

## 蟾酥注射液佐剂对鸡新城疫、传染性支气管炎 二联活疫苗免疫效果的影响

李敬双, 于洋, 唐雨顺, 张玉科, 李明, 田莉莉  
(辽宁医学院, 辽宁锦州 121001)

**摘要:**为了观察蟾酥注射液对鸡新城疫、传染性支气管炎二联活疫苗的调节作用,采用中药免疫药理学方法,选择不同浓度的蟾酥注射液与鸡新城疫、传染性支气管炎二联活疫苗联合使用,作为试验组。于7、14、21、28、35、42、49、56日龄,通过静脉采集血液,采用MTT法,检测外周血T、B淋巴细胞吸光度值(OD值);采用 $\beta$ -微量法,检测血清中新城疫和传染性支气管炎抗体效价。结果显示,所有试验组中,蟾酥注射液均能够显著提高外周血T、B淋巴细胞OD值,中剂量组(0.25 mg/mL)T、B淋巴细胞OD值最大;蟾酥注射液能够显著提高血清中新城疫和传染性支气管炎抗体效价,中剂量组免疫后期抗体存在时间长,抗体高峰期持续时间也长。因此,说明蟾酥注射液是鸡新城疫、传染性支气管炎二联活疫苗有效的免疫佐剂。

**关键词:**蟾酥注射液;佐剂;疫苗;免疫效果

中图分类号:S859

文献标志码:A

论文编号:2011-0432

### The Influence of Venenum Bufonis Injection Adjuvant Immune Effect on Newcastle Disease and Infectious Bronchitis Live Vaccine

Li Jingshuang, Yu Yang, Tang Yushun, Zhang Yuke, Li Ming, Tian Lili  
(Liaoning Medical University, Jinzhou Liaoning 121001)

**Abstract:** In the present study, researchers observed the regulating action of venenum bufonis injection on Newcastle disease (ND) and infectious bronchitis (IB) live vaccine. Methods: researchers choose the traditional Chinese immunopharmacology method and combined different concentration venenum bufonis injection and ND and IB live vaccine as test groups. On the 7th, 14th, 21th, 28th, 35th, 42th, 49th and 56th day after immunization, researchers took blood samples through vein and choose the MTT method to test the optical density(OD) of peripheral blood T cells and B cells. Researchers took  $\beta$ -micromethod to test the antibodytiter of ND and IB in blood serum. The results showed that in the all of the test groups, venenum bufonis injection could observably increase OD of peripheral blood T and B cells. In the medium dosage group (0.25 mg/mL), the OD of T cells and B cells was the highest. Venenum bufonis injection could significantly increase the antibodytiter of ND and IB in blood serum. In the medium dosage group (0.25 mg/mL), antibody existence lasted longer in late immunization and antibody peak hour lasted longer too. Therefore, venenum bufonis injection was the effective adjuvant of ND and IB live vaccine.

**Key words:** venenum bufonis injection; adjuvant; vaccine; immune effect

### 0 引言

鸡新城疫(ND)和传染性支气管炎(IB)都是一种急性、高度接触性传染病,死亡率很高,目前没有特效药物治疗,免疫接种是预防的有效手段。但是,由于病

毒变异、疫苗质量差、免疫抑制和免疫保护期短等原因,免疫失败时有发生。研究安全有效的免疫佐剂,是提高ND和IB疫苗免疫的有效方法。蟾酥,又名蟾蜍眉脂、蛤蟆酥、蛤蟆浆<sup>[1]</sup>,20世纪80年代以来,蟾酥的生

**基金项目:**辽宁省教育厅科学技术研究项目“中药蟾酥抗鸡马立克氏病肿瘤机制的研究”(L2010336)。

**第一作者简介:**李敬双,女,1963年出生,辽宁锦州人,副教授,硕士,研究方向:动物疾病发病机制及防控。通信地址:121001 辽宁省锦州市古塔区人民街五段48号 辽宁医学院畜牧兽医学院, Tel: 0416-4673636, E-mail: xmsyljs00@tom.com。

