

doi: 10. 11751/ISSN. 1002 - 1280. 2020. 01. 11

一种治疗奶牛阴道炎症微生态制剂的临床药效学研究

张林冲¹, 贺凤英², 程超^{2,3*}

(1. 金宇保灵生物制品有限公司, 呼和浩特 010030; 2. 内蒙古双奇药业股份有限公司, 呼和浩特 010010;

3. 内蒙古集宁师范学院, 内蒙古集宁 012000)

[收稿日期] 2019 - 09 - 23 [文献标识码] A [文章编号] 1002 - 1280 (2020) 01 - 0059 - 08 [中图分类号] S859.7

[摘要] 为检验约氏乳杆菌 SQ0048 菌株所制备的微生态制剂对临床型奶牛阴道炎症的治疗作用, 将其应用于患有阴道炎的病牛体内, 利用临床兽医学方法观察给药前后患牛的临床症状, 采用变性梯度凝胶电泳法检测给药前后患牛阴道内的微生物菌群种属, 使用酶联免疫吸附技术检测给药前后患牛血清内细胞因子分泌量。结果显示, 此微生态制剂不仅可以缓解临床奶牛阴道炎症性症状, 提高发情率及受胎率, 还可以减少或杀灭阴道内的利氏卟啉单胞菌、铜绿假单胞菌、化脓隐秘杆菌及链球菌等, 增加约氏乳杆菌 SQ0048 菌株及谷氨酸棒状杆菌的数量, 改善阴道微生态环境, 维持阴道的微生态平衡; 同时给药后患牛血清中 IL - 1 β 、IL - 6、IFN - α 、TNF - α 分泌量显著低于给药前, 而 IL - 10 分泌量则显著高于给药前, 具有一定抑制炎症的生物学功能。

[关键词] 微生态制剂; 约氏乳杆菌; 药效学

Clinical Pharmacodynamic Study of Microecological Preparation for Treating Vaginal Inflammation in Dairy Cows

ZHANG Lin - chong¹, HE Feng - ying², CHENG Chao^{2,3*}

(1. The Spirit Jinyu Biological Pharmaceutical Co., Ltd., Huhhot 010030, China;

2. Inner Mongolia Shuangqi Pharmaceutical Co., Ltd., Huhhot 010010, China;

3. Jining Normal University, Jining, Inner Mongolia 012000, China)

Corresponding author: CHENG Chao, E - mail: chaocheng101@163.com

Abstract: The aim of this study was to verify the therapeutic effect of microecological preparations prepared using *Lactobacillus johnsonii* SQ0048 strain on cow vaginal inflammation. The clinical symptoms of the cows' vagina were observed by utilizing clinical veterinary methods. Denaturing gradient gel electrophoresis was used to detect microbial flora species in vaginal and enzyme - linked immunosorbent assays was used to detect the secretion of cytokines in bovine serum before and after *Lactobacillus johnsonii* SQ0048 was placed in the vagina of diseased

基金项目: 内蒙古厅市产学研协同创新科技合作项目 (No. 产学研 - 2017 - 15)

作者简介: 张林冲, 中级兽医师, 从事生物制药研究。

通讯作者: 程超。E - mail: chaocheng101@163.com

cow. The therapeutic effect of this microecological preparation was evaluated according to these changes before and after administration. The results showed that the microecological preparation could not only relieve the clinical vaginal inflammatory symptoms in cows, improve the estrus and conception rate, but also kill or reduce the amount of main pathogenic bacteria *Porphyromonas levii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Trueperella pyogenes* and *Streptobacillus* sp, etc, increase the number of *Lactobacillus johnsonii* (SQ0048) and *Corynebacterium glutamicum* to improve vaginal microecological environment and maintain the microecological balance in the vagina. At the same time, the secretion of IL-1 β , IL-6, IFN- α and TNF- α was significantly lower than expected in bovine serum, while the secretion of IL-10 was significantly higher than expected, which indicated that the microecological preparation had biological functions of inhibiting inflammation.

