



中药提取物对 IBDV 感染 SPF 鸡的防治效果

朱买勋,唐红梅,闫志强,陈春林,翟少钦

(重庆市畜牧科学院,重庆 402460)

摘要 为了确定中药提取物对 IBDV 感染的防治效果,将 150 羽 SPF 雏鸡随机分为对照组、模型组和中药提取物高、中、低剂量组,中药提取物高、中、低剂量组分别在饮水中添加 10.0、5.0、2.5 g/L 的中药提取物,连续添加 7 d,对照组和模型组不添加任何药物。给药后,除对照组外,其余组雏鸡分别通过滴鼻接种 IBDV,攻毒后连续观察 2 周。统计雏鸡的成活率,荧光定量 PCR 检测 IBDV 在组织中的载量,分析病毒在脏器中的分布。结果显示:中药提取物能提高雏鸡成活率,高、中、低剂量组雏鸡成活率分别为 86.67%、93.33% 和 70.00%,高剂量组雏鸡脾脏和法氏囊指数显著降低,中剂量组的胸腺和法氏囊指数显著降低。高、中剂量组脾脏、胸腺、法氏囊病毒载量极显著低于模型组,脾脏、胸腺病毒载量极显著低于低剂量组,法氏囊病毒载量显著低于低剂量组。表明中药提取物能提高雏鸡的成活率,促进 IBDV 核酸转阴,改善脾脏、胸腺、法氏囊等免疫器官状况,降低病毒在脾脏、法氏囊、胸腺的载量,且中剂量组效果优于其他剂量组。

关键词 SPF 雏鸡;IBDV;中药提取物;抗病能力;病毒载量

中图分类号 S853.74

文献标志码 A

文章编号 1004-1389(2021)01-0025-07

病毒的高度变异和抗病毒药物的缺乏,增加了畜禽病毒性疫病的防控难度,寻求具有选择性杀灭病毒而不损伤畜禽机体细胞的药物是有效防控畜禽疫病的主要手段。中药是中国流传数千年的瑰宝,基于长期的临床经验来筛选和研究有效抗病毒的药物,实现“老药”新用是现代挖掘抗病毒方法的有效途径,有助于抗病毒类新兽药的研发。鸡传染性法氏囊病(Infectious bursal disease,IBD)是由传染性法氏囊病毒(Infectious bursal disease virus,IBDV)引起的一种免疫抑制病,该病在全球范围内广泛传播,并且可以通过垂直传播和水平传播的方式进行扩散^[1-2]。IBDV 属于双 RNA 病毒科禽双 RNA 病毒属,基因组包括两条双链 RNA,编码的氨基酸区段存在高变区(Hypervariable region,HVR),已经从原来的经典毒株渐渐变异成 IBDV 超强毒株(Very virulent IBDV,vvIBDV),仅 2018 年,中国黑龙江、辽宁、河北、山东、江苏、浙江、云南 7 个省检测到 IBDV 新型变异株的流行,并在不断蔓延^[3]。美国纽约也分离出包含 vvIBDV 的新型毒株,且感

染 4 周龄 SPF 鸡,能在 4 d 内达到 100%发病和 68.7%死亡^[4-5],发病鸡法氏囊坏死并免疫抑制,免疫系统被严重损害,严重危害养鸡业的发展^[6-7]。2020 年,OIE 将 vvIBDV 造成的疫病列为 117 种烈性传染病之一^[8]。

对 IBD 的防控,现在主要以接种疫苗进行预防为主,但由于病毒表面蛋白存在连续突变风险,导致免疫失败,产生免疫盲区。药物预防也是防治 IBD 的主要手段,尤其是中兽药,富含大量的营养成分和天然活性物质,在增强动物免疫力和抗病毒方面均有其独特效果。能干扰 IBDV 的复制和阻滞其穿入宿主细胞^[9],提高外周血和脾淋巴细胞中 CD³⁺、CD⁴⁺ 和 CD⁸⁺ T 细胞百分率,改变 CD⁴⁺/CD⁸⁺ 比值,促进对机体免疫系统的调控^[10],提高抗体效价,有效保护雏鸡法氏囊、胸腺和脾脏等免疫器官,减轻病毒对其的损伤程度^[11],进而实现防治 IBDV 的效果。本研究在中药复方提取物可以增强免疫抑制雏鸡的免疫功能和提高 IBD 疫苗免疫效果的基础上^[12-13],采用 IBDV 人工感染 SPF 鸡,旨在进一步明确中药复

