



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102614288 A
(43) 申请公布日 2012.08.01

(21) 申请号 201110458999.0
(22) 申请日 2011.12.31
(71) 申请人 郑州后羿制药有限公司
地址 451162 河南省郑州市郑州航空港区新
港大道东侧
(72) 发明人 吴红云 李建正 李凤娟
(74) 专利代理机构 郑州睿信知识产权代理有限
公司 41119
代理人 牛爱周

(51) Int. Cl.
A61K 36/756 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)
A61P 1/12 (2006.01)
A61K 35/74 (2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 4 页

(54) 发明名称
一种防治鸡大肠杆菌疾病的中药微生态制剂
及其制备方法

(57) 摘要
本发明公开了一种防治鸡大肠杆菌疾病的中药微生态制剂及其制备方法,其中防治鸡大肠杆菌疾病的中药微生态制剂是由中药的提取液加入群落总数为 $0.5 \sim 1.0 \times 10^8$ CFU/ml 的双歧杆菌和枯草芽孢杆菌混合菌液密闭厌氧发酵而成,其中所述中药采用如下重量份的组分:黄连 50 ~ 200 份、黄柏 50 ~ 200 份、大黄 50 ~ 100 份、黄芩 50 ~ 200 份、板蓝根 50 ~ 200 份、甘草 50 ~ 100 份。本发明的防治鸡大肠杆菌疾病的中药微生态制剂,采用双歧杆菌和枯草芽孢杆菌菌液发酵处理后,提高了配伍中药的药物活性,在保证具有很好疗效的前提下,降低了药物对鸡所产生的耐药性,在多次用药后依然能够得到很好的治疗效果。

1. 一种防治鸡大肠杆菌疾病的中药微生态制剂,其特征在于:是由中药的提取液加入双歧杆菌和枯草芽孢杆菌混合菌液密闭厌氧发酵而成,其中所述中药采用如下重量份的组分:黄连 50 ~ 200 份、黄柏 50 ~ 200 份、大黄 50 ~ 100 份、黄芩 50 ~ 200 份、板蓝根 50 ~ 200 份、甘草 50 ~ 100 份。

2. 根据权利要求 1 所述的防治鸡大肠杆菌疾病的中药微生态制剂,其特征在于:所述中药采用如下重量份的组分:黄连 180 份、黄柏 160 份、大黄 70 份、黄芩 100 份、板蓝根 130 份、甘草 60 份。

3. 根据权利要求 1 所述的防治鸡大肠杆菌疾病的中药微生态制剂,其特征在于:所述混合菌液是由群落总数为 $0.5 \sim 1.0 \times 10^8$ CFU/ml 的双歧杆菌液和枯草芽孢杆菌液混合而成。

4. 一种如权利要求 1 所述防治鸡大肠杆菌疾病的中药微生态制剂的制备方法,其特征在于:其步骤如下:

- 1) 按照配方量取黄连、黄柏、大黄、板蓝根、甘草加水煎煮提取,得到提取液 A;
- 2) 按照配方量取黄芩加水煎煮提取,得到提取液 B;
- 3) 合并提取液 A 和提取液 B 浓缩成清膏,加入活性炭静置,过滤得到滤液;
- 4) 向步骤 3) 得到的滤液中加入双歧杆菌和枯草芽孢杆菌菌液,于 $30^{\circ}\text{C} \sim 37^{\circ}\text{C}$ 密闭厌氧发酵 36 ~ 72 小时,得到防治鸡大肠杆菌疾病的中药微生态制剂。

5. 根据权利要求 4 所述的制备方法,其特征在于:步骤 1) 中具体的煎煮提取方法为:将黄连、黄柏、大黄、板蓝根、甘草分三次煎煮,每次加入该 5 种中药总药重量 5 ~ 9 倍的水,第一次煎煮 2 小时,第二、第三次分别煎煮 1 小时,合并三次煎煮液,过滤、浓缩得到提取液 A。

