

复方板蓝根口服液对雏鸡白痢沙门氏菌病的防治研究*

苏 景^{1,2}, 史本栋¹, 于文会^{1,3**}, 黄 慧¹, 艾莉雯¹, 白 文¹

(1. 东北农业大学 动物医学学院, 黑龙江 哈尔滨 150030;

2. 黑龙江省动物疫病预防与控制中心, 黑龙江 哈尔滨 150060;

3. 黑龙江省教育厅动物普通疾病防治重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘要:【目的】为开发中药防治畜禽沙门氏菌病, 根据沙门氏菌病中兽医辨证进行中药组方, 为今后畜禽养殖减抗限抗的替代疗法提供参考。【方法】采用倍比稀释法检测复方板蓝根口服液对鸡白痢沙门氏菌的最小抑菌质量浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC) 和最小杀菌质量浓度 (minimum bactericidal concentration, MBC), 扫描电镜观察菌体形态变化。试验选取 150 羽 1 日龄雏鸡, 随机取出 30 羽做空白组, 其余 120 羽人工感染鸡白痢沙门氏菌, 制备雏鸡感染模型。将感染雏鸡随机分为模型组、中药治疗组、西药治疗组和中药预防组, 每组 30 羽。观察雏鸡的发病率及死亡率。于治疗后 1、3 和 5 d 检测血清中 IL-1 β 和 TNF- α 的含量; 实时荧光 PCR 检测禽 β -防御素 6 (avian beta-defensin 6, AvBD6) 和鸡 Toll 样受体 15 (chicken toll-like receptor 15, ChTLR15) 在雏鸡小肠中的转录水平。【结果】体外试验结果显示: MIC 和 MBC 分别为 62.5 和 125 mg/mL; 扫描电镜下可见菌体出现萎缩, 断裂形成许多残体, 形状不规则。中药预防组可降低雏鸡的发病率及死亡率。与模型组相比, 中药预防组和中药治疗组均可降低 IL-1 β 和 TNF- α 含量。而 ChTLR15 和 AvBD6 在感染初期表达量高, 治疗后期趋于正常。【结论】复方板蓝根口服液对鸡白痢沙门氏菌有明显的抑制作用, 其杀菌机制是通过改变菌体的形态结构使细菌丧失活性。试验证实复方板蓝根口服液可有效预防雏鸡沙门氏菌感染, 并能有效降低体内炎性因子水平, 减轻炎症反应。

关键词: 复方板蓝根口服液; 抗菌; 雏鸡; 鸡白痢沙门氏菌

中图分类号: S 853.76

文献标识码: A

文章编号: 1004-390X (2020) 02-0282-07

Study on the Prevention and Treatment of White Diarrhoea Salmonella in Chick by Compound Radix Isatidis Oral Solution

SU Jing^{1,2}, SHI Bendong¹, YU Wenhui^{1,3}, HUANG Hui¹, AI Liwen¹, BAI Wen¹

(1. College of Animal Medicine, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; 2. Animal Disease Prevention and Control Center of Heilongjiang Province, Harbin 150060, China; 3. Key Laboratory for Prevention and Treatment of Animal Common Diseases, Department of Education, Harbin 150030, China)

Abstract: [Purpose] To develop Chinese traditional medicine for the prevention and treatment of salmonellosis in livestock and poultry, according to the Chinese traditional veterinary syndrome differentiation of salmonellosis, the traditional Chinese medicine prescription is used to provide a reference for the replacement therapy of antibiotic use in livestock and poultry breeding in the

收稿日期: 2018-04-16

修回日期: 2019-12-24

网络首发时间: 2020-05-29 09:02:58

*基金项目: 农业部公益性行业(农业)科研专项(201403051)。

作者简介: 苏景(1977—), 女, 黑龙江肇东人, 在读博士研究生, 主要从事畜禽疫病防治研究。

E-mail: 373111972@qq.com

**通信作者 Corresponding author: 于文会(1970—), 男, 吉林农安人, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事中兽医防治畜禽疾病的研究。E-mail: yuwenhui@neau.edu.cn

