

科 研 开 发

缓释复方免疫增强剂对 4种鸡传染病疫苗免疫增强效果研究

刘瑞生 薛掌林 张述斌 王必慧

(甘肃省畜牧兽医研究所,平凉 744000)

鸡新城疫(ND)、传染性支气管炎(IB)、传染性法氏囊病(IBD)、减蛋综合症(EDS₇₆)是由各自病毒引起的鸡的传染病,在养鸡业中比较常见和多发,严重威胁着养鸡业的健康发展,生产中主要应用疫苗接种进行预防。近年来随着我国养鸡业的迅速发展,集约化程度的提高,国内外畜禽贸易往来的日益频繁,疾病传播机会增加,病毒变异和超强毒株出现,血清型增多,多种类型病原混合感染,免疫抑制性疾病危害加大,亚临床型感染病例增加,应激因素的影响,导致机体免疫功能紊乱,抗病力下降,容易遭受病原微生物侵袭,使疫苗免疫效果不佳甚至失败,造成鸡新城疫、传染性支气管炎、传染性法氏囊病和减蛋综合症等传染病不断发生,给养鸡业带来巨大损失。采用药物治疗效果不明显,而且容易造成肉、蛋中药物残留,通过食物链影响人体健康。家禽免疫增强剂具有提高机体免疫系统功能,增强机体抗病力,减少疾病发生等特点,因此对免疫增强剂的研究逐渐引起了人们的普遍关注和重视,各种免疫增强剂提高机体免疫水平的报道日趋增多,成为近年来十分活跃的研究领域。姚金水等(1994)试验发现,VE-Se注射液对蛋用雏鸡ND-HI抗体 γ -Ig和淋巴细胞ANAE阳性率均比对照组有明显提高,表明VE和Se对雏鸡的体液免疫和细胞免疫均产生良好的影响^[1]。步志高等(1996)对3日龄雏鸡皮下注射0.4mL/只淫羊藿-蜂胶佐剂,能极显著地提高21日龄和35日龄雏鸡T淋巴细胞转化率和35日龄NK细胞活力,表明其能发挥免疫调节作用,提高雏鸡细胞免疫功能^[2]。乔彦良

(2001)研究发现,疫苗免疫同时应用左旋咪唑能明显促进马立克病疫苗接种鸡细胞免疫和体液免疫功能,用药后外周血T淋巴细胞转化明显增高,血清内抗MDV特异性抗体明显升高^[3]。李宏全等(2001)将APS以点眼、滴鼻、皮下注射、肌肉注射的不同方式,分别与鸡ND-I系、ND-IV系、ND油乳剂苗和IBD冻干苗同时接种于4组非免疫雏鸡,检测发现APS组血清ND、IBD抗体效价、脾和腔上囊重量显著高于APS空白组,表明APS可以促进机体正常免疫器官的发育和免疫活性细胞的生成,提高免疫活性和疫苗保护率^[4]。吴长德等(2003)按0.5%、1%、2%三个剂量将复方女贞子-黄芪制剂拌料给药饲喂雏鸡,提高了雏鸡的白细胞总数、ND-HI抗体水平和T淋巴细胞百分率,增强了雏鸡的免疫力^[5]。宋瑛琳等(2007)对雏鸡从5日龄连续用复方中药“囊病宁”提取液饮水50天,结果显示,试验组鸡的脾脏指数和法氏囊指数显著高于对照组,表明“囊病宁”对感染IBDV鸡的免疫器官的生长发育有一定的促进作用^[6]。但一些化学药物免疫增强剂存在毒副作用和污染残留等弊端,中草药免疫增强剂多以粉散剂拌料应用,使用不方便。我们从具有免疫增强作用的中草药中提取出有效活性成分多糖,与化学药物免疫增强剂有机结合,制备出缓释复方免疫增强剂,对4种鸡传染性疫苗免疫增强效果进行研究。试验如下:

1 材料与方法

1.1 试验材料

缓释复方免疫增强剂:由黄芪多糖(APS)、

淫羊藿多糖(EPS)、左旋咪唑(LEV)、维生素E(VE)、亚硒酸钠(Na_2SeO_3)加基质制成颗粒剂,每粒重0.25g左右,由本课题组研制。

鸡新城疫L系弱毒疫苗、鸡新城疫(Lasota)-传染性支气管炎(H_{52})二联弱毒疫苗、鸡传染性法氏囊双价冻干疫苗、鸡产蛋下降综合症油乳剂灭活疫苗,均为黑龙江生物制品一厂生产。

