

王永娟,朱善元,刘 博,等.地塞米松促进猪繁殖与呼吸综合征病毒致病性[J].江苏农业科学,2016,44(7):293-295.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.07.085

# 地塞米松促进猪繁殖与呼吸综合征病毒致病性

王永娟<sup>1</sup>,朱善元<sup>1</sup>,刘 博<sup>1</sup>,崔平福<sup>2</sup>,左伟勇<sup>1</sup>

(1.江苏农牧科技职业学院/江苏省兽用生物制药高技术研究重点实验室,江苏泰州 225300; 2.泰州出入境检验检疫局,江苏泰州 225300)

**摘要:**为检测地塞米松对猪感染 PRRSV 后免疫力及致病性的影响,将 6 头健康猪平分为 2 组,分别注射地塞米松和生理盐水,连续注射 3 d。检测注射前、注射后 1 周的 PRRSV 抗体阳性率及病毒量,观察并记录体温、呼吸、饮食、眼结膜、粪便等临床情况。结果显示,猪的 PRRSV 抗体阳性率为 100%,但注射后的抗体值高于注射前;病毒蛋白半定量结果显示病毒感染量显著增加;注射地塞米松组的猪表现出一定临床症状,而对照组未发生变化。结果表明,地塞米松会增加 PRRSV 的发病风险,为建立防治 PRRSV 感染的动物模型奠定了基础,为兽医临床中合理使用糖皮质激素类药物提出新的要求。

**关键词:**糖皮质激素;地塞米松;猪繁殖与呼吸综合征病毒;致病性

**中图分类号:**S858.28 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2016)07-0293-02

猪繁殖与呼吸综合征病毒(PRRSV)广泛存在于各养殖场,可引发免疫逃避,呈带毒但不发病、条件性致病状态<sup>[1]</sup>。发病时表现为 PRRSV 与其他病原同时存在,呈继发或并发感染<sup>[2]</sup>。病猪的临床症状变化较大,通常出现体温升高、食欲下降、气喘咳嗽、肢体末端瘀血、共济失调、运动减少、精神状态不佳等症状,死亡率达 50% 以上,母猪流产率达 30% 以上,给养猪业造成了巨大损失<sup>[3-4]</sup>。PRRSV 抗体产生较早,但初始 1 周内产生的抗体不具有中和作用,仅能作为一种指示性抗体用于病毒感染的早期检测;中和抗体产生比较缓慢,一般于病毒感染后 1~2 个月出现<sup>[5]</sup>。

地塞米松为代表性糖皮质激素类药物,对抗炎、免疫抑制、抗内毒素、抗休克、影响代谢具有显著作用<sup>[6-10]</sup>,在兽医临床中被广泛应用于治疗母畜代谢病,或与抗生素联合用于治疗感染性疾病。有报道表明,地塞米松等糖皮质激素可上调 PRRSV 受体的表达<sup>[11]</sup>,促进 PRRSV 感染或致病。拟将地塞米松注射于健康猪,通过临床症状、标志性抗体、病毒量等方面摸索开展 PRRSV 试验感染的条件,为建立防治 PRRSV 感染的动物模型奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料

猪繁殖与呼吸综合征 ELISA 抗体检测试剂盒购自中国农业科学院兰州兽医研究所。地塞米松(国药准字 H41020036)由江苏农牧科技职业学院动物实习医院提供。

收稿日期:2015-06-09

基金项目:江苏省科技支撑计划(编号:BE2014380);江苏农牧科技学院“凤凰人才工程”项目;江苏农牧科技职业学院 2014 年度重点支持项目(编号:NSFZD1405);扬州朝天歌农牧科技有限公司横向合作课题(编号:00010114012)。