**收稿日期:**2011-02-23, **修回日期:**2011-05-06。

物活性和药用价值越来越被研究人员关注,蟾酥注射液作为中国的传统中药,它的抗肿瘤和增强免疫功效的作用被世界公认。谢麟等<sup>[2]</sup>报道了蟾酥制剂具有提高吞噬细胞和抑制细菌的能力;韩鸿彬等<sup>[3]</sup>报道了华蟾素制剂对细胞免疫、体液免疫和非特异性免疫均有促进作用;王学勇<sup>[4]</sup>报道了蟾酥是促淋巴细胞增殖物质,增强小鼠脾淋巴细胞的天然杀伤力;姜峰等<sup>[5]</sup>报道了蟾酥不同溶剂萃取物在体外可促进脾淋巴细胞和腹腔巨噬细胞的免疫功能;Yongguo Cao等<sup>[6]</sup>报道了远华蟾毒精能够显著增强小鼠脾淋巴细胞体外对非特异性免疫刺激原的反应,对NK细胞杀伤作用和巨噬细胞吞噬功能也具有显著的增强作用,同时能够对保持Th1/Th2型细胞因子平衡起作用;程相朝等<sup>[7]</sup>报道了中药免疫增强剂不仅可促进外周血液ANAE和T淋巴细胞总数的增值,而且能明显提高辅助型T淋巴细胞的数量;林树乾等<sup>[8]</sup>报道了中药蟾酥注射液的免疫佐剂作用。据“中药蟾酥抗鸡马立克氏病肿瘤机制的研究”课题组前期研究结果显示:蟾酥注射液能够促进小鼠的免疫细胞增殖及其分泌细胞因子;能够提高小鼠脾中T淋巴细胞亚群百分率和淋巴细胞进入S期的百分率;中药蟾酥免疫增强剂对肉仔鸡免疫器官的生长发育和免疫活性细胞的增殖都有明显的促进作用;蟾酥注射液对鸡马立克氏病疫苗的具有调节作用。所以推断,蟾酥注射液可能成为鸡新城疫、传染性支气管炎二联活疫苗免疫的佐剂。因此,设计了不同剂量的蟾酥注射液组,1日龄雏鸡进行鸡新城疫、传染性支气管炎二联活疫苗免疫,从中筛选出适合本地区的免疫最佳剂量,探讨蟾酥注射液的佐剂效果。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验时间、地点

试验于2010年在辽宁医学院实验动物中心进行。

### 1.2 材料

1.2.1 试验动物 试验鸡由辽宁医学院畜牧兽医学院种鸡场提供。

1.2.2 试剂 蟾酥注射液购自广西北斗星动物保健品有限公司,批号:20090501,20 mg/mL;鸡新城疫、传染性支气管炎HI阳性抗原购自中国兽药药品监察所;肝素钠购自北京双鹤药业股份有限公司;植物凝集素(PHA-P)、台盼蓝(Trypan Blue)和四甲基偶氮唑盐(MTT)均购自美国Sigma公司;RPMI-1640细胞培养液购自美国GIBCO公司;新生牛血清(NBS)购自杭州四季青生物工程材料有限公司;Percoll细胞分层液购自Pharmacia公司;二甲基亚砷(DM-SO)购自Pharmacia公司;人淋巴细胞分离液由中国医学科学院

生物工程研究所研制。

1.2.3 疫苗 新城疫、传染性支气管炎二联活疫苗(威灵,Avinew+H120)购自南京梅里亚动物保健有限公司。

### 1.3 方法

1.3.1 雏鸡分组及处理 1日龄健康海兰雏鸡100只随机分为4个组(对照组、低剂量组、中剂量组和高剂量组),每组25只。对照组不免疫,1日龄开始每天皮下注射生理盐水0.2 mL/只,连用7天。低、中、高剂量组1日龄用鸡新城疫、传染性支气管炎二联活疫苗滴鼻、点眼首次免疫;1日龄开始每天分别皮下注射蟾酥注射液0.2、0.25、0.3 mL/只,连用7天;10日龄用鸡新城疫、传染性支气管炎二联活疫苗滴鼻、点眼免疫进行二次免疫。

