

## 添 加 剂

## 微生态制剂对肉鸡体液免疫和细胞免疫的影响

聊城大学农学院 司振书  
山东农业大学动物科技学院 牛钟相

[摘要] 将微生态制剂添加到肉鸡的饲料中, 通过检测肉鸡血清中 ND 血凝抑制抗体效价、红细胞花环率及免疫器官中 T 细胞百分数等指标, 探讨该制剂对肉鸡体液免疫和细胞免疫的影响。结果表明: 在 17、26、35、49 日龄时, 试验组血清中 ND 血凝抑制抗体效价分别比对照组高 8.65 %、26.98 %、19.83 % 和 46.91 %, 差异显著 ( $P < 0.05$ ); 在 21 日龄, 试验组的 E- C<sub>3</sub>bR 率和 E- ICR 率分别比对照组高 16.24 % 和 19.93 %, 均差异显著 ( $P < 0.05$ ); 10、17 日龄时, 试验组胸腺 T 细胞百分数分别比对照组高 13.01 % ( $P < 0.05$ ) 和 6.41 % ( $P < 0.05$ ), 脾脏 T 细胞百分数分别比对照组高 19.40 % 和 9.17 %, 差异显著 ( $P < 0.05$ )。

[关键词] 微生态制剂; 肉鸡; 体液免疫; 细胞免疫

[中图分类号] S816.7

[文献标识码] A

[文章编号] 1004- 3314(2007) 10- 0009- 03

[Abstract] Effects of microecological agent added in feed on humoral immunity and cell-mediated immunity of broiler were studied. Broiler's HI antibody titer of ND in the serum, Erythrocyte- C<sub>3</sub>b rosette rate (E- C<sub>3</sub>bRR), Erythrocyte-immune complex rosette rate (E- ICR) etc were detected. The results showed that: At the age of 17, 24, 35, 49 d, the antibody titer of the experiment group increased 8.65 %, 26.98 %, 19.83 % and 46.91 % respectively ( $P < 0.05$ ), compared with that of the control group; At the age of 21 d, the E- C<sub>3</sub>bRR and the E- ICRR of the experiment group were higher 16.24 % and 19.93 % ( $P < 0.05$ ) than that of the control group. The overall rosette rate of the experiment group was up 17.61 % compared with that of the control group ( $P < 0.05$ ); At the age of 10 d and 17 d, the percentage of T cells in thymus of the experiment group increased by 13.01 % and 6.41 % respectively ( $P < 0.05$ ), the percentage of T cells in spleen increased by 19.40 % and 9.17 % ( $P < 0.05$ ).

[Key words] microecological agent; broiler; humoral immunity; cell-mediated immunity

随着我国养殖业的迅速发展, 由细菌或病毒所引起的动物疾病日渐增多, 但抗生素的长期使用使动物产生了抗药性, 药物残留也使畜产品的质量降低, 影响人类的健康, 同时也构成了畜产品出口的贸易壁垒。因此开发新的无毒副作用的抗生素替代产品便在近几年来倍受关注。

微生态制剂应用于畜牧生产, 可提高畜禽的生产性能和饲料利用率, 提高机体免疫力, 改善畜产品品质, 减少粪便恶臭, 防治环境污染。目前关于微生态制剂对动物生产性能的影响研究报道的比较多, 而对免疫性能的影响研究的相对较少。本试验旨在研究微生态制剂对肉鸡体液免疫和细胞免疫的影响, 为微生态制剂的研究与开发及其在养鸡生产中的推广应用提供试验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料 试验动物: 初生 817 肉鸡 400

只, 由马官屯鸡场提供; 微生态制剂: 河北沧州某兽药公司生产, 购于聊城市饲料大市场; 全价饲料: 购于聊城市饲料大市场; 疫苗: 新城疫 (ND) LaSota IV 系疫苗, 购自齐鲁动物保健品厂; 主要仪器设备: 电子天平; 离心机; 恒温培养箱; 显微镜, 重庆光电仪器厂; 试剂: 3.8 % 枸橼酸钠溶液; 鸡红细胞悬液; ND 标准抗原及阳性血清等, 本实验室提供。