作者简介:王永娟(1980—),女,博士,副教授,主要从事动物传染病防治研究。E-mail:43088591@qq.com。

通信作者:左伟勇,博士,教授,主要从事动物传染病防治研究。

E-mail:979490023@qq.com。

RevertAid M-MuLV Reverse Transcriptase、RNase Inhibitor、Taq DNA 聚合酶、1 kb DNA Ladder、琼脂糖、病毒 RNA 提取试剂盒均购自美国 Promega 公司。

### 1.2 试验动物

30 日龄健康仔猪购自江苏省如皋市某规模化养殖猪场。

### 1.3 猪群 PRRSV 抗体检测

在如皋市某猪场选取 10 头未发病的 30 日龄仔猪,无菌采血并分离血清,按照猪繁殖与呼吸综合征 ELISA 抗体检测试剂盒使用说明书检测抗体水平,分别读取  $D_{450\text{ nm}}$ ,每个血清样品做 2 个重复。按照该试剂盒的判断标准,被检血清平均吸光值(S)/标准阴性血清平均吸光值(N)值  $\geq 2.40$  判为阳性,  $< 2.40$  判为阴性。

### 1.4 适应性饲养与药物注射

根据 S/N 值判断仔猪的 PRRSV 抗体阳性率,选择其中读值较低的 6 头猪,分别称其质量,用耳号钳标记,适应性饲养于经氯仿消毒的畜舍。3 d 后,将 1~3 号猪作为地塞米松注射组,按 0.067 mg/kg 的剂量进行肌肉注射,每天 09:00、15:00 各 1 次,连续注射 3 d;将 4~6 号猪作为生理盐水注射组(阴性对照)。

### 1.5 临床症状观察

自注射地塞米松 1 d 起每天观察并记录食欲、精神状态、皮肤、呼吸、眼结膜、体温、粪便等临床症状,连续观察 7 d。

### 1.6 试验猪 PRRSV 抗体检测

于停止注射 1 周后无菌采集猪血并分离血清,按照“1.3”节的抗体检测方法分别测定 6 头猪的  $D_{450\text{ nm}}$ 。

### 1.7 病毒半定量测定

根据 GenBank 已公布的高致病性 PRRSV (HP-PRRSV)、低致病性 PRRSV (LP-PRRSV) 的 *Nsp2* 基因序列,分别设计能扩增出 400 bp 或(和)264 bp 的特异性上、下游引物,同时设计能扩增出 600 bp  $\beta$ -actin 的上、下游引物<sup>[12]</sup>。于注射 1 周后采集 6 头猪的唾液,按照病毒 RNA 提取试剂盒说明书提取其总 RNA,进行 *Nsp2* 基因的半定量 RT-PCR 检测,电泳后采用 ND-1000 型分光光度计进行灰度扫描,根据

各组 *Nsp2* 基因变化判断病毒量。

2 结果与分析

2.1 猪群 PRRSV 抗体

按照 PRRSV 抗体检测试剂盒说明书,测得 10 头未发病 30 日龄仔猪的 PRRSV 抗体  $D_{450\text{ nm}}$  值(表 1),根据该试剂盒的判断标准,判断 10 头被检猪的阳性率为 100%,但是均未发病。

表 1 被检猪 PRRSV 抗体水平测定

组别	$D_{450\text{ nm}}$ 值										阴性	阳性
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
A	0.231	0.223	0.312	0.256	0.269	0.251	0.566	0.227	0.299	0.236	0.052	0.503
B	0.248	0.230	0.301	0.255	0.278	0.242	0.528	0.226	0.301	0.240	0.053	0.531