收稿日期:2020-02-27 修回日期:2020-06-08

基金项目:重庆荣昌农牧高新技术产业研发专项(cstc2019ngzx0003)。

第一作者:朱买勋,男,硕士,助理研究员,主要从事中兽医医药药理学研究。E-mail:zmxmz0817@163.com

通信作者:翟少钦,女,副研究员,主要从事中兽药新药研究。E-mail:736409197@qq.com

方提取物防治 IBDV 的效果。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

中药提取物 (Traditional Chinese medicine extract, 简称 TCME), 按 2 : 2 : 1 : 1 的质量比称取女贞子 (*Ligustri Lucidi Fructus*)、黄芪 (*Astragali Radix*)、枸杞子 (*Lycii Fructus*)、菟丝子 (*Cuscutae Semen*), 经过水提取、过滤, 制备成浸膏, 添加可溶性淀粉制成规格为每 1.0 g 提取物中含 1.0 g 的原生药。

鸡传染性法氏囊病毒 (CVCC 编号: AV7) 购于中国兽医微生物菌种保存中心, 由重庆市畜牧科学院兽医兽药研究所扩增保存。

SPF 鸡胚和 SPF 雏鸡均购于济南斯派瑞福禽业科技有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 病毒 EID₅₀ 的测定 利用鸡胚测定病毒滴度, 10 倍稀释法用 PBS 将 IBDV 种毒稀释 10 个梯度, 每个梯度病毒稀释液分别接种 9~11 日龄 SPF 鸡胚的尿囊腔, 每个梯度接种 7 胚, 接种量为每胚 100 μL, 另选 7 胚接种等量的 PBS 作为阴性对照, 37 °C 培养, 接种后每天照蛋观察鸡胚发育情况, 记录死胚数量, 并采集鸡胚尿囊液进行 ELISA 检测 (购于武汉 Abebio 公司), 接种后第 7 天, 存活的胚胎处死后, 检测判定鸡胚是否为阳性。参照 Reed-Muench 法^[14] 计算病毒 EID₅₀。 $EID_{50} = 10 - [A + (B - 50) / (B - C)]$

式中: A 为高于 50% 的病毒稀释度; B 为高于 50% 的百分数, C 为低于 50% 的百分数。

1.2.2 动物分组及管理 分组及饲养管理: 150 羽 3 周龄的 SPF 雏鸡, 预饲 1 周后, 随机分为 5 个组, 分别为对照组、模型组和中药提取物高、中、低剂量组, 每组 3 个重复, 每个重复 10 羽雏鸡。各组雏鸡采用单笼立式隔离饲养, 自由饮水, 饲喂相同的饲料。

给药: 中药提取物高、中、低剂量组分别在饮水中添加 10.0、5.0、2.5 g/L 的中药提取物, 连续添加 7 d, 对照组和模型组不添加任何药物。

攻毒: 给药完成后, 试验组雏鸡分别通过滴鼻接种含 100 EID₅₀/100 μL 的 IBDV, 对照组滴鼻等量的生理盐水。攻毒后, 连续 2 周观察雏鸡的生存状态。