### 1.2 试验方法

1.2.1 试验鸡的饲养管理。将初生 817 肉鸡 400 只随机分为 2 组, 每组 200 只, 分笼饲养, 各组鸡只大小、健康状况基本相同, 以不含抗生素的全价料为基础日粮, 按 1 ~ 14 日龄、15 ~ 50 日龄两个阶段配制。试验组自 1 日龄开始饲喂添加微生态制剂的饲料, 以 0.1 % ~ 0.2 % 的比例拌料饲喂, 即每 500 kg 饲料添加所购肉畜禽专用益生菌 1 ~

2 袋(添加量为不少于  $1 \times 10^9$  个/g), 为防止饲料及环境对活菌活性的不利影响, 按比例当天配制, 当天喂完, 对照组不添加, 自由采食, 其他饲养管理条件相同。养至 7 日龄时, 给两组鸡按 1 倍量点眼、滴鼻接种新城疫 IV 系疫苗, 21 日龄按 1.5 倍量二免, 接种方式为点眼、滴鼻。

1.2.2 ND 血凝抑制抗体效价的测定。在 17、26、35、49 日龄, 每组随机取 20 只鸡采血, 17 日龄时心脏采血 (17、49 日龄试验鸡用以上测免疫器官指数的鸡), 其他日龄从翼静脉采血, 待血液凝固后常规方法离心, 分离出血清, 进行倍比稀释, 用 V 型血凝板检测血清中的血凝抑制抗体效价。

1%鸡红细胞悬液的制备: 采自养殖场饲养的健康成年鸡, 按常规方法进行(姚火春, 2003); 病毒的红细胞凝集试验(HA)和病毒的红细胞凝集抑制试验(HI), 按常规微量法进行(姚火春, 2003)。

1.2.3 红细胞免疫功能的测定。在 21 日龄, 每组随机抽取 10 只鸡, 采血抗凝, 离心取红细胞, 并配成  $1.25 \times 10^7$  个/mL 的红细胞悬液, 检测红细胞  $C_3b$  受体花环(E- $C_3bR$ ) 率和红细胞免疫复合物花环(E-ICR) 率。

1.2.4 免疫器官中 T 细胞百分数的测定。在 10 日龄每组随机抽取 10 只鸡, 处死迅速取其脾脏、胸腺, 检测其 T 细胞百分数, 17 日龄在测完免疫器官指数后, 检测胸腺、脾脏中 T 细胞百分数, 其检测方法: T 细胞百分数检测用酸性 - 醋酸萘酯酶 (ANAE) 测定法, 即酯酶染色法, 用  $100 \times 10$  倍油镜, 每张涂片查 200 个相应器官细胞, 凡胞浆内有深红色颗粒者为 ANAE 阳性细胞(T 细胞), 计数 T ANAE\*淋巴细胞百分数(杨汉春, 2003)。

## 2 结果与分析

2.1 微生态制剂对肉鸡体液免疫的影响 各日龄鸡 ND 血凝抑制抗体效价检测结果见表 1。

表 1 不同日龄 ND 血凝抑制抗体效价  $\log_2$

| 组别  | ND 血凝抑制抗体效价      |                   |                  |                   |
|-----|------------------|-------------------|------------------|-------------------|
|     | 17 日龄            | 26 日龄             | 35 日龄            | 49 日龄             |
| 试验组 | 5.65 $\pm$ 1.35* | 8.00 $\pm$ 1.00** | 6.95 $\pm$ 1.05* | 5.95 $\pm$ 1.05** |
| 对照组 | 5.20 $\pm$ 1.20  | 6.30 $\pm$ 1.30   | 5.80 $\pm$ 1.80  | 4.05 $\pm$ 1.05   |

注: \* 表示与对照组相比差异显著 ( $P < 0.05$ ), \*\* 表示与对照组相比差异极显著 ( $P < 0.01$ )。下同。

由表 1 可知, 在 17、26、35、49 日龄时, 试验组

血清中新城疫血凝抑制抗体效价均高于对照组, 高出对照组 1 ~ 2 个滴度, 分别比对照组高 8.65% ( $P < 0.05$ )、26.98 % ( $P < 0.01$ )、19.83 % ( $P < 0.05$ ) 和 46.91 % ( $P < 0.01$ )。26 日龄时鸡血清内抗体水平较高, 两组的差别也较大, 49 日龄时血清中抗体水平已较低, 但试验组仍高出对照组 1 个滴度以上。

2.2 微生态制剂对鸡红细胞免疫功能的影响 21 日龄鸡红细胞  $C_3b$  受体花环 (E- $C_3bR$ ) 率和红细胞免疫复合物花环 (E-ICR) 率测定结果见表 2。