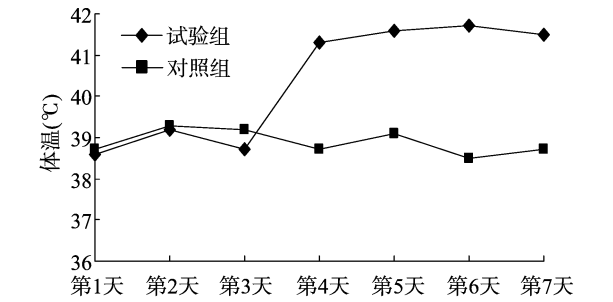


图1 试验猪体温变化曲线

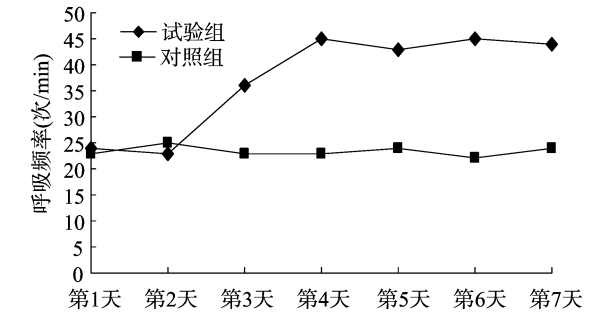


图2 试验猪呼吸数变化曲线

2.3 试验猪 PRRSV 抗体

于停止注射 1 周后测定猪的 PRRSV 抗体水平, $D_{450\text{ nm}}$  吸光值见表 2。根据该试剂盒的判断标准,判断试验猪的阳性率与注射前一致,均为 100%,但注射组血清的吸光值明显高于对照组血清。

表 2 试验猪 PRRSV 抗体水平测定

组别	$D_{450\text{ nm}}$						阴性	阳性
	1	2	3	4	5	6		
A	0.980	0.685	0.701	0.229	0.264	0.254	0.049	0.512
B	0.964	0.639	0.722	0.241	0.263	0.249	0.051	0.524

2.4 病毒基因半定量测定

唾液样品中病毒基因 *Nsp2* 的 RT-PCR 半定量检测结果见图 3。6 头猪均为 LP-PRRSV 病毒感染,而无 HP-PRRSV 病毒感染,试验组猪的病毒基因表达量比对照组提高 3 倍左右。

2.2 临床发病记录

按照  $D_{450\text{ nm}}$  值由低到高的顺序选择 6 头被检猪进行分组试验,自注射地塞米松 1 d 起观察每头猪的临床症状。结果显示,生理盐水注射组(对照组)未出现明显临床症状,地塞米松注射组(试验组)的猪出现食欲下降、精神萎靡、皮肤淤血、眼结膜潮红、腹泻症状。体温记录见图 1,呼吸数记录( $n=3$ )见图 2,试验组的体温与呼吸数于注射地塞米松 3 d 起开始升高。