1.2.3 雏鸡的生存分析 在整个试验期间, 观察

雏鸡的临床变化, 称量体质量, 统计雏鸡每天的死亡情况, 计算每组雏鸡的成活率 (S)。

$$S = (N - D) / N \times 100\%$$

N 为试验动物数; D 为死亡动物数。

1.2.4 样品的采集与处理 攻毒后 2 周, 空腹 8 h 称量雏鸡体质量, 之后脱臼处死雏鸡, 无菌解剖, 采集完整的胸腺、脾脏和法氏囊, 称量质量, 计算免疫器官指数, 称量之后剪碎, 迅速放入液氮中保存, 同时多点采集心脏、肝脏、肺脏、肾脏、肌肉 (胸部和腿部) 等组织, 剪碎后迅速放入液氮保存, 用于提取组织中病毒 RNA。

$$I = I_w / A_w$$

I 为免疫器官指数; I_w 为免疫器官质量 (mg); A_w 为试验动物体质量 (g)。

1.2.5 脏器中病毒载量检测 根据 GenBank 中 IBDV 毒株全基因序列, 设计扩增 IBDV VP2 基因的引物, 上游引物: 5'-TCCTTCTACAACGC-TATCA-3', 下游引物: 5'-TACCTCGTACCCTTGTC-3', 内参基因 β -actin 上游引物: 5'-GCCAACAGAGAGAAGATGACAC-3', 下游引物: 5'-GTAACACCATCACCAGAGTCCA-3', 引物由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成, 各组雏鸡的肝脏、脾脏、胸腺、脾脏、法氏囊、肾脏、肌肉 (胸部和腿部) 等组织采用液氮冷冻研磨, 提取 RNA, 通过核酸蛋白定量检测仪测定提取的病毒 RNA 的质量浓度和纯度, 反转录为 cDNA。对 VP2 和内参基因进行 PCR 扩增, VP2 基因扩增产物分别稀释成 10⁻²、10⁻³、10⁻⁴、10⁻⁵、10⁻⁶、10⁻⁷、10⁻⁸、10⁻⁹、10⁻¹⁰ 等不同质量浓度的模板, 添加 SYBR Primix Ex Taq Mix (2 ×) 10 μL, 上下游引物各 0.5 μL, 不同质量浓度 PCR 产物模板 1 μL, 加 ddH₂O 补足 20 μL。反应条件为: 94 °C 2 min; 94 °C 1 min, 58 °C 45 s, 72 °C 45 s, 30 个循环; 75 °C 延伸 10 min, 每个循环后进行读板, 反应结束后系统自动生成熔解曲线及标准曲线。建立标准曲线后, 样品均采用 10 μL 体系进行荧光定量检测。

1.2.6 数据统计分析 试验数据采用 SPSS 20.0 中 GLM 模块进行方差分析; 组间差异有统计学意义时, 采用 Duncan's 法进行多重比较。荧光定量 PCR 试验中, 为降低 RNA 定量、反转录及 PCR 反应效率的差异对结果的影响, VP2 基因表达强度分别以绝对拷贝数/ β -actin 绝对拷贝数表示。将模型组的表达量设置为 100 倍, 计

算其他组雏鸡各免疫器官中相应基因相对于模型组的表达变化。数据以“平均值±标准差”表示。

2 结果与分析

2.1 病毒 EID₅₀ 测定结果

由表 1 可知,按照 Reed-Muench 法计算得出 IBDV 病毒液 EID₅₀ 为 $1 \times 10^{-6.91} / 100 \mu\text{L}$ 。

2.2 雏鸡成活率

由表 2 可知,对照组雏鸡未出现死亡,成活率为 100%。攻毒后第 3 天,除中剂量组外,其他组雏鸡开始出现死亡,攻毒后第 4 天~第 7 天为死亡高峰期,之后维持相对稳定状态。试验结束后,模型组雏鸡成活率低至 30.00%,高剂量组为

86.67%,中剂量组为 93.33%,低剂量组为 70.00%,说明中药提取物能提高雏鸡的成活率。

2.3 免疫器官指数变化

由表 3 可知,雏鸡在接种 IBDV 后,模型组雏鸡的脾脏指数、胸腺指数、法氏囊指数显著高于对照组 ($P < 0.05$),而使用中药提取物进行预防的雏鸡脾脏指数、胸腺指数、法氏囊指数明显降低,高剂量组雏鸡脾脏指数显著低于模型组和低剂量组 ($P < 0.05$),法氏囊指数显著低于模型组 ($P < 0.05$)。中剂量组胸腺指数显著低于模型组和低剂量组 ($P < 0.05$),法氏囊指数显著低于模型组 ($P < 0.05$)。

