

复方中药对猪嗜血支原体感染预防作用的研究

董耀泽, 李晓云, 张晋强, 石泽宇, 陈建闪, 李宏全, 马海利*

(山西农业大学动物科技学院, 太谷 030801)

摘要: 为研究复方中药对猪嗜血支原体(*M. suis*)感染的预防效果, 将复方中药 I、II、III 和强力霉素分别与 *M. suis* 阳性血液在细胞培养液中进行培养, 间隔 12 h 用 qPCR 检测培养物中 *M. suis* 拷贝数。选取临床健康的 35 日龄仔猪进行 *M. suis* PCR 检测, 将 50 头 *M. suis* PCR 阳性仔猪随机分为 5 组, 每组 10 头, 每组隔离饲养。三个复方中药组采用拌料方式连续喂服 7 d, 强力霉素组拌料喂服 5 d, 对照组饲料中不添加任何药物。分别于用药前、用药后第 10、20、30 天前腔静脉采血, 对血液 *M. suis* 拷贝数、红细胞 SOD 活力、红细胞膜 ATP 酶($\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{-ATPase}$ 、 $\text{Ca}^{2+} \text{Mg}^{2+} \text{-ATPase}$)活力、淋巴细胞(T、B)增殖率、血清 IgG 含量进行检测。结果显示, 三种复方中药在体外培养时均可极显著降低培养物中 *M. suis* 拷贝数($P < 0.01$); 在仔猪预防试验中, 与对照组和强力霉素组相比, 复方中药 I 可以极显著降低血液中 *M. suis* 拷贝数($P < 0.01$), 提高红细胞 SOD 活力与 B 淋巴细胞增殖率($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 复方中药 II 可以提高红细胞 SOD 活力、 $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{-ATPase}$ 活力与淋巴细胞增殖率($P < 0.05$), 但无法长时间抑制 *M. suis* 生长; 复方中药 III 可以极显著降低血液中 *M. suis* 拷贝数($P < 0.01$), 显著提高红细胞 SOD 活力($P < 0.05$)。结果说明: 复方中药 I 对 *M. suis* 自然感染有良好的预防作用。

关键词: 猪嗜血支原体; 复方中药; 仔猪; 预防

中图分类号: S852.62; S853.9

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2016)02-0404-07

Prophylactic Effect of Compound Chinese Herbal Medicine on *Mycoplasma suis* Infection

DONG Yao-ze, LI Xiao-yun, ZHANG Jin-qiang, SHI Ze-yu, CHEN Jian-shan, LI Hong-quan, MA Hai-li*
(College of Animal Science and Veterinary Medicine, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China)

Abstract: The study aimed to develop compound Chinese herbal medicine that is more efficient in prevention and control of the *M. suis* infection. *M. suis* of positive blood were cultured in cell culture fluid with the compound Chinese herbal medicine I, II, III and doxycycline. The copies of *M. suis* in cell culture fluid were measured by qPCR every 12 h. Fifty clinical healthy, 35 day-old piglets with natural infection of *M. suis* confirmed by PCR were randomly allocated to 5 groups, each with 10 replicates, and all the groups were fed separately. Piglets in three compound Chinese herbal medicine group were fed with a diet that contained $20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ of the compound Chinese herbal medicine I, II, and III respectively for seven days; piglets in doxycycline group were fed with a diet that mixed $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ of doxycycline for five days; piglets in control group were fed with diet. Blood samples of piglets were collected by the anterior vena before (0 day) and after the usage of medicine at the 10th, 20th and 30th days. The copies of *M. suis* in blood, erythrocyte superoxide dismutase, erythrocyte membrane ATPase ($\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{-ATPase}$, $\text{Ca}^{2+} \text{Mg}^{2+} \text{-ATPase}$), lymphocyte proliferation rate (T, B), and the serum content of IgG were measured. The results showed that: the three compound Chinese herbal medicine could significantly decrease the copies of *M. suis* *in vitro* ($P < 0.01$); compared with the doxycycline group and

收稿日期: 2015-07-13

基金项目: 山西省科技攻关项目(20130311028-1)

作者简介: 董耀泽(1989-), 男, 山西太原人, 硕士, 主要从事动物传染病的诊断与防治的研究, E-mail: t123o456m789@163.com

* 通信作者: 马海利, 教授, E-mail: mahaili1718@126.com

the control group, the compound Chinese herbal medicine I could significantly decrease the copies of *M. suis* in blood of piglets ($P < 0.01$), improve the activity of erythrocyte superoxide dismutase and B-proliferation rate ($P < 0.05$); the compound Chinese herbal medicine II had positive effects on erythrocyte superoxide dismutase, the activity of erythrocyte membrane $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{-ATPase}$ and lymphocyte proliferation rate ($P < 0.05$), whereas it could not effectively reduce the *M. suis* copies; the compound Chinese medicine III could reduce the *M. suis* copies in blood of piglets ($P < 0.01$) and only improve the activity of erythrocyte superoxide dismutase ($P < 0.05$). In conclusion, the compound Chinese medicine I has favorable prophylactic effects on the *M. suis* infection.