网络首发地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/53.1044.S.20200528.0854.001.html>



future. [Method] We detected the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of compound radix isatidis oral solution (CRIOS) by vitro antibacterial activity, and observed the morphological changes of bacteria by scanning electron microscope. One hundred and fifty 1-day-old chicks were selected for clinical trials, 30 chicks were randomly selected into blank group, the remaining 120 chicks were artificially infected the *Salmonella pullorum* strains for preparing the chicken infection model. Infected chicks were randomly divided into model group, Chinese medicine treatment group, western medicine treatment group, and Chinese medicine prevention group, 30 chicks per group. The morbidity and mortality of chicks were observed. Serum levels of IL-1 β and TNF- α were measured at 1 day, 3 days, and 5 days after treatment. The transcriptional levels of avian- β -defensin-6 (AvBD6) and chicken toll-like receptor 15 (ChTLR15) in chicks' small intestine were detected by Real-time PCR. [Results] The MIC and MBC were 62.5 mg/mL and 25 mg/mL, respectively. Scanning electron microscopy showed that the bacteria appeared contractile, and many of the residues were broken and irregularly shaped *in vitro*. Clinical trials showed that Chinese medicine prevention could reduce the morbidity and mortality of chicks. Compared with the model group, the Chinese medicine prevention group and the Chinese medicine treatment group could reduce the contents of IL-1 β and TNF- α . And the AvBD6 and ChTLR15 had a high expression level in the early stage of infection and tend to be normal later in treatment. [Conclusion] The results of this experiment indicate that CRIOS has an obvious inhibitory effect on *S. pullorum*, and its bactericidal mechanism is to change the morphological structure of the bacteria to make the bacteria lose activity. Clinical trials have confirmed that compound radix isatidis can effectively prevent *Salmonella* infection in chicks, and can effectively reduce the level of inflammatory factors in the body and reduce the inflammatory response.

Keywords: compound radix isatidis oral solution (CRIOS); antibacterial; chicks; *Salmonella pullorum*

鸡白痢是一种由鸡沙门氏菌病引起雏鸡的急性全身性疾病,其特征为高死亡率。鸡为鸡白痢沙门氏菌的自然宿主,各品种鸡均易感染,主要感染14日龄以下的雏鸡且具流行性^[1]。鸡白痢沙门氏菌既可以通过消化道、呼吸道水平传播,又可以通过种蛋垂直传播。它常存在于病鸡内脏,以血管、肝脏、肠道、心脏、卵巢和输卵管中居多。沙门氏菌被认为是一种细胞外和细胞内的细菌,当其引起细胞外感染时,病原菌主要存在于宿主淋巴液、组织液和血液中,与机体争夺营养物质,进行增殖,逃避吞噬细胞、补体溶菌和杀菌的作用,逃避宿主的体液免疫应答,并躲避巨噬细胞的吞噬和宿主的特异性免疫应答^[2];但其对细胞内的感染是慢性的,会引起细胞免疫,主要表现为炎症反应和细胞毒作用,进而清除胞内感染的沙门氏菌^[3]。

Toll样受体(toll-like receptor, TLR)是家禽天然免疫中的模式识别受体,目前在家禽和鸟类

中已发现至少10种Toll样受体,其中TLR2a、TLR2b、TLR3、TLR4、TLR5和TLR7与哺乳动物的Toll样受体同源^[4]。HIGGS等^[5]研究发现:TLR15为禽类特有的受体,位于鸡基因组3号染色体上。鸡白痢沙门氏菌感染肉鸡的试验中,其胃肠道组织中TLR15 mRNA的表达水平也发生上调,表明TLR15在家禽抗沙门氏菌的天然免疫中可能发挥作用^[6]。

沙门氏菌通常经粪口途径感染家禽并从肠道开始入侵扩散^[7]。在家禽中,当入侵肠道的沙门菌被Toll样受体识别后,机体开始产生大量炎症因子和趋化因子,包括白细胞介素1(IL-1)、白细胞介素6(IL-6)、CXC趋化因子i1(CXCLi1)和CXC趋化因子i2(CXCLi2)等^[8-9],可募集异嗜性白细胞和巨噬细胞等免疫细胞至沙门菌感染部位,启动免疫应答。

在鸡白痢沙门氏菌病程中,禽 β 防御素6(avian beta-defensin 6, AvBD6)发挥重要生物活

性,特别是其具有广谱抗微生物作用,在肠道中表达的蛋白对致病性大肠杆菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌和多杀性巴氏杆菌等有抑制作用^[9]。研究表明:禽 AvBD6 在鸡的天然免疫中发挥着显著作用^[10-11]。鸡白痢沙门氏菌是一种环境中存在的条件性致病菌,当在应激刺激下或其他致病因素作用下极易发病,对雏鸡危害较为严重。喹诺酮类药物是防治鸡白痢沙门氏菌的常用药物,但其不合理的超剂量使用易产生耐药性,严重影响食品安全。近年来,一些兽医工作者采用中药防治雏鸡白痢沙门氏菌病收到良好效果。复方板蓝根口服液根据沙门氏菌病的临床辨证进行组方,由板蓝根、诃子和乌梅等中药组成,本研究在确证其临床疗效的基础上,进行体内外试验研究,为复方板蓝根口服液的开发应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物

