

几株益生菌的体外抗新城疫病毒作用

王占锋, 张萍, 付文卓, 张颖, 李甜甜, 潘博, 魏萍*

(东北农业大学动物医学院, 哈尔滨 150030)

摘要:【目的】探讨益生菌的抗新城疫病毒(NDV)作用并分析其可能的机制。【方法】采用 NDV 血凝试验和 MTT 比色法,分别在体外和鸡胚成纤维细胞(CEF)上评价益生菌对 NDV 血凝价和抑制率的影响。【结果】所选择的 5 株益生菌及其代谢产物都极显著地降低了 NDV 的血凝价,而 2 株致病菌及其代谢产物对 NDV 的血凝价均没有影响,这一结果说明益生菌可能对 NDV 具有直接破坏的作用,并且具有菌株特异性。益生菌可以显著地提高 CEF 对 NDV 的抑制率,并且这种作用具有量效关系($P < 0.01$)。益生菌与细胞作用后再感染病毒,对 NDV 抑制率升高的结果反映了益生菌对 NDV 吸附细胞的阻断作用;从益生菌与病毒同时接入细胞后降低病毒对细胞侵害的现象,可以看出益生菌可能对病毒具有直接破坏作用;在细胞感染病毒后再接入益生菌对 NDV 抑制率极低的现象说明,病毒感染后益生菌再很难起作用。【结论】益生菌对 NDV 既具有直接破坏的作用,又可以阻断 NDV 对细胞的感染、抑制其在细胞内的增殖。

关键词: 益生菌; 抗病毒作用

中图分类号: R392 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2010) 12-1664-06

益生菌可以对宿主的健康和生理功能产生积极影响,它们具有抑制一些病原微生物生长、维持肠道生态平衡、调节免疫、净化肠道环境、改善机体代谢等功能,近些年来引起人们的高度关注和研究。上世纪末人们发现益生菌具有抑制或杀灭某些病毒的作用,至今,益生菌抗病毒的研究已有十几年的历史。目前,关于益生菌抗病毒作用的研究主要集中在对轮状病毒腹泻、艾滋病及其并发症和流感 3 种疾病的防治上。然而这些研究大多局限于对人类病毒的研究上,而针对于动物病毒的研究,除了人畜共患的流感病毒外,其他的鲜见报道。随着人们对益生菌抗病毒作用研究的深入,发现了更多具有抗病毒作用的菌株,并且益生菌的抗病毒谱也逐渐扩大。已有的研究证实益生菌代谢产物具有拮抗、抑制病原微生物的生长,促进或提高宿主免疫功能的作用。然而,国内外尚未见详细的益生菌代谢产物抗病毒

作用的研究报道。因此,本实验通过研究益生菌对 NDV 血凝价和抑制率的影响,初步探讨了益生菌抗 NDV 的作用并分析其可能的机制,为益生菌在动物病毒病防治上的研究打下坚实的基础。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 毒株:新城疫病毒 Lasota 株(疫苗毒),本室保存。用前经 CEF 传代 3 次,采用微量法测定 NDV 的组织半数感染量($TCID_{50}$)。

1.1.2 菌株:干酪乳杆菌、嗜酸乳杆菌,本室保存;植物乳杆菌,类干酪乳杆菌,嗜热链球菌:东北农业大学食品学院惠赠;禽大肠杆菌菌株 O78 (C83882),鸡白痢沙门氏菌(C79-13):购自中国兽医药品监察所。

1.1.3 细胞:9 日龄鸡胚常规制备鸡胚成纤维细胞

* 通信作者。Tel: +86-451-55190125; E-mail: weiiping@yahoo.com.cn

作者简介:王占锋(1982-),男,河北高邑人,硕士研究生,主要从事益生菌抗病毒作用研究。E-mail: wzf-1205@163.com

收稿日期:2010-04-23;修回日期:2010-08-09

(CEF),调整细胞密度至 5×10^5 个/mL,96 孔细胞培养板每孔加入 100 μ L,置 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 温箱中培养至细胞长成单层。