Key words: microecological preparation; *Lactobacillus johnsonii*; pharmacodynamics

奶牛生殖道炎症是奶牛养殖业最常见的疾病之一,可引起奶牛繁殖障碍等疾病,给畜牧业造成极大经济损失。随着诊疗技术的发展,人们逐渐发现奶牛生殖道炎症多数是由奶牛阴道炎症继发感染而引起的。目前,治疗奶牛阴道炎症多数使用中药及抗生素,但由此也导致了细菌耐药性及残留等问题。因此,寻找中药及抗生素以外的途径治疗奶牛阴道炎症已成为人们关注的热点。

微生态制剂是利用其所治疗部位正常的益生菌成员,尤其是此部位的优势菌株制成的活菌微生物制剂,不仅具有抑菌功能,还具有增强机体免疫力等益生功能,且不易引起细菌耐药性,对人畜无毒副作用,因此益生乳酸菌制成的微生态制剂已被广泛应用于临床实践,在维持或调整机体微生态平衡、防治疾病方面发挥了重要作用,但是利用微生态制剂治疗牛体生殖道炎症的报道则较少。有研究表明,乳酸菌菌株接种于奶牛炎性子宫,可减少奶牛阴道脓性分泌物^[1],降低子宫感染的发生率,激发奶牛子宫内膜的细胞防御机制,调节局部和全身免疫反应,提高繁殖性能^[2]。

本研究以患有阴道炎症的奶牛作为试验对象,将健康奶牛阴道内分离筛选出的具有抑菌特性的优势菌株约氏乳杆菌 SQ0048 菌株所制备成的微生态制剂应用于患牛阴道内,观察检测此微生态制剂对临床型奶牛阴道炎症的影响,评价疗效,以便为其在临床上的合理应用提供试验依据。

1 材料

1.1 试验动物 选择经兽医诊断的无抗菌药物用药史的患阴道炎症的成年荷斯坦奶牛 25 头,体重均为 400 ~ 600 kg。

1.2 试验场所 具有一定规模性且管理规范的内蒙古呼和浩特市托克托县青创牧场;内蒙古农业大学农业部动物疫病临床诊断与治疗重点实验室。

1.3 菌株及药品 约氏乳杆菌 SQ0048 菌株,由内蒙古双奇药业股份有限公司分离、鉴定并保存,已获专利,专利证书公告号:CN103070890B。约氏乳杆菌 SQ0048 微生态制剂低剂量(批号 20150520)、中剂量(批号 20150301)、高剂量(批号 20150408)均由内蒙古双奇药业股份有限公司制备。清宫促孕液(批号 20150707)购自杭州新元亨动物药业有限公司奶牛研究所。

1.4 主要试剂 MilliQ 水、甲醛、TEMED、Tris 碱、电泳 Marker(10000 bp、2000 bp)均购自大连宝生物有限公司;尿素、甲酰胺、丙烯酰胺、双丙烯酰胺、过硫酸铵、溴酚蓝、二甲苯青、冰乙酸、EDTA、无水乙醇、甲醛均购自上海联硕宝为生物科技有限公司;DNA 试剂盒和琼脂糖凝胶试剂盒购自 OMEGA E. Z. N. A 公司;ELISA 试剂盒(批号 20150427)购自上海酶联生物科技有限公司。

2 方法

2.1 试验分组 将 25 头患牛(0 ~ 70 月龄)随机分为 5 组,即阴性对照组、阳性对照组、高剂量试验组、中剂量试验组及低剂量试验组,每组 5 头(表 1)。

表 1 临床疗效观察试验分组

Tab 1 The groups of clinical observation

组别	药物	剂量	动物数	给药次数	间隔时间
阴性对照组	生理盐水	250 mL	5 头	1 次/d(9 d)	24 h
阳性对照组	清宫促孕液	250 mL	5 头	1 次/d(9 d)	24 h
高剂量试验组	约氏乳杆菌 SQ0048 微生态制剂	40 CFU/g	5 头	1 次/d(9 d)	24 h
中剂量试验组	约氏乳杆菌 SQ0048 微生态制剂	20 CFU/g	5 头	1 次/d(9 d)	24 h
低剂量试验组	约氏乳杆菌 SQ0048 微生态制剂	10 CFU/g	5 头	1 次/d(9 d)	24 h