鸡传染性法氏囊病(IBD)琼脂扩散标准抗原和标准阳性血清:中国农业科学院哈尔滨兽医研究所制备。

ND、IB和EDS₇₆4单位抗原:本实验室制备。

1.2 试验方法

用80只30日龄海兰褐蛋鸡,随机分成4组,每组20只。每组又分为试验组和对照组两个处理组,每个处理10只鸡。分别注射EDS₇₆、ND、ND-IB、IBD疫苗,同时对试验组雏鸡投服缓释复方免疫增强剂1粒/只,具体处理见表1。在免疫前、免疫后12天和27天,每组随机采5只鸡血样,分离血清后用HI试验测定EDS₇₆、ND、IB抗体效价,求每组的平均值,结果用 $\pm S$ 表示;用AGP试验测定鸡IBD抗体阳性率;用ERFC和ANAE试验分别测定T淋巴细胞花环形成率和ANAE阳性率。

表1 各组鸡处理情况

组别	处理情况
I	试验组 EDS ₇₆ 疫苗0.3mL/只肌肉注射,并投服缓释复方免疫增强剂1粒。
	对照组 肌肉注射EDS ₇₆ 疫苗0.3mL/只。
II	试验组 皮下注射2头份ND-Lasota疫苗,并投服缓释复方免疫增强剂1粒。
	对照组 皮下注射2头份ND-Lasota疫苗。
III	试验组 皮下注射2头份ND-IB二联苗,并投服缓释复方免疫增强剂1粒。
	对照组 皮下注射2头份ND-IB二联苗。
IV	试验组 皮下注射2头份IBD(B87)疫苗,并投服缓释复方免疫增强剂1粒。
	对照组 皮下注射2头份IBD(B87)疫苗。

2 试验结果

2.1 缓释复方免疫增强剂对鸡EDS₇₆疫苗免疫增强效果

由表2~4可见,在试验前鸡EDS₇₆HI抗体效价、T淋巴细胞ERFC形成率和ANAE阳性率,试验组与对照组均较低,差异均不显著($P > 0.05$)。在试验后12天,鸡EDS₇₆HI抗体效价、T淋巴细胞ERFC形成率和ANAE阳性率均逐渐升高,27天达到高峰。12天和27天鸡EDS₇₆HI抗体效价、T淋巴细胞ERFC形成率和ANAE阳性率试验组均高于对照组,差异均极显著($P < 0.01$)。鸡EDS₇₆HI抗体效价、T淋巴细胞ERFC形成率和ANAE阳性率具有基本相同的消涨趋势,三种测定结果具有一定的相关性。

表2 鸡EDS₇₆HI抗体效价测定结果($\text{Log}_2 \bar{X} \pm S$)

组别	试验前	试验后12天	试验后27天
对照组	2.9 ± 0.52	5.8 ± 0.84	6.2 ± 0.84
试验组	3.2 ± 0.77	$7.6 \pm 0.55^{**}$	$8.2 \pm 0.84^{**}$

注: *表示差异显著, **表示差异极显著,下表同。

2.2 缓释复方免疫增强剂对鸡ND疫苗免疫增强效果

表3 鸡T淋巴细胞ERFC形成率测定结果($\% \bar{X} \pm S$)

组别	试验前	试验后12天	试验后27天
对照组	22.6 ± 0.79	23.9 ± 0.74	25.6 ± 0.65
试验组	22.5 ± 0.82	$32.4 \pm 0.96^{**}$	$35.4 \pm 0.65^{**}$

表4 鸡T淋巴细胞ANAE阳性率测定结果($\% \bar{X} \pm S$)

组别	试验前	试验后12天	试验后27天
对照组	30.0 ± 1.79	37.2 ± 1.30	35.2 ± 1.30
试验组	29.8 ± 1.92	$40.8 \pm 1.30^{**}$	$38.6 \pm 1.14^{**}$