1.1.4 主要试剂和仪器:(1)试剂:MTT:sigma 公司产品;胎牛血清(FBS):NQQB 公司产品;细胞生长液:DMEM 培养基 + 10% (体积分数) 胎牛血清;细胞维持液:DMEM 培养基 + 2% (体积分数) 胎牛血清;D-Hanks 溶液(无钙镁 Hanks 液,pH 7.2):NaCl 8.00 g,KCl 0.40 g,Na₂HPO₄·H₂O 0.06 g,KH₂PO₄ 0.06 g,NaHCO₃ 0.35 g,酚红 0.02 g,加蒸馏水溶解至 1000 mL;胰酶消化液:称取 2.5 g 胰蛋白酶粉末于研磨器中,加入少量 D-Hanks 液充分研磨,调成糊状,加 D-Hanks 液定容至 1000 mL,磁力搅拌使其完全溶解,用 NaHCO₃ 溶液调 pH 值 8.0 左右,加入 0.02% EDTA,过滤除菌,-20 $^{\circ}$ C 保存备用。(2)仪器:CO₂ 恒温培养箱:REVC0 RCO 3000.TVBB;电热手提式压力蒸汽消毒器:YXQ.SG46.280 型,哈尔滨松花江医疗器械厂;组织培养倒置显微镜:OLYMPUS 型,TOKYO;分光光度计:SPECTRUM-725 型,上海光谱仪器有限公司;微量移液器:PTNPIPETTE 型,上海雷勃分析仪器有限公司。

1.2 益生菌及其代谢产物细胞毒性测定

分别将各浓度益生菌及其代谢产物加入已长成单层的 96 孔培养板中,置 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 温箱中培养 1.5 h 后洗涤,加入细胞维持液,继续培养。每天观察细胞病变(CPE)情况。当病毒对照组 CPE 出现 + + + 和 + + + + 时,用 MTT 法测定其 OD₅₇₀ 值,通过细胞存活率计算益生菌及其代谢产物的最大无毒剂量。

1.3 益生菌对 CEF 的黏附能力实验

将干酪乳杆菌、嗜酸乳杆菌菌体用灭菌 PBS 洗 3 遍,用细胞培养液调整细菌浓度为 10⁸ cfu/mL,取 1 mL 菌悬液加入事先制作好的细胞爬片上,于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱作用 1.5 h,取出细胞爬片,0.4% 多聚甲醛固定 0.5 h,用 PBS 缓冲液洗涤 3 遍,革兰氏染色,显微镜下观察菌体的黏附情况。随机选择 50 个细胞,计算其可视性表面的益生菌。黏附实验重复 3 次,运用统计学方法计算黏附指数。黏附指数 = 黏附细菌数/细胞数 \times 100%。

1.4 益生菌抗 NDV 作用研究

1.4.1 不同细菌及其代谢产物对 NDV 血凝价的影响:(1)细菌的活化及其代谢产物的制备:将 -70 $^{\circ}$ C 保存的实验所用菌株进行活化并制备其代谢产物。

将活化好的细菌进行计数,调整细菌数目为 10⁸ cfu/mL;各菌株 18 h 和 96 h 代谢产物分别测定其 pH 值,并各取出一半调节 pH 值到 7.0。(2)不同细菌及其代谢产物与等量 NDV 混合孵育后对 NDV 血凝价的影响:将各菌株(10⁸ cfu/mL)及其代谢产物与 NDV 等量混合后,置于 37 $^{\circ}$ C 温箱中孵育 1.5 h,3000 r/min 离心 1 min,取上清测定 NDV 血凝价,同时设纯 NDV 对照、MRS 培养基对照、生理盐水对照。

1.4.2 益生菌对 NDV 在 CEF 中增殖的影响:实验分组设计如下:

1 组 益生菌或其代谢产物预先处理细胞后再攻毒(预防作用):从细胞最大无毒剂量开始,分别用各个浓度益生菌或其代谢产物预先处理细胞 1.5 h,洗涤后以 100 TCID₅₀/0.1 mL 的 NDV 攻击细胞,置 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 温箱中吸附 1.5 h,洗涤后加细胞维持液,继续培养。

2 组 病毒感染细胞后接入益生菌或其代谢产物(治疗作用):以 100 TCID₅₀/0.1 mL NDV 感染细胞,置 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 温箱吸附 1.5 h 后洗涤,分别加入不同浓度益生菌或其代谢产物,置温箱培养 1.5 h 后洗涤,加入正常细胞维持液,继续培养。

3 组 益生菌或其代谢产物与病毒等量混合感染后接入细胞(直接杀灭作用):从细胞最大无毒剂量开始,分别将各浓度益生菌或其代谢产物与 100 TCID₅₀/0.1 mL NDV 等体积混合,37 $^{\circ}$ C 作用 1.5 h 后,加入长成单层的 96 孔培养板中,再次在温箱中作用 1.5 h,弃混合液,更换正常细胞维持液,继续培养。