1.3.2 样品的采集 在第7、14、21、28、35、42、49、56日龄,通过静脉采集无抗凝血及抗凝血,其中无抗凝血取血清用于抗体检测,抗凝血用于T、B淋巴细胞增殖试验。

1.3.3 蟾酥注射液对雏鸡外周血T淋巴细胞增殖的影响

(1)雏鸡外周血淋巴细胞悬液的制备。采集雏鸡翅下静脉血2 mL加入抗凝管,轻轻摇动试管,混匀,5 min后加入RPMI-1640液2 mL,手动轻轻摇匀。将抗凝血全部沿管壁缓慢加至另一含2 mL淋巴细胞分离液的液面上,注意保持2种液体界面清晰。将试管平衡后置水平式离心机,2000 r/min离心20 min。此时离心管中形成5层:由上至下的顺序分别为血浆、PBMC、淋巴细胞、粒细胞和红细胞。用毛细吸管吸取淋巴细胞放入离心管内至1刻度处。加入5倍体积的RPMI-1640液,手动旋转试管使液体混匀,5000 r/min离心10 min,用PBS洗涤细胞2次,末次离心后,弃上清,加入含有10%小牛血清的RPMI-1640,重悬细胞<sup>[9-10]</sup>。

(2)淋巴细胞计数。将淋巴细胞悬液混匀,吸取10  $\mu$ L加入到40  $\mu$ L含10%灭活小牛血清的RPMI-1640液中,混匀后再吸取10  $\mu$ L加入到血细胞计数板上。取盖玻片轻轻覆盖于标本上,静置片刻,置显微镜下计算淋巴细胞数。具体计数方法:计算血细胞计数板上4个角的4个大方格中淋巴细胞总数。按下列公式求出单个核细胞总数:

单个核细胞总数=(4个大方格中单个核细胞总数/4)×稀释倍数×细胞悬液毫升数。

(3)细胞存活率检测。取10  $\mu$ L淋巴细胞悬液加入0.2%台盼蓝染色液10  $\mu$ L,混匀。取10  $\mu$ L加入血细

胞计数板,静置片刻,置显微镜高倍镜下观察。

结果判定:活细胞不着色,折光性强。死细胞由于染料可渗入细胞内,故死细胞被染成蓝色,死细胞体积较大,无光泽。正常情况下,活细胞存活率应在95%以上。

计数200个细胞中的死亡细胞数,并计算其存活率。

细胞存活率=[活细胞数/(活细胞数+死细胞数)] $\times$ 100%。

(4)检测外周血T、B淋巴细胞增殖。采用MTT法检测外周血T、B淋巴细胞吸光度值(OD值),作为T、B淋巴细胞增殖的指标。将细胞悬液加入96孔细胞培养板,每孔100  $\mu$ L,每组均设4复孔。然后每孔分别加入100  $\mu$ L RPMI-1640细胞培养液,置于37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱中连续培养44 h;取出培养板,每孔加入20  $\mu$ L MTT液,继续培养4 h;于2000 $\times$ g离心10 min弃上清,每孔加入150  $\mu$ L DMSO,振荡10 min至形成的紫色结晶完全溶解,放入培养箱中裂解12 h后取出,酶标仪在570 nm波长处测OD值。