Key words: *Mycoplasma suis*; compound Chinese herbal medicine; piglets; prophylactic effects

猪嗜血支原体(*Mycoplasma suis*, *M. suis*)是一种寄生于猪红细胞表面、血浆及骨髓内的微生物。猪感染 *M. suis* 后,多数情况下不表现临床症状,呈隐性感染;当机体抵抗力降低或严重感染时,可使红细胞变形、裂解,引起猪发生以贫血、黄疸、发热等为主要症状的疾病,称为猪附红细胞体病(*Eperythrozoonosis*)^[1-2]。*M. suis* 感染及引起的猪附红细胞体病在许多国家和地区均有报道,给养猪业造成巨大经济损失。

目前,尚没有预防猪附红细胞体病的疫苗,对该病的预防和控制主要使用强力霉素、四环素、土霉素等抗生素类药物。但猪感染 *M. suis* 或患病后,由于并发或继发的病原体不同,临床用药效果亦有差异,不仅导致了 *M. suis* 的耐药性,且易引起药物残留和影响食品安全。因此,需要研究有效预防 *M. suis* 感染的中药制剂。

与西药相比,中药制剂不易产生耐药性,价格低廉,且毒副作用小。猪附红细胞体病属温热症,且热势偏盛,故本研究选取具有抗菌或抗病毒、清热解毒、解表凉血、滋阴壮阳等作用的中药,按照“君臣佐使”原则设计三种复方中药,将其添加于 *M. suis* 隐性感染仔猪的基础日粮中,检测其预防效果,为临床上合理选择预防 *M. suis* 感染药物提供依据。

1 材料与方法

1.1 复方中药组成及原则

选择具有杀菌或抗病毒作用的中药和清热解毒、解表凉血、滋阴壮阳的中药,按照“君臣佐使”的原则设计复方中药。

复方中药 I:由黄芩、黄柏、黄连、大黄等组成。以清三焦湿热、解气分血分之湿毒为原则。

复方中药 II:由苦参、茵陈、砂仁、青蒿等组成。以清湿热毒、散气分结、健脾截疟为原则。

复方中药 III:由柴胡、丹皮、黄芪、黄连等组成。以补气凉血、表里双解湿毒为原则。

1.2 动物选择及分组处理

于山西某养殖场随机选取 100 头 35 日龄健康仔猪,于前腔静脉无菌采 EDTA 抗凝血液 2 mL,进行 PCR 检测^[3],筛选出 50 头 *M. suis* 自然感染仔猪,随机分为 5 组,每组 10 头,在相同条件下进行隔离饲养,其中复方中药 I、复方中药 II、复方中药 III 组采用拌料方式(药物含量为 2%)连续服用 7 d,强力霉素组拌料(药物含量为 0.02%)服用 5 d,对照组喂服无任何药物的饲料。于喂服药物前 1 天和喂服药物后第 10、20、30 天分别进行无菌采血,每次前腔静脉采 EDTA 抗凝血 7 mL 和非抗凝血 2 mL。

1.3 试验方法

1.3.1 *M. suis* DNA 重组质粒 qPCR 定量标准曲线建立 参考 A. M. Guimaraes 等^[4]文献设计 *M. suis* 扩增引物,上游引物 F: 5'-TGATGGG-TAGCTGGACTGA-3',下游引物 R: 5'-GCTC-CATCAGACTTTCGTC-3',由北京六合华大基因科技股份有限公司合成,预计扩增 *M. suis* DNA 的片段大小为 157 bp。使用 Omega 试剂盒提取 *M. suis* 阳性血液 DNA,进行普通 PCR。将普通 PCR 扩增片段回收作为目的基因,与 pEASY-T3 质粒载体连接,转化 Trans1-T1 感受态细胞,挑选阳性克隆细胞增菌培养,使用 Omega 质粒纯化试剂盒提取重组质粒 DNA,用核酸蛋白检测仪测定其浓度,将其换算为 *M. suis* 拷贝数,作为检测 *M. suis* 拷贝数的重组质粒标准品。将标准品 10 倍递倍稀释,按照 QuantiFast® SYBR Green PCR Kit 说明进行 qPCR,制作 *M. suis* DNA 重组质粒绝对定量标准曲线。

