

甘辉群,刘明生,程 汉,等. 中药制剂“囊速治”对鸡传染性法氏囊病的防治效果[J]. 江苏农业科学,2013,41(7):203-205.

中药制剂“囊速治”对鸡传染性法氏囊病的防治效果

甘辉群¹,刘明生¹,程 汉¹,魏 宁¹,陈光明¹,李巨银¹,徐 勇²
(1. 江苏农牧科技职业学院,江苏泰州 225300; 2. 南通市苏鹏禽业有限公司,江苏海安 226661)

摘要:将 500 羽 14 日龄农大 3 号雏鸡随机分成预防组和治疗组,各组又分为高、中、低等 3 个剂量试验组、阳性对照组、阴性对照组,每组 50 羽雏鸡。预防组在连续 5 d 投服“囊速治”后,鸡传染性法氏囊病 (IBD) 毒株“HA01”株以 100ELD₅₀ 剂量滴口攻毒,治疗组于同等剂量攻毒后,连续 5 d 用“囊速治”治疗,分别观察饲喂“囊速治”对传染性法氏囊病的预防和治疗效果,同时测定攻毒前后“囊速治”对雏鸡抗氧化血清酶的影响。结果表明,饲喂“囊速治”对雏鸡 IBD 感染能提供有效保护 (保护率 94% 以上),治愈率高 (92% 以上);预防组雏鸡 SOD、GSH - PX 含量均显著高于阴性对照组,MDA 含量显著低于阳性对照组;治疗组雏鸡血清 SOD、GSH - PX 含量均显著高于阳性对照组,MDA 含量显著低于阳性对照组,但与阴性对照组无显著差异。

关键词:中药制剂;抗氧化;雏鸡;传染性法氏囊病;防治效果

中图分类号: S858. 313 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002 - 1302 (2013) 07 - 0203 - 02

鸡传染性法氏囊病 (IBD) 是由鸡传染性法氏囊病毒引起的一种急性高度接触性传染病。该病主要引起鸡法氏囊肿大、出血、坏死,致使免疫抑制,并继发感染其他疾病,造成鸡的生产性能降低或丧失,是目前危害养禽业的重大疫病之一^[1]。本研究采用自制的“囊速治”中药制剂,研究其对鸡传染性法氏囊病的防治效果,旨在为有效降低 IBD 的发病率和死亡率提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

中药方剂“囊速治”由本课题组制备,主要成分为黄芪、白术、玄参、板蓝根、生地黄、白头翁、海金沙、山豆根等,采用水提醇沉法制备成含生药量为 1 g/mL 的溶液。

毒株为本课题组自江苏省海安县某养鸡厂分离的“HA01 株”^[2],其鸡胚半数致死量 ELD₅₀/0.2 mL 值为 10^{-6.5}。

试验动物为 1 日龄无 IBD 抗体的健康农大 3 号雏鸡,购自南通市苏鹏禽业有限公司。

1.2 仪器与试剂

主要仪器包括 751 紫外分光光度计、普通离心机、漩涡混匀搅拌器、电热恒温水浴箱、精密天平。

主要试剂包括超氧化物歧化酶 (SOD) 试剂盒、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH - PX) 试剂盒、丙二醛 (MDA) 试剂盒,购自南京建成生物工程研究所。

1.3 试验方法

1.3.1 动物饲养 雏鸡按常规饲养方法网上平养,饲喂不含任何抗菌药物的全价配合饲料,自由采食及饮水,同时进行临床观察,及时剔除弱雏。

1.3.2 动物分组 雏鸡饲养至 14 日龄时 (期间不接种传

性法氏囊疫苗),选择 500 羽鸡,将其分为随机预防组和治疗组,其中又各设高、中、低等 3 个不同剂量试验组 (I、II、III 组),同时设阳性对照组 (IV 组) 和阴性对照组 (V 组),共 10 组,每组 50 羽鸡 (表 1)。