1.3.4 血清中ND和IB抗体效价测定  $\beta$ -微量法检测ND-HI和IB-HI抗体效价。

1.3.5 数据统计 采用SPSS 13.0软件统计,以平均数 $\pm$ 标准误(Mean $\pm$ SE)表示,采用方差分析分析各组之间的差异显著性。

## 2 结果与分析

### 2.1 蟾酥注射液对雏鸡外周血T淋巴细胞增殖的影响

雏鸡外周血T淋巴细胞OD值见表1,从第7天开始,低、中、高剂量组和对照组比较T淋巴细胞OD值均升高;第7、14、21、28、35天,中剂量组T淋巴细胞OD值均高于低、高剂量组;第42、49、56天,中剂量组T淋巴细胞OD值高于低剂量组,高剂量组T淋巴细胞OD

值高于低剂量组;第21、28、35天,中剂量组T淋巴细胞OD值最大。统计结果:第7天,低、中、高剂量组和对照组比较差异不显著( $P>0.05$ );第14天,低、中剂量组和对照组比较差异均显著( $P<0.05$ ),高剂量组和对照组比较差异不显著( $P>0.05$ );第21天,低、高剂量组和对照组比较差异均显著( $P<0.05$ ),中剂量组和对照组比较差异极显著( $P<0.01$ );第28、35天,低、中、高剂量组和对照组比较差异均极显著( $P<0.01$ );第42天,低、中、高剂量组和对照组比较差异均显著( $P<0.05$ );第49天,中、高剂量组和对照组比较差异均显著( $P<0.05$ ),低剂量组和对照组比较差异不显著( $P>0.05$ );第56天,低、中、高剂量组和对照组比较差异不显著( $P>0.05$ )。

### 2.2 蟾酥注射液对雏鸡外周血B淋巴细胞增殖的影响

雏鸡外周血B淋巴细胞OD值见表2,从第7天开始,低、中、高剂量组和对照组比较B淋巴细胞OD值均升高,中剂量组B淋巴细胞OD值均高于低、高剂量组,中剂量组在21、28天时,B淋巴细胞OD值最大。统计结果:第7天,低、中、高剂量组和对照组比较差异不显著( $P>0.05$ )。第14天,低、中剂量组和对照组比较差异均显著( $P<0.05$ ),高剂量组和对照组比较差异不显著( $P>0.05$ )。第21、28天,低、中、高剂量组和对照组比较差异极显著( $P<0.01$ )。第35天,低剂量组和对照组比较差异显著( $P<0.05$ ),中、高剂量组和对照组比较差异均极显著( $P<0.01$ )。第42天,低、中、高剂量组和对照组比较差异均显著( $P<0.05$ )。第49天,低、中剂量组和对照组比较差异均显著( $P<0.05$ ),高剂量组和对照组比较差异不显著( $P>0.05$ )。第56天,低、中、高剂量组和对照组比较差异不显著( $P>0.05$ )。

### 2.3 蟾酥注射液对雏鸡ND-HI抗体效价的影响

雏鸡ND-HI抗体效价情况见表3,低、中、高剂量

表1 雏鸡外周血T淋巴细胞OD值( $n=3$ )

时间	对照组 (生理盐水组)	蟾酥注射液低剂量组 /(0.2 mL/只)	蟾酥注射液中剂量组 /(0.25 mL/只)	蟾酥注射液高剂量组 /(0.3 mL/只)
第7 d	0.208 $\pm$ 0.001	0.356 $\pm$ 0.015	0.375 $\pm$ 0.014	0.289 $\pm$ 0.015
第14 d	0.232 $\pm$ 0.007	0.425 $\pm$ 0.020*	0.489 $\pm$ 0.017*	0.433 $\pm$ 0.012
第21 d	0.245 $\pm$ 0.015	0.456 $\pm$ 0.005*	0.550 $\pm$ 0.019**	0.478 $\pm$ 0.014*
第28 d	0.256 $\pm$ 0.023	0.487 $\pm$ 0.005**	0.598 $\pm$ 0.027**	0.489 $\pm$ 0.025**
第35 d	0.287 $\pm$ 0.024	0.494 $\pm$ 0.001**	0.557 $\pm$ 0.024**	0.508 $\pm$ 0.011**
第42 d	0.315 $\pm$ 0.011	0.401 $\pm$ 0.011*	0.474 $\pm$ 0.025*	0.525 $\pm$ 0.016*
第49 d	0.324 $\pm$ 0.026	0.357 $\pm$ 0.004	0.404 $\pm$ 0.045*	0.484 $\pm$ 0.024*
第56 d	0.387 $\pm$ 0.011	0.301 $\pm$ 0.025	0.366 $\pm$ 0.007	0.427 $\pm$ 0.003