1 日龄健康雄性雏鸡 150 羽,购于哈尔滨市周边某种鸡孵化场。

1.1.2 药品

板蓝根、乌梅和诃子等均购于黑龙江中草药材大市场。

1.1.3 试验菌种

鸡白痢沙门氏菌 CVCC533,购于中国微生物保藏中心。

1.2 方法

1.2.1 复方板蓝根口服液的制备

采用传统煎煮法制备复方板蓝根口服液。按照方中比例称取板蓝根、乌梅和诃子等中药,以 1:10 (质量比) 的纯化水浸泡 0.5 h,水浴锅加热,沸腾后恒温 1.5 h,纱布过滤药渣,121 ℃ 高压 20 min;待冷却后离心,无菌操作,将上清液配制为生药,质量浓度为 500 mg/mL,于 4 ℃ 保存备用 (保存时间不超过 1 周)。

1.2.2 最小抑菌质量浓度 (MIC) 和最小杀菌质量浓度 (MBC) 的测定

按无菌操作规程,取 8 支无菌试管,依次编号为 1~8 号,然后分别加入 1.0 mL 的肉汤培养基,在第 1~7 管肉汤培养基中分别加入菌液 100 μ L。取质量浓度为 500 mg/mL 口服液 1.0 mL 加入 1 号试管,混匀,取出 1.0 mL 加入 2 号试管,依次重

复操作,第 1~7 试管药物质量浓度分别为 250、125、62.5、31.25、15.63、7.81 和 3.95 mg/mL。第 8 号管不加中药,作为空白对照。37 ℃ 培养 24 h 后取出,观察细菌生长情况,通过与无菌空白管对比颜色变化判定有无细菌生长。无细菌生长的最低质量浓度判定为中药的最小抑菌质量浓度 (MIC)。取上述观察无细菌生长的试管中的液体均匀涂布于营养琼脂培养基平板,经 37 ℃ 培养 24 h 后观察结果。以肉眼观察菌落不生长视为 100% 被杀灭,将此试管的中药质量浓度作为最小杀菌药物质量浓度 (MBC)。

1.2.3 复方板蓝根口服液对鸡白痢沙门氏菌菌体形态的影响

将培养至对数生长期的鸡白痢沙门氏菌用 LB 液体培养基释成密度为 10^7 CFU/mL 的菌液,取出 2 mL 菌液并加入 18 mL 质量浓度为 MIC 的复方板蓝根口服液置于试管中,置于摇床中培养 (37 ℃, 180 r/min) 10 h 后,以 6 000 r/min 离心 10 min,收集菌体。将正常培养至对数生长期的沙门氏菌作为对照组,扫描电镜观察菌体形态。

1.2.4 复方板蓝根对雏鸡鸡白痢沙门氏菌病的防治试验

试验选取 150 羽 1 日龄雏鸡,随机选取 30 羽雏鸡做空白对照,其余 120 羽采用人工感染鸡白痢沙门氏菌制备雏鸡感染模型,将感染雏鸡随机分为模型组、中药治疗组、西药治疗组和中药预防组,每组 30 羽。1 日龄时,中药预防组分别灌服质量浓度为 250 mg/mL 的复方板蓝根口服液 0.5 mL/羽,连续灌服 3 d。5 日龄时,空白组雏鸡灌服生理盐水 0.5 mL/羽,其余各组雏鸡按 1×10^9 CFU/mL 剂量灌服菌液 0.5 mL/羽。6~12 h 部分出现临床症状后,中药治疗组灌服复方板蓝根口服液,质量浓度 1 000 mg/mL,灌服给药 0.5 mL/羽;西药治疗组用质量浓度 25 mg/mL 的恩诺沙星水溶液灌服给药,0.5 mL/羽;均连续灌服 5 d。空白组、模型组与中药预防组连续给予 5 d 等量的生理盐水。观察并记录各组发病率及死亡率情况。

1.2.5 血清中 IL-1 β 和 TNF- α 含量测定

各组分别于治疗 1、3 和 5 d 后,随机选取 3 羽,心脏采血,室温静置过夜,3 000 r/min 离心 10 min,分离血清,-20 ℃ 分装保存备用。按照试剂盒说明进行白细胞介素 1 β (IL-1 β) 和肿瘤

