

杨庆芳,杨康林,姚 静,等. 3 种中药多糖对鸡新城疫疫苗免疫效果的影响[J]. 江苏农业科学,2015,43(4):220-221,225.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.04.080

3 种中药多糖对鸡新城疫疫苗免疫效果的影响

杨庆芳¹, 杨康林², 姚 静³, 蒋春茂^{2,4}

(1. 晋中职业技术学院, 山西晋中 030600; 2. 西藏职业技术学院, 西藏拉萨 850000;

3. 江苏省无锡市生物农业科技服务推广总站, 江苏无锡 214000; 4. 江苏农牧科技职业学院, 江苏泰州 225300)

摘要:14 日龄健康、非免疫罗曼蛋鸡 240 羽, 随机均分为 8 组, 用鸡新城疫疫苗首次免疫和二次免疫前 3 d、当日及后 3 d, 试验组分别灌胃 0.5 mL 高、低剂量黄芪多糖(ASP)、淫羊藿多糖(EPP)和板蓝根多糖(IRPS)溶液, 空白对照组和免疫对照组灌胃等量生理盐水。各组分别于首免后连续 4 周随机取鸡 10 羽称量体质量、测定抗体效价和 T 淋巴细胞增殖变化。结果表明, 3 种中药多糖均可促进鸡体质量增加, 提高新城疫 HI 抗体效价, 促进外周血 T 淋巴细胞增殖, 其中低剂量的 IRPS 效果最好。

关键词:黄芪多糖(ASP); 淫羊藿多糖(EPP); 板蓝根多糖(IRPS); 新城疫疫苗; 抗体效价; T 淋巴细胞

中图分类号: S858.312.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)04-0220-02

多糖是自然界含量丰富的重要生物大分子之一, 与蛋白质、核酸和脂类构成了最基本的 4 类生命物质^[1], 其结构和功能受到了广泛关注, 成为继蛋白质和核酸之后探索生命的第三个里程碑^[2]。近年来研究发现, 中药多糖作为中药的活性成分, 其最重要的功能是具有免疫调节活性^[3]。本研究从黄芪、淫羊藿和板蓝根 3 种中药中提取多糖, 作为佐剂配合新城疫疫苗免疫雏鸡, 测定鸡增重率、血清抗体效价和外周血 T 淋巴细胞增殖的动态变化, 旨在为中药多糖类免疫增强剂开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

黄芪、淫羊藿和板蓝根购于当地医药公司, 分别用水提醇沉法提取黄芪多糖(ASP)、淫羊藿多糖(EPP)和板蓝根多糖(IRPS), 硫酸-蒽酮法测定多糖含量分别为 68.5%、63.8% 和 53.4%。各多糖按净含量用去离子水稀释为高剂量(H, 8 mg/mL)及低剂量(L, 4 mg/mL)浓度, 常规高压消毒、备用。

1.2 试验动物与分组

选择健康、非免疫 1 日龄罗曼蛋鸡 240 羽, 随机分为 8 组, 分别为空白对照组(BC 组)、免疫对照组(IC 组)及各中药多糖免疫组(ASP_H 组、ASP_L 组、EPP_H 组、EPP_L 组、IRPS_H 组和 IRPS_L 组), 每组 30 羽。饲养至 14 日龄, 除 BC 组用生理盐水滴鼻、点眼外, IC 组和中药多糖免疫组均用新城疫 IV 苗滴鼻、点眼免疫(2 羽份/羽)进行首免, 于 28 日龄时二免。首免和二免前 3 d、当日及后 3 d, 中药多糖免疫组同时分别灌胃高剂量和低剂量 ASP、EPP 和 IRPS, 每羽 0.5 mL。