由表5~7可见,试验前鸡ND-HI抗体效价、T淋巴细胞ERFC形成率和ANAE阳性率,试验组与对照组均较低,差异均不显著($P > 0.05$)。在试验后12天,鸡ND-HI抗体效价、T淋巴细胞ERFC形成率和ANAE阳性率均不同程度升高,27天鸡ND-HI抗体效价、T淋巴细胞ERFC形成率和ANAE阳性率均逐渐下降,12天和27天鸡ND-HI抗体效价、T淋巴细胞ERFC形成率和ANAE阳性率试验组高于对照组,

差异均极显著($P < 0.01$)。鸡 ND-HI 抗体效价、ERFC 形成率和 ANAE 阳性率具有基本相同的消涨趋势,三种测定结果同样具有一定的相关性。

表5 鸡 ND-HI 抗体测定结果($\text{Log}_2 \bar{X} \pm S$)

组别	试验前	试验后 12 天	试验后 27 天
对照组	4.2 ± 0.84	8.2 ± 0.84	5.4 ± 0.89
试验组	4.0 ± 0.74	$10.0 \pm 0.71^{**}$	$7.6 \pm 0.89^{**}$

表6 鸡 T 淋巴细胞 ERFC 形成率测定结果($\%, \bar{X} \pm S$)

组别	试验前	试验后 12 天	试验后 27 天
对照组	22.0 ± 0.79	25.3 ± 1.20	24.1 ± 1.51
试验组	21.6 ± 0.96	$35.2 \pm 1.35^{**}$	$32.4 \pm 1.29^{**}$

表7 鸡 T 淋巴细胞 ANAE 阳性率测定结果($\%, \bar{X} \pm S$)

组别	试验前	试验后 12 天	试验后 27 天
对照组	30.0 ± 1.58	37.8 ± 1.64	35.4 ± 1.14
试验组	30.2 ± 1.92	$41.0 \pm 1.58^{**}$	$38.4 \pm 1.14^{**}$

2.3 缓释复方免疫增强剂对 ND-IB 二联疫苗免疫增强效果

由表 8~10 可见,试验前鸡 ND 和 IB-HI 抗体效价、T 淋巴细胞 ERFC 形成率和 ANAE 阳性率,试验组与对照组均较低,差异均不显著($P > 0.05$)。试验后 12 天鸡 ND 和 IB-HI 抗体效价、T 淋巴细胞 ERFC 形成率和 ANAE 阳性率均不同程度升高,27 天鸡 ND 和 IB-HI 抗体效价、T 淋巴细胞 ERFC 形成率和 ANAE 阳性率均逐渐下降。12 天和 27 天鸡 ND 和 IB-HI 抗体效价、T 淋巴细胞 ERFC 形成率和 ANAE 阳性率试验组高于对照组,差异均极显著($P < 0.01$)或显著($P < 0.05$)。鸡 ND 和 IB-HI 抗体效价、T 淋巴细胞 ERFC 形成率和 ANAE 阳性率具有基本相同的消涨趋势,三种测定结果具有一定的相关性。

表8 鸡 ND 和 IB-HI 抗体效价测定结果($\text{Log}_2 \bar{X} \pm S$)

组别	试验前	试验后 12 天	试验后 27 天
ND	对照组 3.8 ± 0.84	7.2 ± 0.71	5.2 ± 0.84
	试验组 4.0 ± 0.71	$9.2 \pm 0.84^{**}$	$7.0 \pm 0.71^{**}$
IB	对照组 4.0 ± 0.71	6.4 ± 1.14	5.6 ± 1.14
	试验组 4.2 ± 0.84	$8.2 \pm 0.84^*$	$7.6 \pm 0.56^{**}$

表9 鸡 T 淋巴细胞 ERFC 形成率测定结果($\%, \bar{X} \pm S$)

组别	试验前	试验后 12 天	试验后 27 天
对照组	22.0 ± 0.79	24.8 ± 1.03	22.7 ± 1.20
试验组	21.8 ± 1.04	$34.3 \pm 1.20^{**}$	$32.4 \pm 1.08^{**}$

表10 鸡 T 淋巴细胞 ANAE 阳性率测定结果($\%, \bar{X} \pm S$)