2.2 给药方案 患牛阴道灌注给药。约氏乳杆菌 SQ0048 微生态制剂高、中、低剂量试验组每天阴道给药均为 5 g/袋制剂,将 1 袋制剂用 40 mL 的生理盐水充分溶解,使用输精枪直接灌注于奶牛阴道内,1 次/d,连续灌注 9 d。阳性对照组灌注清宫促孕液 250 mL,1 次/d,连续灌注 9 d;阴性对照组灌注生理盐水 250 mL,1 次/d,连续灌注 9 d。

2.3 临床症状治疗效果研究 给药前及给药后第 3、5、7、9 天和停药后第 45 天,观察并记录各组受试奶牛的临床症状(精神、食欲、不良反应、阴道及子宫的状态)、检测阴道分泌物状态(色泽、气味),给药后 2 个月检测发情率,给药后 3 个月检测受胎率。

判定标准:(1)剔除标准:患有重度、急性阴道炎症的奶牛;(2)纳入标准(入选标准):患有慢性、轻中度阴道炎症的奶牛;(3)剥脱标准:患有重度脓性阴道炎症的奶牛,或同时患有其他炎症病症的奶牛;(4)诊断标准:见表 2;(5)治愈标准:牛体可常呈站立姿势,眼观外阴无红肿,内阴无脓性分泌物粘液流出或流出粘液为无色透明状,且无气味;肛探阴道、子宫不肿胀、松弛,恢复正常状态。

表 2 临床诊断标准

Tab 2 Clinical diagnostic criteria

诊断标准	有效	无效
体征	牛体常呈站立姿势	牛体易躺卧姿势
外阴	正常	红肿
分泌物	颜色变为无色、透明无味	颜色为白色、黄色或绿色腥臭味
子宫、阴道(肛探)	不肿胀	肥大、松弛

2.4 实验室细菌学治疗效果研究 检测给药前及给药后 45 d 阴道分泌物样本微生物种属的变化。首先使用消毒棉签在患牛阴道穹窿后部、距宫颈 2~3.5 cm 处取样,然后将样本立即置于无菌离心管中,冰盒冷藏。实验时将装有样本的离心管内加入 3 mL 灭菌生理盐水,漩涡震荡洗脱,12000 r/min 离心 10 min,弃掉上清液,将沉淀提取 DNA,并进行聚合酶链式反应(PCR)。PCR 引物序列为:357f: GCCGCCCGCCGCGCGCGGCGGGCGGGCGG GGGCACGGGGGGCCTACGGGAGGCAGCAG; 517r: ATTACCGCGGCTGCTGG 进行。PCR 反应体系为(25 μL): ddH₂O 7.5 μL, 2 × Ultra - pfu - PCR Master Mix 12.5 μL, 上游引物(10 pmol/L) 1.0 μL, 下游引物(10 pmol/L) 1.0 μL, Template DNA 3.0 μL。PCR 反应条件为:95 °C 预变性 10 min; 94 °C 变性 30 s, 65 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 1 min 共计 10 个循环;94 °C 变性 30 s, 60 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 1 min 共计 10 个循环;94 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 1 min 共计 10 个循环;72 °C 延伸 5 min。而后将 PCR 产物进行 DGGE 电泳,实验操作按照武志华等^[3]的研究进行。将 DGGE 电泳的显著性条带切胶回收,再次进行 PCR 扩增,PCR 引物为:357f: CCTACGGGAGGCAGCAG; 517r: ATTACCGCGGCTGCTGG, 反应条件同上。将获得的显著性条带 PCR 产物进行测序,测序结果置于 GenBank 数据库中的 BLAST 软件比对。

2.5 炎性介质、炎性因子治疗效果研究 使用无菌采血针采集清晨未饲喂的患牛血液 4 mL, 倾斜

放置 2 h, 而后 8000 r/min 离心 4 min, 取上清液置于新离心管内, 利用 ELISA 方法^[4]检测给药前以及给药后 60 d 血清样本的炎性因子及炎性介质分泌量的变化。

2.6 数据统计与分析 采用 SPSS 22.0 软件对试验结果进行统计学分析。数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两个样本均数比较采用 *t* 检验, 两个以上样本比较采用单因素方差分析 (*F* 检验), $P < 0.05$ 具有统计学意义。