1.3.2 药物对 *M. suis* 体外抑制试验 将三种复方中药分别用水煮法熬制,用 40% 血清培养基配制一定浓度。在 24 孔细胞培养板各孔中加入 *M.*

suis 阳性抗凝血 300 μL 和含药物的培养基 1 700 μL , 使复方中药 I、复方中药 II、复方中药 III、强力霉素含量达 4 000 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 对照孔加不含药物的培养基。将培养板置 37 $^{\circ}\text{C}$ 5% CO_2 培养箱中培养, 分别于 0、12、24、36、48 和 60 h 各吸取 3 孔培养物, 用 Omega 试剂盒提取培养物 DNA, 进行 qPCR 检测。依据 *M. suis* DNA 重组质粒标准曲线, 计算培养物中 *M. suis* 拷贝数。

1.3.3 猪血液中 *M. suis* qPCR 检测 将采集的血液样品, 提取 DNA, 100 μL dH_2O 洗脱 DNA。取 2 μL 基因组 DNA 作为扩增模板, 进行 qPCR 扩增, 依据 *M. suis* DNA 重组质粒标准曲线, 计算血液中 *M. suis* 拷贝数。

1.3.4 红细胞超氧化物歧化酶(SOD)活力测定

按照 SOD 测定试剂盒说明(南京建成)进行测定。

1.3.5 红细胞膜 ATP 酶活力测定 按照超微量 ATP 酶($\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{-ATPase}$, $\text{Ca}^{2+} \text{Mg}^{2+} \text{-ATPase}$)测定试剂盒说明(南京建成)进行测定。

1.3.6 淋巴细胞增殖能力测定 在离心管中加入 3 mL 猪外周血液淋巴细胞分离液, 沿管壁缓慢加入 2 mL 抗凝血。2 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$, 离心 20 min。吸出白膜层(淋巴细胞), 洗涤 3 次, 弃去上清。加入含 15% 胎牛血清的 RPMI-1640 重悬细胞, 吹打均匀后取样, 用台盼蓝染色计数活细胞数(>95%), 调整细胞浓度至 $1 \times 10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$, 加入 96 孔细胞培养板中, 每个样品设非特异性刺激 ConA($5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、LPS($10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 和不加刺激物(RPMI-1640)孔, 每个样品设 4 个复孔。将培养板置于 5% CO_2 培养箱, 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 48 h。在培养结束前 4 h, 每孔加入 MTT($5 \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), 培养结束后每孔加入 DMSO, 充分溶解。用酶标仪在 570 nm 波长下测定 OD 值。淋巴细胞增殖能力用刺激指数(SI)表示。

$\text{SI} = \text{刺激孔 OD 值} / \text{对照孔 OD 值}$

1.3.7 血清 IgG 含量测定 采用猪免疫球蛋白 G(IgG)酶联免疫检测试剂盒(南京建成)进行测定。

1.3.8 统计分析 结果用平均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。用 SPSS 统计分析软件进行方差分析与 t 检验, 并确定差异显著性。 $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果

2.1 *M. suis* DNA 重组质粒 qPCR 定量标准曲线

由质粒标准的 Real-time PCR 扩增标准曲线

(图 1)可知曲线具有良好的线性关系, 标准曲线的 r^2 为 0.997, E 为 102.5%, 符合扩增动力学的要求($r^2 > 0.98$ 趋近于 1; $0.9 < E < 1.2$)。

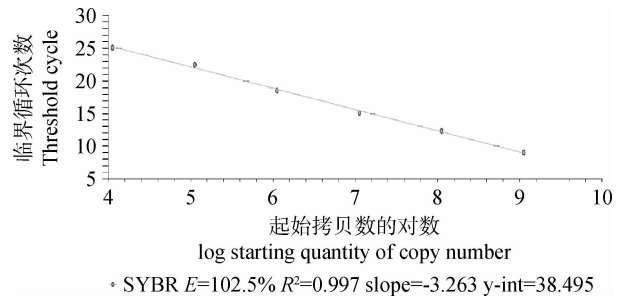
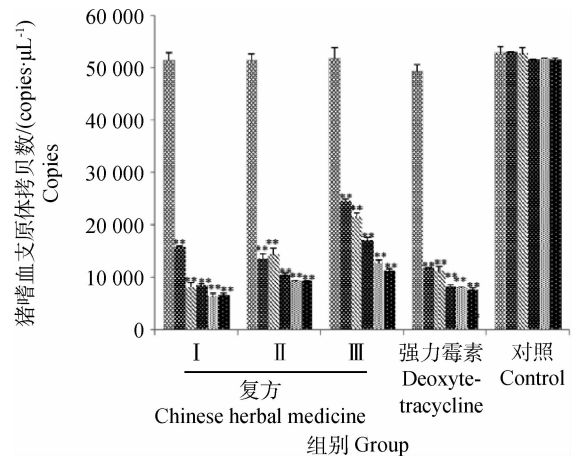