1.3 样本采集与项目测定

分别于首免后 7、14、21、28 d, 每组随机取鸡 10 羽, 称量、记录体质量, 计算增重率; 分别于免疫后 7、14、21、28 d 翼下静脉采血 0.5 mL, 分离血清, 用微量血凝抑制法(HI)测定抗体效价^[4]; 心脏采集抗凝血(抗凝剂为柠檬酸钠), 采用 MTT 法^[5], 在酶联免疫仪上测定吸光度 $D_{570\text{ nm}}$, 作为 T 淋巴细胞增殖指标。

1.4 数据处理

运用 SPSS 软件对试验数据进行差异性统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同日龄鸡增重率的变化

由表 1 可见, 免疫后 7 d 时, 各组鸡增重率无统计学差异($P > 0.05$); 免疫后 14 d 时, 各给药组增重率显著高于空白对照组($P < 0.05$), 但与免疫对照组不存在显著差异($P > 0.05$), 且免疫对照组与空白对照组间也无统计学差异存在($P > 0.05$); 免疫后 21 d 和 28 d, 除 ASP_H 组外, 其他各给药组增重率均显著高于免疫对照和空白对照组($P < 0.05$), 但免疫对照和空白对照组无统计学差异存在($P > 0.05$)。

2.2 不同日龄鸡血清抗体效价的变化

由表 2 可见, 免疫后 7 d 和 14 d 时, 各免疫组抗体效价无显著差异存在($P > 0.05$), 但均显著高于空白对照组($P < 0.05$); 免疫后 21 d 和 28 d 时, 中药多糖免疫组抗体效价均显著高于免疫对照和空白对照组($P < 0.05$); 其中 21 d 时, ASP_H、ASP_L 组和 IRPS_L 组抗体效价显著高于其他给药组($P > 0.05$); 28 d 时, 除 IRPS_H 剂量组外, 其他各给药组间无统计学差异($P > 0.05$)。表明, 适当浓度的中药多糖可提高疫苗免疫的抗体效价, 但以 ASP_L 和 IRPS_L 的免疫增强效果较好。

2.3 不同日龄鸡外周血 T 淋巴细胞增殖的变化

由表 3 可见, 免疫后 7 d, 除 ASP_H 和 ASP_L 组外, 其他给药组 $D_{570\text{ nm}}$ 值显著高于空白对照组和免疫对照组($P < 0.05$); 各给药组相比, 除 ASP_H 组外, 其余各组均无显著差异($P > 0.05$)。免疫后 14、21、28 d, 各给药组 $D_{570\text{ nm}}$ 值均显著高于空

收稿日期: 2015-01-06

基金项目: 西藏自然科学基金(编号: ZJ2013018); 江苏农牧科技职业学院“凤凰人才工程”。

作者简介: 杨庆芳(1975—), 女, 山西介休人, 硕士, 讲师, 主要从事动物医学教学及科研工作。E-mail: 474861982@qq.com。

通信作者: 蒋春茂, 教授。E-mail: 1836340739@qq.com。

表 1 各组鸡免疫后不同日龄增重率变化

组别	首免后不同时间增重率(%)			
	7 d	14 d	21 d	28 d
BC 组	89.48 ± 3.84a	176.31 ± 4.72b	273.19 ± 4.87b	347.46 ± 5.64b
IC 组	87.53 ± 2.56a	185.48 ± 3.92ab	277.38 ± 3.37b	339.52 ± 4.68b
ASP _H 组	85.62 ± 3.49a	192.87 ± 4.46a	296.84 ± 4.66a	392.65 ± 5.71ab
ASP _L 组	88.17 ± 3.20a	194.42 ± 3.67a	306.58 ± 4.59a	416.37 ± 4.28a
EPP _H 组	92.36 ± 4.74a	190.49 ± 3.26a	305.36 ± 4.48a	412.41 ± 5.57a
EPP _L 组	89.44 ± 3.58a	184.74 ± 3.78a	312.47 ± 5.32a	430.66 ± 5.62a
IRPS _H 组	86.74 ± 3.72a	196.58 ± 4.83a	310.58 ± 5.67a	405.06 ± 5.27a
IRPS _L 组	88.46 ± 2.07a	198.26 ± 4.35a	319.46 ± 5.23a	420.37 ± 4.79a

