

# 中草药复方制剂对禽新城疫及禽流感 H<sub>5</sub> 亚型免疫抗体水平的影响

杨斌<sup>1</sup>, 朱玲云<sup>2</sup>, 唐丽华<sup>1</sup>, 郑龙龙<sup>2</sup>, 段天才<sup>3</sup>, 朱云安<sup>4</sup>, 毕峻龙<sup>5\*</sup> (1. 昆明市动物疫病预防控制中心, 云南昆明 650223; 2. 云南农业大学, 云南昆明 650201; 3. 楚雄市动物疫病预防控制中心, 云南楚雄 675000; 4. 澄江县动物疾病控制中心, 云南玉溪 652500; 5. 楚雄州动物疫病预防控制中心, 云南楚雄 675000)

**摘要** [目的] 探讨中草药复方制剂对禽新城疫及禽流感 H<sub>5</sub> 亚型免疫抗体水平的影响。[方法] 通过测定中草药复方饲料添加剂对免疫禽新城疫及禽流感疫苗的鸡血清抗体水平, 评价天然中草药饲料添加剂的使用价值, 筛选最佳剂量。[结果] 复方制剂 I 号和复方制剂 II 号均能显著提高新城疫、禽流感的免疫抗体水平 ( $P < 0.05$ ), 其中复方制剂 I 号效果优于复方制剂 II 号 ( $P < 0.05$ )。复方制剂 I 号能够有效延长新城疫、禽流感免疫抗体消长水平, 其中中等剂量组 (0.50 ml/kg) 效果最佳。[结论] 该研究可为中草药复方饲料添加剂的开发为提供一定的理论依据。

**关键词** 中草药复方制剂; 禽新城; 禽流感 H<sub>5</sub> 亚型; 抗体水平

**中图分类号** S853.7 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2014)07-02062-03

## Influences of Chinese Herbal Medicine Preparation on the Antibody Level of Chicken Immunized with Avian Newcastle Disease and H<sub>5</sub> Subtype of Avian Influenza Vaccines

**YANG Bin, BI Jun-long et al** (Center for Disease Prevention and Control in Kunming City of Yunnan Province, Kunming, Yunnan 650223; Center for Disease Prevention and Control in Chuxiong Prefecture, Chuxiong, Yunnan 675000)

**Abstract** [Objective] The research aimed to discuss the effects of Chinese herbal medicine preparation on the antibody level of chicken immunized with avian newcastle disease (ND) and H<sub>5</sub> subtype of avian influenza (AI) vaccines. [Method] The antibody level in the serum of chicken immunized with avian newcastle disease (ND) and H<sub>5</sub> subtype of avian influenza vaccines was determined. The application value of natural Chinese herbal additive was evaluated and the optimum dose was screened out. [Result] Chinese herbal preparation I and II could significantly improve the antibody level of avian ND and AI ( $P < 0.05$ ). The effect of Chinese herbal preparation I was better than Chinese herbal preparation II ( $P < 0.05$ ). Chinese herbal preparation I could effectively prolong the dynamics of ND and AI antibody level and the effect of it at middle dose was the best. [Conclusion] The research could provide some theoretical basis for the development of Chinese herbal feed additive.

**Key words** Chinese herbal medicine preparation; Newcastle disease; H<sub>5</sub> subtype of avian influenza; Antibody level

禽流行性感胃简称禽流感, 自 1878 年首次发现以来, 禽流感病毒已经在世界各国广泛流行, 给禽类的养殖业造成了巨大损失<sup>[1-2]</sup>。同时, 高致病性禽流感病毒能够突破种属的特异性感染人类, 严重危害人类健康<sup>[3]</sup>。新城疫是一种主要危害家禽的急性、高度接触性传染病, 是被世界动物卫生组织规定的急性高度接触性传染病之一, 给世界养禽业造成了巨大的经济损失<sup>[4-5]</sup>。目前, 这 2 种禽病的主要防控方式是以疫苗免疫为主, 但由于部分疫苗免疫力不强、免疫保护期短和毒株变异等因素导致免疫失败, 不能有效地控制疾病的发生。

中草药是一类兼有营养和药用双重作用, 具有直接杀灭或抑制细菌和增强免疫能力的功能, 具有长期使用而无药物残留、无抗药性和无毒副作用的特点。近年来, 人们越来越认识到抗生素添加剂的负面作用, 以营养、保健、改善蛋品质、提高饲料报酬和抗应激的中草药添加剂已被大量开发并应用于养鸡业。笔者通过中草药复方饲料添加剂对免疫禽新城疫及禽流感血清抗体水平进行测定, 评价天然中草药饲料添加剂的使用价值, 筛选最佳剂量, 以期中草药复方饲料添加剂的开发为提供一定的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