图 1 Real-time PCR 的标准曲线

Fig. 1 Standard curve of assay for recombination plasmid

2.2 药物体外 *M. suis* 感染抑制试验结果

将药物与 *M. suis* 作用不同时间后的培养物提取 DNA, 进行 qPCR 检测, 依据重组质粒标准曲线, 计算培养物中 *M. suis* 拷贝数(图 2)。结果显示, 阴性对照组在检测时间中 *M. suis* 拷贝数没有明显变化; 三种复方中药和强力霉素均随着药物与 *M. suis* 作用时间的延长, *M. suis* 拷贝数不断减少, 说明所用药物在体外对 *M. suis* 均有一定的抑制或杀灭作用。其抑制或杀灭程度依次为复方 I > 强力霉素 > 复方 II > 复方 III。



每一簇柱子中, 从左到右依次为用药 0、12、24、36、48 和 60 h 的数据。药物作用 12、24、36、48 和 60 h 的 *M. suis* 拷贝数分别与 0 h 的 *M. suis* 拷贝数进行比较, * 表示差异显著($P < 0.05$); ** 表示差异极显著($P < 0.01$)

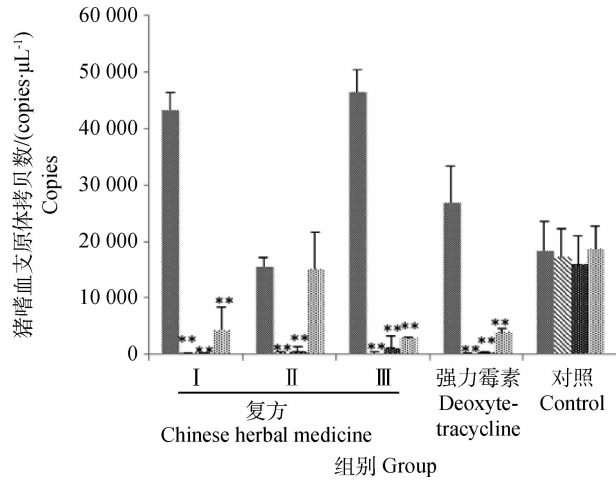
In each cluster, columns from left to right denote data at 0, 12, 24, 36, 48 and 60 hours after treatment. In the same drug group, copies of *M. suis* 12, 24, 36, 48 and 60 h were compared with 0 h, respectively, * represents as $P < 0.05$; ** represents as $P < 0.01$

图 2 药物体外对 *M. suis* 拷贝数的影响

Fig. 2 The results of the medicine on *M. suis* copies in vitro

2.3 药物对血液中 *M. suis* 拷贝数的影响

根据血液 *M. suis* qPCR 检测结果,参照重组质粒标准曲线,计算血液 *M. suis* 的拷贝数(图 3)。由于随机分组时各组中每头仔猪血液 *M. suis* 感染率差异较大,导致用药前后各组所测血液 *M. suis* 拷贝数误差较大,但用药前后每头仔猪血液 *M. suis* 拷贝数的变化趋势基本一致。对照组血液 *M. suis* 拷贝数在检测期间基本没有变化,用药组在给药后第 10 天检测时,血液中 *M. suis* 几乎检测不到,在给药后第 30 天检测时,复方中药 I、复方中药 III、强力霉素组数值略有上升,但上升幅度较小,与用药前相比,差异均极显著($P < 0.01$),但复方中药 II 组在给药后第 30 天检测时,血液中 *M. suis* 拷贝数恢复至用药前。



每一簇柱子中,从左到右依次为用药第 0、10、20 和 30 天的数据。在各试验组中用药后第 10、20、30 天结果分别与用药 0 d 结果进行比较,* 表示差异显著($P < 0.05$), ** 表示差异极显著($P < 0.01$)。下图同

In each cluster, columns from left to right denote data at the 0, 10th, 20th and 30th day after treatment. In each group, the results of the 10th, 20th and 30th day were compared with 0 d results, * represent significant difference ($P < 0.05$), ** represent extremely significant difference ($P < 0.01$). The same as below

图 3 药物对血液中 *M. suis* 拷贝数的影响

Fig. 3 The results of the medicine on *M. suis* copies in blood

2.4 药物对红细胞 SOD 活力影响

在检测期间,随着用药后时间的延长,对照组红细胞 SOD 活力值(图 4)呈现下降趋势($P > 0.05$),复方中药 I、II、III 组红细胞 SOD 活力值显著增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);强力霉素组红细胞 SOD 活力值仅呈现上升趋势($P > 0.05$)。