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。表 2、表 3 同。

表 2 各组鸡免疫后不同日龄血清 HI 抗体效价变化

组别	首免后不同时间 HI 抗体效价(log ₂)			
	7 d	14 d	21 d	28 d
BC 组	2.67 ± 0.34c	2.53 ± 0.26c	2.45 ± 0.33d	2.41 ± 0.27d
IC 组	3.76 ± 0.47ab	4.67 ± 0.35ab	5.76 ± 0.24c	4.83 ± 0.41c
ASP _H 组	3.82 ± 0.35ab	4.85 ± 0.33ab	7.35 ± 0.43a	5.66 ± 0.35ab
ASP _L 组	4.02 ± 0.51a	5.38 ± 0.36a	7.85 ± 0.54a	6.18 ± 0.41a
EPP _H 组	4.13 ± 0.62a	5.23 ± 0.45a	6.72 ± 0.52b	5.54 ± 0.26ab
EPP _L 组	4.26 ± 0.57a	4.97 ± 0.29ab	6.92 ± 0.44b	5.73 ± 0.35ab
IRPS _H 组	3.80 ± 0.45ab	5.28 ± 0.36a	7.26 ± 0.36ab	5.46 ± 0.42b
IRPS _L 组	3.94 ± 0.31ab	4.75 ± 0.46ab	7.63 ± 0.49a	6.27 ± 0.37a

表 3 各组鸡免疫后不同日龄淋巴细胞增殖的动态变化

组别	首免后不同时间吸光度($D_{570\text{ nm}}$)			
	7 d	14 d	21 d	28 d
BC 组	0.195 ± 0.022bc	0.196 ± 0.015c	0.187 ± 0.024d	0.214 ± 0.016d
IC 组	0.189 ± 0.017bc	0.195 ± 0.014c	0.261 ± 0.021c	0.304 ± 0.021c
ASP _H 组	0.217 ± 0.025b	0.259 ± 0.016b	0.338 ± 0.035b	0.393 ± 0.024b
ASP _L 组	0.224 ± 0.019ab	0.281 ± 0.017ab	0.386 ± 0.041a	0.445 ± 0.048a
EPP _H 组	0.235 ± 0.037a	0.274 ± 0.026b	0.352 ± 0.046ab	0.412 ± 0.036ab
EPP _L 组	0.267 ± 0.029a	0.326 ± 0.014a	0.389 ± 0.029a	0.427 ± 0.031a
IRPS _H 组	0.237 ± 0.033a	0.277 ± 0.028b	0.361 ± 0.027ab	0.419 ± 0.023ab
IRPS _L 组	0.257 ± 0.048a	0.318 ± 0.027a	0.415 ± 0.026a	0.452 ± 0.046a

白对照组和免疫对照组($P < 0.05$);各给药组相比,免疫后 14 d 时各低剂量组间无显著差异,各高剂量组及 ASP_L 间也无显著差异($P > 0.05$);免疫后 21 d 和 28 d 时,除 ASP_H 组外,各给药组间无统计学差异($P > 0.05$)。

3 讨论

许多研究表明,中药多糖具有促生长作用。王学斌等研究表明,APS 粉剂和 APS 注射液具有促进雏鸡生长的作用^[6]。梁英等研究也表明,饲料中添加适量的黄芩多糖,可提高肉仔鸡的生长性能^[7]。本试验结果表明,除 ASP_H 组外,其他各给药组鸡增重率显著增加。可能较高剂量的 ASP 与脂肪络合抑制脂肪吸收,进而降低了鸡的生长性能^[8]。

血清抗体效价反映机体 B 淋巴细胞介导的特异性体液免疫应答。抗体效价越高,鸡对抗病毒的能力增强,鸡群抗感染能力也越强^[9]。本试验结果表明,适量的中药多糖能显著增强雏鸡的体液免疫,提高 ND 疫苗特异性抗体效价,增强鸡