注:\*与对照组比较,差异显著( $P<0.05$ ),\*\*与对照组比较,差异极显著( $P<0.01$ )。下同。

表2 雏鸡外周血B淋巴细胞OD值(n=3)

时间	对照组 (生理盐水组)	蟾酥注射液低剂量组 /(0.2 mL/只)	蟾酥注射液中剂量组 /(0.25 mL/只)	蟾酥注射液高剂量组 /(0.3 mL/只)
第7 d	0.198±0.016	0.324±0.009	0.334±0.024	0.262±0.026
第14 d	0.275±0.007	0.345±0.017*	0.467±0.047*	0.345±0.007
第21 d	0.292±0.045	0.498±0.023**	0.635±0.007**	0.573±0.006**
第28 d	0.399±0.045	0.511±0.024**	0.610±0.045**	0.546±0.043**
第35 d	0.369±0.021	0.401±0.013*	0.477±0.052**	0.432±0.036**
第42 d	0.367±0.004	0.376±0.067*	0.437±0.044*	0.413±0.016*
第49 d	0.335±0.025	0.345±0.043*	0.401±0.012*	0.398±0.037
第56 d	0.305±0.006	0.341±0.016	0.392±0.034	0.387±0.05

表3 雏鸡ND-HI抗体效价情况

时间	对照组 (生理盐水组)	蟾酥注射液低剂量组 /(0.2 mL/只)	蟾酥注射液中剂量组 /(0.25 mL/只)	蟾酥注射液高剂量组 /(0.3 mL/只)
第7 d	3.5±0.205	3.9±0.198	4.1±0.240	3.9±0.220
第14 d	4.5±0.225	5.2±0.240*	5.6±0.255**	5.2±0.360*
第21 d	5.9±0.195	6.8±0.204**	7.1±0.306**	7.0±0.209**
第28 d	7.1±0.336	8.2±0.240**	8.5±0.245**	8.1±0.320**
第35 d	7.1±0.210	8.5±0.390**	8.6±0.245**	8.2±0.370*
第42 d	6.3±0.145	7.5±0.215**	7.9±0.220**	7.3±0.200*
第49 d	5.5±0.245	6.1±0.215*	6.4±0.200**	6.3±0.200*
第56 d	4.3±0.220	4.9±0.200*	5.3±0.240**	5.1±0.326*

组与对照组比较ND-HI抗体效价均有不同程度地提高。中剂量组ND-HI抗体效价高于低、高剂量组。统计结果:第7天,低、中、高剂量组与对照组比较差异不显著( $P>0.05$ );第14天,低、高剂量组与对照组比较差异均显著( $P<0.05$ ),中剂量组与对照组比较差异极显著( $P<0.01$ );第21、28天,低、中、高剂量组与对照组比较,差异均极显著( $P<0.01$ );第35、42天,低、中剂量组与对照组比较差异均极显著( $P<0.01$ ),高剂量

组与对照组比较差异显著( $P<0.05$ );第49、56天,低、高剂量组与对照组比较差异均显著( $P<0.05$ ),中剂量组与对照组比较差异极显著( $P<0.01$ )。

2.4 蟾酥注射液对雏鸡IB-HI抗体效价的影响

雏鸡IB-HI抗体效价情况见表4,低、中、高剂量组与对照组比较IB-HI抗体效价均有不同程度地提高,中剂量组IB-HI抗体效价高于低、高剂量组。统计结果:第7天,低、中、高剂量组与对照组比较差异不显著