2.5 药物对红细胞膜 ATP 酶活力影响

对照组红细胞膜 ATPase 活力值(图 5、图 6)随

时间的增加呈现下降趋势,其中 $\text{Ca}^{2+} \text{Mg}^{2+}$ -ATPase 活力值显著下降($P < 0.05$)。复方中药 I、复方中药 II、强力霉素组 $\text{Na}^{+} \text{K}^{+}$ -ATPase 活力值呈现持续上升,其中强力霉素组极显著增加($P < 0.01$),复方中药 II 组显著增加($P < 0.05$),复方中药 I 组仅有上升趋势($P > 0.05$);复方中药 III 组 $\text{Na}^{+} \text{K}^{+}$ -ATPase 活力值出现了一过性上升,于给药后第 10 天极显著增加($P < 0.01$),但在给药后第 20 天检测时又开始显著下降,第 30 天检测时恢复到了给药前的水平。复方中药 I、II 组 $\text{Ca}^{2+} \text{Mg}^{2+}$ -ATPase 活力值呈现上升趋势($P > 0.05$),复方中药 III、强力霉素组活力值分别于给药后第 10、20 天呈现上升,第 30 天酶活力值又恢复至给药前的水平。

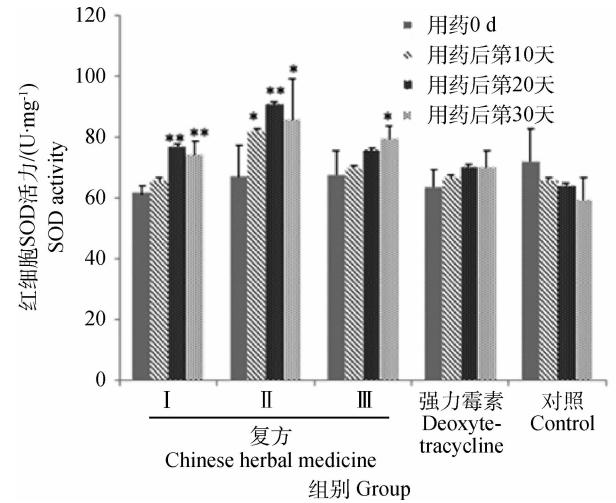


图 4 药物对红细胞 SOD 活力值的影响

Fig. 4 The results of the medicine on erythrocyte superoxide dismutase

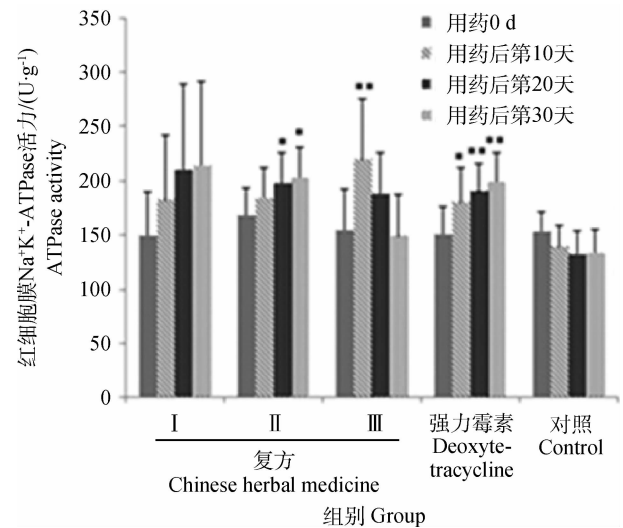


图 5 药物对红细胞膜 $\text{Na}^{+} \text{K}^{+}$ -ATPase 活力值的影响

Fig. 5 The results of the medicine on erythrocyte membrane $\text{Na}^{+} \text{K}^{+}$ -ATPase

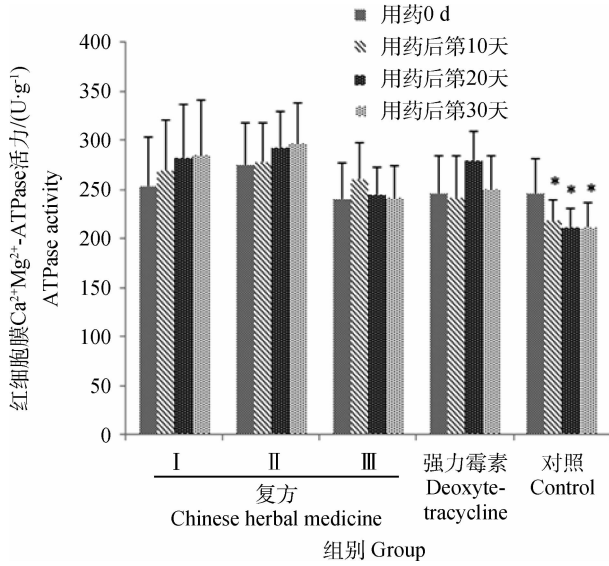


图 6 药物对红细胞膜 $\text{Ca}^{2+} \text{Mg}^{2+}$ -ATPase 活力值的影响
Fig. 6 The results of the medicine on erythrocyte membrane $\text{Ca}^{2+} \text{Mg}^{2+}$ -ATPase