坏死因子 α (TNF- α) 含量的测定。

1.2.6 *AvBD6* 和 *ChTLR15* 的 mRNA 在雏鸡肠道中的表达

提取雏鸡小肠总 RNA, 将 RNA 按反转录试剂盒说明书反转录成 cDNA。实时荧光定量 PCR 检测 *AvBD6* 和 *ChTLR15* 在感染雏鸡小肠中的转录水平, 引物序列见表 1。PCR 反应体系总体积为 20 μ L, 其中 SYBR Premix Ex Taq II (2 $\times$) 10 μ L, PCR Forward Primer (10 μ mol/L) 0.8 μ L, PCR Reverse Primer (10 μ mol/L) 0.8 μ L, ROX Reference Dye II (50 $\times$), 0.4 μ L, DNA 模板 2.0 μ L, dH₂O 6.0 μ L。反应程序如下: 95 $^{\circ}$ C 预变性 30 s; 95 $^{\circ}$ C 变性 5 s, 58 $^{\circ}$ C 退火 34 s, 40 个循环。之后进行熔解曲线分析鉴定引物的特异性: 95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 1 min, 95 $^{\circ}$ C 15 s。目的基因的转录水平以平均值 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) 表示。

表 1 *AvBD6* 及 *ChTLR15* 实时荧光定量 PCR 引物

Tab. 1 Primers of *AvBD6* and *ChTLR15* for real time fluorescence quantitative PCR

基因 gene	引物序列 primer sequence	产物长度 /bp product size
<i>β-actin</i>	F: TGC GTGACATCAAGGAGAAG	111
	R: GACCATCAGGGAGTTCATAGC	
<i>AvBD6</i>	F: AGGATTTACATCCAGCCGTG	156
	R: CGACATGGCCCAGGAATGCAG	
<i>ChTLR15</i>	F: GTTCTCTCTCCAGTTTGAAAATAGC	262

1.3 数据处理

采用 SPSS 18.0 进行数据分析, 用 mean $\pm$ SD 表示试验结果, 组间采用单因素 LSD 方差分析。

2 结果与分析

2.1 体外抑菌结果

2.1.1 MIC 和 MBC

由表 2 可知: 复方板蓝根口服液对鸡白痢沙门氏菌的最小抑菌质量浓度为 62.5 mg/mL, 最小杀菌质量浓度为 125 mg/mL。

表 2 复方板蓝根口服液对鸡白痢沙门氏菌的 MIC 和 MBC 结果

Tab. 2 Results of compound radix isatidis oral solution CRIOS on the MIC and MBC of *S. pullorum*

指标 index	复方板蓝根口服液质量浓度/(mg·mL ⁻¹) mass concentration of CRIOS				
	31.25	62.5	125	250	500
MIC	+	—	—	—	—
MBC	+	+	—	—	—

注: MIC. 最小抑菌质量浓度; MBC. 最小杀菌质量浓度; “+”. 有菌出现; “—”. 无菌。

Note: MIC. minimum inhibitory concentration; MBC. minimal bactericidal concentration; “+” indicates the presence of bacteria and “—” represents asepsis.

2.1.2 复方板蓝根口服液对鸡白痢沙门氏菌菌体形态变化的影响

扫描电镜下观察到鸡白痢沙门氏菌菌体呈中等直杆菌, 两端钝圆 (图 1a), 复方板蓝根口服液作用 10 h 后, 菌体出现溢缩, 断裂形成许多残体, 形状不规则, 大小不一 (图 1b)。

2.2 体内防治

2.2.1 复方板蓝根口服液对雏鸡鸡白痢沙门氏菌病的防治

由表 3 可知: 经中药和西药治疗后, 发病鸡死亡率均降低, 且西药治疗组的治疗效果优于中

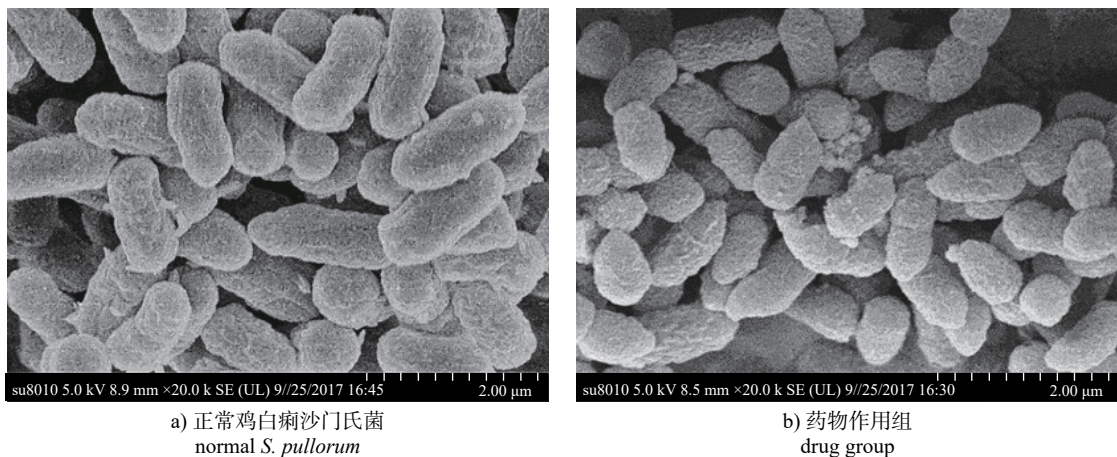


图 1 复方板蓝根口服液作用鸡白痢沙门氏菌扫描电镜结果 ($\times 20\ 000$)