表 1 试验分组情况

分组与组别		给药方案	分组与组别		给药方案
预防组	I	高剂量组 (2.0 mL/次)	治疗组	I	高剂量组 (4.0 mL/次)
	II	中剂量组 (1.0 mL/次)		II	中剂量组 (2.0 mL/次)
	III	低剂量组 (0.5 mL/次)		III	低剂量组 (1.0 mL/次)
	IV	阳性对照组 (攻毒不喂药)		IV	阳性对照组 (攻毒不喂药)
	V	阴性对照组 (不攻毒不喂药)		V	阴性对照组 (不攻毒不喂药)

1.3.3 动物试验 预防组于 15 日龄时按高 (2.0 mL/次)、中 (1.0 mL/次)、低 (0.5 mL/次) 等 3 种剂量分别给供试雏鸡灌服中药制剂“囊速治”,每天 2 次,连续用药 5 d。试验组与阴性对照组于 20、22、25 日龄时采血备用。26 日龄时按 100 ELD₅₀ 剂量进行攻毒,记录攻毒后供试鸡的临床健康状况,计算发病率、死亡率、保护率。

治疗组于 14 日龄时按 100 ELD₅₀ 剂量进行攻毒,观察临床健康状况,待 24 h 鸡群出现症状时,按高 (4.0 mL/次)、中 (2.0 mL/次)、低 (1.0 mL/次) 等 3 种剂量分别灌喂中药制剂,每天 2 次,连续用药 5 d,各组均于 20、22、25 日龄采血备用,同时计算发病率、死亡率、治愈率。

每羽鸡的采血量均为 10 mL,血样 4 ℃ 过夜后,3 000 r/min 离心 15 min,分离血清。血清中相关酶的含量或活性测定按照试剂盒说明进行操作。

2 结果与分析

2.1 预防组的试验结果

从表 2 可以看出,按高、中、低等 3 种剂量对雏鸡连续喂

收稿日期:2013 - 01 - 13
基金项目:横向委托课题 (编号:PT1215)。
作者简介:甘辉群 (1980—),女,江西丰城人,硕士,讲师,研究方向为家禽疫病防控。E - mail:4624689@ qq. com。

“囊速治”5 d 后攻入强毒,均能对雏鸡提供有效保护(94% 以上)。虽然部分鸡群出现精神不振、食欲减少症状,甚至个别雏鸡出现排黄绿色稀便等症状,但雏鸡死亡率低,其中高剂量、中剂量试验组的雏鸡死亡率仅为 2%,而阳性对照组则高达 58%。

表 2 中药制剂“囊速治”对鸡传染性法氏囊病的临床防治结果

预防试验组别	雏鸡数量(羽)	发病率(%)	死亡率(%)	保护率(%)	治疗试验组别	雏鸡数量(羽)	发病率(%)	死亡率(%)	治愈率(%)
I	50	10	2	98	I	50	100	2	98
II	50	12	2	98	II	50	100	2	98
III	50	18	6	94	III	50	100	8	92
IV	50	100	58	0	IV	50	100	58	0
V	50	0	0		V	50	0	0	

表 3 中药制剂“囊速治”对雏鸡血清酶影响的预防试验结果

组别	SOD 含量(nu/mL)			GSH-PX 含量(活力单位/mL)			MDA 含量(μmol/mL)		
	20 日龄	22 日龄	25 日龄	20 日龄	22 日龄	25 日龄	20 日龄	22 日龄	25 日龄
I	206.3±13.6a	211.4±11.3a	202.7±12.5a	132.6±8.5a	137.5±9.4a	126.2±8.3a	6.6±0.8a	6.3±1.3a	7.1±1.1a
II	201.2±12.8a	204.1±11.2a	198.8±13.4a	127.4±10.1a	131.5±8.6a	124.2±10.2a	7.2±1.2a	6.8±0.9a	7.5±1.1a
III	192.9±11.5a	198.5±12.3a	187.6±8.6a	120.2±7.8a	125.5±8.7a	118.8±9.5a	7.8±1.2a	7.2±0.8a	7.5±0.9a
V	162.2±12.5b	163.6±11.8b	164.8±11.6b	100.3±11.8b	102.6±8.5b	103.7±7.9b	9.5±1.2b	9.3±0.8b	9.2±1.1b