2.6 药物对淋巴细胞增殖能力的影响

在检测期间,对照组 T、B 淋巴细胞刺激指数(图 7、图 8)无明显变化,复方中药 I、II 组 T、B 淋巴细胞刺激指数呈明显上升 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),复方中药 III、强力霉素组 T、B 淋巴细胞刺激指数先上升后又下降。

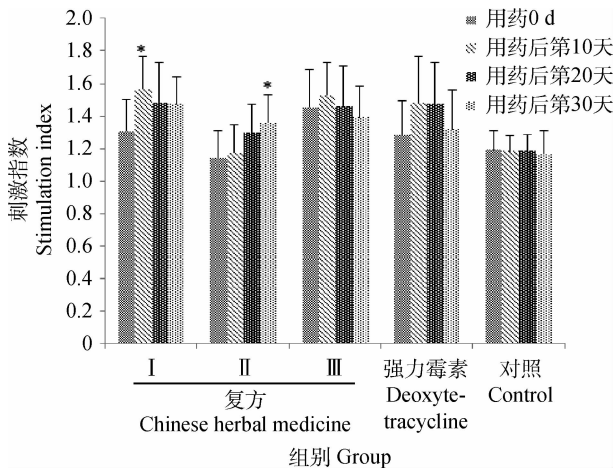


图 7 药物对 T 淋巴细胞刺激指数的影响
Fig. 7 The results of the medicine on stimulation index of T lymphocyte

2.7 药物对血清 IgG 含量的影响

对照组血清 IgG 含量(图 9)无明显变化,用药组在用药后血清 IgG 含量均有所上升,其中复方中药 I 组在用药后第 10 天血清含量显著上升 ($P < 0.05$),复方中药 II 组在用药后第 20 天血清含量极

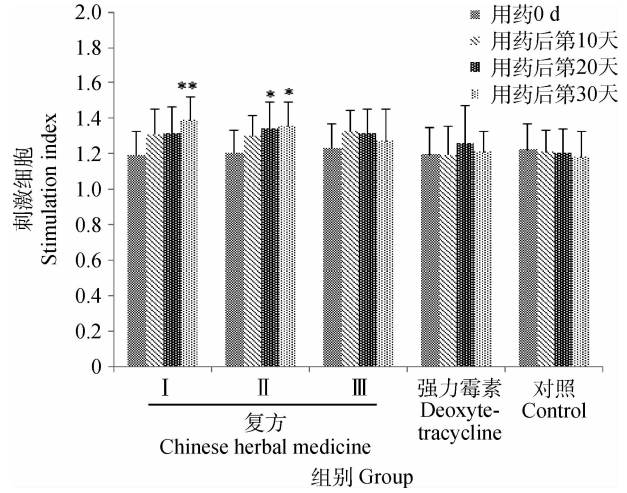


图 8 药物对 B 淋巴细胞刺激指数的影响
Fig. 8 The results of the medicine on stimulation index of B lymphocyte

显著上升 ($P < 0.01$),复方中药 III 组和强力霉素组在用药后第 10 天血清含量极显著上升 ($P < 0.01$);但在给药后第 30 天时 IgG 含量下降,复方中药 I、复方中药 II、强力霉素 3 组 IgG 含量均高于用药前 ($P > 0.05$),复方中药 III 组却低于用药前 ($P > 0.05$)。

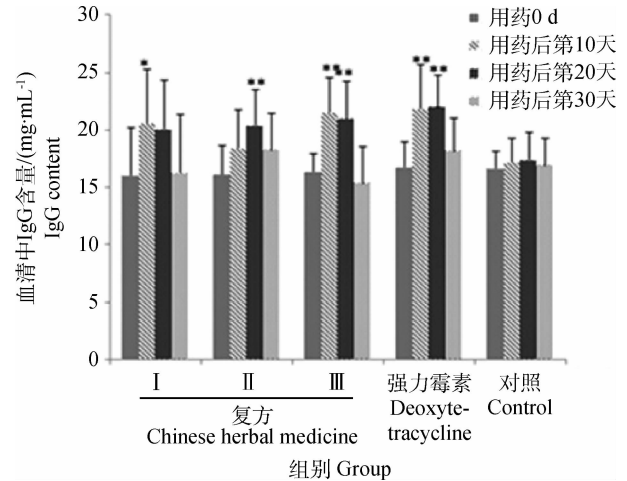


图 9 药物对血清 IgG 含量的影响
Fig. 9 The results of the medicine on serum content of IgG

3 讨论

3.1 药物体外对 M. suis 拷贝数的影响

在体外研究药物与 M. suis 作用后, M. suis 拷贝数的变化可以直观的反映药物对 M. suis 的作用效果。本研究将药物与 M. suis 在细胞培养液中作用不同时间后,用 qPCR 定量测定 M. suis 拷贝数,结果说明,复方中药 I、II、III 与强力霉素有同样的