**1.1.1 试验药物。**中草药复方制剂 I 号(煎剂), 有效成分为柴胡、黄芩、鱼腥草、穿心莲、大青叶、葛根、野菊花、麻黄、杏仁、甘草等; 中草药复方制剂 II 号, 有效成分为: 灵丹草、枇杷叶、麻黄、鸡矢藤、鱼腥草、蒲公英、铁苋菜、雄黄、玄明粉、黄芪、人参、淫羊藿、甘草等。泰乐星(酒石酸泰乐菌素, TL), 由西安亨通光华制药有限公司生产。

**1.1.2 疫苗。**新城疫—禽流感二联灭活苗, 由华南农业大学兽医学院生产, 批号为 200900602。

**1.1.3 检测试剂。**新城疫血凝抑制试验抗原和阳性血清由中国农业科学院哈尔滨兽医研究所提供, 抗原批号为 090216, 血清批号为 090414; 禽流感 H<sub>5</sub> 血凝抑制试验抗原、阳性血清由中国农业科学院哈尔滨兽医研究所提供, 抗原批号为 090202, 血清批号为 20091206。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 试验动物及分组。**选用 10 日龄未免疫的土杂鸡 320 只, 随机分为 10 组, 每组 32 只, 具体分组及药物添加情况见表 1。

**1.2.2 免疫方法。**将新城疫—禽流感二联灭活苗颈部皮下注射。分别于试验前(28 日龄)、42 日龄、56 日龄和 70 日龄采集血液进行血清分离, 于 -20℃ 下保存。

**1.2.3 检测方法。**检测新城疫、禽流感 H<sub>5</sub> 亚型抗体使用血凝抑制试验(HI)方法: 使用一次性 96 孔微孔塑料板, 用微量滴管从 1~10 孔每孔加入 0.025 ml 生理盐水, 第 11 孔加入 2

**基金项目** 国家自然科学基金(31160509)。

**作者简介** 杨斌(1967-), 女, 云南昆明人, 高级兽医师, 硕士, 从事动物传染病预防与控制。\* 通讯作者, 助理兽医师, 硕士, 从事动物传染病研究。

**收稿日期** 2014-02-07

滴,然后吸取0.025 ml被检血清加入第1孔,稀释后吸取0.025 ml到第2孔,如此连续稀释到第10孔。从第10孔取出0.025 ml弃掉。血清稀释倍数依次为1:2~1:1024。接着每孔加入含4个单位的病毒液0.025 ml至第10孔,第11孔为红细胞对照孔,不添加病毒液。然后,置于振荡器上振荡1~2 min,18~22℃下静置20 min。最后,每孔加入1%鸡红细胞悬液0.025 ml,置于振荡器上振荡1~2 min混匀,置于18~22℃,30 min后判定结果。

表1 试验鸡分组及药物添加情况

组别	给药方式	添加剂量
复方制剂I号低剂量组	饮水	0.25 ml/kg 体重
复方制剂I号中剂量组	饮水	0.50 ml/kg 体重
复方制剂I号高剂量组	饮水	1.00 ml/kg 体重
复方制剂II号低剂量组	混料	1.5 g/kg 体重
复方制剂II号中剂量组	混料	3.0 g/kg 体重
复方制剂II号高剂量组	混料	6.0 g/kg 体重
泰乐星低剂量组	饮水	50.0 mg/kg 体重
泰乐星中剂量组	饮水	100.0 mg/kg 体重
泰乐星高剂量组	饮水	200.0 mg/kg 体重
空白对照组	-	-

1.3 数据统计与分析 所有试验数据均使用SAS8.2统计软件进行分析处理,结果均以平均值 $\bar{x} \pm$ 标准差表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 中草药复方制剂对禽新城疫抗体水平的影响 从表2