表 2 21 日龄鸡红细胞免疫花环结果 %

|     | 花环率               |                   | 总花环率              |
|-----|-------------------|-------------------|-------------------|
|     | E- $C_3bR$        | E-ICR             |                   |
| 试验组 | 17.11 $\pm$ 1.95* | 10.47 $\pm$ 1.74* | 27.58 $\pm$ 2.77* |
| 对照组 | 14.72 $\pm$ 1.63  | 8.73 $\pm$ 1.25   | 23.45 $\pm$ 2.88  |

由表 2 可知, 试验组的 E- $C_3bR$  率和 E-ICR 率均高于对照组, 试验组的 E- $C_3bR$  率和 E-ICR 率分别比对照组高 16.24 % 和 19.93 %, 并且均差异显著 ( $P < 0.05$ )。试验组的总花环率比对照组高 17.61 %, 差异显著 ( $P < 0.05$ )。

2.3 微生态制剂对肉鸡免疫器官 T 细胞数量的影响 结果见表 3。

表 3 微生态制剂对肉鸡免疫器官 T 细胞数量的影响 %

|     | 胸腺 T 细胞           |                   | 脾脏 T 细胞           |                   |
|-----|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|     | 10 日龄             | 17 日龄             | 10 日龄             | 17 日龄             |
| 试验组 | 26.32 $\pm$ 2.52* | 25.22 $\pm$ 1.88* | 21.85 $\pm$ 2.25* | 25.36 $\pm$ 1.74* |
| 对照组 | 23.29 $\pm$ 2.41  | 23.70 $\pm$ 1.40  | 18.30 $\pm$ 2.10  | 23.23 $\pm$ 1.87  |

由表 3 可知: 试验组 10 日龄、17 日龄胸腺 T 细胞百分数分别比对照组高 13.01 % ( $P < 0.05$ )、6.41 % ( $P < 0.05$ ), 10 日龄时比 17 日龄时高出的幅度大。试验组 10 日龄、17 日龄脾脏 T 细胞百分数分别比对照组高 19.40 % ( $P < 0.05$ )、9.17 % ( $P < 0.05$ ), 10 日龄时比 17 日龄时升高明显。

## 3 讨论

3.1 微生态制剂对肉鸡 ND 血凝抑制抗体效价的影响 本试验中, 26 日龄测得的抗体水平最高, 主要原因可能是 21 日龄的二免起到了很好的强化作用。49 日龄时试验组抗体效价与 26 日龄时相比降低 25.63 %, 而对照组则下降 35.71%, 这说明试验组新城疫抗体与对照组相比下降速度较慢。微生态制剂中的有效成分作为抗原不断刺激

机体免疫系统, 机体的 B 细胞分泌特异性抗体的功能也得到不断刺激, 从而使 B 细胞抗体分泌能力得到延长, 抗体滴度下降较慢。

3.2 微生态制剂对肉鸡红细胞免疫功能的影响 研究表明, 红细胞具有黏附、杀伤抗原、促进吞噬、清除免疫复合物、参与机体免疫调控的作用, 是动物机体免疫系统的重要组成部分。红细胞的表面具有 I 型补体受体  $CR_1$  即  $C_3b$  受体。抗原进入机体与血清中的抗体相结合形成抗原抗体复合物, 抗原分子 Fc 段的补体结合点裸露, 从而激活血清中的补体, 形成  $C_3b$ -免疫复合物, 与红细胞的  $C_3b$  受体相结合。与红细胞结合的免疫复合物被迅速运送到肝脏、脾脏组织加以清除。红细胞表面  $CR_1$  的多少及与  $C_3b$  结合能力的状况都直接体现着红细胞免疫能力的高低。本试验结果表明, 试验组红细胞的 E- $C_3b$ R 率高于对照组, 这表明试验组血液中红细胞  $C_3b$  受体 ( $CR_1$ ) 未被免疫复合物结合的数量多于对照组, 这就意味着在相同的情况下, 试验组鸡的红细胞可以与较多的免疫复合物相结合, 即当机体受到外界病原感染时, 试验组动物红细胞具有较强的清除免疫复合物的能力, 这样, 试验组红细胞的免疫功能就高于对照组。这可能是因为: 红细胞是动物机体免疫细胞的一种, 是由骨髓产生的, 骨髓是动物的免疫器官(陆承平, 2003), 微生态制剂通过抗原刺激影响了骨髓的免疫功能, 从而使骨髓在造血过程中也改变了红细胞的免疫功能。研究表明, 微生态制剂可以提高红细胞对抗原物质的吞噬能力(徐禹林和郭军凌, 1996), 这说明微生态制剂的确可以影响红细胞的免疫功能。