表4 雏鸡AI-HI抗体效价情况

时间	对照组 (生理盐水组)	蟾酥注射液低剂量组 /(0.2 mL/只)	蟾酥注射液中剂量组 /(0.25 mL/只)	蟾酥注射液高剂量组 /(0.3 mL/只)
第7 d	4.0±0.198	4.2±0.240	4.3±0.370	4.2±0.210
第14 d	5.1±0.747	6.1±0.700*	6.1±0.440**	6.1±0.750*
第21 d	6.4±0.215	7.7±0.230**	7.8±0.210**	7.3±0.400*
第28 d	7.3±0.300	8.5±0.240**	8.7±0.200**	8.3±0.500**
第35 d	7.1±0.700	8.3±0.200**	8.5±0.250**	8.1±0.026**
第42 d	6.1±0.244	7.1±0.100*	7.3±0.250**	7.1±0.016*
第49 d	5.5±0.248	6.1±0.170*	6.5±0.245**	6.1±0.200*
第56 d	4.1±0.217	4.9±0.310*	5.3±0.300**	4.9±0.230*

( $P>0.05$ );第14天,低、高剂量组与对照组比较差异均显著( $P<0.05$ ),中剂量组与对照组比较差异极显著( $P<0.01$ );第21天,低、中剂量组与对照组比较差异均极显著( $P<0.01$ ),高剂量组与对照组比较差异显著( $P<0.05$ );第28、35天,低、中、高剂量组与对照组比较差异均极显著( $P<0.01$ );第42、49天,低、高剂量组与对照组比较差异均显著( $P<0.05$ ),中剂量组与对照组比较差异极显著( $P<0.01$ );第56天,低剂量组与对照组比较差异显著( $P<0.05$ ),中剂量组与对照组比较差异极显著( $P<0.01$ ),高剂量组与对照组比较差异不显著( $P>0.05$ )。

### 3 结论与讨论

(1)T淋巴细胞主要参与细胞免疫,由胸腺产生,在抗原刺激下转化为T淋巴母细胞,并进一步分化增殖为致敏T淋巴细胞,发生特异性免疫应答、产生抗体,以对抗病毒、细菌、肿瘤细胞和同种异体移植细胞;另有一些T淋巴细胞在抗原刺激下能够合成一些免疫活性物质(如淋巴因子、干扰素等),参与体液免疫反应。B淋巴细胞参与体液免疫,由骨髓产生,在抗原刺激下转化为浆细胞,产生和分泌多种特异性抗体。淋巴细胞增殖是评价细胞免疫功能的一个重要指标<sup>[11]</sup>。试验结果表明,蟾酥注射液能促进雏鸡外周血T、B淋巴细胞的增殖,从而提高机体的细胞免疫和体液免疫功能<sup>[12-14]</sup>。

(2)现代中医理论认为清热解毒和活血化瘀类中药和方剂有“剂量依赖性双向作用”<sup>[15]</sup>,即对机体免疫功能既有免疫增强作用又有免疫抑制作用呈现双重影响,最终使机体达到平衡状态。因素之一就是中药的量效关系,不同中药剂量会对机体产生相反的作用。试验结果显示,蟾酥注射液促进雏鸡外周血T、B淋巴细胞的增殖作用,在一定的剂量范围内,随着剂量的增加而增强,而达到一定剂量后,随着剂量的增加而降低,还可能会出现免疫抑制。

(3)ND-HI和IB-HI抗体效价是反映鸡新城疫、传染性支气管炎二联活疫苗特异性体液免疫水平的功能指标,是由B淋巴细胞介导通过分泌抗体而进行的免疫应答。试验结果表明,蟾酥注射液能够提高雏鸡ND-HI和IB-HI抗体效价,这与李宏全<sup>[17]</sup>、孔祥峰<sup>[18]</sup>和李诺<sup>[19]</sup>等研究结果一致,但未见蟾酥注射液对新城疫、传染性支气管炎二联活疫苗抗体效价影响的研究。中剂量组(蟾酥注射液0.25 mL/只)的效果最好,抗体产生早,抗体效价上升速度快,免疫后期抗体存在