表2 中草药对新城疫(ND)抗体消长的影响

组别	不同日龄 ND 抗体滴度(log <sub>2</sub> )			
	28 日龄	42 日龄	56 日龄	70 日龄
复方制剂I号低剂量组	6.00 ± 0.10 a	6.00 ± 1.01 a	7.33 ± 0.58 ab	7.00 ± 1.00 a
复方制剂I号中剂量	6.00 ± 0.73 a	6.67 ± 0.58 a	8.00 ± 1.00 ab	8.33 ± 0.15 a
复方制剂I号高剂量	5.33 ± 0.53 a	6.00 ± 0.58 a	7.33 ± 0.58 ab	7.67 ± 0.15 a
复方制剂II号低剂量	5.00 ± 0.73 a	6.67 ± 0.10 ab	8.00 ± 0.00 a	8.00 ± 0.73 a
复方制剂II号中剂量	5.67 ± 0.53 a	6.33 ± 0.12 ab	7.33 ± 0.31 a	7.33 ± 0.15 a
复方制剂II号高剂量	6.00 ± 0.73 a	6.00 ± 0.53 ab	8.33 ± 0.58 a	7.67 ± 0.15 a
泰乐星低剂量	5.67 ± 0.21 a	5.67 ± 0.15 bc	6.67 ± 0.53 c	6.00 ± 0.10 b
泰乐星中剂量	6.33 ± 1.00 a	5.33 ± 0.10 bc	5.33 ± 0.15 c	4.67 ± 0.53 b
泰乐星高剂量	6.33 ± 0.11 a	5.00 ± 0.15 bc	6.00 ± 0.73 c	6.67 ± 0.58 b
空白对照	5.00 ± 1.00 a	5.33 ± 0.58 c	6.33 ± 0.58 bc	4.67 ± 0.15 b

注:同列不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。

2.2 中草药复方制剂对禽流感(AI)H<sub>5</sub>亚型抗体水平的影响 从表3可以看出,试验前(28日龄)(AI)H<sub>5</sub>亚型抗体检测对照组与各试验组间差异均不显著( $P > 0.05$ )。42日龄,复方制剂I号组与复方制剂II号组、泰乐星组、对照组差异显著( $P < 0.05$ )。复方制剂II号组与泰乐星组差异不显著( $P > 0.05$ ),而与对照组差异显著( $P < 0.05$ )。泰乐星组与对照组差异不显著( $P > 0.05$ )。复方制剂I号中剂量组与低剂量组、高剂量组以及复方制剂II号低剂量组间差异均不显著( $P > 0.05$ ),而与复方制剂II号中剂量组、高剂量组、泰乐星低、中、高剂量组和对照组差异显著( $P < 0.05$ ),抗体滴度分别提高1.66、1.66、1.66、2.00、2.33和3.33。56日龄,复方制剂I号与复方制剂II号组间差异不显著( $P > 0.05$ ),而与泰乐星组和对照组差异显著( $P < 0.05$ );复方制剂II号与泰乐星和对

可以看出,28日龄,对照组ND抗体水平与各试验组间差异不显著( $P > 0.05$ )。42日龄复方制剂I号组ND抗体水下与复方制剂II号组差异不显著( $P > 0.05$ ),但与泰乐星、空白对照组差异显著( $P < 0.05$ );复方制剂II号组与泰乐星组差异不显著( $P > 0.05$ ),而与空白对照组差异显著( $P < 0.05$ )。复方制剂I号中剂量组与复方制剂I号低剂量组、高剂量组、复方制剂II号低、中、高剂量组均差异不显著( $P > 0.05$ ),而与泰乐星低、中、高剂量组、空白对照组差异显著( $P < 0.05$ ),抗体滴度分别提高1.00、1.34、1.67和1.34。56日龄,复方制剂II号组与复方制剂I号组差异不显著( $P > 0.05$ ),而与泰乐星组和对照组差异显著( $P < 0.05$ );复方制剂II号与对照组差异不显著( $P > 0.05$ ),而与泰乐星组差异显著( $P < 0.05$ )。复方制剂II号高剂量组与低剂量组、中剂量组、复方制剂I号低、中、高剂量组均差异不显著( $P > 0.05$ ),而与泰乐星低、中、高剂量组、空白对照组差异显著( $P < 0.05$ ),抗体滴度分别提高1.66、2.00、2.33和2.00。70日龄,复方制剂I号与复方制剂II号差异不显著( $P > 0.05$ ),而与泰乐星和空白对照组差异显著( $P < 0.05$ )。复方制剂I号中剂量组与低剂量组、高剂量组、复方制剂II号低、中、高剂量组均差异不显著( $P > 0.05$ ),而与泰乐星低、中、高剂量组、空白对照组差异显著( $P < 0.05$ ),抗体滴度分别提高2.33、3.66、1.66和3.66。

