

於 敏,王海波,张晓辉,等. 卡介菌多糖核酸对断奶仔猪抗氧化和免疫活性的影响[J]. 江苏农业科学,2014,42(4):152-154.

卡介菌多糖核酸对断奶仔猪抗氧化和免疫活性的影响

於 敏¹, 王海波¹, 张晓辉², 董亚青¹, 高月秀¹

(1. 江苏农牧科技职业学院, 江苏泰州 225300; 2. 南京农业大学, 江苏南京 210095)

摘要: 将 96 头 28 日龄断奶仔猪随机分为 4 组, 分别为卡介菌多糖核酸高剂量组 (60 μg/kg)、中剂量组 (30 μg/kg)、低剂量组 (15 μg/kg)、空白对照组, 仔猪按照分组要求注射给药。分别于注射前、注射后 5、10、15、20 d 前腔静脉采血, 分离血清, 测定血清中总超氧化物歧化酶 (T-SOD)、脂质过氧化物 (LPO)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-P_x)、IgG、IgM 含量。结果表明: 卡介菌多糖核酸能显著提高仔猪血清中 T-SOD、GSH-P_x、IgG、IgM 含量, 显著降低 LPO 含量, 且这种抗氧化和免疫增强作用和用药时间、剂量有相关性。

关键词: 卡介菌多糖核酸; 抗氧化; 免疫活性; 断奶仔猪

中图分类号: S858.28 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)04-0152-03

卡介菌多糖核酸 (BCG-PSN) 是从卡介菌中经热酚法处理后提取的新型免疫调节剂, 含有多糖、核酸等多种免疫活性物质。BCG-PSN 具有免疫调节及抗炎作用, 在改善免疫功能、抗过敏、抗感染方面具有良好疗效^[1-2]。仔猪断奶是一个较强的应激, 包括仔猪与母猪隔离, 新群体形成, 从吃母乳转成吃饲料, 环境小气候改变等。仔猪断奶常伴有消化系统紊乱、免疫功能低下、严重腹泻、生长停滞甚至死亡, 给生产造成巨大经济损失^[3]。虽然 BCG-PSN 对机体有免疫调节功能, 但在仔猪断奶应激模式下是否具有免疫增强作用, 以及能否降低仔猪腹泻率却未曾见报道。本研究以断奶仔猪为对象, 研究了 BCG-PSN 对断奶仔猪腹泻指标、抗氧化和免疫功能的影响, 旨在为解决生产上由于断奶所产生的一系列问题提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物

28 日龄姜曲海猪断奶仔猪 96 头, 购于江苏农牧科技职业学院姜曲海种猪场, 公母各半, 常规饲养, 并按分组要求给予药物。

1.2 试剂与仪器

BCG-PSN 为浙江万马药业有限公司产品, 批号: 20110410, 其中多糖核酸含量不少于 0.3 g/L; 酶标仪, 美国 Biotek 公司产品, 型号: ELX800; 紫外可见分光光度计, 日本日立公司产品, 型号: U-2910; 超氧化物歧化酶 (SOD)、脂质过氧化物 (LPO)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-P_x)、IgG、IgM 检测试剂盒购于南京建成生物工程研究所。

1.3 试验设计

将 96 头断奶仔猪随机分为 4 组, 每组 3 圈, 每圈 8 头, 分别为 BCG-PSN 高剂量组 (Ⅰ组, 60 μg/kg), BCG-PSN 中剂量组 (Ⅱ组, 30 μg/kg), BCG-PSN 低剂量组 (Ⅲ组,

15 μg/kg)、空白对照组 (Ⅳ组), 空白对照组用生理盐水代替 BCG-PSN。每组受试猪进行连续 7 d 注射给药, 首次用药前每头猪空腹称重, 以确定给药量。于首次用药前以及用药后 5、10、15、20 d, 在每圈随机选取仔猪 5 头, 每组 15 头, 前腔静脉采血, 分离血清, 检测相应指标, 试验期共 20 d。

1.4 检测指标

1.4.1 观察指标 试验期间每天观察受试猪的精神状态、食欲、粪便、发病、死亡等情况。试验结束后对每头猪再次称重, 以确定增重情况。按下式计算腹泻频率:

腹泻频率 = $\frac{\sum (\text{腹泻仔猪数} \times \text{仔猪腹泻时间})}{(\text{试验仔猪数} \times \text{正试期时间})} \times 100\%$ 。