组别	试验前	试验后 12 天	试验后 27 天
对照组	30.2 ± 1.92	37.4 ± 1.67	35.4 ± 1.14
试验组	29.8 ± 2.39	$40.6 \pm 1.81^*$	$38.0 \pm 1.58^*$

2.4 缓释复方免疫增强剂对鸡 IBD 疫苗免疫增强效果

由表 11~13 可见,试验前试验组与对照组相比,鸡 IBD 抗体阳性率均较低,T 淋巴细胞 ERFC 形成率和 ANAE 阳性率差异不显著($P > 0.05$)。试验后 12 天和 27 天,两组鸡 IBD 抗体阳性率、T 淋巴细胞 ERFC 形成率和 ANAE 阳性率均逐渐升高,试验组与对照组相比,鸡 IBD 抗体阳性率提高 20 个百分点,差异显著($P < 0.05$);T 淋巴细胞 ERFC 形成率和 ANAE 阳性率高于对照组差异也显著($P < 0.05$)或极显著($P < 0.01$)。鸡 IBD 抗体阳性率、T 淋巴细胞 ERFC 形成率和 ANAE 阳性率具有基本相同的消涨趋势,三种测定结果具有一定的相关性。

表11 鸡 IBD 抗体阳性率测定结果%

组别	试验前	试验后 12 天	试验后 27 天
对照组	10	60	80
试验组	10	80 [*]	100 [*]

表12 鸡 T 淋巴细胞 ERFC 形成率测定结果($\%, \bar{X} \pm S$)

组别	试验前	试验后 12 天	试验后 27 天
对照组	21.7 ± 0.79	24.3 ± 0.67	26.5 ± 0.96
试验组	22.1 ± 0.96	$32.0 \pm 0.79^{**}$	$35.0 \pm 1.27^{**}$

表13 鸡 T 淋巴细胞 ANAE 阳性率测定结果($\%, \bar{X} \pm S$)

组别	试验前	试验后 12 天	试验后 27 天
对照组	30.0 ± 1.58	34.1 ± 1.30	36.4 ± 1.34
试验组	29.6 ± 2.07	$36.9 \pm 1.30^*$	$40.6 \pm 1.14^{**}$

3 分析与讨论

动物机体的体液免疫功能主要是指 B 细胞产生的抗体参与的特异性免疫应答反应,抗体的生理功能主要是中和清除抗原,通常抗体效价与发病率呈负相关,即抗体效价越高发病率越低(杨汉春,2003)。APS 具有促进免疫功能和抗体生成,提高巨噬细胞活性和血清 IgG 水平,抑制 EAS,双向调节血糖等作用。孔祥峰等(2004)在雏鸡免疫 ND-IV 系苗前后分别注射高、低剂量的 APS 等 9 种中药成分,结果表明,9 种中药成分均能不同程度地提高抗体效价,且与

给药时间、剂量和免疫次数有一定关系^[7]。淫羊藿是补肾壮阳中药,主要含淫羊藿甙、黄酮、多糖等多种有效成分。日本三桥进(1981)首次报道了EPS有促进免疫作用,杨贵贞等(1985)也发现,EPS能够从多方面促进免疫调节作用^[8]。刘家国等(2000)以间接ELISA检测了淫-蜂佐剂对家兔血清特异性抗体水平的影响,结果淫-蜂佐剂抗原组兔血清特异性抗体水平显著高于无佐剂抗原组,抗体高水平维持的时间也更长;与油佐剂组相比,抗体产生的时间亦更早。说明淫-蜂佐剂作为佐剂配合抗原应用,能提高抗原的免疫原性,促进抗体的早日产生^[9]。LEV具有特异性增强作用和非特异性抗体增强作用,韩雪清等(1996)试验表明,LEV具有增强IBD和ND苗联合免疫的免疫应答,即具有抗IBD对ND的干扰作用;以LEV最大驱虫剂量增强免疫效果最佳,可在免疫注苗前致敏机体,使免疫增强作用来得早,来得强,鸡口服LEV 7~14天即表现出免疫增强作用^[10]。国内外许多研究证实,硒能提高畜禽的体液免疫和细胞免疫功能,增强机体对传染病的抵抗力。黄克和等(1990)发现,补硒可降低自然发生IBD病鸡的死亡率,减轻IBD对雏鸡体液免疫功能的损害^[11]。VE具有抗氧化作用,能够促进动物免疫系统发育,增强细胞的吞噬作用和机体的免疫功能,提高鸡、火鸡和哺乳动物的体液免疫力。Fanchini等(1995)研究发现,在疫苗中含20%和30%VE时,均能提高特异性抗体量,从而相应提高对NDV、EDS₇₆V和IBDV的体液免疫反应(沈咏舟摘译,1996)^[12]。本研究用APS、EPS、LEV、Na₂SeO₃、VE 5种中西药结合起来研制的缓释复方免疫增强剂,发挥中西药各自优势,相互协调,对EDS₇₆、ND、ND-IB二联苗、IBD疫苗免疫增强效果研究表明,可以显著或极显著增强上述4种疫苗抗体水平(或抗体阳性率),表明缓释复方免疫增强剂能够增强鸡体液免疫功能,与上述报道结果一致。