从图1可以看出,复方制剂I号中剂量组不同日龄的ND抗体滴度始终处于上升趋势,与对照组差异显著( $P < 0.05$ )。

照组差异显著( $P < 0.05$ )。复方制剂I号中剂量组与低剂量组、高剂量组、复方制剂II号低、中、高剂量以及泰乐星高剂量组间差异均不显著( $P > 0.05$ ),而与泰乐星低、中剂量组、空白对照组差异显著( $P < 0.05$ ),抗体滴度分别提高2.34、2.67和2.67。70日龄,复方制剂I号组与复方制剂II号组差异不显著( $P > 0.05$ ),而与泰乐星组、空白对照组差异显著( $P < 0.05$ )。复方制剂II号低剂量组与高剂量组、复方制剂I号低剂量组、中剂量组差异均不显著( $P > 0.05$ ),而与复方制剂II号中剂量组、复方制剂I号高剂量组、泰乐星低、中、高剂量组和空白对照组间差异显著( $P < 0.05$ ),抗体滴度分别提高1.67、1.34、2.0、3.0、1.67和3.34。

从图2可以看出,复方制剂I号中剂量组不同日龄的(AI)H<sub>5</sub>亚型抗体滴度始终高于其他试验组,且与对照组差

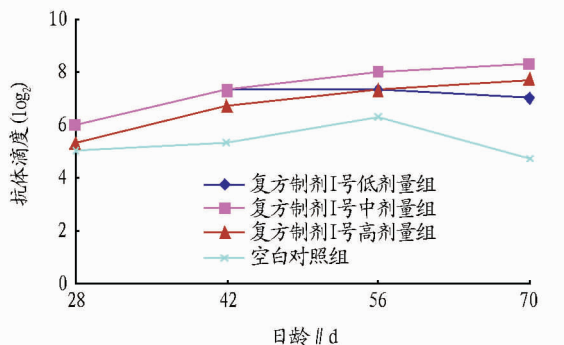


图1 复方制剂I号对ND抗体消长的影响

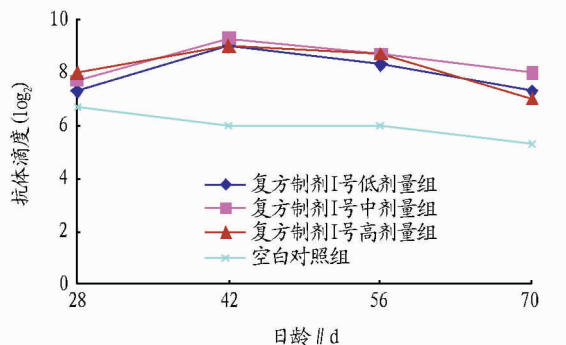


图2 复方制剂I号对AI抗体消长的影响

表3 中草药对禽流感(AI)H<sub>5</sub>亚型抗体消长的影响

组别	AI、H <sub>5</sub> 亚型抗体滴度(log <sub>2</sub> )			
	28日龄	42日龄	56日龄	70日龄
复方制剂I号低剂量组	7.33 ± 1.06 a	9.00 ± 0.00 a	8.33 ± 0.58 a	7.33 ± 0.53 a
复方制剂I号中剂量组	7.67 ± 0.53 a	9.33 ± 0.58 a	8.67 ± 0.15 a	8.00 ± 0.73 a
复方制剂I号高剂量组	8.00 ± 1.00 a	9.00 ± 1.00 a	8.67 ± 0.15 a	7.00 ± 1.00 a
复方制剂II号低剂量组	7.00 ± 0.20 a	8.67 ± 1.15 b	8.00 ± 0.73 a	8.67 ± 0.15 a
复方制剂II号中剂量组	5.67 ± 0.52 a	7.67 ± 0.58 b	7.33 ± 0.58 a	7.33 ± 0.58 a
复方制剂II号高剂量组	7.33 ± 0.53 a	7.67 ± 0.58 b	8.33 ± 0.58 a	8.67 ± 1.08 a
泰乐星低剂量组	7.00 ± 1.00 a	7.60 ± 0.58 bc	6.33 ± 0.53 b	6.67 ± 0.58 b
泰乐星中剂量组	7.33 ± 1.08 a	7.30 ± 1.15 bc	6.00 ± 0.10 b	5.67 ± 0.58 b
泰乐星高剂量组	7.30 ± 0.53 a	7.00 ± 0.00 bc	7.33 ± 0.53 b	7.00 ± 1.00 b
空白对照组	6.67 ± 0.58 a	6.00 ± 0.10 c	6.00 ± 0.10 b	5.33 ± 0.58 c