4 组 病毒对照,包括与等量 D-Hanks 液混合室温放置 1.5 h 的病毒对照。

5 组 正常细胞对照。

1.5 MTT 测定方法

参照方蓉^[1]的方法并加以改进。

病毒抑制率 = ((益生菌处理组平均 OD 值 - 病毒对照组平均 OD 值) / (细胞对照组平均 OD 值 - 病毒对照组平均 OD 值)) \times 100%。

1.6 统计学处理

实验数据用平均数 \pm 标准差表示。采用 Duncan 法进行多重比较,组间标有不同大写字母者表示差异极显著 ($P < 0.01$);标有不同小写字母者表示差异显著 ($P < 0.05$);标有相同小写字母者表示差异不显著 ($P > 0.05$)。

2 结果

2.1 NDV 毒力测定结果

采用 Reed-Muench 法计算 NDV 的 $TCID_{50}/0.1 \text{ mL}$ 为 $10^{-3.83}$ 。

2.2 益生菌及其代谢产物细胞毒性测定结果

益生菌及其代谢产物对 CEF 的细胞病变效应 (CPE) 表现为细胞增殖缓慢、折光性强、形态改变、细胞间距拉大和部分细胞破碎脱落。根据所得数据计算干酪乳杆菌对 CEF 的最大无毒剂量为 10^{11} cfu/mL , 嗜酸乳杆菌对 CEF 的最大无毒剂量为 10^{12} cfu/mL ; 2 株益生菌代谢产物最大无毒剂量均为 1:2 的稀释液。

2.3 益生菌对 CEF 的黏附性结果

根据所得数据, 按照公式计算干酪乳杆菌对 CEF 的黏附指数为 7.67 ± 0.58 , 嗜酸乳杆菌对 CEF 的黏附指数为 7.00 ± 1.00 。从结果可以看出, 2 株益生菌都对 CEF 具有一定的黏附性, 干酪乳杆菌比嗜酸乳杆菌对 CEF 的黏附力较强, 但差

异不明显。

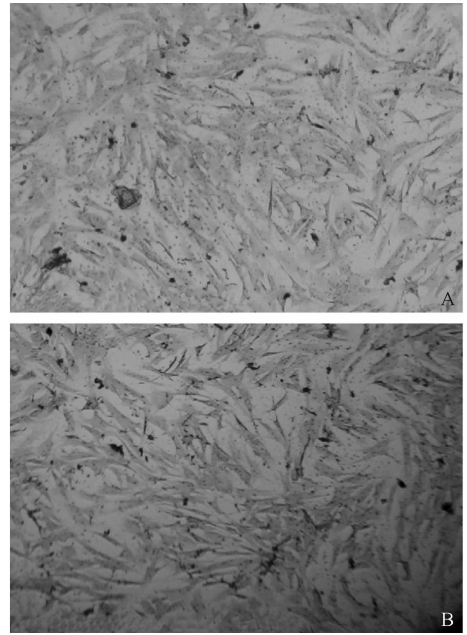


图 1 益生菌对 CEF 的黏附性

Fig. 1 Adhesion of probiotics on CEF. A: *Lactobacillus casei*; B: *Lactobacillus acidophilus*

表 1 不同菌体及其代谢产物处理后 NDV 血凝价 ($\bar{X} \pm SD$)

Table 1 The hemagglutination titer of NDV treated by different bacteria and its metabolites ($\bar{X} \pm SD$)