T淋巴细胞是介导机体细胞免疫的重要细胞,ERFC形成试验和酸性 α -醋酸萘酯酶染色法能够检测外周血液中T淋巴细胞百分数,敏感地反映机体的细胞免疫水平和动态变化,是目前鉴定和计算外周血液和各种淋巴组织中T淋

巴细胞的常用方法之一。唐雪明等(1998)研究表明,黄芪多糖对21、35日龄雏鸡T淋巴细胞转化功能有增强作用,且与剂量有相关性^[13]。李宏全等(2006)试验结果显示,雏鸡感染IBDV后可使E-C3bRR和ERER显著降低($P < 0.01$),从攻毒当日起连续胸肌注射APS 6天,剂量分别为每只鸡5mg和10mg的APS处理组E-C3bRR、E-ICRR、ERER均高于对照组($P < 0.01$),证实雏鸡感染IBDV后红细胞免疫功能低下,而APS可显著提高其红细胞免疫功能^[14]。淫羊藿所含的黄酮类和多糖类物质具有增强正常免疫动物T淋巴细胞功能,增强对刺激原如ConA的反应能力,提高IL-2生产水平等作用。刘家国等(2000)和胡元亮等(2000)研究发现,淫-蜂佐剂能提高外周血T淋巴细胞的转化率,对抗环磷酰胺对T淋巴细胞活性的抑制作用,使受抑制的T淋巴细胞转化活性基本恢复正常;能显著提高4周龄小鼠和21、35日龄雏鸡的细胞免疫功能,显著提高家兔、母鸡的体液免疫功能^[9,15]。对动物补充适当水平的硒能够促进淋巴细胞增殖反应,增强淋巴细胞吞噬和杀菌活性,显著增强外周血液中淋巴细胞对PHA的应答能力和NK细胞活力。硒和VE的适度配合使用具有协同作用,能明显提高NK细胞活性和T淋巴细胞转化率。步志高等(1996)试验表明,补硒可以提高正常对照雏鸡和IBD雏鸡T淋巴细胞转化率,增强雏鸡细胞免疫功能,不但对正常雏鸡有效,而且对IBD所致的免疫抑制也有明显作用,能增强雏鸡对IBD抵抗力,降低IBD雏鸡死亡率^[16]。VE能促进T淋巴细胞的成熟与分化,提高免疫细胞的免疫功能和吞噬细胞的吞噬作用。文杰等(1996)在日粮中添加80mg/kgVE可以提高28日龄肉鸡血液淋巴细胞转化率^[17]。本研究研制的缓释复方免疫增强剂,可以提高鸡EDS₇₆、ND、ND-IB二联苗、IBD疫苗免疫后外周血T淋巴细胞ERFC形成率和ANAE阳性率,从而增强鸡的细胞免疫功能。与上述报道结果一致。

综上所述,缓释复方免疫增强剂可以提高鸡EDS₇₆、ND、ND-IB二联苗、IBD 4种疫苗抗体水平,增强体液免疫功能和细胞免疫功能,表明该免疫增强剂对4种鸡传染病疫苗有共同非特