表 1 病毒 EID₅₀ 的测定结果

Table 1 The measurement results of viral EID₅₀

病毒稀释度 Concentrations of virus	观察结果 Observed result		累计结果 Cumulative result		鸡胚数 Total of embryos	感染所占百分比/% Percentage of infections
	感染数 Number of infections	无感染数 Number of non-infections	感染数 Number of infections	无感染数 Number of non-infections		
10^{-3}	7	0	30	0	30	100.00 (30/30)
10^{-4}	6	1	23	1	24	95.83 (23/24)
10^{-5}	5	2	17	3	20	85.00 (17/20)
10^{-6}	4	3	12	6	19	78.95 (12/19)
10^{-7}	4	3	8	9	17	47.06 (8/17)
10^{-8}	2	5	4	14	18	22.22 (4/18)
10^{-9}	1	6	2	20	22	9.09 (2/22)
10^{-10}	1	6	1	26	27	3.70 (1/26)

注 Note: $EID_{50} = 10 - [A + (B - 50) / (B - C)] = 10 - [6 + (78.95 - 50) / (78.95 - 47.06)] = 10^{-6.91}$ 。

表 2 成活雏鸡统计结果 ($n=30$)

Table 2 Statistical results of survival chicks ($n=30$)

组别 Group	攻毒后时间/d Time postinoculation					成活率/% Survival rate
	1	3	7	11	14	
对照组 Control group	30	30	30	30	30	100.00
模型组 Model group	30	21	15	11	9	30.00
高剂量组 Hig-dose group	30	29	27	26	26	86.67
中剂量组 Med-dose group	30	30	29	28	28	93.33
低剂量组 Low-dose group	30	27	24	22	21	70.00

2.4 病毒在组织中分布结果

由表 4 可知,雏鸡在接种 IBDV 后,IBDV 能在肝脏、脾脏、肾脏、法氏囊、胸腺的组织中分布,对使用中药提取物预防后的雏鸡进行组织中病毒核酸检测,结果显示高剂量组雏鸡的肾脏、脾脏、肌肉组织中病毒核酸均为阴性,脾脏组织部分为阴性,肝脏、法氏囊、胸腺组织均为阳性。中剂量

组和高剂量组雏鸡的肾脏、脾脏、肌肉组织均为阴性,脾脏和法氏囊组织部分为阴性,肝脏和胸腺组织为阳性。低剂量组只有脾脏和肌肉组织为阴性,肾脏组织部分为阴性,法氏囊、脾脏、肝脏、胸腺组织均为阳性。

2.5 免疫器官中 IBDV 的载量分析

由图 1~3 可知,对照组雏鸡的脾脏、胸腺和

表 3 雏鸡免疫器官指数

Table 3 The results of chicks' immune organ index

组别 Group	脾脏指数 Spleen index	胸腺指数 Thymus index	法氏囊指数 Bursal index
对照组 Control group	1.06±0.19 b	3.03±0.30 b	2.03±0.27 b
模型组 Model group	1.30±0.18 a	3.36±0.19 a	2.40±0.20 a
高剂量组 Hig-dose group	1.08±0.17 b	3.14±0.27 ab	2.10±0.25 b
中剂量组 Med-dose group	1.13±0.18 ab	3.07±0.25 b	2.09±0.28 b
低剂量组 Low-dose group	1.27±0.15 a	3.28±0.21 a	2.23±0.21 ab

注:同列不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate that the difference is significant difference($P < 0.05$).