Mixture (+ NDV)	Titer(2°)	Mixture (+ NDV)	Titer(2°)	Mixture (+ NDV)	Titer(2°)
<i>Lactobacillus casei</i>	5.33 ± 0.58^{Ff}	Metabolites of <i>Lactobacillus casei</i> 18 h (pH3.8)	5.33 ± 0.58^{Ff}	Metabolites of <i>Streptococcus thermophilus</i> 18 h (pH6.03)	6.00 ± 0.00^{Dd}
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	5.33 ± 0.58^{Ff}	Metabolites of <i>Lactobacillus casei</i> 18 h (pH7.0)	5.67 ± 0.58^{Ee}	Metabolites of <i>Streptococcus thermophilus</i> 18 h (pH7.0)	6.00 ± 0.00^{Dd}
<i>Lactobacillus plantarum</i>	5.67 ± 0.58^{Ee}	Metabolites of <i>Lactobacillus casei</i> 96 h (pH3.56)	4.67 ± 0.58^{Dd}	Metabolites of Class of <i>Lactobacillus casei</i> 18 h (pH4.31)	6.00 ± 0.00^{Dd}
<i>Streptococcus thermophilus</i>	6.67 ± 0.58^{Bb}	Metabolites of <i>Lactobacillus casei</i> 96 h (pH7.0)	5.33 ± 0.58^{Ff}	Metabolites of Class of <i>Lactobacillus casei</i> 18 h (pH7.0)	6.00 ± 0.00^{Dd}
Class of <i>Lactobacillus casei</i>	5.67 ± 0.58^{Ee}	Metabolites of <i>Lactobacillus acidophilus</i> 18 h (pH4.89)	5.67 ± 0.58^{Ee}	Metabolites of <i>Lactobacillus plantarum</i> 18 h (pH5.0)	6.00 ± 0.00^{Dd}
<i>Escherichia coli</i>	7.00 ± 0.00^{Aa}	Metabolites of <i>Lactobacillus acidophilus</i> 18 h (pH7.0)	5.67 ± 0.58^{Ee}	Metabolites of <i>Lactobacillus plantarum</i> 18 h (pH7.0)	6.33 ± 0.58^{Cc}
<i>Salmonella</i>	7.00 ± 0.00^{Aa}	Metabolites of <i>Lactobacillus acidophilus</i> 96 h (pH4.56)	5.33 ± 0.58^{Ff}	Physiological saline (pH6.8)	7.00 ± 0.00^{Aa}
Metabolites of <i>Escherichia coli</i> 18 h (pH6.86)	7.00 ± 0.00^{Aa}	Metabolites of <i>Lactobacillus acidophilus</i> 96 h (pH7.0)	5.33 ± 0.58^{Ff}	Physiological saline (pH3.8)	6.33 ± 0.58^{Cc}
Metabolites of <i>Salmonella</i> 18 h (pH6.85)	7.00 ± 0.00^{Aa}	MRS culture medium (pH6.2)	7.00 ± 0.00^{Aa}	MRS culture medium (pH7.0)	7.00 ± 0.00^{Aa}

2.4 益生菌抗病毒作用结果

2.4.1 不同细菌及其代谢产物处理后的 NDV 血凝价测定结果:从表 1 可以看出,实验中所选择的 5 株益生菌及其代谢产物都可以极显著的降低 NDV 的血凝价,但菌株之间存在一定的差异。其中,菌株中以干酪乳杆菌和嗜酸乳杆菌处理后 NDV 的血凝价最低,且与其它实验中所选择的益生菌株之间存在极显著差异;代谢产物中以干酪乳杆菌 96 h 代谢产物(pH3.56)处理后 NDV 的血凝价最低,并且较之益生菌株亦是最低。同时间不同 pH 值的干酪乳杆菌和植物乳杆菌代谢产物之间对 NDV 的血凝价影响结果差异极显著,而其它益生菌同时间代谢产物之间差异不显著。生理盐水(pH6.8)对照、MRS 对照对 NDV 血凝价没有影响,生理盐水(pH3.8)对照可以极显著的降低 NDV 的血凝价;2 株致病菌(大肠杆菌和沙门氏菌)及其代谢产物对 NDV 的血凝价没有影响。

2.4.2 益生菌对 NDV 在 CEF 中增殖的影响:(1) 益生菌不同加入顺序对 NDV 抑制率的对比。

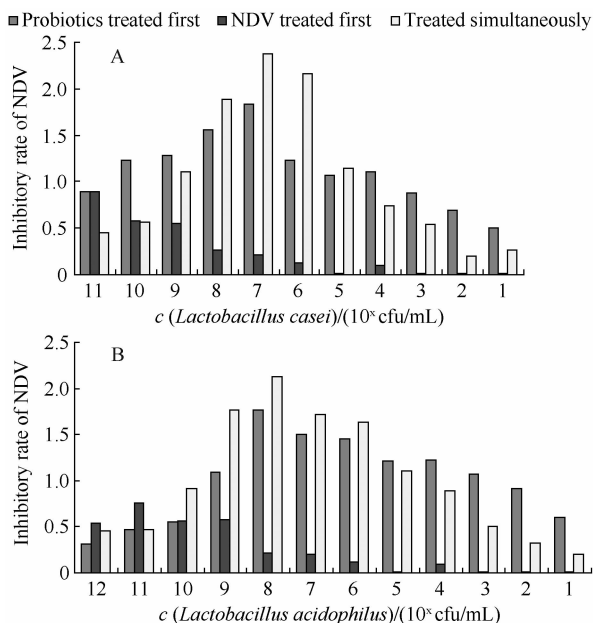


图 2 不同浓度益生菌不同接入顺序对 NDV 抑制率对比

Fig. 2 Different concentrations of probiotics on the comparison of the inhibitory rate of NDV. A: *Loctobacillus casei*, B: *Latobacillus acidophilus*.