6. 根据权利要求 4 所述的制备方法,其特征在于:步骤 2) 中具体的煎煮提取方法为:将黄芩分三次煎煮,每次加入黄芩重量 5 ~ 9 倍的水,第一次煎煮 2 小时,第二、第三次分别煎煮 1 小时,合并三次煎煮液,过滤、浓缩至黄芩重量的 5 ~ 10 倍,调节 pH 值为 1 ~ 2,保持 $50 \sim 60^{\circ}\text{C}$ 温度 1 ~ 2h,静置 16 ~ 24h 得到沉淀,将沉淀用水和 70% 乙醇洗涤收集洗液,得到提取液 B。

7. 根据权利要求 4 所述的制备方法,其特征在于:步骤 3) 中清膏为 $50 \sim 80^{\circ}\text{C}$ 相对密度为 1.1 ~ 1.3。

一种防治鸡大肠杆菌疾病的中药微生态制剂及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及防治鸡大肠杆菌疾病的中药微生态制剂,同时涉及该微生态制剂的制备方法,属于兽药技术领域。

背景技术

[0002] 大肠杆菌是健康畜禽肠道中的常见菌,可分为致病性和非致病性两大类。大肠杆菌病是一种条件性疾病,在卫生条件差、饲养管理不良的情况下、很容易造成此病的发生。大肠杆菌对环境的抵抗力很强,附着在粪便、土壤、鸡舍的尘埃或孵化器的绒毛、碎蛋皮等的大肠杆菌能长期存活。各种年龄的鸡(包括肉用仔鸡)都可感染大肠杆菌病,发病率和死亡率受各种因素影响有所不同。不良的饲养管理、应激或并发其它病原感染都可成为大肠杆菌病的诱因。在雏鸡和青年鸡多呈急性败血症,而成年鸡多呈亚急性气囊炎和多发性浆膜炎。本病感染途径有经蛋传染、呼吸道传染和经口传染。

[0003] 因此说鸡大肠杆菌病已严重影响鸡群成活率及鸡群质量,给养殖业造成巨大的经济损失。然而现在主要采用抗菌药物进行预防和治疗鸡大肠杆菌病,但抗生素使用不当或滥用,往往达不到控制该病的目的,还常常导致药物残留和耐菌株的出现,治疗效果差。CN101947270 公开了一种治疗鸡白痢的气雾剂,采用黄连、黄柏、大黄、板蓝根、甘草、黄芪配伍成中药,通过提取、活性炭脱色、加入辅料和抛射剂制成气雾剂。对鸡的白痢疾病具有很好的治疗效果,但是在治疗过程中会对鸡产生一定的耐药性,从而在多次使用后会影响到其治疗效果。

发明内容

[0004] 本发明的目的是提供一种防治鸡大肠杆菌疾病的中药微生态制剂,降低鸡对药物的耐药性。

[0005] 为了实现以上目的,本发明所防治鸡大肠杆菌疾病的中药微生态制剂采用的技术方案是:一种防治鸡大肠杆菌疾病的中药微生态制剂,是由中药的提取液加入双歧杆菌和枯草芽孢杆菌混合菌液密闭厌氧发酵而成,其中所述中药采用如下重量份的组分:黄连 50 ~ 200 份、黄柏 50 ~ 200 份、大黄 50 ~ 100 份、黄芩 50 ~ 200 份、板蓝根 50 ~ 200 份、甘草 50 ~ 100 份。

[0006] 所述中药采用如下重量份的组分:黄连 180 份、黄柏 160 份、大黄 70 份、黄芩 100 份、板蓝根 130 份、甘草 60 份。

[0007] 所述混合菌液是由群落总数为 $0.5 \sim 1.0 \times 10^8$ CFU/ml 的双歧杆菌液和枯草芽孢杆菌液混合而成。

[0008] 本发明的防治鸡大肠杆菌疾病的中药微生态制剂采用如下方法制备:

[0009] 1) 按照配方量取黄连、黄柏、大黄、板蓝根、甘草加水煎煮提取,得到提取液 A;