抗 ND 感染的能力,该结果与邱妍等^[10]和 Wang 等^[11]的研究结果一致。

T 淋巴细胞是机体免疫调节枢纽,其增殖反映机体细胞免疫水平^[12]。T 细胞的免疫活性与机体抗病毒能力相关,当 T 细胞活性功能降低时,各种细胞因子(如白介素、干扰素及肿瘤因子等)生成减少,且 T 辅助性淋巴细胞辅助 B 细胞抗体生成作用受到影响^[13]。本试验结果表明,3 种中药多糖均可促进 T 淋巴细胞增殖,并呈现一定的量效和时效关系,表明适量的中药多糖能促进 T 淋巴细胞增殖。

本试验以已经应用于动物生产中的黄芪多糖为参照,观察了 EPP 和 IRPS 的免疫增强作用,结果表明,中药多糖的促生长和免疫调节作用呈现一定的量效关系,低剂量 IRPS 的促增重和免疫增强作用最好,高剂量 IRPS 和 EPP 也具有一定的促增重和免疫增强作用。因此,在应用和开发中药多糖时,需进行进一步的有效剂量筛选。

株在麦康凯琼脂上形成无色、圆形、隆起、光滑湿润、边缘整齐
的中等大小菌落;三糖铁琼脂斜面培养基层变黑,斜面变
红,同时产酸、产气;在伊红美蓝琼脂上形成无色菌落;生化鉴
定分离菌可引起葡萄糖产酸、产气;赖氨酸、鸟氨酸、硫化氢、
枸橼酸盐、山梨醇、木胶糖、动力和产气阳性,靛基质、苯丙氨
酸、葡萄糖酸盐、尿素、侧金花醇、甲基红、棉子糖阴性,对照
《肠杆菌科细菌生化鉴定编码册》判定为鼠伤寒沙门氏菌。

2.3 药敏试验

采用 K-B 法进行,具体结果见表 1。

表 1 药敏试验结果

药物名称	抑菌圈直径(mm)	
	鸭沙门氏菌	鸭大肠杆菌
磺胺甲基异恶唑	6	5
洁霉素	6	0
黏杆菌素	25	17
左旋氧氟沙星	27	23
丁胺卡那	24	18
氟苯尼考	12	10
头孢曲松	20	21
庆大霉素	18	14
恩诺沙星	22	24
新霉素	18	19
强力霉素	9	0

注:抑菌圈直径 10 mm 以下为耐药(不敏感);10~15 mm 为中
度敏感;15 mm 以上为高度敏感。

2.4 人工感染试验结果

大肠杆菌试验组接种 24 h 后,开始出现精神沉郁、行动
迟缓症状,72~120 h 全部发病、部分病鸭死亡。剖检死鸭有
或轻或重的纤维素性心包炎、气囊炎、肝周炎;沙门氏菌试验
组接种 24 h 后,开始出现精神沉郁、腹泻症状,72 h 后全部发
病,部分出现死亡,剖检死鸭可见肝脾肿大、坏死及脑膜充血。
对死亡鸭进行细菌分离、染色镜检,结果与前期指标符合。

(上接第 221 页)

参考文献:

[1]Lowe J B,Marth J D. A genetic approach to mammalian glycan func-
tion[J]. Annual Review of Biochemistry,2003,72(1):643-691.
[2]Bertozi C R,Kiessling L L. Chemical glycobiology[J]. Science,
2001,291(5512):2357-2364.
[3]谢明勇,聂少平. 天然产物活性多糖结构与功能研究进展[J].
中国食品学报,2010,10(2):1-11.
[4]Thekisoe M M,Mbati P A,Bisschop S P. Different approaches to the
vaccination of free ranging village chickens against Newcastle disease
in Qwa-Qwa, South Africa[J]. Veterinary Microbiology,2004,101
(1):23-30.
[5]郭振环,胡元亮,马霞,等. 硫酸化香菇多糖对新城疫疫苗免疫
效果的影响[J]. 南京农业大学学报,2010,33(1):76-80.
[6]王学斌,陈功义,魏战勇,等. 黄芩多糖粉剂和注射剂对雏鸡免疫
功能和生长的影响比较[J]. 中国家禽,2007,29(3):21-23.
[7]梁英,姜宁,何雯娟,等. 黄芩多糖对肉仔鸡生长性能和免疫