Fig. 1 Effect of compound radix isatidis oral solution on *S. pullorum* by scanning electron microscope

表 3 复方板蓝根口服液防治效果

Tab. 3 Effect of CRIOS on the clinical prevention and treatment

分组 group	总数 number	发病数 number of cases	发病率/% incidence rate	死亡数 number of deaths	死亡率/% mortality rate
空白组 blank group	30	0	0	0	0
模型组 model group	30	26	86.7	21	70.0
中药治疗组 Chinese medicine treatment group	30	24	80.0	14	46.7
西药治疗组 drug treatment group	30	25	83.3	6	20.0
中药预防组 Chinese medicine prevention group	30	12	40.0	4	13.3

药治疗组，中药预防组的死亡率更低。此外，中药预防组的发病率低于中药和西药治疗组。说明复方板蓝根口服液能够有效预防雏鸡白痢沙门氏菌病。

2.2.2 血清中 IL-1 β 含量测定

由图 2 可知：雏鸡感染鸡白痢沙门氏菌后 IL-1 β 含量明显升高。治疗 1 d 时，模型组和中药治疗组与空白组的 IL-1 β 含量差异极显著 ($P<0.01$)；治疗 3 d 时，模型组、中药治疗组和中药预防组与空白组的 IL-1 β 含量差异显著 ($P<0.05$)；治疗 5 d 时，模型组与空白组具有显著性差异 ($P<0.05$)，其余各组与空白组差异不显著。治疗 1、3 和 5 d 时，西药治疗组的 IL-1 β 含量与模型组相比有效降低，中药治疗组则无明显变化；治疗 5 d 时，中药预防组的 IL-1 β 含量也显著低于模型组 ($P<0.05$)，但与空白组差异不显著。

2.2.3 血清中 TNF- α 含量测定结果

由图 2 可知：雏鸡感染鸡白痢沙门氏菌后 TNF- α 含量明显升高。与空白组相比，治疗 1 和 3 d 时，各治疗组 TNF- α 含量均升高，且模型组与空白组具有极显著差异 ($P<0.01$)；治疗 5 d 时，中

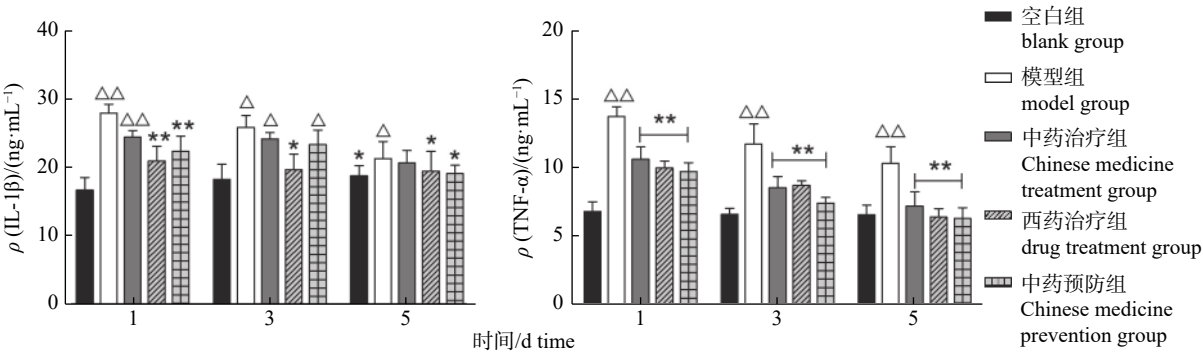
药治疗组、西药治疗组和中药预防组的 TNF- α 含量趋于正常，与空白组差异不显著。治疗 1、3 和 5 d 时，中药治疗组、西药治疗组和中药预防组的 TNF- α 含量均极显著低于模型组 ($P<0.01$)。

2.2.4 肠道中 ChTLR15 的转录水平

由图 3 可知：在肠道 ChTLR15 的转录水平上，雏鸡感染鸡白痢沙门氏菌后，治疗 1、3 和 5 d 时，模型组与空白组间差异极显著或显著 ($P<0.01$ 或 $P<0.05$)，其余各组与空白组差异不显著。治疗 1 d 时，中药治疗组、中药预防组和西药治疗组与模型组差异显著或极显著 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)；治疗 3 和 5 d 时，西药治疗组和中药预防组与模型组相比差异显著 ($P<0.05$)，中药治疗组与模型组差异不显著。