药效,随着作用时间的延长 *M. suis* 拷贝数逐渐降低,说明药物在体外可以有效地抑制或杀灭 *M. suis*。

3.2 药物对猪血液中 *M. suis* 拷贝数的影响

仔猪用药后,血液中 *M. suis* 拷贝数检测结果表明,复方中药 I、II、III 与强力霉素可以有效地降低 *M. suis* 拷贝数,但停药后随着时间延长,*M. suis* 拷贝数不断增加,尤其是复方中药 II 在停药 20 d 左右 *M. suis* 拷贝数又恢复到原来水平,这说明所用复方中药均有杀灭或抑制 *M. suis* 作用,停止用药后,由于血药浓度的降低,*M. suis* 又开始增殖,使血液中 *M. suis* 数量不断增加。

3.3 药物对红细胞相关指标的影响

M. suis 主要致病机制是 *M. suis* 附着于红细胞,使红细胞膜发生变形,通透性增加,易发生溶血;同时,*M. suis* 改变红细胞膜抗原性,被自身免疫系统视为异物,从而使宿主通过启动自身免疫防御机制破坏红细胞^[5]。所以,本研究通过检测红细胞相关指标变化说明复方中药对 *M. suis* 感染的预防作用。

3.3.1 红细胞 SOD 红细胞 SOD 主要作用是通过催化阴离子自由基发生歧化反应生成二氧化碳和水,消除自由基,从而阻止自由基的链锁反应,是防止红细胞损伤的重要原因,在清除红细胞表面黏附的抗原抗体复合物和血液病原过程中起重要作用。李清艳等^[6]、韩惠瑛等^[7]、马海利等^[8] 研究证实 *M. suis* 自然感染仔猪红细胞 SOD 活力降低。本研究所用复方中药均可增强红细胞 SOD 活性,提高红细胞清除自由基的能力,平衡机体的氧化与抗氧化能力。

3.3.2 红细胞 $\text{Na}^+ \text{K}^+$ -ATPase 和 $\text{Ca}^{2+} \text{Mg}^{2+}$ -ATPase ATPase 在细胞的物质转运、能量代谢、维持细胞内外正常离子浓度等方面起着重要作用,机体在缺氧及一些疾病状态下,ATPase 活力会发生一系列改变,马海利等^[8] 证实红细胞 ATPase 活力随着 *M. suis* 感染强度的增加而降低。本研究证实所用复方中药均可提高红细胞膜 $\text{Na}^+ \text{K}^+$ -ATPase 和 $\text{Ca}^{2+} \text{Mg}^{2+}$ -ATPase 活力,对细胞膜内外紊乱的离子起到良好的调节作用。

3.4 药物对免疫功能的影响

柴方红等^[9]、J. F. Zachary 等^[10] 证明仔猪感染 *M. suis* 或患附红细胞体病后,体液免疫水平和细胞免疫水平均明显下降。本研究通过检测 T 淋巴细胞增殖率、B 淋巴细胞增殖率、血清 IgG 含量变化,

从细胞免疫与体液免疫方面说明复方中药对 *M. suis* 感染的预防作用。

淋巴细胞转化能力的高低可反映机体的免疫功能状态,常用淋巴细胞增殖率反应机体免疫能力^[11-12]。本研究证明,复方中药均可使 T、B 淋巴细胞增殖率升高,尤其是复方中药 I 与复方中药 II 能够显著提高淋巴细胞增殖率,说明复方中药可以提高仔猪的细胞免疫功能。IgG 是血清免疫球蛋白的主要成分,其含量高低可以反映机体的防御能力。已证明复方制剂可以刺激机体产生免疫球蛋白^[13-14],本研究证明复方中药可以使血清中 IgG 含量也出现了一过性增长,说明复方中药可以通过提高机体免疫力,对抑制 *M. suis* 感染起到了一定的作用。

4 结 论

三种复方中药在体外均有抑制或杀灭 *M. suis* 的作用;复方中药 I 可以显著降低血液中 *M. suis* 拷贝数,提高红细胞 SOD 活力与 B 淋巴细胞增殖率;复方中药 II 无法长时间抑制血液中 *M. suis* 生长,但可以提高红细胞 SOD 活力、 $\text{Na}^+ \text{K}^+$ -ATPase 活力与淋巴细胞增殖率;复方中药 III 可以显著降低血液中 *M. suis* 拷贝数,提高红细胞 SOD 活性。结果说明,复方中药 I 对 *M. suis* 自然感染有良好的预防作用。

参考文献 (References):