从图 2 可以看出,干酪乳杆菌、嗜酸乳杆菌从最小浓度一直到 10^9 cfu/mL, 3 个实验组之间的差异均极显著,第 2 组的病毒抑制率最低;2 株益生菌对 NDV 的抑制率具有浓度依赖性,干酪乳杆菌在 10^7 cfu/mL、嗜酸乳杆菌在 10^8 cfu/mL 时,第 1 组和

第 3 组的病毒抑制率最高,并且随浓度的增加或减小而降低,第 2 组的病毒抑制率随浓度增加而呈升高趋势。干酪乳杆菌与嗜酸乳杆菌在相同浓度时对 NDV 的抑制率存在一定的差异。(2) 益生菌代谢产物不同加入顺序对 NDV 抑制率的对比。

从图 3 可以看出,2 株益生菌代谢产物对 NDV 的抑制率具有明显的浓度依赖性,随稀释倍数的减小对 NDV 的抑制率逐渐降低,2 株益生菌代谢产物均是 1:2 的稀释液对 NDV 的抑制率最高;除 1:256 稀释度外的其它各稀释度干酪乳杆菌、嗜酸乳杆菌代谢产物在第 1 组和第 3 组的病毒抑制率较第 2 组极显著增高,并且第 1 组和第 3 组之间也存在着显著或极显著的差异;在高浓度时,第 1 组的病毒抑制率比其它 2 组的极显著增高,而低浓度时,第 3 组比其它 2 组显著增高。干酪乳杆菌与嗜酸乳杆菌在相同稀释倍数时对 NDV 的抑制率存在一定的差异。

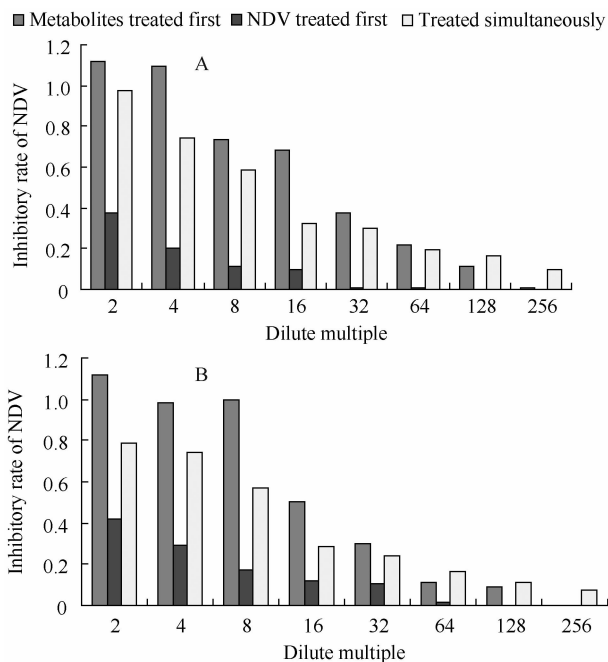


图 3 不同稀释度益生菌代谢产物不同接入顺序对 NDV 抑制率对比

Fig. 3 Different dilutions of probiotics metabolites on the comparison of the inhibitory rate of NDV. A: *Loctobacillus casei*, B: *Latobacillus acidophilus*.