2.2.5 肠道中 AvBD6 的转录水平

由图 3 还可知：在肠道 AvBD6 的转录水平上，雏鸡感染鸡白痢沙门氏菌后，治疗 1 d 时，模型组、中药治疗组和中药预防组与空白组间差异极显著 ($P<0.01$)；治疗 3 d 时，模型组与空白组差异极显著 ($P<0.01$)，中药预防组与空白组具有显著性差异显著 ($P<0.05$)，治疗 5 d 时，模型组



注：与空白组比较，“ Δ ”表示差异显著 ($P<0.05$)，“ $\Delta\Delta$ ”表示差异极显著 ($P<0.01$)；与模型组比较，“*”表示差异显著 ($P<0.05$)，“**”表示差异极显著 ($P<0.01$)；下同。
Note: Compared with the blank group, “ Δ ” means significant difference ($P<0.05$), “ $\Delta\Delta$ ” means significant difference ($P<0.01$); compared with the model group, “*” means significant difference ($P<0.05$); “**” means significant difference ($P<0.01$); the same as below.

图 2 感染鸡白痢沙门氏菌的雏鸡血清中 IL-1 β 和 TNF- α 的含量
Fig. 2 The contents of IL-1 β and TNF- α in serum of chicks infected by *Salmonella*

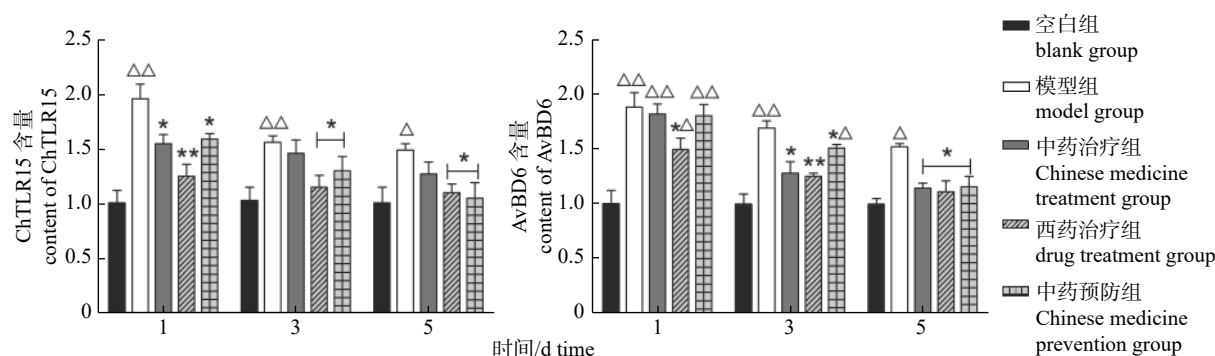


图3 染鸡白痢沙门氏菌的雏鸡肠道中 ChTLR15 和 AvBD6 的含量

Fig. 3 The contents of ChTLR15 and AvBD6 in intestines of chicks infected *Salmonella*

与空白组具有显著差异 ($P<0.05$), 其余各组与空白组差异不显著。治疗 1 d 时, 西药治疗组与模型组差异显著 ($P<0.05$); 治疗 3 d 时, 西药治疗组与模型组差异极显著 ($P<0.01$), 中药治疗组和中药预防组差异显著 ($P<0.05$); 治疗 5 d 时, 模型组与中药治疗组、西药治疗组和中药预防组均具有显著差异 ($P<0.05$)。

3 讨论

板蓝根为解热解毒药, 兽医临床常用于预防和治疗细菌和病毒的感染。本试验依据中兽医辨证理论, 选用板蓝根、乌梅和诃子等中药进行组方, 方剂中板蓝根清热解毒、凉血利咽; 乌梅敛肺涩肠、生津止渴、驱虫止痢; 诃子涩肠止泻; 诸药合用, 可提高疗效。本试验结果显示: 复方中药对鸡白痢沙门氏菌的最小抑菌质量浓度为 62.5 mg/mL, 最小杀菌质量浓度为 125 mg/mL, 有明显的抑制作用。通过扫描电镜观察发现复方板蓝根口服液作用菌体后形态结构发生了变化, 表明复方板蓝根口服液对鸡白痢沙门氏菌具有抑制作用。

家禽的天然免疫是机体抵抗病原菌侵染的第一道防线, 在抗沙门菌感染中发挥着重要的作用^[12]。当雏鸡感染鸡白痢沙门氏菌时, 激活机体天然免疫系统非常重要。然而在实际生产中, 常因霉菌毒素超标或滥用抗生素导致免疫系统受到抑制^[13]。一些如黄芪、党参等补益类中药具有激活机体非特异性免疫系统的功效。试验表明: 复方板蓝根口服液对鸡白痢沙门氏菌病的预防有一定的效果, 能降低雏鸡的发病率及死亡率。感染鸡白痢沙门氏菌, 治疗 1 d 后, 除空白组外, 其