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下同。

2.2 治疗组的试验结果

从表 2 可以看出,攻入强毒后,将“囊速治”以高、中、低等 3 种剂量对雏鸡连续给药 5 d,其治愈率在 92% 以上,死亡率在 8% 以下,而阳性对照组高达 58%。

从表 4 可以看出,攻入强毒后,将“囊速治”按高、中、低等 3 种剂量对雏鸡进行治疗,雏鸡血清 SOD、GSH-PX 含量均显著高于阳性对照组($P<0.05$),MDA 含量显著低于阳性对照组($P<0.05$),但与阴性对照组无显著差异($P>0.05$)。

表 4 中药制剂“囊速治”对雏鸡血清酶影响的治疗试验结果

组别	SOD 含量(nu/mL)			GSH-PX 含量(活力单位/mL)			MDA 含量(μmol/mL)		
	20 日龄	22 日龄	25 日龄	20 日龄	22 日龄	25 日龄	20 日龄	22 日龄	25 日龄
I	154.3±9.8a	166.4±9.7a	170.7±11.6a	97.7±10.2a	108.4±9.3a	117.2±8.7a	12.5±1.1a	11.1±1.2a	9.3±0.9a
II	152.2±10.4a	161.4±11.3a	165.3±13.2a	92.4±10.1b	104.5±8.6a	110.2±10.2a	12.8±1.5a	10.8±1.1a	9.4±1.1a
III	145.2±8.9b	160.6±9.6a	162.6±8.3a	88.2±7.8b	101.5±8.7a	105.8±9.5a	13.8±1.4a	11.5±1.2a	9.5±0.9a
IV	87.2±11.2c	92.3±10.5b	94.8±14.2b	64.2±5.6c	69.5±6.8b	72.8±9.5b	15.4±2.3b	16.2±1.5b	15.8±2.2b
V	160.3±14.2a	163.7±12.5a	164.2±12.1a	102.2±10.9a	105.5±8.6a	106.3±7.4a	9.4±1.1c	9.1±1.2c	9.0±0.8a

3 结论与讨论

3.1 辨证施治

按中兽医学的观点,IBD 属温热性疾病,由于抗 IBD 中药制剂“囊速治”是根据温热病的辨证原则进行组方的,体现了清热解毒、扶正祛邪、标本兼治的原则,对鸡 IBD 的防治产生了明显效果。目前,中药制剂“囊速治”正在申请国家专利。

3.2 自由基与抗氧化剂

自由基是机体进行生命活动时产生的一种活性分子(氧化产物)。当机体处于疾病状态时,会引起自由基过量产生,而体内自由基过多可引起蛋白质、核酸(DNA)变性,导致细胞和组织器官损伤,诱发各种疾病。中药制剂“囊速治”能提高雏鸡 SOD、GSH-PX 含量,降低 MDA 含量,及时清除疾病和其他不良因素对机体产生的过多自由基,产生了良好防治效果。

从表 3 可以看出,按高、中、低等 3 种剂量对雏鸡喂“囊速治”后,雏鸡血清 SOD、GSH-PX 含量均显著高于阴性对照组($P<0.05$),MDA 含量显著低于阳性对照组($P<0.05$)。在时间相同的情况下,给药剂量越高,雏鸡血清 SOD、GSH-PX 含量越高,MDA 含量越低,但无显著差异($P>0.05$)。