1.4.2 抗氧化指标检测 用羟胺法测定血清中总超氧化物歧化酶 (T-SOD) 含量, LPO、GSH-P_x 含量检测方法严格按照试剂盒说明进行检测。

1.4.3 免疫球蛋白检测 用免疫抑制法测定血清中 IgG、IgM 含量。

1.5 数据分析

试验数据用 SPSS 18.0 软件进行统计和方差分析。

2 结果与分析

2.1 观察指标

在整个试验期间, 各试验组猪未见明显的异常临床表现, 采食、行动、精神状态、呼吸等均正常, 部分猪腹泻。

由表 1 可以看出, 在断奶仔猪用药前和用药后, 各试验组间平均增重未见显著差异 ($P > 0.05$), 但 BCG-PSN 高剂量组、中剂量组的平均增重要大于对照组。

表 1 BCG-PSN 对断奶仔猪增重的影响

组别	平均体重 (kg)		平均增重 (kg)
	28 日龄	48 日龄	48 日龄
Ⅰ组	7.34 ± 0.92	14.54 ± 1.53	7.20 ± 1.04
Ⅱ组	7.86 ± 1.70	14.75 ± 0.91	6.89 ± 0.75
Ⅲ组	8.29 ± 2.23	14.15 ± 2.12	5.86 ± 1.07
Ⅳ组	8.04 ± 1.56	13.95 ± 2.67	5.91 ± 1.76

由表 2 可知, 在试验 20 d 时, BCG-PSN 高剂量组、中剂

收稿日期: 2013-08-25

基金项目: 江苏农牧科技职业学院横向课题 (编号: PT1209)。

作者简介: 於 敏 (1982—), 女, 江苏南京人, 硕士, 讲师, 主要从事免疫增强剂开发及病理学研究。E-mail: 42019802@qq.com。

量组的断奶仔猪腹泻频率显著低于对照组 ($P < 0.05$) ; BCG - PSN 低剂量组断奶仔猪腹泻频率与对照组差异不显著,但数值有所下降。

表 2 试验 20 d 时 BCG - PSN 对断奶仔猪腹泻频率的影响	
组别	腹泻频率 (%)
I 组	3.50 ± 0.57b
II 组	4.16 ± 0.72b
III 组	5.83 ± 1.30ab
IV 组	7.50 ± 1.04a

注:同列数字后不同大写、小写字母分别表示在 0.01、0.05 水平上差异显著。下同。

表 3 BCG - PSN 对断奶仔猪血清中 T - SOD 含量的影响					
组别	T - SOD 含量 (U/mL)				
	用药前	用药后 5 d	用药后 10 d	用药后 15 d	用药后 20 d
I 组	87.27 ± 14.03	72.89 ± 9.02ab	97.04 ± 6.94ab	119.25 ± 5.19a	76.58 ± 10.63
II 组	66.18 ± 14.51	94.55 ± 4.07a	105.05 ± 2.71a	110.04 ± 7.53a	78.32 ± 17.51
III 组	57.84 ± 19.84	80.82 ± 12.76ab	99.45 ± 3.67ab	114.01 ± 8.81a	87.92 ± 5.56
IV 组	81.46 ± 10.17	68.46 ± 6.29b	88.78 ± 4.13b	81.46 ± 12.93b	97.07 ± 3.61

由表 4 可以看出,在用药前,各试验组断奶仔猪血清中 GSH - P_x 含量间没有显著差异;用药后 5 d,BCG - PSN 高剂量组断奶仔猪血清中 GSH - P_x 含量和对照组差异显著 ($P < 0.05$) ;用药后 10 d,BCG - PSN 高剂量组断奶仔猪血清中

2.2 BCG - PSN 对断奶仔猪抗氧化指标的影响

由表 3 可以看出,用药前各试验组断奶仔猪血清 T - SOD 含量没有显著差异;用药后 5 d,BCG - PSN 中剂量组断奶仔猪血清中 T - SOD 含量和对照组差异显著 ($P < 0.05$) ;用药后 10 d,BCG - PSN 中剂量组断奶仔猪血清中 T - SOD 含量和对照组仍差异显著 ($P < 0.05$) ,其他 2 组与对照组之间没有显著差异;用药后 15 d,BCG - PSN 高剂量组、中剂量组、低剂量组断奶仔猪血清中 T - SOD 含量和对照组间都有显著差异 ($P < 0.05$) ,但各用药组间差异不显著;用药后 20 d,各试验组断奶仔猪血清中 T - SOD 含量间没有显著差异。

GSH - P_x 含量和对照组差异极显著 ($P < 0.01$) ;用药后 15 d,BCG - PSN 高剂量组断奶仔猪血清中 GSH - P_x 含量和对照组差异显著 ($P < 0.05$) ;用药后 20 d,各试验组断奶仔猪血清中 GSH - P_x 含量间则没有显著差异。