[0010] 2) 按照配方量取黄芩加水煎煮提取,得到提取液 B;

[0011] 3) 合并提取液 A 和提取液 B 浓缩成清膏,加入活性炭静置,过滤得到滤液;

[0012] 4) 向步骤 3) 得到的滤液中加入双歧杆菌和枯草芽孢杆菌菌液, 于 $30^{\circ}\text{C} \sim 37^{\circ}\text{C}$ 密闭厌氧发酵 36 ~ 72 小时, 得到防治鸡大肠杆菌疾病的中药微生态制剂。

[0013] 步骤 1) 中具体的煎煮提取方法为: 将黄连、黄柏、大黄、板蓝根、甘草分三次煎煮, 每次加入该 5 种中药总药重量 5 ~ 9 倍的水, 第一次煎煮 2 小时, 第二、第三次分别煎煮 1 小时, 合并三次煎煮液, 过滤、浓缩得到提取液 A;

[0014] 步骤 2) 中具体的煎煮提取方法为: 将黄芩分三次煎煮, 每次加入黄芩重量 5 ~ 9 倍的水, 第一次煎煮 2 小时, 第二、第三次分别煎煮 1 小时, 合并三次煎煮液, 过滤、浓缩至黄芩重量的 5 ~ 10 倍, 调节 pH 值为 1 ~ 2, 保持 $50 \sim 60^{\circ}\text{C}$ 温度 1 ~ 2h, 静置 16 ~ 24h 得到沉淀, 将沉淀用水和 70% 乙醇洗涤收集洗液, 得到提取液 B。

[0015] 步骤 3) 中清膏为 $50 \sim 80^{\circ}\text{C}$ 相对密度为 1.1 ~ 1.3。

[0016] 本发明的防治鸡大肠杆菌疾病的中药微生态制剂, 采用双歧杆菌和枯草芽孢杆菌菌液发酵处理后, 提高了配伍中药的药物活性, 在保证具有很好疗效的前提下, 降低了药物对鸡所产生的耐药性, 在多次用药后依然能够得到很好的治疗效果。本发明防治鸡大肠杆菌疾病的中药微生态制剂, 具有清热泻火、消炎止痢的功效, 而且可以维持肠道菌群平衡, 抑制致病菌生长, 提高机体免疫力。用药方便, 安全、无毒、无药残、不易产生耐药性、高效。

具体实施方式

[0017] 实施例 1

[0018] 本实施例的防治鸡大肠杆菌疾病的中药微生态制剂, 是由中药的提取液加入 $0.5 \sim 0.6 \times 10^8 \text{CFU/ml}$ 的双歧杆菌液和枯草芽孢杆菌菌液密闭厌氧发酵而成, 中药采用如下重量份的组分: 黄连 50 克、黄柏 200 克、大黄 50 克、板蓝根 200 克、甘草 100 克、黄芩 50 克。具体的制备方法如下:

[0019] 1) 根据上述配方量分别称取黄连 50 克、黄柏 200 克、大黄 50 克、板蓝根 200 克、甘草 100 克, 加入 5 味中药总重量 5 倍的水, 煎煮三次, 第一次 2h, 后面两次各 1h, 合并三次煎液, 滤过, 浓缩滤液, 得 5 种中药的提取液 A;

[0020] 2) 称取黄芩 50 克, 加入黄芩重量 5 倍的水, 煎煮三次, 第一次 2h, 后面两次各 1h, 合并三次煎液, 滤过, 浓缩至黄芩重量的 6 倍, 调节浓缩液的 pH 值至 1 ~ 2, 经 50°C 保温 2 小时, 再静置 16h 得沉淀, 将沉淀用水和 70% 乙醇洗涤收集洗液, 得到提取液 B;

[0021] 3) 合并提取液 A 与提取液 B, 浓缩至 60°C 相对密度为 1.1 的清膏, 调 pH 值至 6.5, 静置, 滤过, 向滤液中加入 1% 的活性炭, 搅拌均匀后静置 30min 后抽滤, 得滤液 C;

