

抗病毒合剂对新城疫病毒抑制作用的体内试验*

张为民, 张淑霞, 宋晓平, 张德刚, 杨贵军, 卢双宝

(西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨陵 712100)

[摘要] 抗病毒合剂由具有抗病毒、清热、滋阴凉血等作用的中药组方经水煎、浓缩而成。通过鸡胚法和人工感染雏鸡测定其对新城疫病毒的抑制作用。结果表明, 抗病毒合剂在鸡胚内对新城疫病毒 F_{48E9} 毒株具有显著的抑制作用; 对人工感染新城疫病毒的雏鸡具有显著的预防和治疗作用, 并可延长雏鸡的存活时间。

[关键词] 抗病毒合剂; 抑制; 新城疫病毒(NDV)

[中图分类号] S853.31

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-2782(2002)04-0098-03

新城疫也称亚洲鸡瘟或伪鸡瘟, 是由新城疫病毒(Newcastle disease virus, NDV)引起的急性高度传染性疾病, 常呈败血症经过, 主要特征是呼吸困难, 下痢, 神经紊乱, 浆膜和黏膜出血^[1], 该病严重危害养鸡业的发展, 目前尚无有效的治疗方法, 国内外均采用疫苗免疫接种进行预防。近年来, 广大科技工作者开展了中草药抗病毒和促进机体免疫功能的研究, 取得了可喜的成果^[2-4]; 中草药在畜禽疫病的防治上也越来越受到人们的重视, 并已显示出其独特的优势。抗病毒合剂正是在中兽医理论的卫气营血辨证方法指导下, 筛选具有清热、抗病毒、滋阴凉血等作用的中药组方而成, 为了初步观察合剂对新城疫病毒的抑制作用, 进行了本试验, 现将试验结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 抗病毒合剂 由石膏、知母、紫花地丁、金银花、连翘、龙胆草、板蓝根、大青叶、鱼腥草、穿心莲、赤芍、玄参、生地、麦冬、蟾酥 15 味中草药组成, 药材均购自陕西省扶风中药采购供应站。用电子天平称取上述前 14 味中草药, 蒸馏水浸泡 2 h 后煎煮 15 min, 药物煎煮 2 次, 合并煎液, 浓缩至 1 g/mL, 将蟾酥研为极细粉加入, 混匀, 放入 4℃ 冰箱备用。

1.1.2 新城疫 F_{48E9} 病毒株 ED₅₀为 10^{-6.71}, 本校禽病研究室提供。鸡胚试验将新城疫病毒稀释至每 0.1 mL 稀释液中含有 20 个 ED₅₀。

1.1.3 鸡胚 9 日龄, 60 枚, 购自本校农科院种鸡场。雏鸡, 购自杨陵卜村孵化场。

1.1.4 1% 鸡红细胞悬液 按常规方法制备^[5]。

1.2 方法

1.2.1 鸡胚抗病毒试验^[6] 选择 9 日龄健康活鸡胚, 随机分为以下 5 组, 每组 12 枚。

(1) 同途径治疗组: 先经尿囊腔接种病毒 0.1 mL, 置胚于 37℃ 温箱 60 min 后取出, 每胚尿囊腔再注射抗病毒合剂 0.2 mL。

(2) 同途径预防组: 先于尿囊腔注射药物 0.2 mL, 置胚于 37℃ 温箱 60 min 后取出, 每胚于尿囊腔接种病毒 0.1 mL。

(3) 异途径治疗组: 先于尿囊腔接种病毒 0.1 mL, 置胚于 37℃ 温箱 60 min 后取出, 每胚于卵黄囊注射药物 0.2 mL。

(4) 异途径预防组: 先于卵黄囊注射药物 0.2 mL, 置胚于 37℃ 温箱 60 min 后取出, 每胚于尿囊腔接种病毒 0.1 mL。

(5) 对照组: 先于尿囊腔接种病毒 0.1 mL, 置胚于 37℃ 温箱 60 min 后取出, 于尿囊腔注射生理盐水 0.2 mL。

以上各组鸡胚接种完毕后, 用石蜡封孔。放入 37.5℃ 温箱孵育 96 h, 每 12 h 照蛋 1 次, 弃去 24 h 内死亡的鸡胚。收集余胚尿囊液, 测定其血凝(HA)效价。

