼, 贾仁勇, 李曼, 康帅, 彭练慈, 曲径, 侯婉晴, 胡志强. 五味中药对鸡白痢沙门氏菌的体外联合抑菌研究[J]. 西北农林科技大学学报, 2015, 43(2): 34-37
- Dai R Y, Li L, Yin Z Q, Jia R Y, Li M, Kang S, Peng L C, Qu J, Hou W Q, Hu Z Q. Combined anti-bacterial effects of five Chinese traditional medicines against *Salmonella pullorum* [J]. *Journal of Northwest A&F University*, 2015, 43(2): 34-37 (in Chinese)
- [9] 陈辉, 张其中. 100种中草药对溶藻弧菌的体外抑菌实验[J]. 中国预防兽医学报, 2012, 34(6): 452-455
- Chen H, Zhang Q Z. Antibacterial effect of 100 Chinese herbal medicines against *Vibrio alginolyticus in vitro* [J]. *Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine*, 2012, 34(6): 452-455 (in Chinese)
- [10] 徐良梅, 程保晶, 单安山. 五味子提取物对肉仔鸡肠道微生物的影响[J] 饲料工业, 2007, 28(18): 9-10
- Xu L M, Cheng B J, Dan A S. The effect of *Schisandra chinensis* extract on broiler chickens gut microbes [J]. *Feed Industry*, 2007, 28(18): 9-10 (in Chinese)
- [11] 彭练慈, 殷中琼, 贾仁勇, 李莉, 代如意, 曲径, 刘明辉, 陈萍. 20味中药提取物对无乳链球菌的体外抑菌活性研究[J] 华南农业大学学报, 2014, 35(4): 22-25
- Peng L C, Yin Z Q, Jia R Y, Li L, Dai R Y, Qu J, Liu M H, Chen P. Effects of twenty traditional Chinese medicine extracts against *Streptococcus agalactiae in vitro* [J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2014, 35(4): 22-25 (in Chinese)
- [12] 代如意, 李莉, 殷中琼, 程安春, 贾仁勇, 蔡红, 李曼, 康帅, 彭练慈, 曲径. 夏枯草等14味中药对金黄色葡萄球菌的体外抑菌活性[J]. 中国兽医学报 2004, 34(2): 297-301
- Dai R Y, Li L, Yin Z Q, Cheng A C, Jia R Y, Cai H, Li M, Kang S, Peng L C, Qu J. Effect of *Prunella vulgaris* and fourteen kinds of Chinese traditional medicine extracts against *Staphylococcus aureus* [J]. *Chinese Journal of Veterinary*, 2004, 34(2): 297-301 (in Chinese)
- [13] 李国旺, 苗志国, 赵恒章. 板蓝根等10种中草药对沙门氏菌的体外抑菌试验[J]. 贵州农业科学 2010, 38(2): 142-144
- Li G W, Miao Z G, Zhao H Z. Bacteriostasis of 10 species of Chinese herbal medicine on salmonella *in vitro* [J]. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2010, 38(2): 142-144 (in Chinese)
- [14] 周小楠, 董群. 金银花等6种中草药对痢疾杆菌体外抑菌效果研究[J]. 安徽农业科学 2012, 40(6): 3278-3279
- Zhou X N, Dong Q. Study on the antibacterial effects of 6 kinds of Chinese herbs medicines on *Shigella dysenteriae in vitro* [J]. *Anhui Agricultural Sciences*, 2012, 40(6): 3278-3279 (in Chinese)
- [15] 孟静思, 袁进罡, 马辉. 中草药蒲公英的体外抑菌试验[J]. 生物化工, 2013, 36(3): 29-32
- Meng J S, Yuan J G, Ma H. Research on antibacterial activity of *Taraxacum mongolicum Hand in vitro* [J]. *Biological Chemical*, 2013, 36(3): 29-32 (in Chinese)
- [16] 刘澜, 周德刚, 莫云, 黄建茹, 葛冰, 臧丽, 丛日刚. 26种中草药对奶牛隐性乳房炎病原菌体外抗菌作用的研究[J]. 中国农业大学学报, 2009, 14(3): 83-85
- Liu L, Zhou D G, Mo Y, Huang J R, Ge B, Zang L, Cong R G. Antibacterial effects of 26 Chinese herbal medicines on pathogens of dairy cow with *Subclinical mastitis in vitro* [J]. *Journal of China Agriculture University*, 2009, 14(3): 83-85 (in Chinese)