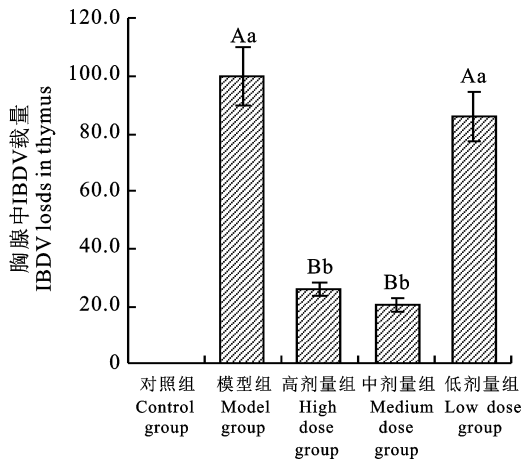
表 4 雏鸡组织中病毒核酸检测结果

Table 4 Detection results of viral nucleic acid in chick tissues

组别 Group	肝脏 Liver		脾脏 Spleen		肾脏 Kidney		肺脏 Lung		法氏囊 Bursa		肌肉 Muscle		胸腺 Thymus	
	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N
对照组 Control group	0	30	0	30	0	30	0	30	0	30	0	30	0	30
模型组 Model group	30	0	30	0	30	0	30	0	30	0	30	0	30	0
高剂量组 Hig-dose group	30	0	9	21	0	30	0	30	30	0	0	30	30	0
中剂量组 Med-dose group	30	0	12	18	0	30	0	30	22	8	0	30	30	0
低剂量组 Low-dose group	30	0	30	0	22	8	0	30	30	0	0	30	30	0

注:“P”表示阳性雏鸡数量,“N”表示阴性雏鸡数量。

Note:“P” means the number of positive chicks,“N” means the number of negative chicks.



不同大写字母表示除对照组外,组间差异极显著($P < 0.01$),不同小写字母表示组间差异显著($P < 0.05$)。下同

Different uppercase letters indicate that the difference is extremely significant difference between the groups expect control group ($P < 0.01$), different lowercase letters indicate that the difference is significant difference between the groups expect control group($P < 0.05$). The same below

图 1 雏鸡脾脏中 IBDV 的载量

Fig. 1 Test results of IBDV loads in chicks' spleen

法氏囊中均未检测到 IBDV,表明雏鸡未感染病毒。以模型组为基准,高剂量、中剂量和低剂量的雏鸡脾脏组织中 IBDV 载量分别降至模型组的(0.26±0.08)、(0.20±0.06)、(0.86±0.16)倍,

高剂量组和中剂量组极显著低于模型组和低剂量组($P < 0.01$);胸腺组织中 IBDV 载量分别降至(0.46±0.07)、(0.34±0.08)、(0.78±0.09)倍,高剂量组和中剂量组极显著低于模型组和低剂量组($P < 0.01$),低剂量组显著低于模型组($P < 0.05$);法氏囊组织中 IBDV 载量分别降至(0.59±0.11)、(0.44±0.05)、(0.80±0.10)倍,高剂量组和中剂量组极显著低于模型组($P < 0.01$),且显著低于低剂量组($P < 0.05$),低剂量组显著低于模型组($P < 0.05$)。