在时间相同的情况下,“囊速治”剂量越高,雏鸡血清 SOD、GSH-PX 含量越高,MDA 含量越低,但大多无显著差异($P>0.05$)。从表 4 还可以看出,对同一试验组来说,攻毒给药后,雏鸡血清 SOD、GSH-PX 含量呈上升恢复趋势,至停药后第 6 天(25 日龄)分别达到高峰,略高于阴性对照组,但无显著差异($P>0.05$);而 MDA 含量则逐渐下降,至停药后第 6 天也达到高峰,与阴性对照组无显著差异($P>0.05$)。

SOD 是广泛存在于需氧生物体内的一种金属酶,对机体的氧化与抗氧化起重要作用,能催化超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)产生歧化反应,清除超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$),保护细胞免受损伤。SOD 活性可间接反映机体清除自由基的能力^[3]。本研究表明,将“囊速治”按高、中、低等 3 种剂量饲喂雏鸡,均能显著提高其 SOD 含量,提高机体清除自由基的能力,保护细胞免受自由基损伤。

GSH-PX 是机体内广泛存在的一种重要催化过氧化氢分解的酶,是 H_2O_2 和 ROOH 的主要清除剂。它能特异地催化还原型谷胱甘肽(GSH)对过氧化氢的还原反应,起到保护细胞膜结构和功能完整的作用^[3]。本研究表明,给雏鸡饲喂“囊速治”能显著提高其 GSH-PX 含量,增强机体抗病力。

MDA 是一种脂质过氧化物,是由生物体内产生的自由基攻击生物膜中的不饱和脂肪酸(PUFA),引起脂质过氧化作

卢宇,吕芳,张娣,等. TLR3 激动剂对鸡 IBDV 活疫苗免疫的影响[J]. 江苏农业科学,2013,41(7):205-206.

TLR3 激动剂对鸡 IBDV 活疫苗免疫的影响

卢宇,吕芳,张娣,邓碧华,张金秋,侯继波

(江苏省农业科学院国家兽用生物制品工程技术研究中心,江苏南京 210014)

摘要:为了进一步研究 TLR3 激动剂(polyI:C)对鸡免疫功能的影响,首先体外用 polyI:C 直接作用鸡外周血淋巴细胞,测定 chTLR3 mRNA 的表达量,结果显示 polyI:C 也是 chTLR3 特异性配体,并且能够刺激 chTLR3 mRNA 表达,作用 3 h 效果最好。再将 polyI:C 配合鸡法氏囊活疫苗免疫进行体内试验,测定血清抗体效价和攻毒保护效率,结果显示 500 $\mu\text{g}/\text{羽}$ 的 polyI:C 对法氏囊活疫苗的免疫效果无明显增强作用。

关键词:鸡法氏囊病;聚肌胞;Toll 样受体

中图分类号: S851.34⁺7.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)07-0205-02

聚肌胞(polyriboinsine-polyribocytidylic acid, polyI:C)是由肌苷酸和胞苷酸聚合的双链 RNA,它能够诱导人类细胞和动物细胞产生干扰素,并且通过干扰素活化和协调免疫细胞的功能,对于小鼠、人等哺乳动物, polyI:C 是 TLR3 受体的配基^[1]。鸡传染性法氏囊病是对养禽业造成巨大经济损失的高度接触性传染病,没有特效药物可以治疗,主要应用疫苗进行预防,由于母源抗体和毒株变异等因素,导致疫苗应用的毒力也逐渐增强,但免疫效力却不见增加。大量研究表明,通过添加免疫增强剂可以显著提高疫苗的免疫效果, polyI:C 对禽用疫苗也有显著效果^[2-4]。本研究选用 TLR3 的激动剂 polyI:C,以鸡法氏囊活疫苗为模式抗原,以期探索 polyI:C 鸡作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物 14 日龄海兰褐蛋鸡,体重为 180~200 g,30 羽(购自山东省农业科学院 SPF 鸡实验种鸡场),每组 10 羽,隔离器饲养,自由采食饮水。