表 4 BCG - PSN 对断奶仔猪血清中 GSH - P _x 含量的影响					
组别	GSH - P _x 含量 (U/L)				
	用药前	用药后 5 d	用药后 10 d	用药后 15 d	用药后 20 d
I 组	1 341.53 ± 30.65	1 270.76 ± 20.17a	1 258.97 ± 21.51A	1 133.33 ± 21.69a	1 071.69 ± 19.32
II 组	1 130.76 ± 112.28	1 138.46 ± 58.64ab	1 169.23 ± 63.97AB	1 087.69 ± 59.60ab	1 077.69 ± 43.31
III 组	1 183.07 ± 152.08	1 055.38 ± 51.56ab	1 153.84 ± 96.07AB	1 035.38 ± 41.65ab	1 030.38 ± 29.87
IV 组	1 010.76 ± 78.07	992.31 ± 122.89b	1 049.23 ± 48.86B	983.07 ± 49.45b	1 112.31 ± 39.79

由表 5 可以看出,在用药前,各试验组断奶仔猪血清中 LPO 含量间没有显著差异;用药后 5 d,BCG - PSN 中剂量组、低剂量组断奶仔猪血清中 LPO 含量和对照组差异显著 ($P < 0.05$) ;用药后 10 d,BCG - PSN 高剂量组、中剂量组、低剂量

组断奶仔猪血清中 LPO 含量和对照组均差异显著 ($P < 0.05$) ,但各用药组间差异不显著;用药后 15、20 d,各试验组断奶仔猪血清中 LPO 含量之间没有显著差异。

表 5 BCG - PSN 对断奶仔猪血清中 LPO 含量的影响					
组别	LPO 含量 (μmol/L)				
	用药前	用药后 5 d	用药后 10 d	用药后 15 d	用药后 20 d
I 组	13.65 ± 6.18	10.45 ± 4.49ab	0.56 ± 0.07b	1.15 ± 0.48	1.59 ± 1.17
II 组	19.66 ± 8.67	3.38 ± 1.13b	0.57 ± 0.15b	1.84 ± 0.75	1.24 ± 0.45
III 组	18.11 ± 11.59	6.63 ± 0.56b	0.45 ± 0.11b	0.85 ± 0.11	0.88 ± 0.21
IV 组	24.85 ± 9.09	17.72 ± 13.54a	1.04 ± 0.23a	1.18 ± 0.31	3.17 ± 1.84

2.3 BCG - PSN 对断奶仔猪血清免疫球蛋白的影响

由表 6 可以看出,在用药前,各试验组断奶仔猪血清中 IgG 含量间没有显著差异;用药后 5 d,BCG - PSN 高剂量组断奶仔猪血清中 IgG 含量和对照组差异显著 ($P < 0.05$) ;用药后 10 d,BCG - PSN 高剂量组断奶仔猪血清中 IgG 含量和其他 3 组差异显著 ($P < 0.05$) ;用药后 15 d,对照组断奶仔猪血清中 IgG 含量和其他 3 组差异显著 ($P < 0.05$) ,但各用药组间没有差异;用药后 20 d,BCG - PSN 高剂量组断奶仔猪血清

中 IgG 含量和 BCG - PSN 低剂量组、对照组差异显著 ($P < 0.05$) 。

由表 7 可以看出,在用药前,各试验组断奶仔猪血清中 IgM 含量间没有显著差异;用药后 5 d,BCG - PSN 高剂量组断奶仔猪血清中 IgM 含量和对照组差异显著 ($P < 0.05$) ,其他 2 组与对照组没有显著差异;用药后 10 d,BCG - PSN 高剂量组断奶仔猪血清中 IgM 含量和对照组差异显著 ($P < 0.05$) ;用药后 15、20 d,各组断奶仔猪血清中 IgM 含量间没有

表 6 BCG - PSN 对断奶仔猪血清中 IgG 含量的影响

组别	<i>D</i> _{340 nm}				
	用药前	用药后 5 d	用药后 10 d	用药后 15 d	用药后 20 d
I 组	0.47 ± 0.08	0.77 ± 0.11a	0.71 ± 0.08a	0.64 ± 0.07a	0.54 ± 0.07a
II 组	0.39 ± 0.09	0.51 ± 0.12ab	0.45 ± 0.10b	0.51 ± 0.07a	0.43 ± 0.06ab
III 组	0.44 ± 0.09	0.49 ± 0.08ab	0.38 ± 0.04b	0.56 ± 0.04a	0.29 ± 0.02b
IV 组	0.37 ± 0.11	0.35 ± 0.09b	0.38 ± 0.04b	0.36 ± 0.04b	0.27 ± 0.05b

表 7 BCG - PSN 对断奶仔猪血清中 IgM 含量的影响

组别	<i>D</i> _{340 nm}				
	用药前	用药后 5 d	用药后 10 d	用药后 15 d	用药后 20 d
I 组	0.18 ± 0.02	0.52 ± 0.13a	0.54 ± 0.14a	0.64 ± 0.15	0.42 ± 0.08
II 组	0.16 ± 0.02	0.38 ± 0.13ab	0.44 ± 0.13ab	0.33 ± 0.15	0.18 ± 0.05
III 组	0.23 ± 0.08	0.46 ± 0.13ab	0.26 ± 0.11ab	0.51 ± 0.11	0.33 ± 0.11
IV 组	0.24 ± 0.13	0.15 ± 0.01b	0.14 ± 0.06b	0.33 ± 0.13	0.26 ± 0.09