他各组的 ChTLR15 表达量显著升高, 说明机体的免疫系统对微生物的刺激做出应答, 并在先天性免疫和抗病力上发挥作用; 中药预防组治疗 5 d 后, ChTLR15 表达量下降, 且与空白组差异不显著, 说明机体感染沙门氏菌后体内 ChTLR15 表达增加, 机体杀菌能力增强并调动了机体的免疫, 有效控制了鸡白痢沙门氏菌对机体的损伤。证明复方板蓝根口服液预防给药能起到提高机体免疫和对抗病原微生物的作用。有报道称在沙门氏菌感染 2 d 雏鸡的各肠段组织中均能检测到 ChTLR15 mRNA 的转录水平增加^[14], 与本试验结果相一致。

已有报道肠炎沙门菌感染鸡源巨噬细胞后, 明显诱导 ChTLR5 等 Toll 样受体转录水平增加, 同时炎症因子 IL-1、IL-6、IL-1 β 和 IL-18、趋化因子 CCL4 和 CCL5 以及其他抗菌物质转录水平明显增加, 表明鸡巨噬细胞可通过 Toll 样受体依赖的途径抵抗沙门菌侵染^[15-16]。治疗 1 d 后, 模型组的 IL-1 β 含量高于其他各组, 说明鸡白痢沙门氏菌可诱导 IL-1 β 大量释放; 治疗 5 d 后, 模型组与中药治疗组差异不显著 ($P>0.05$), 西药治疗组和中药预防组与空白组差异不显著 ($P>0.05$), 说明西药治疗组及中药预防组有较好的效果。在治疗后 1、3 和 5 d 后, 中药预防组的 IL-1 β 含量较低, 可能是复方板蓝根口服液能够促进机体免疫力和耐受力, 表明复方板蓝根口服液能有效预防原微生物对机体的损伤, 快速有效地降低感染鸡白痢沙门氏菌雏鸡的炎症因子水平。雏鸡感染鸡白痢沙门氏菌后, TNF- α 含量显著升高; 治疗 1 d 后, 模型组 TNF- α 含量高于空白组, 说明机体受到致病菌感染后, TNF- α 含量会迅速升

高,介导炎症反应;治疗后 3 和 5 d,模型组 TNF- α 含量下降,但高于空白组;中药治疗组、西药治疗组和中药预防组与空白组差异不显著 ($P>0.05$)。表明复方板蓝根口服液能快速有效的抑制 TNF- α 的分泌,减轻炎症反应,从而达到机体免受病原菌的侵害,对机体起到保护作用。

禽 β -防御素 (AvBDs) 具有十分广泛的生物活性,对细菌、真菌、病毒和寄生虫等多种病原体都具有杀伤作用,还对免疫细胞有趋化功能,并参与免疫调节,在天然免疫中发挥着重要的作用。已有报道用定量 RT-PCR 法发现肉鸡感染鸡白痢沙门菌后 AvBD6 在鸡肠道内表达显著升高,AvBD6 转录水平的差异性解释了在雏鸡感染鸡白痢沙门菌的早期阶段会诱导先天免疫反应^[17-18],与本研究结果一致,说明机体感染沙门氏菌后体内 AvBD6 表达增加,机体杀菌能力增强,并调动了机体的免疫,有效控制了鸡白痢沙门氏菌对机体的损伤。证明了复方板蓝根口服液预防给药能起到提高机体免疫和对抗病原微生物的作用。

4 结论

复方板蓝根口服液对鸡白痢沙门氏菌有明显的抑制作用,其杀菌机制是通过改变菌体的形态结构使细菌丧失活性。试验证实复方板蓝根口服液可有效预防雏鸡白痢沙门氏菌病,并能有效降低体内炎症因子水平,减轻炎症反应。

[参考文献]