1.2.2 人工感染试验^[7,8] 将 60 只 25 日龄健康雏鸡随机分为以下 3 组, 每组 20 只, 感染病毒量为

* [收稿日期] 2001-09-04

[基金项目] 西北农林科技大学青年科研专项基金

[作者简介] 张为民(1967-), 男, 山西芮城人, 讲师, 主要从事中兽医教学及研究。

0.5 mL/只(含 2.65×10^3 ELD₅₀), 药物灌服剂量为每只每次 0.5 mL, 12 h 灌服 1 次。

(1) 预防组: 于给药后 24 h 接种新城疫病毒 0.5 mL, 连续给药 3 d。

(2) 治疗组: 于给药前 24 h 接种新城疫病毒 0.5 mL, 连续给药 3 d。

(3) 对照组: 灌服生理盐水前 24 h 接种新城疫病毒 0.5 mL, 每 12 h 灌服生理盐水 0.5 mL, 连续 3 d。

观察各组鸡的临床症状、死亡情况及剖检变化, 并记录结果。

2 结果

2.1 鸡胚抗病毒试验结果

不同途径组血凝效价方差分析结果表明, 差异极显著 ($P < 0.01$), 说明抗病毒合剂在鸡胚内对新城疫病毒 F_{48E9} 毒株具有显著的抑制作用。

表 1 鸡胚试验血凝效价测定结果

Table 1 The results of antibody titer in chicken embryos test

组别 Group	胚数 No. of embryo- nated eggs	血凝效价 ($\bar{X} \pm S$) Antibody titer
同途径治疗组 Cure in same way	11	2.09 ± 1.70**
同途径预防组 Prevention in same way	12	2.67 ± 1.15**
异途径治疗组 Cure in different way	12	2.50 ± 1.17**
异途径预防组 Prevention in different way	12	3.50 ± 0.67**
对照组 Control	10	6.50 ± 0.85

注: ** 差异极显著 ($P < 0.01$)。

Note: ** Different very significantly ($P < 0.01$).

2.2 人工感染试验结果

动物试验中, 病毒对照组在给药 48 h 后, 逐渐出现临床症状; 60 h 后, 其他 2 组出现临床症状。表现为体温升高, 升幅多在 0.5~1, 有的鸡甚至达到 1 以上, 食欲减少或不吃, 昏睡, 拉黄绿色或黄白色稀粪, 呼吸困难, 伸头, 张口呼吸, 倒提时有大量黏液从口内流出, 有的病鸡出现神经症状, 96~128 h 为死亡高峰期。剖检可见典型新城疫病变^[1]。预防组、治疗组与对照组之间进行 χ^2 检验, 结果预防组、治疗组与对照组相比较, 差异显著, 说明抗病毒合剂有明显抑制病毒的作用。雏鸡存活率和平均存活时间见表 2。

表 2 人工感染试验雏鸡存活率和平均存活时间

Table 2 Survival rate and living days on average of infected chickens

组别 Group	感染只数 Infected number	存活数 Survival number	存活率/% Survival rate	平均 存活时间/d Survival days on average
预防组 Prevention	20	7	35*	8.63
治疗组 Cure	20	8	40*	8.45
对照组 Control	20	1	5	5.73

注: * 差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: * Different significantly ($P < 0.05$).

3 讨论

在中兽医理论的指导下, 按卫气营血辨证, 针对鸡新城疫的特征和临床表现组成本方。方中金银花、紫花地丁、连翘、板兰根、大青叶、鱼腥草、穿心莲、蟾酥为清热解毒药, 透热外出。其中板兰根、大青叶善治热毒时疫、咽喉肿痛、热毒发斑; 鱼腥草具有祛痰、平喘等作用; 龙胆草可清泻肝胆之火。现代药理学研究证明, 金银花、连翘、板兰根、大青叶、鱼腥草、穿心莲均有不同程度的抑制病毒的作用^[9-11]。石膏、知母为清热泻火药, 清泻肺胃热; 配以赤芍, 凉血活血, 主治血热妄行引起的各种出血症和瘟病发斑; 玄参、生地、麦冬具有滋阴清热, 用于瘟病引起的津液亏损。诸药合用, 清热、解毒、滋阴, 能使热毒迅速清除。

新城疫病毒在鸡胚中增殖, 释放到尿囊液中。新城疫病毒在一定条件下能使鸡红细胞发生肉眼可见的血凝现象。如在鸡胚内注入药物后, 尿囊液不出现血凝现象, 则表示药物在鸡胚内对新城疫病毒具有抑制作用^[6]。本试验采用不同的给药途径来观察抗病毒合剂在鸡胚内对新城疫病毒的抑制作用, 鸡胚试验结果表明, 抗病毒合剂对不同途径感染 20E D₅₀ 新城疫病毒的增殖均有显著的抑制作用。