试验组 E-ICR 率高于对照组说明: 试验组鸡血液循环中免疫复合物的浓度高于对照组。血液中免疫复合物浓度高有两种可能, 其一是可能有抗原不断地进入机体, 其二是可能机体自身具有免疫功能疾病(熊德鑫等, 1997), 使机体内免疫复合物清除功能降低。从试验动物来看, 本试验所用鸡均健康, 可以排除机体具有疾病的可能, 这样试验组机体血液循环中免疫复合物只能是来源于抗原的不断进入, 抗原的不断进入也有两种可能, 一种是机体正发生慢性疾病, 疾病造成的抗原物质不断进入机体, 这种可能从本试验看也是不可能的, 这样机体血液循环中免疫复合

物的来源只能有一种可能, 那就是来源于机体消化道中的有益菌群。这说明微生态制剂的抗原物质可以进入动物机体, 增加循环血液中免疫复合物的数量。

3.3 微生态制剂对肉鸡免疫器官 T 细胞数量的影响 本试验表明, 试验组胸腺、脾脏 T 细胞数量均较对照组明显提高, 说明微生态制剂可增加免疫器官中 T 细胞的数量, 激发机体细胞免疫应答, 提高机体全身细胞免疫应答水平。刘海江和宋长明(1997)研究发现, 纳豆芽孢杆菌能增强雏鸡抗绵羊红细胞抗体的产生, 随后进一步试验表明, 该菌能显著提高鸡脾脏 T、B 淋巴的比例, 增强鸡的细胞免疫反应。何家惠等(1997)用芽孢杆菌制剂饲喂雏鸡后发现, 试验组中枢免疫器官的生长发育比对照组快, 胸腺内淋巴细胞密度大, T 细胞数量增加, 法氏囊黏膜形成皱襞数量增加, 血液内 T 细胞值也较高。

#### 4 小结

在肉鸡日粮中添加微生态制剂, 可显著提高 17、26、35、49 日龄时血清中 ND 血凝抑制抗体效价, 分别比对照组显著提高 8.65 % ( $P < 0.05$ )、26.98 % ( $P < 0.01$ )、19.83 % ( $P < 0.05$ ) 和 46.91 % ( $P < 0.01$ ); 在 21 日龄, 试验组的 E- $C_3b$ R 率和 E-I-CR 率分别高出对照组 16.24 % 和 19.93 %, 均差异显著 ( $P < 0.05$ ); 10、17 日龄时, 试验组胸腺 T 细胞百分数分别比对照组高 13.01 % ( $P < 0.05$ ) 和 6.41 % ( $P < 0.05$ ), 脾脏 T 细胞百分数分别比对照组高 19.40 % 和 9.17 %, 差异显著 ( $P < 0.05$ )。

(基金项目: 聊城大学科研基金资助, 项目编号: X061050)

#### 参考文献

- [1] 何家惠, 侯继波, 王继春. 自制微生态制剂在肉鸡中的应用[J]. 中国家禽, 1997, 3: 21 ~ 23.
- [2] 刘海江, 宋长明. 微生态制剂在禽病防治中的应用[J]. 中国家禽, 1997, 3: 11.
- [3] 陆承平. 兽医微生物学[M]. 中国农业出版社, 2003. 109 ~ 110.
- [4] 熊德鑫, 吴承堂, 祝小枫, 等. 创伤后肠道菌群移位与微生态学防治研究(一)[J]. 中国微生态学杂志, 1997, 9(3): 7 ~ 9.
- [5] 徐禹林, 郭军凌. 双歧杆菌乳剂对正常人红细胞免疫功能的影响[J]. 中国微生态学杂志, 1996, 8(3): 17 ~ 18.
- [6] 杨汉春. 动物免疫学[M]. 中国农业大学出版社, 2003. 370.
- [7] 姚火春. 兽医微生物学实验指导[M]. 中国农业出版社, 2003. 105 ~ 107.

[通讯地址: 山东省聊城市, 邮编: 252059]