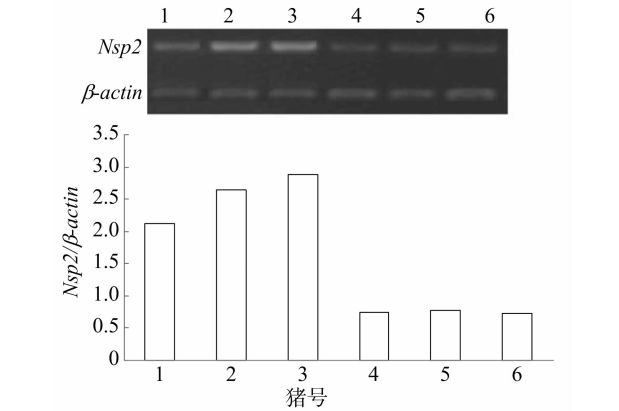


图3 试验猪 PRRSV *Nsp2* 基因的 RT-PCR 半定量检测

3 结论与讨论

PRRSV 病毒嗜好在肺泡巨噬细胞(PAM)、肺血管内巨噬细胞(PM)内复制<sup>[13]</sup>,可在数小时至数天内破坏大量巨噬细胞,造成肺、淋巴结的损伤,使其对异物的非特异性吞噬清除功能大幅降低,易继发其他细菌或病毒感染<sup>[2]</sup>。已有研究表明,其他病原的协同感染往往可刺激 PRRSV 受体表达,从而使猪更易感染,这是 PRRSV 常与其他疾病同时存在的根本原因。自然状态下的 PRRSV 复制不易成功,为在实验室开展 PRRS 的攻毒保护试验,有必要摸索 PRRSV 的感染条件。地塞米松等糖皮质激素可上调 PRRSV 受体的表达<sup>[11]</sup>,理论上可模拟其他病原促进 PRRSV 感染或致病。本研究选取感染 PRRSV 但未发病的猪为试验动物,人为注射地塞米松,结果显示地塞米松注射组的猪可在短时间内出现典型的 PRRS 症状,且抗体水平及病毒量均明显上升,而对照组未出现异常症状。结果表明,地塞米松可作为诱导剂增加猪感染 PRRSV 的风险并引起发病,可为今后建立 PRRSV 相关研究的试验动物模型奠定基础。

动物模型的建立一般应选择 SPF 动物,在隔离条件下进行试验。鉴于 PRRSV 带毒猪多、PRRSV 抗体阴性猪场较少、SPF 猪价格昂贵且运输不便等试验条件的限制,本试验选取带毒未发病仔猪,确保其他条件完全一致的情况下设立试验组与对照组,从临床症状、标志性抗体、病毒量方面判断地塞米松对 PRRSV 感染的影响,结果与预期一致,表明此方案具有可行性。

周孝琼,李炳贵,陈慧芳,等. 艾叶水煮醇提液对肉兔生长性能的影响[J]. 江苏农业科学,2016,44(7):295-297.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.07.086

# 艾叶水煮醇提液对肉兔生长性能的影响

周孝琼<sup>1,2</sup>, 李炳贵<sup>1</sup>, 陈慧芳<sup>1</sup>, 邱灵珊<sup>1</sup>, 王 华<sup>1,2</sup>

(1. 龙岩学院生命科学学院, 福建龙岩 364012; 2. 福建省预防兽医学与兽医生物技术重点实验室, 福建龙岩 364012)

**摘要:**为比较不同剂量艾叶水煮醇提液对肉兔生长性能的影响,采用 24 只断奶质量相当的哈尔滨白兔,研究不同剂量艾叶水煮醇提液对肉兔采食量、日增质量、料肉比等生长性能的影响。为探讨其作用机理测定了每只肉兔免疫球蛋白 IgG 的含量,并比较各组肉兔空肠绒毛形态特征。与对照组相比,剂量为 3.0 mL/只的末质量、平均日增质量、料肉比差异均极显著 ( $P < 0.01$ ),用药 10、20、30 d 时免疫球蛋白差异显著 ( $P < 0.05$ ),空肠绒毛高度差异显著 ( $P < 0.01$ )。结果表明,每只肉兔每天的艾叶水煮醇提液最佳饲喂剂量为 3.0 mL。

**关键词:**艾叶;水煮醇提液;肉兔;生长性能;免疫球蛋白

**中图分类号:** S816.73 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)07-0295-03

艾草是菊科多年生草本植物,普遍生长于路旁、荒野、草地,易采集且价格低廉。艾叶是传统中药,其味辛温,归肝、脾、胃三经,具有理气血、逐寒湿、调经、安胎、止血、防治多种疾病等功能<sup>[1]</sup>。现代医学分析和开发研究表明,艾叶具有抗菌、抗病毒<sup>[2]</sup>、抗肿瘤<sup>[3-4]</sup>、抗炎、抗氧化<sup>[5]</sup>等药理活性。艾叶不仅是人类的常用中药,也是畜禽及水生动物良好的饲料和饲料添加剂,具有促进动物生长、提高生产性能、改善动物产品品质、防治疾病等作用。艾叶富含营养成分,粗脂肪含量 4.4%、粗纤维含量 19.3%、粗灰分含量 7.4%、粗蛋白质含量