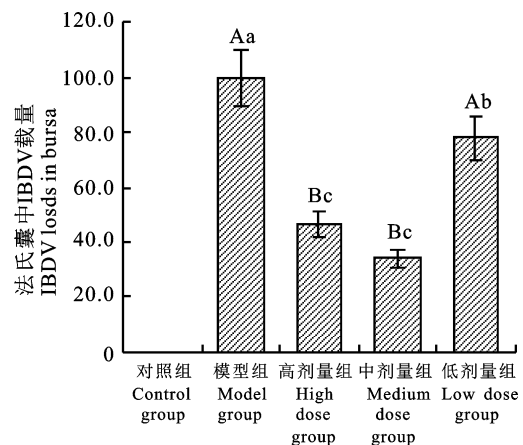


图 2 雏鸡胸腺中 IBDV 的载量

Fig. 2 Test results of IBDV loads in chicks' thymus

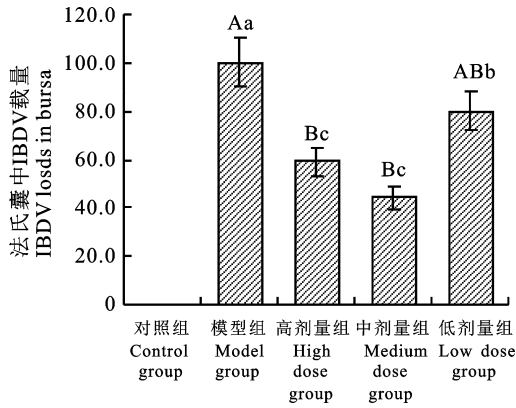


图3 雏鸡法氏囊中 IBDV 载量的检测结果

Fig. 3 Test results of IBDV loads in chicks' bursa

3 讨论与结论

传染性法氏囊病常发生于 3~12 周龄的雏鸡或青年鸡, IBDV 入侵后主要在免疫器官内大量繁殖, 破坏免疫器官并导致机体免疫抑制, 降低雏鸡的抗病能力和对疫苗的免疫应答能力, 甚至引起死亡^[1]。本研究中, 中药提取物高、中、低剂量组雏鸡成活率分别达到 86.67%、93.33% 和 70.00%, 高剂量组雏鸡脾脏指数和法氏囊指数显著低于模型组和低剂量组 ($P < 0.05$), 中剂量组胸腺指数和法氏囊指数显著低于模型组 ($P < 0.05$), 说明中药提取物能有效缓解由于 IBDV 感染引起的免疫器官炎症, 改善雏鸡免疫系统的调节作用, 降低雏鸡的死亡率。本研究中, 中药提取物由女贞子、黄芪、枸杞子、菟丝子等中药组方后提取制备而成, 含有大量的黄芪多糖、枸杞多糖、女贞子多糖等生物活性物质, 其作用机制可能是这些生物多糖具有增强免疫系统功能、营养免疫器官的功效, 从而改善了 IBDV 感染引起的损伤, 增强机体的抗病能力, 达到提高雏鸡成活率的效果。

IBDV 在雏鸡体内的生长繁殖与机体的抵抗能力存在一定的对抗关系。IBDV 入侵雏鸡后, 在肝脏、脾脏、肾脏、法氏囊、胸腺等组织中广泛分布并繁殖, 造成组织损伤和功能抑制。本研究采用中药提取物防治的雏鸡, IBDV 在组织中的生长繁殖发生改变, 高剂量组雏鸡的肾脏组织全部转为阴性, 脾脏组织部分转为阴性, 中剂量组雏鸡的肾脏组织全部转为阴性, 脾脏和法氏囊组织部分转为阴性。分析 IBDV 在脾脏、胸腺和法氏囊组织中的载量, 中药提取物高剂量组和中剂量组

雏鸡的脾脏、胸腺、法氏囊中载量极显著低于模型组 ($P < 0.01$), 脾脏、胸腺组织中病毒载量极显著低于低剂量组 ($P < 0.01$), 法氏囊组织中病毒载量显著低于低剂量组 ($P < 0.05$), 提示中药提取物可以促进机体清除 IBDV。在雏鸡清除病毒的过程中, 中药提取物可以通过调节机体分泌大量的细胞因子参与免疫调节和抗病毒作用, 中药提取物中含有大量的多糖, 黄芪多糖可以促进鸡脾淋巴细胞分泌 $IL-2$ 、 $TNF-\beta$ 、 $IFN-\gamma$ 、 $IL-4$ 、 $IL-6$ 等多种细胞因子^[15], 枸杞多糖可以提高雏鸡的免疫力, 增强 $IL-2$ 、 $IL-6$ 基因 mRNA 的表达^[16]。这些细胞因子主要由 Th1 和 Th2 分泌, 在抗病毒过程中积极调节细胞免疫, 增强机体的抗病毒能力^[7]。但是部分雏鸡的免疫器官中 IBDV 仍然为阳性, 尤其是低剂量组, 由此可以推断该中药提取物对病毒的清除与药物使用剂量存在一定的关系, 较低剂量的中药提取物对 IBDV 感染雏鸡的防治效果不佳, 临床中防治 IBDV 时要制定鸡场的科学用药程序, 有助于提高 IBD 的防治效果。