- [1] YUAN C L, LIANG A B, YAO C B, et al. Prevalence of *Mycoplasma suis* (*Eperythrozoon suis*) infection in swine and swine-farm workers in Shanghai, China[J]. *Am J Vet Res*, 2009, 70(7): 890-894.
- [2] HOELZLE L E, ZEDER M, FELDER K M, et al. Pathobiology of *Mycoplasma suis* [J]. *Vet J*, 2014, 202(1): 20-25.
- [3] 文辉强, 刘永刚, 石文达, 等. 一种基于 16S rRNA 基因检测猪嗜血支原体 PCR 方法的建立[J]. 中国兽医杂志, 2013, 49(9): 18-20, 23.
WEN H Q, LIU Y G, SHI W D, et al. Development of a PCR-based assay using the 16S rRNA gene for detection of *Mycoplasma suis* infection [J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2013, 49(9): 18-20, 23. (in Chinese)
- [4] GUIMARAES A M, VIEIRA R F, POLETTTO R, et al. A quantitative TaqMan PCR assay for the detec-

- tion of *Mycoplasma suis* [J]. *J Appl Microbiol*, 2011, 111(2):417-425.
- [5] GROEBEL K, HOELZLE K, WITTENBRINK M M, et al. *Mycoplasma suis* invades porcine erythrocytes [J]. *Infect Immun*, 2009, 77(2):576-584.
- [6] 李清艳, 翟向和, 钟秀会, 等. 附红细胞体自然感染猪血浆 NO、SOD 和 MDA 的变化[J]. *动物医学进展*, 2005, 26(2):92-94.
- LI Q Y, ZHAI X H, ZHONG X H, et al. Effects of *Eperythrozoon* on the anti-oxidant function[J]. *Progress in Veterinary Medicine*, 2005, 26(2):92-94. (in Chinese)
- [7] 韩惠瑛, 马海利, 张艳红, 等. 附红细胞体自然感染猪血液生化指标的检测[J]. *中国兽医杂志*, 2003, 39(11):20-22.
- HAN H Y, MA H L, ZHANG Y H, et al. Determination of blood biochemical parameters of swine naturally infected with *Eperythrozoon suis*[J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2003, 39(11):20-22. (in Chinese)
- [8] 马海利, 韩惠瑛, 王 胜, 等. 附红细胞体自然感染对猪红细胞的影响[J]. *中国预防兽医学报*, 2003, 25(4):265-267.
- MA H L, HAN H Y, WANG S, et al. Effect on erythrocyte of swine with natural infection of *Eperythrozoon suis*[J]. *Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine*, 2003, 25(4):265-267. (in Chinese)
- [9] 柴方红, 张守发, 贾立军, 等. 附红细胞体自然感染对仔猪免疫水平的影响[J]. *畜牧与兽医*, 2007, 39(2):38-40.
- CHAI F H, ZHANG S F, JIA L J, et al. Effects of *E. suis* natural infection on immune responds in piglets [J]. *Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2007, 39(2):38-40. (in Chinese)
- [10] ZACHARY J F, SMITH A R. Experimental porcine *eperythrozoonosis*: T-lymphocyte suppression and misdirected immune responses [J]. *Am J Vet Res*, 1985, 46(4):821-830.
- [11] 邓惠丹, 陈仓良, 邓俊良, 等. 复方中药“猪康散”对断奶仔猪体液免疫功能的影响[J]. *中国兽医学报*, 2013, 33(5):742-745.
- DENG H D, CHEN C L, DENG J L, et al. Effects of Zhukangsan on humoral immune in weaned piglets [J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2013, 33(5):742-745. (in Chinese)
- [12] 王福传, 方昌阁, 张玉换, 等. 复方中草药免疫增强剂对蛋鸡免疫效果的研究[J]. *畜牧兽医学报*, 2006, 37(2):187-192.
- WANG F C, FANG C G, ZHANG Y H, et al. Effects of compound Chinese herbal immune synergist on immunity of egg-laying chicken[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2006, 37(2):187-192. (in Chinese)
- [13] 陈张华, 邓惠丹, 邓俊良, 等. 复方中草药“猪康散”对仔猪生产性能及细胞免疫功能的影响[J]. *中国兽医学报*, 2012, 32(6):898-901.
- CHEN Z H, DENG H D, DENG J L, et al. Effects of Zhukangsan on growth performance and cellular immune function of in piglets [J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2012, 32(6):898-901. (in Chinese)
- [14] 汪水平, 王文娟, 左福元, 等. 中药复方对夏季肉牛的影响: II. 血气指标、血清代谢产物浓度及免疫和抗氧化功能参数[J]. *畜牧兽医学报*, 2011, 42(5):734-741.
- WANG S P, WANG W J, ZUO F Y, et al. Effect of Chinese medicine prescription on beef cattle in summer: II. The blood gas analysis, the concentration of metabolites and the parameters of the immune and antioxidant capability in the serum [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2011, 42(5):734-741. (in Chinese)

(编辑 白永平)