

周广生, 张步彩, 王永娟, 等. 垂花香薷注射液接种鸡胚抗鸡新城疫病毒研究[J]. 江苏农业学报, 2011, 27(1): 226-227.

垂花香薷注射液接种鸡胚抗鸡新城疫病毒研究

周广生, 张步彩, 王永娟, 王海燕, 刘玉华, 刘莉, 郭方超
(江苏畜牧兽医职业技术学院, 江苏 泰州 225300)

关键词: 垂花香薷注射液; 鸡新城疫病毒; 鸡胚接种; 血凝试验

中图分类号: S858.31

文献标识码: A

文章编号: 1000-4440(2011)01-0226-02

Antiviral activity of *Elsholtzia pmdulifora* against Newcastle disease virus by injecting liquid into chicken embryo

ZHOU Guang-sheng, ZHANG Bu-cai, WANG Yong-juan, WANG Hai-yan, LIU Yu-hua, LIU Li, GUO Fang-chao

(*Jiangsu College of Animal Husbandry and Veterinary, Taizhou 225300, China*)

Key words: injection liquid of *Elsholtzia pmdulifora*; Newcastle disease virus; chicken embryo inoculation; haemagglutination test

鸡新城疫是由新城疫病毒——禽副黏病毒血清1型病毒引起的一种急性、热性、高度接触性传染病,常呈败血症经过,主要特征是呼吸困难、下痢、神经机能紊乱、黏膜和浆膜出血。发病率和死亡率高,是目前为害养鸡业比较严重的传染病之一^[1]。几十年来,本病主要采取预防接种来控制流行,免疫效果比较好,但免疫程序不正确或疫苗保管不当,往往导致免疫失败而使鸡发病^[2]。新城疫发生后,抗生素、磺胺类药品无治疗作用。利巴韦林对鸡新城疫病毒有一定作用,但效果也不是太理想,严重制约了养禽业的发展^[3]。本试验为了探讨垂花香薷注射液对鸡新城疫的治疗效果,进行了垂花香薷注射液抗新城疫病毒的体外抑制试验^[4],旨在为临床应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验鸡胚 SPF 鸡胚,购于山东省农业科学院家禽研究所。

1.1.2 新城疫毒株 国内标准强毒株 F₄₈E₉,由哈尔滨兽医研究所提供。

1.1.3 药品 中药垂花香薷 1 000 g 用水浸泡,煎煮 2 次,合并煎液浓缩至稠状,加 95% 乙醇沉淀 2 次,每次沉淀 48 h,回收乙醇,将药液浓缩至 1 000 ml。垂花香薷注射液由江苏畜牧兽医职业技术学院研制。利巴韦林注射剂由济南利民制药有限公司生产,配成 0.05 g/ml 浓度。生理盐水注射液由安徽双鹤药业有限责任公司生产。

1.1.4 1% 鸡红细胞悬液的制备 无菌采鸡血加抗凝剂,离心去血浆,沉淀用生理盐水洗涤 3 次,每次 2 000 r/min 离心 10 min,然后去掉上清液,红细胞用生理盐水配成 1% 的红细胞悬液。

1.2 试验分组

10 日龄鸡胚 124 枚,随机分成 2 组:第 1 组为药物毒性试验,分为 5 小组,每小组 4 枚鸡胚,重复 3 次;第 2 组为垂花香薷注射液对鸡新城疫病毒增殖的抑制作用试验,分为 4 小组,每小组 16 枚鸡胚。

1.3 试验方法

1.3.1 半数致死量测定 将病毒尿囊液稀释不同倍数,接种 SPF 鸡胚,得出胚胎半数致死量。经过测定,鸡胚病毒尿囊液半数致死量的稀释度为 1:10 000 000,正式试验接种稀释度用 1:5 000 000 的尿囊液。

收稿日期:2010-04-17

作者简介:周广生(1953-),男,江苏泗阳人,研究员,主要从事动物疫病防治教学与研究。(Tel)13914543330;(E-mail)zgs5566@126.com