3 讨论

3.1 益生菌体外抗病毒作用分析

黄海等通过提取复合益生菌与肠道病毒体外作用前后的总 RNA 并用 RT-PCR 扩增—琼脂糖凝胶电泳的方法来研究两者的作用,结果显示,复合益生菌对肠道病毒具有杀灭作用^[2]。本实验中所选择

的5株益生菌,都极显著地降低了NDV的血凝价,说明益生菌可能具有直接杀灭NDV的作用,或者益生菌株可以吸附病毒粒子,但不同益生菌菌株之间存在一定的差异。益生菌不同时间不同pH的代谢产物,都极显著地降低NDV的血凝价,且不同菌株代谢产物之间亦存在一定的差异。乳酸菌在其代谢过程中产生酸性物质可以降低培养液的pH值,为证明是不是因为低pH值而导致的病毒血凝价下降,我们在实验时设置了低pH值的生理盐水(pH3.8)对照,结果生理盐水(pH3.8)对照也极显著的降低NDV的血凝价,说明低pH值可能是使NDV血凝价降低的一个因素;但是益生菌代谢产物在其pH值调整到pH7.0时,亦可以极显著的降低NDV的血凝价,说明低pH值不是使NDV血凝价降低的唯一条件,而很可能是益生菌在其代谢过程中产生的一些活性物质对NDV产生一定的作用。从生理盐水(pH6.8)对照、MRS对照对NDV血凝价无影响的结果可以看出,益生菌的培养介质和稀释介质不影响NDV的血凝价。实验中选择的2株致病菌(大肠杆菌和沙门氏菌)及其代谢产物对NDV的血凝价均无影响的结果更加说明了益生菌的抗病毒作用具有菌株特异性。

3.2 益生菌对CEF抗病毒作用影响的分析

通过不同浓度益生菌在CEF上对NDV抑制率影响的研究,我们发现益生菌对NDV发挥作用时具有显著地量效关系。益生菌在 10^6 cfu/mL - 10^9 cfu/mL时,具有较高的抗病毒效应,这一结果与Lee等^[3]报道的结果近似,而随浓度升高或降低,抗病毒效果均降低;而其代谢产物在1:2稀释时,达到最高的抗病毒效果,随浓度降低而逐渐减弱;从以上结果,我们可以看出,益生菌及其代谢产物在其发挥抗病毒作用时均具有浓度依赖性,必须达到一定浓度,才能发挥较好抗病毒作用。Tanja等在研究益生菌抗水泡性口炎病毒的过程中发现,益生菌需要达到 10^5 cfu/mL才能产生抗病毒效应, 10^8 cfu/mL时具有最大效应^[4]。

益生菌与细胞作用后再感染病毒,可以反映出益生菌对NDV吸附细胞的阻断作用。研究结果表明,在CEF上,益生菌可以显著地提高对病毒的抑制率。这可能是由于益生菌封阻细胞表面病毒结合部位或者益生菌结合病毒受体邻近的分子从而给细胞提供一些保护使病毒不能吸附细胞,或者是益生菌改变了病毒吸附的理化环境,造成病毒吸附水平的下降。此外,NDV是以细胞膜融合的方式侵入细

胞的,益生菌或其有效成分可以通过提高细胞膜稳定性而阻止其与病毒融合。众多的研究已经证实,益生菌具有加强宿主的免疫应答的作用。益生菌可以通过调节细胞的免疫状态和促进或抑制某些细胞因子的产生来实现其抗病毒的作用。黄鸿眉等的研究表明轮状病毒(RV)感染诱导肠上皮细胞株HT29大量分泌致炎性细胞因子IL-8和TNF- α ,双歧杆菌能够显著抑制该刺激分泌作用,减轻细胞病变程度,提示这种抑制作用可能是参与双歧杆菌抗RV感染的机制之一^[5]。

通过益生菌与病毒同时接入细胞后降低病毒对细胞的侵害的现象,可以看出益生菌可以起到对病毒结构的直接破坏作用;理论上,如果病毒吸附在益生菌上也不能引起感染。细菌表面分子(像糖蛋白类,唾液酸)可能模拟真核细胞受体(常常是病毒吸附的受体)。然而,通过这一方式保护肠黏膜依赖于肠道益生菌的浓度和细菌表面伪装的病毒受体的密度。

对于已经感染新城疫病毒的细胞,益生菌也有一定的治疗作用,其作用机理可能与益生菌产生的小分子肽类等活性物质能够进入胞浆抑制病毒RNA的复制和病毒粒子的包装有关。还一种机制可能是益生菌接入以后通过与细胞间的“信号传递”,改变了细胞的状态,从而引起抗病毒反应。李杰等通过临床研究发现复合乳酸菌胶囊对轮状病毒肠炎显效快,止泻效果好,无明显不良反应^[6]。