3 结果与分析

试验期间, 各组试验奶牛均未出现与受试药物相关的不良反应。

3.1 临床症状治疗结果 给药后, 约氏乳杆菌 SQ0048 微生态制剂高、中、低剂量试验组与阳性对照组的临床症状治愈率、发情率及受胎率均高于阴性对照组, 高剂量试验组、中剂量试验组的临床症状治愈率、受胎率均高于阳性对照组, 高剂量试验组的发情率高于阳性对照组。结果见表 3。

表 3 临床症状治疗结果

Tab 3 Results of clinical diagnosis

组别	临床症状恢复情况		发情		受胎	
	治愈数量/头	治愈百分率	数量/头	百分率	数量/头	百分率
阴性对照组	2	40%	1	20%	1	20%
阳性对照组	4	80%	3	60%	2	40%
高剂量试验组	5	100%	4	80%	3	60%
中剂量试验组	5	100%	3	60%	3	60%
低剂量试验组	4	80%	3	60%	2	40%

给约氏乳杆菌 SQ0048 微生态制剂前后患牛情况变化结果见图 1。结果显示: 患牛阴道炎症治疗前, 外阴红肿, 明显流有白色粘液, 带有腥臭味, 患畜喜躺卧, 给约氏乳杆菌 SQ0048 微生态制剂后, 外阴恢复, 无粘液流出, 患畜可站立。



图 1 给药前后患牛样本

Fig 1 Results of clinical treatment before and after administration

3.2 实验室细菌学治疗效果 结果见表 4。阴性对照组在给药前后, 微生物菌群种属变化差异不显著, 铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、念珠状链球菌 (*Streptococcus moniliformis*) 菌体数量开始增加, 同时出现了化脓隐秘杆菌 (*Trueperella*

pyogenes)、微单胞菌 (*Sporanaerobacter sp*), 提示本研究中生理盐水对菌群种属无改变。阳性对照组在给药前后, 化脓隐秘杆菌 (*Trueperella pyogenes*)、精子放线菌 (*Actinobacillus seminis*)、嗜水汽单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) 依旧存在, 但是其他菌体如, 铜绿假单胞菌及链球菌 (*Streptobacillus sp*) 数量变少或消失, 提示清宫促孕液可能能够杀灭铜绿假单胞菌及链球菌, 但是对化脓隐秘杆菌、嗜水汽单胞菌无作用。低剂量试验组给药后, 炎性阴道内微生物菌体种类主要由铜绿假单胞菌、精子放线杆菌、利氏卟啉单胞菌 (*Porphyromonas leyii*) 改变为约氏乳杆菌 SQ0048 微生态制剂主要菌株 *L. johnsonii* 及谷氨酸棒状杆菌 (*Corynebacterium glutamicum*)、鲍氏不动杆菌 (*Acinetobacter baumannii*)、*Amycolatopsis halophila*, 其中 *L. johnsonii*、谷氨酸棒状杆菌菌体数量占有优势。中剂量试验组给药前后, 微生物菌群主要种属与低剂量给药组几乎相同, 但是鲍氏不动杆菌 (*Acinetobacter baumannii*) 以及 *Amycolatopsis halophila* 消失, 而约氏乳杆菌 SQ0048 微生态制剂主要菌株 *L. johnsonii*、谷氨酸棒状杆菌、嗜水汽单胞菌则占有主要优势。高剂量试验组同中剂