[0022] 4) 取群落总数为 $0.5 \sim 0.6 \times 10^8 \text{CFU/ml}$ 的双歧杆菌和枯草芽孢杆菌混合菌液 3ml, 加入滤液 C 中, 于 37°C 密闭厌氧发酵 72 小时, 得到防治鸡大肠杆菌疾病的中药微生态制剂。

[0023] 其中双歧杆菌和枯草芽孢杆菌混合菌液可以采用双歧杆菌和枯草芽孢杆菌菌种采用常规方法培养而成, 即采用斜面菌种分别进行斜面菌种培养, 将每种斜面培养产生的悬浮液分别扩大培养, 培养至对数生长期 $0.5 \sim 0.6 \times 10^8 \text{CFU/ml}$ 时止, 或者采用市售产品混合而成。

[0024] 实施例 2

[0025] 本实施例的防治鸡大肠杆菌疾病的中药微生态制剂,是由中药的提取液加入 $0.7 \sim 0.8 \times 10^8 \text{CFU/ml}$ 的双歧杆菌和枯草芽孢杆菌菌液密闭厌氧发酵而成,中药采用如下重量份的组分:黄连 180 克、黄柏 160 克、大黄 70 克、板蓝根 130 克、甘草 60 克、黄芩 100 克。具体的制备方法如下:

[0026] 1) 根据上述配方量分别称取黄连 180 克、黄柏 160 克、大黄 70 克、板蓝根 130 克、甘草 60 克,加入 5 味中药总重量 6 倍的水,煎煮三次,第一次 2h,后面两次各 1h,合并三次煎液,滤过,浓缩滤液,得 5 种中药的提取液 A;

[0027] 2) 称取黄芩 100 克,加入黄芩重量 6 倍的水,煎煮三次,第一次 2h,后面两次各 1h,合并三次煎液,滤过,浓缩至黄芩重量的 8 倍,调节浓缩液的 pH 值至 $1 \sim 2$,经 55°C 保温 1.5 小时,再静置 20h 得沉淀,将沉淀用水和 70% 乙醇洗涤收集洗液,得到提取液 B;

[0028] 3) 合并提取液 A 与提取液 B,浓缩至 80°C 相对密度为 1.2 的清膏,调 pH 值至 6.5,静置,滤过,向滤液中加入 1% 的活性炭,搅拌均匀后静置 30min 后抽滤,得滤液 C;

[0029] 4) 取群落总数为 $0.7 \sim 0.8 \times 10^8 \text{CFU/ml}$ 的双歧杆菌和枯草芽孢杆菌混合菌液 3ml 加入滤液 C 中,于 34°C 密闭厌氧发酵 56 小时,得到防治鸡大肠杆菌疾病的中药微生态制剂。

[0030] 其中双歧杆菌和枯草芽孢杆菌混合菌液可以采用双歧杆菌和枯草芽孢杆菌菌种采用常规方法培养而成,即采用斜面菌种分别进行斜面菌种培养,将每种斜面培养产生的悬浮液分别扩大培养,培养至对数生长期 $0.7 \sim 0.8 \times 10^8 \text{CFU/ml}$ 时止,或者采用市售产品混合而成。

[0031] 实施例 3

[0032] 本实施例的防治鸡大肠杆菌疾病的中药微生态制剂,是由中药的提取液加入 $0.9 \sim 1.0 \times 10^8 \text{CFU/ml}$ 的双歧杆菌和枯草芽孢杆菌菌液密闭厌氧发酵而成,中药采用如下重量份的组分:黄连 200 克、黄柏 50 克、大黄 100 克、板蓝根 50 克、甘草 50 克、黄芩 200 克。具体的制备方法如下:

[0033] 1) 根据上述配方量分别称取黄连 200 克、黄柏 50 克、大黄 100 克、板蓝根 50 克、甘草 50 克,加入 5 味中药总重量 9 倍的水,煎煮三次,第一次 2h,后面两次各 1h,合并三次煎液,滤过,浓缩滤液,得 5 种中药的提取液 A;