时间长,高峰期持续时间也长。说明蟾酥注射液(0.25 mL/只)是鸡新城疫、传染性支气管炎二联活疫苗有效的免疫佐剂。

### 参考文献

- [1] 王锋,张薇,董红兵.蟾酥的药理研究及其临床应用概况[J].国医论坛,2003,18(5):50-52.
- [2] 谢麟,长青.蟾酥产品的医药价值及其资源的开发利用[J].四川畜牧兽医,2002,29(12):32-34.
- [3] 韩鸿彬,陈嘉勇.华蟾素抗肿瘤作用及其机制的研究[J].中国肿瘤生物治疗杂志,2005,12(2):160-162.
- [4] 王学勇.蟾酥中含有免疫调节剂[J].国际中医中药杂志,2006,28(3):150.
- [5] 姜峰,邓旭明,韩小虎,等.蟾酥不同溶剂萃取物对小鼠免疫细胞功能的影响[J].中国药理学与毒理学杂志,2008,22(1):63-69.
- [6] Yongguo Cao, Yu Song, Na An, et al. The effects of telocinobufagin isolated from Chan Su on the activation and cytokine secretion of immunocytes *in vitro*[J]. Fundamental & Clinical Pharmacology, 2009,23:457-464.
- [7] 程相朝,陈树兴,郭曹彰,等.中药蟾酥免疫增强剂对MD鸡外周血液ANAE T淋巴细胞动态的影响[J].河南农业科学,1998(1):34-36.
- [8] 林树乾,张燕,杨少华,等.中药蟾酥注射液的免疫佐剂作用[J].中国畜牧兽医,2006,33(5):58-60.
- [9] MOSMANN T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival:application to proliferation and cytotoxicity assays[J]. Journal of Immunol Meth-ods,1983(1-2):55-63.
- [10] Li J, Ling X, Huang Y, et al. Enhancement of the immunogenicity of DNA vaccine against infectious bursal disease virus by CO-delivery with plasmid en-coding chicken interleukin-2[J]. Virology,2004,329(1):89-100.
- [11] 王丽荣,郝水清,张爱荣.水溶性苜蓿多糖对肉仔鸡免疫功能的影响[J].内蒙古畜牧科学,2003(3):8-9.
- [12] 张世军,王三虎,赵坤,等.苜蓿多糖对猪瘟兔化弱毒疫苗免疫应答强化作用的研究影响[J].河南农业科学,2003(10):57-60.
- [13] 赵坤,李敬玺,张慧辉,等.苜蓿多糖对猪瘟兔化弱毒疫苗免疫效果的影响[J].河南农业大学学报,2005,39(4):67-71.
- [14] 刘晴雪,董晓芳,佟建明,等.水溶性苜蓿多糖对肉仔鸡T、B淋巴细胞体外增殖的影响[J].畜牧兽医学报,2010,41(9):1185-1190.
- [15] 侯家玉.中药药理学[M].北京:中国中医药出版社,2002:21.
- [16] 靳珠华,林秀珍,马德禄.大黄素和大黄多糖对小鼠脾淋巴细胞内游离钙浓度的影响[J].中草药,1994,25(8):413.
- [17] 李宏全,段县平,马海利.蟾酥注射液对鸡新城疫和传染性腔上囊病疫苗免疫力的影响[J].中国兽医科技,2001,31(9):12-14.
- [18] 孔祥峰,胡元亮,李祥瑞,等.9种中药成分对新城疫IV系疫苗免疫雏鸡血清中血凝抑制抗体水平的影响[J].畜牧兽医学报,2004,35(4):468-472.
- [19] 李诺,余锐萍,韩鲁佳,等.黄芪提取物对鸡生长发育及免疫功能的影响[J].中国兽医科技,2004,34(5):61-64.