量组给药结果几乎相同,提示以约氏乳杆菌 SQ0048 微生态制剂菌株制备的微生态制剂可以减少或杀灭阴道内的利氏卟啉单胞菌、铜绿假单胞菌、

化脓隐秘杆菌及链球菌等,增加 *L. johnsonii* 及谷氨酸棒状杆菌的数量,改变阴道微生态环境,维持阴道的微生态平衡。

表 4 给药前后菌体种属结果

Tab 4 The results of bacterial species analysis before and after administration

组别	给药前		给药后	
	相似菌体种属	分离率	相似菌体种属	分离率
阳性对照组 (给清宫促孕液)	<i>Actinobacillus seminis</i>	80%	<i>Actinobacillus seminis</i>	60%
	<i>Aeromonas hydrophila</i>	80%	<i>Aeromonas hydrophila</i>	80%
	<i>Shigella flexneri</i>	60%	<i>Tepidimicrobium sp</i>	40%
	<i>Streptobacillus sp</i>	60%	<i>Porphyromonas levii</i>	80%
	<i>Trueperella pyogenes</i>	20%	<i>Trueperella pyogenes</i>	20%
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20%	<i>Sporanaerobacter sp</i>	20%
阴性对照组 (给生理盐水)	<i>Aeromonas hydrophila</i>	80%	<i>Aeromonas hydrophila</i>	40%
	<i>Streptobacillus sp</i>	80%	<i>Sporanaerobacter sp</i>	60%
	<i>Actinobacillus seminis</i>	100%	<i>Actinobacillus seminis</i>	20%
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40%	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	80%
	<i>Clostridium sp</i>	20%	<i>Clostridium sp</i>	20%
	<i>Streptococcus moniliformis</i>	20%	<i>Streptococcus moniliformis</i>	100%
低剂量试验组			<i>Trueperella pyogenes</i>	20%
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100%	<i>L. johnsonii</i>	60%
	<i>Actinobacillus seminis</i>	80%	Uncultured bacterium	100%
	<i>Trueperella pyogenes</i>	20%	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	80%
	<i>Streptococcus pluranimalium</i>	20%	<i>Acinetobacter baumannii</i>	20%
	<i>Porphyromonas levii</i>	100%	<i>Amycolatopsis halophila</i>	40%
中剂量试验组	<i>Streptococcus</i>	40%	<i>Aeromonas hydrophila</i>	40%
	<i>Porphyromonas levii</i>	100%	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	100%
	<i>Actinobacillus seminis</i>	80%	Uncultured bacterium	60%
	<i>Streptobacillus sp</i>	80%	<i>Amycolatopsis halophila</i>	20%
	<i>Trueperella pyogenes</i>	40%	<i>L. johnsonii</i>	60%
	<i>Amycolatopsis</i>	20%	<i>Aeromonas hydrophila</i>	60%
	<i>Lysobacter xinjiangensis</i>	20%		
	<i>Streptococcus moniliformis</i>	80%		
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	80%		
Uncultured bacterium	20%			
高剂量试验组	<i>Actinobacillus seminis</i>	80%	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	80%
	<i>Porphyromonas levii</i>	100%	<i>L. johnsonii</i>	80%
	<i>Trueperella pyogenes</i>	80%	<i>Amycolatopsis halophila</i>	20%
	<i>Streptobacillus sp</i>	20%	<i>Aeromonas hydrophila</i>	60%
	<i>Parvimonas sp</i>	20%		

3.3 给药前后炎症介质、炎症因子治疗效果 结果见图 2。阴性对照组患牛血清中 IL-1 β 、TNF- α 及 IFN- α 水平在给药前后无显著性差异 ($P > 0.05$), 血清中 IL-6 水平在给药后较给药前极显著性升高 ($P < 0.01$), 血清中 IL-10 水平在给药后较给药前极显著性降低 ($P < 0.01$), 提示患牛炎症可能并未得到任何缓解; 阳性对照组患牛血清中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平在给药后较给药前显著性降低 ($P < 0.05$), 血清中 IL-10 水平在给药后较给药前极显著性升高 ($P < 0.01$), 提示患牛的炎症可能在逐渐减轻; 约氏乳杆菌 SQ0048 微生态制剂高、中、

低剂量试验组中患牛血清中 IL-1 β 、IFN- α 、TNF- α 水平在给药后较给药前均显著性降低或极显著性降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 患牛血清中 IL-6 水平在低剂量试验组及中剂量试验组给药后较给药前无显著性差异, 在高剂量试验组, 患牛血清中 IL-6 水平在给药后较给药前差异显著性降低 ($P < 0.05$), 患牛血清中 IL-10 水平在给药后较给药前均极显著性升高 ($P < 0.01$), 提示患牛的炎症可能在逐渐减轻, 且高剂量试验组抑制炎症效果要较中、低剂量试验组效果明显。