异性免疫增强作用。

参考文献

- [1] 姚金水,黄一帆,李泌光. 免疫增强剂对蛋用鸡免疫功能的影响[J]. 福建农业大学学报(自然科学版), 1994,23(2):199~202.
- [2] 步志高,陈万芳,宋大鲁. 淫羊藿-蜂胶合剂对雏鸡细胞免疫功能的影响[J]. 南京农业大学学报,1996,19(1):73~76.
- [3] 乔彦良,初晓翠,盛英霞,等. 西咪替丁对鸡马立克氏病疫苗免疫增强作用[J]. 兽药与饲料添加剂,2001,6(3):1~2.
- [4] 李宏全,段县平,马海利,等. 黄芪多糖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.
- [5] 吴长德,吕戴春,方永辉,等. 复方女贞子-黄芪制剂对雏鸡的免疫增强作用[J]. 黑龙江畜牧兽医,2003,(1):30~31.
- [6] 宋瑛琳,王静,王华,等. 中药“囊病宁”对鸡免疫器官指数的影响[J]. 山东畜牧兽医,2007,(6):10~11.
- [7] 孔祥峰,胡元亮,李祥瑞,等. 9种中药成分对新城疫IV系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.
- [8] 杨贵贞,耿排力. 淫羊藿合剂及其提取物对实验动物免疫活性细胞的调整作用及其机理探讨[J]. 中国免疫学杂志,1985,(1):13~16.
- [9] 刘家国,胡元亮,张宝康,等. 淫羊藿-蜂胶佐剂的免疫调节作用[J]. 中国兽医学报,2000,(4):37~40.
- [10] 韩雪清,李忠润,刘湘涛,等. 左旋咪唑对鸡免疫功能的增强作用[J]. 中国兽医科技,1996,26(3):31~32.
- [11] 黄克和,陈振旅,王小龙,等. 硒对雏鸡生长体液免疫功能和抗自然感染能力的影响[J]. 南京农业大学学报,1990,13(4):98~102.
- [12] 沈咏舟摘译. 病毒灭活苗中维生素E的作用[J]. 国外畜牧科技,1996,(2):35~37.
- [13] 唐雪明,胡元亮,张宝康,等. 黄芪多糖对雏鸡外周血T淋巴细胞转化功能的影响[J]. 中国兽医学报,1998,18(3):269~271.
- [14] 李宏全,武彩红,高海,等. 黄芪多糖对人工感染IBDV雏鸡红细胞免疫功能的影响[J]. 中国兽医科技,2006,31(1):74~79.
- [15] 胡元亮,刘家国,宋大鲁,等. 淫羊藿剂影响动物免疫功能的实验研究[J]. 畜牧兽医学报,2000,31(2):155~160.
- [16] 步志高,黄克和,陈万芳. 硒增强雏鸡对IBD抵抗力的细胞免疫研究[J]. 中国兽医学报,1996,(3):273~276.
- [17] 文杰,林济华,王和民. 日粮维生素E、抗坏血酸水平对肉仔鸡生长及免疫功能的影响[J]. 畜牧兽医学报,1996,27(6):481~488.

· 小常识 ·

畜禽养殖小窍门

1. 猪喂生料 用生饲料喂猪,不仅饲喂方便,省时省力,而且适口性好,有利于保存营养和提高饲料利用率,但精、粗、青饲料要合理搭配,确保营养全面,适口性好,让猪爱吃;喂量要由少到多,逐步增加,让猪有一个适应过程。

2. 马喂夜草 俗话说:“马无夜草不肥。”这是很有道理的。马、骡、驴等都是单胃动物,一般吃下的草料不到4小时就会全部消化完。因此,只有晚上加喂夜草,牲畜才能吃得饱、膘情好。另外,如果仅白天喂草,由于饥饿,就会暴食,还可能引起胃扩张、结症等疾病。

3. 羊喂吊草 把草捆成小把吊起来喂羊,

吃一点、撕一点,羊会吃得很香,而且可节省饲草。

4. 兔喂花食 养长毛兔喂单一饲料,饲料中所含的氨基酸不全面,就会影响产毛,还浪费饲料。如果将多种饲料混合,饲料中的不同氨基酸可以互相配合,取长补短。这样,氨基酸齐全,蛋白质丰富,长毛兔能产好毛、多产毛。

5. 鸡喂砂砾 给鸡每周适量补喂一次砂砾,有助于肌胃中饲料的研磨,帮助消化和吸收,使饲料消化率提高3%~8%。

(李巧云)