[0034] 2) 称取黄芩 200 克,加入黄芩重量 7 倍的水,煎煮三次,第一次 2h,后面两次各 1h,合并三次煎液,滤过,浓缩至黄芩重量的 10 倍,调节浓缩液的 pH 值至 $1 \sim 2$,经 60°C 保温 1 小时,再静置 24h 得沉淀,将沉淀用水和 70% 乙醇洗涤收集洗液,得到提取液 B;

[0035] 3) 合并提取液 A 与提取液 B,浓缩至 50°C 相对密度为 1.3 的清膏,调 pH 值至 6.5,静置,滤过,向滤液中加入 1% 的活性炭,搅拌均匀后静置 30min 后抽滤,得滤液 C;

[0036] 4) 取群落总数为 $0.9 \sim 1.0 \times 10^8 \text{CFU/ml}$ 的双歧杆菌和枯草芽孢杆菌混合菌液 3ml 加入滤液 C 中,于 30°C 密闭厌氧发酵 36 小时,得到防治鸡大肠杆菌疾病的中药微生态制剂。

[0037] 其中双歧杆菌和枯草芽孢杆菌混合菌液可以采用双歧杆菌和枯草芽孢杆菌菌种采用常规方法培养而成,即采用斜面菌种分别进行斜面菌种培养,将每种斜面培养产生的悬浮液分别扩大培养,培养至对数生长期 $0.9 \sim 1.0 \times 10^8 \text{CFU/ml}$ 时止,或者采用市售产品混合而成。

[0038] 下面以具体实验说明本发明的药效:

[0039] 1 材料和方法:

[0040] 11 试验药品：本发明的中药微生物制剂。对照药物：黄连 50 克、黄柏 200 克、大黄 50 克、板蓝根 200 克、甘草 100 克、黄芩 100 克制备而成的中药液体制剂。

[0041] 1.2 试验动物：14～21 日龄的鸡。

[0042] 1.3 试验设计

[0043] 随机选择 500 只鸡，并进行大肠杆菌攻毒。待鸡群发病后，平均分为 5 个小组。试验组一饮水给药本发明实施例 1 的制剂，试验组二饮水给药本发明实施例 2 的制剂，试验组三饮水给药本发明实施例 3 的制剂，试验组四饮水给药对照药物，试验组五只饮水。

[0044] 14 试验方法

[0045] 前四组连续给药一周后继续进行大肠杆菌攻毒，连续大肠杆菌攻毒和给药 3 次共三周。第五组，自由饮水。每天观察患鸡的临床变化、治愈、好转、死亡等情况，并进行记录。

[0046] 1.5 疗效判断标准

[0047] 治愈率：试验结束后，病鸡症状消失，精神转好，食欲增长，完全恢复正常的鸡占该组鸡的比例。

[0048] 有效率：试验结束后，鸡病症状、精神、食欲明显好转的鸡占该组鸡的比例。

[0049] 无效率：试验期间出现症状，试验结束后仍不见症状消失的鸡占该组鸡的比例。

[0050] 1.6 临床试验结果见表 1 所示：

[0051] 表 1 临床试验结果

[0052]	组别	治愈率（%）	有效率（%）	无效率（%）
	本发明实例 1	79	90	10
	本发明实例 2	85	95	5
	本发明实例 3	80	83	17
	对照药物	52	71	29
	空白	-	-	-

[0053] 2 结论

[0054] 从以上试验可以看出，本发明实例 1、2、3 的治愈率要比对照药物组高，说明添加益生菌的中草药制剂要比单纯的中草药制剂疗效好，而且在进行连续的大肠杆菌攻毒后，相对于对照药物消除了对鸡产生的耐药性。其中，本发明实例 2 的治愈率最高，无效率是最低的。由此得出，本发明对鸡大肠杆菌病有明显的防治作用。