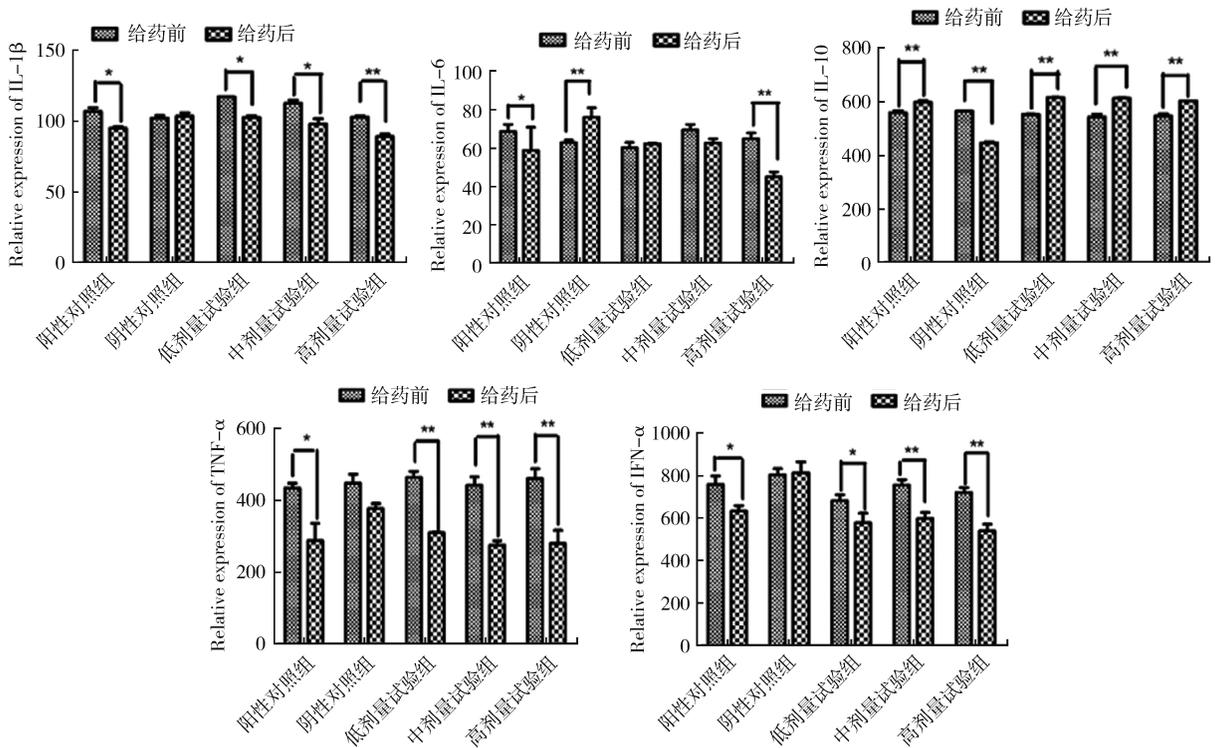


图 2 炎症因子及炎症介质结果 ($n = 3, \bar{x} \pm s$)

Fig 2 The results of inflammatory factors and mediators analysis ($n = 3, \bar{x} \pm s$)

4 讨论与结论

奶牛在饲养过程中, 由于环境、饲喂、产后护理、自身疾病等原因导致奶牛阴道感染极为普遍, 不仅影响了奶牛自身生长发育, 还引起其他如子宫内膜炎、乳腺炎等疾病, 严重的能引起奶牛不孕症或流产等。目前有效治疗奶牛阴道感染多使用中药或抗生素疗法, 由此而导致的奶牛牛肉及牛奶兽

药残留问题长期难以得到解决^[5]。乳酸菌作为益生菌成员, 其活菌及其代谢产物不仅具有抑菌功能, 还能够增强机体免疫力, 且不易引起细菌耐药性, 对人畜无毒副作用^[6]。一些现代研究已证实乳酸菌能够抑制奶牛生殖道炎症, 减少奶牛子宫疾病的发生。

本实验将健康奶牛阴道内分离筛选出的具有

抑菌特性的优势乳酸菌约氏乳杆菌 SQ0048 制成的微生态制剂应用于患有阴道炎的奶牛, 研究显示对奶牛阴道炎临床症状的缓解具有一定的效果, 且可提高受孕率及发情率。