1.3.2 药物毒性试验 将垂花香薷注射液用生理盐水作2倍、3倍、5倍稀释,将中药注射液原液及不同浓度的药液各接种于4枚10日龄鸡胚的尿囊液中,每只0.2 ml,置37℃恒温箱孵育72 h,每天观察鸡胚存活情况,全部存活的最高药物浓度为正式试验的起始浓度。同时以注射生理盐水为对照组。

1.3.3 垂花香薷注射液对鸡新城疫病毒增殖的抑制试验 分为4组:Ⅰ组,病毒尿囊液0.1 ml,垂花香薷注射液0.2 ml;Ⅱ组,病毒尿囊液0.1 ml,西药利巴韦林0.2 ml;Ⅲ组,病毒尿囊液0.1 ml,生理盐水0.2 ml;空白对照组,不接种病毒尿囊液,不给药。病毒尿囊液接种浓度为1:5 000 000,中药垂花香薷注射液接种浓度为原液。

上述鸡胚在37℃恒温箱中孵育,每天照蛋2~3次,弃去24 h内死胚。收取24~72 h死胚和72 h活胚尿囊液,低温保存备用。以血凝(HA)试验检测每组鸡胚尿囊液的病毒滴度。

2 结果

2.1 中药注射液毒性试验

试验结果显示,接种各浓度中药注射液的鸡胚在24 h、48 h及72 h后均无死亡,故用原液注射液为正式试验的起始浓度。

2.2 垂花香薷注射液对鸡新城疫病毒增殖的抑制作用

Ⅰ组鸡胚在24~72 h死亡4枚,至72 h存活12枚,鸡胚发育正常,无出血。收集4枚死亡鸡胚与12枚存活鸡胚尿囊液,经检测HA滴度均为0。

Ⅱ组鸡胚在24~72 h死亡10枚,至72 h存活6枚,鸡胚发育不良,全身弥漫性出血。收集10枚死胚尿囊液与6枚存活的鸡胚尿囊液,经检测HA滴度为6lg2。

Ⅲ组鸡胚在24~72 h内死亡16枚,鸡胚发育不良,全

身弥漫性出血。收集16枚鸡胚尿囊液,经检测HA滴度为8lg2。

Ⅳ组在72 h内无鸡胚死亡,鸡胚发育正常,无出血。收集所有活胚尿囊液,经检测HA滴度为0。

3 讨论

本试验用的垂花香薷中药,是唇形科香薷属植物 *Elshallzia pmdulifora* W. W. Smith 的全草,生于海拔1 100~2 400 m的湿润肥沃土壤、山谷边、开矿山坡、荒地、林缘或灌丛间^[5]。分布于云南省东南部、南部或西部等地^[6]。现代药学研究表明,垂花香薷有抗炎、抗菌、抗病毒等作用。现代医学应用对垂花香薷研究较少,动物医学方面研究就更少^[7]。本试验结果表明,中药垂花香薷注射液对鸡胚无毒性作用。垂花香薷注射液与鸡新城疫病毒同时接种鸡胚,能完全抑制病毒在鸡胚中增殖。

参考文献:

- [1] 卢卫红,司兴奎,张济培,等.雏鸡感染新城疫病毒后机体抗氧化功能的变化[J].中国预防兽医学报,2009,31(3):179-182.
- [2] 陆昌华,王长江,胡肄农,等.中国畜禽重大疫病防治的数字化监控体系[J].江苏农业学报,2005,21(3):225-229.
- [3] 程太平,师丽敏.3种血清学试验检测鸡血清中鸡新城疫抗体的比较研究[J].江苏农业科学,2007(2):128-130.
- [4] 梁宏志.黑龙江鸡新城疫的流行现状及防制[J].黑龙江畜牧兽医,2005(7):85.
- [5] 宋立人,吴贻谷,胡烈,等.中华本草[M].上海:科学技术出版社,1999:41-42.
- [6] 张庆芝,普春霞,孙姣,等.垂花香薷的生物学研究[J].云南中医中药杂志,2008(9):20-22.
- [7] 张子梅.黄药的鉴别应用分析[J].陕西中医,2004(1):69-70.