13.6%<sup>[6]</sup>。氨基酸的组成比较全面,谷氨酸、赖氨酸、组氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、香鲜味氨酸占总氨基酸的 75% ~ 90%<sup>[7]</sup>。在蛋雏鸡日粮中添加适量大蒜和艾叶可提高鸡的质量、日增质量,并降低料肉比,在添加之初对蛋雏鸡的质量和日增质量没有明显影响,之后影响逐渐增大<sup>[8]</sup>。在蛋种鸡的基础日粮中添加艾叶粉,可提高产蛋率、种蛋受精率、受精蛋孵化率、受精蛋健雏率<sup>[9]</sup>。艾叶在肉兔中的应用报道较少,仅限于粉剂在饲料中直接添加。本试验研究艾叶水煮醇提液对肉兔生长性能的影响,并探讨其作用机理,为中药添加剂的现代化应用提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验动物

选取健康的 30 日龄断奶哈尔滨白兔,雌雄各半,质量为  $(0.50 \pm 0.05)$  kg。

收稿日期:2015-10-15

基金项目:福建省教育厅 A 类项目(编号:JA13309/JA15505)。

作者简介:周孝琼(1977—),女,四川资阳人,主要从事中草药对畜禽生长性能的影响及疾病防治研究。E-mail:zhouxq1977@163.com。

通信作者:王 华,硕士,副教授。E-mail:whomer@163.com。

## 参考文献:

- [1] Kimman T G, Cornelissen L A, Moormann R J, et al. Challenges for porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) vaccinology[J]. Vaccine, 2009, 27(28): 3704-3718.
- [2] Rovira A, Balasch M, Segalés J, et al. Experimental inoculation of conventional pigs with porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus 2[J]. Journal of Virology, 2002, 76(7): 3232-3239.
- [3] 童光志, 周艳君, 郝晓芳, 等. 高致病性猪繁殖与呼吸综合征病毒的分离鉴定及其分子流行病学分析[J]. 中国预防兽医学报, 2007, 29(5): 323-327.
- [4] 田克恭. 高致病性猪蓝耳病流行现状与免疫防控进展[J]. 中国猪业, 2010(6): 9-11.
- [5] 李伟娟. 猪繁殖与呼吸综合征病毒遗传变异分析及感染后抗体消长规律的研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2009.
- [6] 史家欣, 李家树. 糖皮质激素抗炎作用机制的研究进展[J]. 实用医学杂志, 2014, 30(6): 983-984.
- [7] 王金泉, 刘志红. 糖皮质激素免疫抑制作用机理的新认识[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 1997, 6(2): 57-59.
- [8] 张丽丽, 赵欣欣, 杨 琦, 等. 糖皮质激素对内毒素耐受的影响[J]. 实用药物与临床, 2014, 17(6): 724-727.
- [9] 季宪飞, 李春盛. 糖皮质激素在感染性休克治疗中的作用及评价[J]. 中国实用外科杂志, 2009, 29(12): 989-992.
- [10] 高 静. 糖皮质激素对肉仔鸡骨骼肌蛋白代谢影响的研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2011.
- [11] Chen Y, Guo R, He S, et al. Additive inhibition of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection with the soluble sialoadhesin and CD163 receptors[J]. Virus Research, 2014, 179(1): 85-92.
- [12] 安春霞, 闫若潜, 吴志明, 等. 高致病性与低致病性猪繁殖与呼吸综合征病毒二重 RT-PCR 检测方法的建立及应用[J]. 中国畜牧兽医, 2013, 40(5): 66-70.
- [13] Thanawongnuweh R, Thacker E L, Halbur P G. Effect of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) (isolate ATCC VR-2385) infection on bactericidal activity of porcine pulmonary intravascular macrophages (PIMs); *in vitro* comparisons with pulmonary alveolar macrophages (PAMs)[J]. Veterinary Immunology and Immunopathology, 1997, 59(3/4): 323-335.