实验室细菌学治疗效果研究显示, 阳性对照组及约氏乳杆菌 SQ0048 微生态制剂高、中、低剂量试验组均可杀灭或减少炎性阴道内主要存在的菌群, 诸如: 嗜水汽单孢菌胞菌、链球菌、弗氏志贺菌、铜绿假单胞菌以及利氏卟啉单孢菌等。嗜水汽单孢菌是弧菌科气单胞菌属, 此菌为条件致病菌, 可以产生毒性很强的外毒素, 当环境急剧变化的时候, 常会混合感染其他疾病, 使病情加重^[7]。链球菌是化脓性球菌的另一类常见细菌, 引起化脓性炎症。弗氏志贺菌是细菌性痢疾的主要病原菌之一, 常会引起炎症反应。铜绿假单胞菌又称绿脓杆菌, 此菌亦为条件致病菌, 易引起伤口感染, 导致菌血症或败血症^[8]。结果表明清宫促孕液与微生态制剂对炎症奶牛阴道内主要菌群均具有一定的抑制作用。但是给药后, 阳性对照组阴道内, 化脓隐秘杆菌、精子放线菌、嗜水汽单孢菌依旧存在, 而中、高剂量试验组微生物菌群主要改变为谷氨酸棒状杆菌、嗜水汽单孢菌以及此微生态制剂的主要菌株 *L. johnsonii*。谷氨酸棒状杆菌是兼性好氧菌, 非致病性菌属。试验证实中、高剂量试验组对奶牛炎性阴道主要菌群具有一定的抑制和杀灭作用。

炎性介质、炎性因子治疗效果研究显示, 低、中、高剂量试验组中患牛血清中促炎性因子 IL-1 β 、IFN- α 、TNF- α 水平在给药后较给药前极显著性降低, 高剂量试验组患牛血清中促炎性因子 IL-6 水平在给药后较给药前差异极显著性降低, 血清中抑炎性因子 IL-10 水平在给药后较给药前极显著性升高。IL-1 β 是炎症反应重要的细胞因子之一, 在机体正常的生理条件下是处于不表达或弱表达状态, 但在机体病理条件下, 其表达量会增加, 诱导炎症反应的发生^[9]。IL-6 同样是炎症反应重要的细胞因子之一, 当机体感染炎症时, 病变黏膜中的 IL-6 mRNA 的表达量以及蛋白表达量均明显升高, 与炎症分级正相关, 治疗后 IL-6 浓度下

降^[10]。IL-10 作为最重要的抑炎细胞因子, 其表达量增加可以抑制促炎反应和限制炎症引起的组织破坏^[11]。IL-10 可以抑制单核巨噬细胞产生的 IL-1 β 、IL-6、TNF、巨噬细胞集落刺激因子 (M-CSF)、粒细胞集落刺激因子 (G-CSF)、血小板活化因子 (PAF) 等因子的产生^[12]。TNF- α 是炎症、免疫反应过程中重要的细胞因子, 当表达量增加时, 可导致机体免疫调节的紊乱, 促进炎症的发展, 表达量降低时则可以抑制炎症的发展。IFN- γ 同样是炎症、免疫反应过程中重要的细胞因子, 具有抗病毒、抗肿瘤的作用, 还具有独特的免疫调节功能, 当表达量增加时, 可导致炎症的发展, 表达量降低时则可以抑制炎症的发展。很多文献均证实乳酸菌可以调控炎性细胞因子的表达。Lin M H 等研究显示, *B. pseudocatenulatum* CECT7765 可以抑制炎性细胞因子 TNF- α 和 IL-6 的产生^[12]。由 *Lbs2* 乳酸菌菌株在免疫生物处理中降低了结肠组织中 TNF- α 、IL-12 和 IL-17 的水平, 同时增加了 IL-10 和 TGF- β , 显著改善小肠结肠炎^[13]。同样, 植物乳杆菌 N14^[14] 和德氏乳杆菌 TUA4408L^[21] 也证实了通过 TLR2 可调节细胞炎性因子的变化, 降低 IL-1 β 、IFN- γ 表达, 德氏乳杆菌 TUA4408L 作用免疫细胞, 阻断抗 TLR2 抗体, 降低猪肠上皮细胞中 IL-8 水平^[15]。试验证实, 以约氏乳杆菌 SQ0048 菌株制备的微生态制剂具有抑制促炎因子以及提高抑炎因子表达量的分泌作用。

综上所述, 以约氏乳杆菌 SQ0048 制备的微生态制剂运用于临床型阴道炎患牛, 可缓解临床症状, 改变阴道微生物菌群, 改善阴道微生态环境, 具有抑制炎症的生物学功能, 这为制备治疗奶牛阴道炎的微生态制剂奠定良好试验依据和理论基础, 对于临床上减少抗菌药物副作用, 避免兽药残留对人体健康和公共卫生的危害性影响, 具有非常重要的现实意义和社会效益。