显著差异。

3 结论与讨论

仔猪断奶后消化系统和免疫器官发育不完善,消化道中酶和胃酸的分泌量不足,正常的肠道微生态系统尚未建立,往往出现食欲差、消化不良、生长迟滞、饲料利用率低、抗病力弱、腹泻、水肿等,给养殖业带来巨大经济损失^[4]。本研究表明,BCG - PSN 处理下仔猪的腹泻频率显著下降,平均增重也比对照组有提高,这可能跟 BCG - PSN 提高机体抗氧化能力和增强免疫力有关。

动物机体内 SOD、GSH - P_x 在清除自由基、氧化损伤、维持细胞结构方面起着重要作用。在应激状态下,血液中 SOD、GSH - P_x 活性降低,而脂质过氧化物 LPO 含量升高^[5-6]。本研究中,随着 BCG - PSN 添加水平提高,给药后 5、10、15 d,血清中 GSH - P_x、T - SOD 活性明显升高,与对照组差异显著,添加 60、30 μg/kg 的 BCG - PSN 能改善仔猪断奶后抗氧化能力,缓解应激造成的过氧化损伤,有利于仔猪生长。本研究中,用药前,各试验组仔猪血清中 LPO 含量没有显著差异;给药 5、10 d 后,用药组仔猪血清中 LPO 含量显著下降,说明 BCG - PSN 能够协同 SOD、GSH - P_x 清除体内脂质过氧化物,抑制膜脂质过氧化作用,减少自由基对机体的病理损伤,具有一定的抗氧化作用。

IgG 是血液中含有最高的免疫球蛋白,在抗体介导的防卫机理中占主要地位,IgG 比其他免疫球蛋白更易逸出血管,参加体表和组织间的防卫^[7]。本研究表明,BCG - PSN 用药组仔猪血清 IgG 含量在断奶应激后缓慢上升,但对照组却下降,二者间差异显著,说明对照组仔猪受断奶应激的影响较大,而 BCG - PSN 能减轻断奶应激,使机体在短时间内建立免疫保护。IgM 由浆细胞分泌,在大多数家畜血清中的含量

仅次于 IgG^[8]。本研究中断奶前供试猪血清 IgM 含量差异不显著;用药后 5、10 d,BCG - PSN 用药组仔猪血清 IgM 含量明显增高,而对照组则下降,二者间差异显著;用药后 15、20 d,虽然用药组和对照组没有显著差异,但用药组 IgM 含量维持在高水平,表明 BCG - PSN 能够提高机体免疫球蛋白的含量,且这种免疫增强作用和用药剂量相关,本研究中以高剂量组效果最为明显。

参考文献:

[1] Sun J, Hou J, Li D, et al. Enhancement of HIV - 1 DNA vaccine immunogenicity by BCG - PSN, a novel adjuvant [J]. Vaccine, 2013, 31(3): 472 - 479.

[2] 宁云山,姜德建,刘珊珊. 卡介苗及卡介菌多糖核酸提取物的免疫调节作用及临床应用[J]. 中国生物制品学杂志, 2008, 21(1): 74 - 77.

[3] 边传周,王老七. 黄芪多糖对断奶仔猪免疫功能及腹泻的影响[J]. 畜牧与兽医, 2005, 37(1): 10 - 12.

[4] 席鹏彬,林映才,蒋宗勇,等. 谷氨酰胺二肽对断奶仔猪生长、免疫、抗氧化力和小肠粘膜形态的影响[J]. 动物营养学报, 2007, 19(2): 135 - 141.

[5] 廖晓霞,叶均安. 早期断奶仔猪的断奶应激与腹泻研究[J]. 家畜生态学报, 2005, 26(3): 74 - 77.

[6] 胡 鹏,占秀安,郄彦昭,等. 母猪猪饲料添加 DL - 硒代蛋氨酸对后代乳猪胰脏硒含量、抗氧化能力、消化酶活性以及 GSH - P_x mRNA 表达的影响[J]. 动物营养学报, 2010, 22(5): 1361 - 1366.

[7] 邱小田,张 芸,刘培琼,等. 品种与季节和日龄对仔猪血清中 IgG 含量的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2006, 42(5): 13 - 15.

[8] 辛凌霄,董 静,王宏宇,等. 卡介菌多糖核酸对 IBDV 感染鸡的免疫活性研究[J]. 南京农业大学学报, 2010, 33(6): 75 - 80.