- [1] 田青. 鸡白痢沙门菌鸡胚感染模型的建立及其减毒突变株的筛选与鉴定[D]. 扬州: 扬州大学, 2014.
- [2] GINSBURG I. The role of bacteriolysis in the pathophysiology of inflammation, infection and post-infectious sequelae[J]. APMIS: Acta Pathologica, Microbiologica, Et Immunologica Scandinavica, 2002, 110(11): 753. DOI: [10.1034/j.1600-0463.2002.1101101.x](https://doi.org/10.1034/j.1600-0463.2002.1101101.x).
- [3] 韩文瑜, 雷连成. 高级动物免疫学[M]. 北京: 科学出版社, 2016.
- [4] VAEZIRAD M M, KOENE M G, WAGENAAR J A, et al. Chicken immune response following *in ovo* delivery of bacterial flagellin[J]. Vaccine, 2018, 36(16): 2139. DOI: [10.1016/j.vaccine.2018.02.116](https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.02.116).
- [5] HIGGS R, CORMICAN P, CAHALANE S, et al. Induction of a novel chicken toll-like receptor following *Salmonella enterica* serovar typhimurium infection[J]. Infection and Immunity, 2006, 74(3): 1692. DOI: [10.1128/IAI.74.3.1692-1698.2006](https://doi.org/10.1128/IAI.74.3.1692-1698.2006).
- [6] RAMASAMY K T, VERMA P, REDDY M R. Toll-like receptors gene expression in the gastrointestinal tract of *Salmonella* serovar Pullorum-infected broiler chicken[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2014, 173(2): 356. DOI: [10.1007/s12010-014-0864-8](https://doi.org/10.1007/s12010-014-0864-8).
- [7] BARROW P A, NETO O C F. Pullorum disease and fowl typhoid-new thoughts on old diseases: a review[J]. AvianPathology, 2011, 40:1. DOI: [10.1080/03079457.2010.542575](https://doi.org/10.1080/03079457.2010.542575).
- [8] MATULOVA M, VARMUZOVA K, SISAK F, et al. Chicken innate immune response to oral infection with *Salmonella enterica* serovar enteritidis[J]. Veterinary Research, 2013, 44: 37. DOI: [10.1186/1297-9716-44-37](https://doi.org/10.1186/1297-9716-44-37).
- [9] 韩宗玺, 廖文艳, 王瑞琴, 等. 重组鸡 β -防御素 6 基因的表达和生物学特性的研究[J]. 中国预防兽医学报, 2009, 31(6): 476.
- [10] CAO Y P, MA Q Q, SHAN A S, et al. Expression *Pichia pastoris* and biological activity of avian β -defensin 6 and its mutant peptide without cysteines[J]. Protein and Peptide Letters, 2012, 19(10): 1064. DOI: [10.2174/092986612802762660](https://doi.org/10.2174/092986612802762660).
- [11] 王燕, 周秀红, 祁克宗, 等. 雏鸡感染鸡白痢沙门菌后禽 β -防御素 6 和鸡 Toll 样受体 15 在肠道转录与定位研究[J]. 畜牧兽医学报, 2014, 45(10): 1711. DOI: [10.11843/j.issn.0366-6964.2014.10.018](https://doi.org/10.11843/j.issn.0366-6964.2014.10.018).
- [12] 康喜龙, 唐娟, 焦扬, 等. 家禽沙门菌免疫学研究进展[J]. 中国家禽, 2018, 40(21): 1. DOI: [10.16372/j.issn.1004-6364.2018.21.001](https://doi.org/10.16372/j.issn.1004-6364.2018.21.001).
- [13] 唐顺发, 何士军. 疫苗免疫对鸡免疫抑制及抗生素使用的影响[J]. 中国家禽, 2014, 36(13): 60. DOI: [10.16372/j.issn.1004-6364.2014.13.006](https://doi.org/10.16372/j.issn.1004-6364.2014.13.006).
- [14] CHEN S, CHENG A C, WANG M S. Innate sensing of viruses by pattern recognition receptors in birds[J]. Veterinary Research, 2013, 44: 82. DOI: [10.1186/1297-9716-44-82](https://doi.org/10.1186/1297-9716-44-82).
- [15] BALAN K V, BABU U S. Comparative responses of chicken macrophages to infection with *Salmonella enterica* serovars[J]. Poultry Science, 2017, 96(6): 1849. DOI: [10.3382/ps/pew477](https://doi.org/10.3382/ps/pew477).
- [16] LIAN L, CIRACI C, CHANG G B, et al. NLRC5 knock-down in chicken macrophages alters response to LPS and poly (I:C) stimulation[J]. BMC Veterinary Research, 2012(8): 23. DOI: [10.1186/1746-6148-8-23](https://doi.org/10.1186/1746-6148-8-23).
- [17] VAN DIJK A, VELDHUIZEN E J A, KALKHOVE S I C, et al. The β -defensin gallinacir-6 is expressed in the chicken digestive tract and has antimicrobial activity against food-borne pathogens[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2007, 51(3): 912. DOI: [10.1128/AAC.00568-06](https://doi.org/10.1128/AAC.00568-06).
- [18] RAMASAMY K T, VERMA P, REDDY M R. Differential gene expression of antimicrobial peptides β defensins in the gastrointestinal tract of *Salmonella* serovar Pullorum infected broiler chickens[J]. Veterinary Research Communications, 2012, 36(1): 57. DOI: [10.1007/s11259-011-9512-8](https://doi.org/10.1007/s11259-011-9512-8).

责任编辑: 何馨成