参考文献 Reference:

- [1] WANG Q X, HU H L, CHEN G L, *et al.* Identification and assessment of pathogenicity of a naturally reassorted infectious bursal disease virus from Henan, China [J]. *Poultry Science*, 2019, 28(8):159-166.
- [2] 许信刚, 王笑梅, 李健强, 等. 传染性法氏囊病毒超强毒株致弱的分子生物学特征[J]. *西北农业学报*, 2000, 9(3):12-15, 22.
XU X G, WANG X M, LI J Q, *et al.* Preliminary research on molecular biological basis of the very virulent infectious bursal disease virus and its attenuated strains [J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2000, 9(3):12-15, 22.
- [3] 范林进, 王雨龙, 吴甜甜, 等. 我国传染性法氏囊病毒新型变异株分析研究[J]. *中国预防兽医学报*, 2019, 41(11):1164-1169.
FAN L J, WANG Y L, WU T T, *et al.* The prevalence of novel variant strains of infectious bursal disease virus in China [J]. *Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine*, 2019, 41(11):1164-1169.
- [4] MICHEL L O, KIMBER M L, JACKWOOD D J. New introduction of a very virulent infectious bursal disease virus in New York, USA [J]. *Avian Pathology*, 2019, 48(5):486-495.
- [5] JACKWOOD D J. Advances in vaccine research against economically important viral diseases of food animals: infectious bursal disease virus [J]. *Veterinary Microbiology*, 2017, 206(1):121-125.
- [6] 卿素珠, 张靖飞, 张为民, 等. 抗病毒合剂对机体免疫器官的

- 影响[J]. 西北农业学报, 2002, 11(2): 18-20, 121.
- QIN S ZH, ZHANG J F, ZHANG W M, *et al.* Influence of anti-virus mixture on immune organs of body [J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2002, 11(2): 18-20, 121.
- [7] DAI M M, XU C G, CHEN W S, *et al.* Progress on chicken T cell immunity to viruses [J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2019, 76(14): 2779-2788.
- [8] Office International Des Epizooties. OIE-Listed diseases, infections and infestations in force in 2020 [EB/OL]. (2020-01-01). <http://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/oie-listed-diseases-2020/>
- [9] 闫 静, 孙长江, 孙良文, 等. 黄芩苷体外抗传染性法氏囊病毒作用[J]. 中国兽医学报, 2014, 34(5): 807-810.
- YAN J, SUN CH J, SUN L W, *et al.* Study on the mechanism of resistance to infectious bursal disease virus by baicalin in vitro [J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2014, 34(5): 807-810.
- [10] 高 海, 刘开永, 李秀岚, 等. 中药复方连翘对感染法氏囊病毒雏鸡免疫功能的影响 [J]. 畜牧兽医学报, 2009, 40(1): 109-116.
- GAO H, LIU K Y, LI X L, *et al.* Effect of the compound traditional Chinese medicine Weeping Forsythia Capsule on immunity function of chickens infected by IBDV [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2009, 40(1): 109-116.
- [11] 刘俊焯. 复方中草药对鸡传染性法氏囊病的防治试验研究 [D]. 福州: 福建农林大学, 2012.
- LIU J Y. Study on preventive and therapeutic effects of IB-DV-chickens by Chinese herbal medicine compound [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2012.
- [12] 朱买勋, 唐红梅, 闫志强, 等. 中药复方提取物对免疫抑制雏鸡 IBD 疫苗的免疫增强效果 [J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2019, 45(3): 316-320.
- ZHU M X, TANG H M, YAN ZH Q, *et al.* Effect of traditional Chinese medicine extract on IBD vaccine immune enhancement of immunosuppression chicks [J]. *Journal of Hunan Agriculture University: Science and Technology*, 2019, 45(3): 316-320.
- [13] 朱买勋, 曹国文, 张素辉, 等. 不同中药对雏鸡生长性能、免疫器官指数及血液生化指标的影响 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2016, 12: 159-161.
- ZHU M X, CAO G W, ZHANG S H, *et al.* Effects of different traditional Chinese medicines on chick growth performance, immune organ index and blood biochemical indexes [J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2016, 12: 159-161.
- [14] 殷 震, 刘景华. 动物病毒学(第 2 版) [M]. 北京: 科学出版社, 1997.
- YIN ZH, LIU J H. *Animal Virology* (2nd Edition) [M]. Beijing: Science Press, 1997.
- [15] 朱轶锋, 韩顺顺, 张克英, 等. 黄芪多糖对鸡淋巴细胞体外增殖及脾脏淋巴细胞分泌细胞因子和相关 mRNA 表达的影响 [J]. 四川农业大学学报, 2018, 36(5): 674-680.
- ZHU Y F, HAN SH SH, ZHANG K Y, *et al.* Effect of astragalus polysacchride on cell proliferation of lymphocytes and splenic lymphokines secretion and related mRNA expression in spleen of chick [J]. *Journal of Sichuan Agriculture University*, 2018, 36(5): 674-680.
- [16] 王思月. 枸杞多糖对肉鸡肠道微生物区系、免疫功能及相关基因表达的影响 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2019.
- WANG S Y. Effects of Lycium barbarum polysaccharides on intestinal microflora, immune function and expression of related genes in Broilers [D]. Changchun: Jilin Agriculture University, 2019.