注:同列不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。

异显著( $P < 0.05$ )。

### 3 讨论

近年来,中草药越来越受到业内人士的青睐,中草药被用于防治畜禽疾病,特别是禽用中草药的添加剂和治疗剂发展很快,目前有200多种中草药以单味或复方形式制成各种添加剂和治疗剂<sup>[6]</sup>。唐胜球等<sup>[7]</sup>利用中草药清热解毒、抗菌抗病毒和提高机体免疫力等作用,研制复方纯中草药制剂咳消、复方穿心莲,在防治鸡传染性喉气管炎、大肠杆菌感染具有良好的疗效。郑明学等<sup>[8]</sup>用复方中药制剂泻利康(主要由干姜、苍术、黄柏和白头翁等30味中药组成)对鸡白痢进行防治试验,结果表明泻利康对鸡白痢具有明显的防治作用,预防保护率为96.07%。杜爱芳等<sup>[9]</sup>用中草药复方制剂与马杜拉霉素进行比较研究,结果表明长期使用中草药复方制剂比短期具有更好的抗球虫效果。

周锡顺和陈鹏<sup>[10]</sup>研究表明由柴胡、黄芩、党参、大枣和甘草组成的小柴胡汤对小鼠的免疫功能有明显的增强作用。杨希国和张秀英<sup>[11]</sup>报道由黄芩、黄芪、党参、白术和板兰根等20余味草药组成的中草药制剂金鸡散可以显著提高血清新城疫抗体滴度。林继和等<sup>[12]</sup>也发现使用中草药复方饲料添加剂扶正去湿配方可以显著增强鸡的免疫水平,提高三黄鸡的新城疫、禽流感免疫抗体水平。笔者发现复方制剂I号和复方制剂II号均能提高鸡对新城疫和禽流感的免疫抗体水平,其中复方制剂I号效果优于复方制剂II号,且中等剂量组效果最好。新城疫和禽流感(AI)H<sub>5</sub>亚型血清抗体在正常情况下呈现自然消长规律,每2周检测1次,结果表明复方制

剂I号、复方制剂II号组与泰乐菌素组和对照组差异显著( $P < 0.05$ ),说明复方制剂I号能够延长新城疫和禽流感免疫抗体消长水平,其中以中等剂量组最佳。

### 参考文献

- [1] ALEXANDER D J, MANVELL R J, IRVINE R, et al. Overview of incursions of Asian H5N1 subtype highly pathogenic avian influenza virus into Great Britain[J]. Avian Dis, 2010, 54(S1): 194 - 200.
- [2] ALEXANDER D J, BROWN I H. History of highly pathogenic avian influenza[J]. Rev Sci Tech, 2009, 28(1): 19 - 38.
- [3] SONG M S, OH T K, PASCUA P N, et al. Investigation of the biological indicator for vaccine efficacy against highly pathogenic avian influenza (HPAI) H5N1 virus challenge in mice and ferrets[J]. Vaccine, 2009, 21: 27(24): 3145 - 3152.
- [4] ALEXANDER D J, ALDOUS E W, FULLER C M. The long view: a selective review of 40 years of Newcastle disease research[J]. Avian Pathol, 2012, 41(4): 329 - 335.
- [5] ALEXANDER D J. Newcastle disease in the European Union 2000 to 2009[J]. Avian Pathol, 2011, 40(6): 547 - 558.
- [6] 楼铁龙. 浅谈禽用中草药制剂剂型的改进[J]. 中兽医学杂志, 1997(4): 31 - 33.
- [7] 唐胜球, 董小英. 中草药饲用添加剂在家禽饲养中的应用[J]. 中国家禽, 2001, 23(20): 41 - 43.
- [8] 郑明学, 周瑞芳. 复方中草药制剂防治鸡白痢的研究[J]. 中国家禽, 1999, 21(3): 14 - 15.
- [9] 杜爱芳, 叶均安. 中草药饲料添加剂抗球虫效果的研究[J]. 中国兽医寄生虫病, 1998, 6(3): 9 - 11.
- [10] 周锡顺, 陈鹏. 小柴胡汤对小鼠腹腔巨噬细胞功能的影响[J]. 解剖科学进展, 1997, 3(2): 47 - 51.
- [11] 杨希国, 张秀英. 中草药对畜禽免疫药理作用研究进展[J]. 中国兽医杂志, 2003, 37(9): 51 - 54.
- [12] 林继和, 姚中磊, 王世杰, 等. 复方中草药对免疫新城疫和禽流感疫苗三黄鸡抗体产生的影响[J]. 中国家禽, 2001, 33(9): 64 - 65.