益生菌及其代谢产物抗病毒作用的差异可能是由其抗病毒作用的机制决定的。益生菌主要是通过占位作用、直接捕获病毒和改善细胞的免疫状态来发挥其抗病毒作用。Tao指出两株乳酸菌可以特异性的通过结合HIV黏附糖蛋白gp120中的富含甘露糖的区域而干扰HIV感染^[7]。(HIV黏附蛋白是末端具有糖穹窿的刺突样蛋白,可以阻碍HIV被人类免疫系统识别),相似的机制可能出现在其它的益生菌-病毒系统中。益生菌在其生长过程中产生大量的代谢产物,如细菌素、维生素、多糖、小分子肽类及酸性代谢产物等。这些物质有的具有直接的破坏病毒的作用,有的可以拮抗、抑制病原微生物的生长;有的可以促进或提高宿主的免疫功能;有的可以为宿主直接利用,促进宿主对营养物质的消化吸收;另外,益生菌代谢产物还具有对宿主产生效果快的特点。

综上所述,本研究初步证明了实验中所选择的益生菌可能对NDV既具有直接破坏的作用,又可以

阻断病毒对细胞的感染、抑制病毒在细胞内增殖,具有全面的防治效果。关于益生菌对病毒粒子具体的作用位点和作用方式还需要进一步研究。

参考文献

- [1] 方蓉,李芳秋,武建国. MTT 比色法的条件探讨. 临床检验杂志 (*Chinese Journal of Clinical Laboratory Science*),2003,21(1):34-35.
- [2] 黄海,张清敏,徐建设,钟启平. 复合益生菌体外抑菌杀病毒作用研究. 中国微生态学杂志 (*Chinese Journal of Microecology*),2009,21(1):30-35.
- [3] Lee YK, Lim CY, Teng WL, Ouwehand AC, Tuomola FM, Salminen S. Quantitative approach in the study of adhesion of lactic acid bacteria to intestinal cells and their competition with enterobacteria. *Applied and Environmental Microbiology*,2000,66:3692-3697.
- [4] Tanja Botić, Trine Danø Klingberg, Hana Weingartl, Avrelija Cenci?. A novel eukaryotic cell culture model to study antiviral activity of potential probiotic bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 2007, 115: 227-234.
- [5] 黄鸿眉,程茜. 双歧杆菌对轮状病毒感染肠上皮细胞 IL-8 和 TNF- α 分泌的影响. 第四军医大学学报 (*Journal of the Fourth Military Medical University*), 2007,28(22):2054-2056.
- [6] 李杰,冯冰,冯集蕴. 复合乳酸菌胶囊治疗轮状病毒肠炎临床疗效观察. 儿科药理学杂志 (*Journal of Pediatric Pharmacy*),2009,15(1):28-29.
- [7] Tao. May 25, 2004. <http://hivworkshop.com/may04-3-1.htm>.

Effect of Probiotics on Newcastle Disease Virus

Zhanfeng Wang, Ping Zhang, Wenzhuo Fu, Ying Zhang, Tiantian Li, Bo Pan, Ping Wei*

(College of Animal Medicine, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: [**Objective**] We studied the antiviral activity of probiotics and possible mechanism thereof. [**Methods**] With hemagglutination *in vitro* and 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) of chicken embryo fibroblast (CEF), the hemagglutination titers and virus inhibition rate were respectively determined to evaluate the impact of probiotics on Newcastle Disease Virus (NDV). [**Results**] Five probiotics and their metabolites could reduce the viral titer of NDV, but the two pathogenic bacteria and their metabolites could not. These results indicated that probiotics may destruct the structure of NDV directly and this effect was strain-specific. Probiotics could inhibit the replication rate of NDV significantly in a dose-dependent manner ($P < 0.01$). The inhibitory rate increased when the cells were pre-treated with probiotics, which indicated that the probiotics might block NDV adsorbing to the cells. The fact that addition of probiotics and NDV at the same time reduced the cytopathic effect (CPE) of cells suggested that probiotics could destruct the viral structure directly; the lower inhibitory rate of viral replication when cells infected with NDV before addition of probiotics to the cells suggested that the probiotics worked hardly after the cells were infected. [**Conclusion**] Probiotics can not only destruct the virus, but also block the virus infection of the cells and inhibit the viral proliferation in the cells.

Keywords: probiotics; antiviral activity

(本文责编: 张晓丽)

* Corresponding author. Tel: +86-451-55190125; E-mail: weiping@yahoo.com.cn

Received: 23 April 2010 / Revised: 9 August 2010