Preventive Effect of Traditional Chinese Medicine Extractive on SPF Chicks Inoculated with IBDV

ZHU Maixun, TANG Hongmei, YAN Zhiqiang,
CHEN Chunlin and ZHAI Shaoqin

(Chongqing Academy of Animal Sciences, Chongqing 402460, China)

Abstract In order to investigate the preventive effect of traditional Chinese medicine extractive (TCME) on SPF chicks inoculated with IBDV. 150 SPF chicks were randomly divided into control group, model group, TCME high, medium and low dose groups. In groups of TCME high, medium and low dose, extractive doses of 10.0, 5.0, 2.5 g/L were respectively added into drinking water for 7 consecutive day, but no drug was added in the control group and model group. Except for control group, the experimental chicks in the other groups were inoculated with IBDV by nasal intubation and were continuously observed for 2 weeks, meanwhile, the survival rate was statistically analyzed. The IBDV load was detected for analyzing the distribution of virus in tissues by RT-qPCR. The results showed that the TCME could improve the survival rate of chicks, the survival rate of chicks in groups of high, medium and low dose reached 86.67%, 93.33%, 70.00%, respectively. The spleen index and bursal index of chicks inoculated with IBDV in high dose group significantly decreased and thymus index and bursal index of chicks in medium dose group significantly decreased. The IBDV load of spleen, thymus and bursa in high and medium dose group were significantly lower than that in model group, the spleen and thymus were significantly lower than that in low-dose group, bursa were significantly lower than that in low-dose group. These results indicated that TCME could improve the survival rate of chicks and promote IBDV positive to negative, improve the chicks' spleen, thymus and bursal organ in its lower virus load, and the effect of medium dose is superior to the other doses.

Key words SPF chicks; IBDV; Traditional Chinese medicine extractive; Antiviral ability; Viral load

Received 2020-02-27

Returned 2020-06-08

Foundation item Rongchang Key R&D Project of Agriculture and Animal Husbandry (No. cstc2019ngzx0003).

First author ZHU Maixun, male, master, assistant research fellow. Research area: pharmacological toxicology and immunology of traditional Chinese veterinary medicine. E-mail: zmxmz0817@163.com

Corresponding author ZHAI Shaoqin, female, associate research fellow. Research area: pharmacy of traditional Chinese veterinary medicine. E-mail: 736409197@qq.com

(责任编辑:顾玉兰 Responsible editor: GU Yulan)