参考文献:

- [1] Raúl Miranda - CasoLuengo, Conceptualization, Data curation. Delayed differentiation of vaginal and uterine microbiomes in dairy

- cows developing postpartum endometritis[J]. *PLoS One*, 2019, 14(1): e0200974.
- [2] Ametaj B N, Iqbal S, Selami F. Intravaginal administration of lactic acid bacteria modulated the incidence of purulent vaginal discharges, plasma haptoglobin concentrations, and milk production in dairy cows[J]. *Res Vet Sci*, 2014, 96(2): 365–370.
- [3] 武志华, 夏冬双, 王雪寒. 利用 PCR-DGGE 技术分析内蒙古西部地区土壤细菌的多样性[J]. *生态学报*, 2019, 39(7): 2545–2557.
- Wu Z H, Xia D S, Wang X H. Analysis of bacterial diversity of soil in western Inner Mongolia using PCR-DGGE[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2019, 39(7): 2545–2557.
- [4] Rubinsztajn R, Przybyłowski T, Maskey-Warzęchowska M, et al. Serum testosterone depression as a factor influencing the general condition in chronic obstructive pulmonary disease patients[J]. *Adv Clin Exp Med*, 2019, 28(6): 783–788.
- [5] 王成武, 晋孝. 动物性食品中兽药残留的危害及控制[J]. *中国动物保健*, 2019, 39(7): 53–54.
- Wang C W, Jin X. Control and harm of veterinary drug residues in animal foods[J]. *China Animal Health*, 2019, 39(7): 53–54.
- [6] Genis S, Bach À, Aris A. Effects of intravaginal lactic acid bacteria on bovine endometrium: implications in uterine health[J]. *Vet Microbiol*, 2017, 204:174–179.
- [7] 张安英. 草鱼热激蛋白 70(HSP70)的细胞因子功能及参与炎症反应调节的研究[D]. 电子科技大学, 2018.
- Zhang A Y. Cytokine function of grass carp heat shock protein 70(HSP70) and its involvement in the regulation of inflammatory response[D]. University of Electronic Science and Technology, 2018.
- [8] 徐令清. 铜绿假单胞菌对微生物的抑制作用及机理探讨[D]. 华中科技大学, 2014.
- Xu L Q. Inhibitory effects of *Pseudomonas aeruginosa* upon other microorganism and mechanism[D]. Huazhong University of Science and Technology, 2014.
- [9] Richard A Polin, David H Rowitch, William W. Regulation of the inflammatory response cytokines and inflammatory response in the fetus and neonate[D]. *Fetal and Neonatal Physiology (Fifth Edition)*, 2017.
- [10] Zhang F, Yao S. Elevated IL-6 receptor expression on CD4 T cells contributes to the increased Th17 responses in patients with chronic hepatitis B[J]. *B Virol J*, 2011, 8(1): 270.
- [11] Mirmonsef P, Gilbert D, Zariffard M R. The effects of commensal bacteria on innate immune responses in the female genital tract[J]. *Am J Reprod Immunol*, 2011, 65(3):190–195.
- [12] Lin M H, Yang Y L, Chen Y P. A novel exopolysaccharide from the biofilm of *Thermus aquaticus* YT-1 induces the immune response through Toll-like receptor 2[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286: 17736–17745.
- [13] Resta S C. Effects of probiotics and commensals on intestinal epithelial physiology: implications for nutrient handling[J]. *The Journal of Physiology*, 2009, 587: 4169–4174.
- [14] Cao L, Yang X J, Li Z J, et al. Reduced lesions in chickens with *Clostridium perfringens*-induced necrotic enteritis by *Lactobacillus fermentum*[J]. *Poult Sci*, 2012, 91: 3065–3071.
- [15] Wachi S, Kanmani P, Tomosada Y, et al. *Lactobacillus delbrueckii* TUA4408L and its extracellular polysaccharides attenuate enterotoxigenic *Escherichia coli*-induced inflammatory response in porcine intestinal epitheliocytes via Toll-like receptor-2 and 4[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2014, 58: 2080–2093.

(编辑:李文平)