人工感染动物试验证明, 新城疫病毒通过呼吸道或消化道侵入鸡机体后, 先在呼吸道和肠道内繁殖, 然后迅速侵入血液, 导致红细胞凝集, 并随血液扩散至全身, 引起败血症。病毒在血液中损伤血管壁, 引起出血和坏死变化^[12]。本试验中, 病毒进入机体, 一定浓度的抗病毒合剂通过有效成分直接杀灭病毒或提高机体免疫功能, 抑制了新城疫病毒。对试验动物存活情况和平均存活时间进行方差分析, 并对其平均数进行多重比较, 表明抗病毒合剂对雏鸡有显著的治疗和预防作用, 并可延长雏鸡存活时间。

[参考文献]

- [1] 蔡宝祥. 家畜传染病学[M]. 第3版. 北京: 中国农业出版社, 1991. 252
- [2] 靳红. 中药对鸡体的调节作用[J]. 动物科学与动物医学, 2000, (4): 41- 42
- [3] 唐雪明, 胡元亮. 黄芪多糖对雏鸡外周血T淋巴细胞转化功能的影响[J]. 中国兽医学报, 1998, 18(3): 269- 270
- [4] 邓桦, 杨鸿. 免疫增强剂对雏鸡免疫功能的影响[J]. 中国兽医学报, 2001, (1): 96- 97
- [5] 蔡宝祥, 殷震, 谢三星, 等. 动物传染病诊断学[M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 1993. 101
- [6] 陈奇. 中药药理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993. 282- 286
- [7] 邹莉玲, 邹小生, 熊文淑, 等. 玉屏风口服液对流感病毒抑制及对机体免疫功能影响[J]. 中药材, 1990, 13(1): 37- 38
- [8] 刘瑞平, 马家爽, 肖龙英, 等. 民间中草药片剂防治鸡新城疫的效力初报[J]. 中兽医学杂志, 1996, (4): 4- 6
- [9] 北京农业大学. 中兽医学[M]. 第2版. 北京: 北京农业大学出版社, 1987. 119
- [10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000
- [11] 江西新医学院. 中药大辞典[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1978
- [12] 张先福, 温伟业, 赵恒寿, 等. 中草药禽瘟灵抗新城疫病毒(NDV)作用的探讨[J]. 中兽医医药杂志, 2001, 20(1): 8

Study on function of anti-virus mixture to resist NDV

ZHANG Wei-min, ZHANG Shu-xia, SONG Xiao-ping,
ZHANG De-gang, YANG Gui-jun*, LU Shuang-bao*

(College of Animal Sciences and Technology, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Anti-virus mixture consisted of many kinds of medicine which had functions such as anti-virus, heat-clearing, nourishing Yin and cooling-blood, etc, and finished by deconcting with water and concentrating method. Inhibiting function of it to New castle Disease Virus (NDV) was tested through chicken embryos method and artificially infecting chickens. The results showed that anti-virus mixture had remarkable inhibiting function to NDV F_{48E9} in chicken embryos and had obvious preventive and treatment functions to young chickens that were infected by NDV. In addition, it could also prolong the living time of the infected chicken.

Key words: anti-virus mixture; inhibition; New castle Disease Virus

欢迎订阅 2003 年《西北农业学报》

《西北农业学报》是由教育部主管, 西北农林科技大学、甘肃、宁夏、青海、新疆农(林、垦)业科学院和新疆、青海畜牧(兽医)科学院等八院校联合主办的农牧业学术期刊。本刊立足大西北, 面向国内外, 主要刊载体现西北地方特色的农牧业各专业学科在基础理论研究和应用技术理论研究方面具有创见的学术论文、领先水平的科研成果、学术报告、研究简报, 有新意的文献综述及学术动态、科研成果、新品种介绍等。

读者对象为农牧业科技人员、农业院校师生及高级农业技术管理人员。

《西北农业学报》1992年创刊, 为陕西省优秀科技期刊, 中国科学引文数据库源期刊, 入编《中国学术期刊(光盘版)》和万方数据库, 已被国内外12家权威性文摘期刊和数据库固定转载或收录。

本刊为季刊, 季末月10日出版, 大16开本, 120页, 另附进口铜版纸图版。国内外公开发行, 邮发代号52-111; 国外发行: 中国国际图书贸易总公司(北京399信箱), 代号Q4380。每期定价8.00元, 全年32元。全国各地邮局均可订阅, 亦可直接向编辑部订阅。

编辑部地址: 陕西杨凌西北农林科技大学西农校区33信箱

邮政编码: 712100 联系电话: (029)7091132