1.1.2 主要试剂 人用淋巴细胞分离液(中国医学科学院生物工程研究所), polyI:C(南京奥多福尼生物科技有限公

司), IBDV 抗体检测试剂盒(IDEXX 公司), 1640 培养基、小牛血清(Invitrogen 公司), Premix Ex TaqTM(宝生物工程(上海)有限公司)。

1.1.3 疫苗与毒株 IBDV 中强毒株活疫苗(南京天邦生物科技有限公司), IBDV BC6/85 株(江苏省农业科学院国家兽用生物制品工程技术研究中心实验室保存)。

1.1.4 主要仪器 水平离心机(TDZ5-WS), Lightcycler480 实时荧光定量 PCR 仪(罗氏公司), PCR 仪(Biometra), 生物安全柜(Tanon EPS-100 型), 电泳凝胶成像系统(UVP Bio-imaging Systems), Stat Fax-2100 酶联检测仪、Stat Fax-2600 洗板机(Awareness 公司产品)。

1.2 方法

1.2.1 chTLR3 mRNA 表达量的检测 按常规方法^[5]分离鸡外周血淋巴细胞,将所分离的淋巴细胞稀释为 $10^6/\text{mL}$,加 6 mL/孔于 6 孔细胞培养板。将 polyI:C 添加到细胞培养液,使其终浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$,各浓度设置 2 个重复孔,同时设置不添加佐剂的对照组 2 个孔,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 5% CO_2 细胞培养箱中培养 24 h。在佐剂添加前和添加后 3、6、9、12、24 h 收集淋巴细胞,保存于 -70 $^{\circ}\text{C}$ 。提取各组淋巴细胞的总 RNA,进行 RT 反应。用实时荧光定量检测方法检测 TLR3 与 β -actin 的 mRNA 丰度,并进行分析。

1.2.2 试验动物分组 将 30 羽 14 d 的海兰褐蛋鸡随机分成 3 组,每组 10 羽。A 组为佐剂试验组,传染性法氏囊疫苗按 1 羽份/羽免疫鸡的同时,注射 polyI:C 500 $\mu\text{g}/\text{羽}$; B 组为免疫对照组,1 羽份/羽免疫鸡传染性法氏囊疫苗的同时,注射生理盐水; C 组为非免疫对照组,只注射生理盐水。

1.2.3 血清中 IBDV 抗体的检测 免疫后每周采血 1 次,共

收稿日期:2013-01-07

作者简介:卢宇(1978—),男,江苏睢宁人,博士,副研究员,从事兽用生物制品工程技术的研究。Tel:(025) 84392078; E-mail: fishmanluyu@yahoo.com.cn。

通信作者:侯继波,博士,研究员,从事兽用生物制品工程技术的研究。E-mail: luyu@jaas.ac.cn。

用而形成的。这种产物还可通过生物体内有机物反应的链式或链式支链放大活性氧的破坏作用,引起细胞代谢与功能障碍甚至死亡。因此 MDA 含量可反映机体脂质过氧化程度,间接反映细胞受损伤程度^[3]。本研究表明,给雏鸡饲喂“囊速治”能使其 MDA 含量显著下降。

关于“囊速治”对雏鸡免疫功能的调节机制,及其是否对雏鸡其他病毒性或细菌性传染病产生防治效果,还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 蔡宝祥. 家畜传染病学[M]. 4 版. 北京:中国农业出版社,2001.
- [2] 甘辉群,刘明生,管远红. 一例鸡传染性法氏囊病毒强毒株的分离与鉴定[J]. 江苏农业科学,2012,40(1):184-185.
- [3] 刘明生,甘辉群,谭菊,等. 不同硒源对肉鸡血清中与自由基有关酶活力的影响研究[J]. 黑龙江畜牧兽医,2007(4):50-51.