3 结论与讨论

药敏试验结果显示,分离菌对头孢曲松、黏杆菌素、左旋
氧氟沙星、恩诺沙星和新霉素高度敏感;对氟苯尼考中敏;对
磺胺甲基异恶唑、洁霉素和强力霉素耐药。这和当地养殖户
喜欢使用氟苯尼考+强力霉素或复方磺胺的用药方案有关。
而分离菌虽然对左旋氧氟沙星和恩诺沙星高度敏感,但由于
鸭群在使用氟喹诺酮类药物以后,若剂量掌握不好,容易发生
光敏作用而导致鸭群发生“喙畸形或变形”,因此养殖户使用
这些药物比较谨慎。可见,定期开展常见病原菌的耐药性监
测对于指导养殖户科学用药具有重要意义。

鸭大肠杆菌病和鸭沙门氏菌病是雏鸭常发病,具有较高
的发病率和死亡率。信阳市是河南省主要的水禽集散地,近
年来随着养殖规模的不断扩大和养殖品种的复杂化,以及种
源病原净化不彻底等因素,当地的养殖环境特别是水体环境
逐渐恶化,再加上饲养管理不规范、抗菌药物的不合理使用,
导致鸭大肠杆菌病、鸭沙门氏菌病和鸭疫里氏杆菌病等疾
病的发生呈现常态化、复杂化。而一些新发传染病如鸭脾坏
死症在实验室接诊的病例中出现的比例不断扩大,更增加了疾
病诊断和防控的难度^[4]。综合以上因素,雏鸭大肠杆菌病、
沙门氏菌病等传染病的防治有赖于洁净的种源、规范的饲养
环境和饲养管理措施、血清型对应的免疫接种程序以及规范
的药物使用制度。

参考文献:

[1]蒋新华,张文波,熊莉娟,等. 一株鸭致病性大肠杆菌的分离鉴定
及耐药分析[J]. 中国家禽,2012,34(5):20-22.
[2]陈伯伦. 鸭病[M]. 北京:中国农业出版社,2008.
[3]桂炳东,孙敬,徐建民. 细菌药物敏感性试验测定手册[M]. 南
昌:江西科学技术出版社,2001.
[4]丁孟建,陈绩,赵青剑,等. 雏鸭沙门氏菌病原分离鉴定及耐
药性检测[J]. 中国家禽,2013,35(11):45-46.
功能的影响[J]. 动物营养学报,2010,22(4):1031-1036.
[8]赫刚. 壳聚糖对肉仔鸡生长性能与免疫功能的影响[J]. 中国
饲料,2005(24):19-21.
[9]薛峰,吴圣龙,唐应华,等. 不同免疫程序的鸡群新城疫和禽流
感抗体水平与免疫保护之间的相关性试验[J]. 中国兽医杂志,
2005,41(9):23-25.
[10]邱妍,崔保安,胡元亮,等. 4 种多糖对免疫雏鸡抗体效价和 T
淋巴细胞的影响[J]. 南京农业大学学报,2008,31(1):77-81.
[11]Wang Deyun,Hu Yuanliang,Sun Junling,et al. Comparative study
on adjuvanticity of compound Chinese herbal medicinal ingredients
[J]. Vaccine,2005,23(28):3704-3708.
[12]Kim H M,Han S B,Oh G T,et al. Stimulation of humoral and cell
mediated immunity by polysaccharide from mushroom *Phellinus linte-*
us[J]. International Journal of Immunopharmacology,1996,18(5):
295-303.
[13]王德云,胡元亮,张宝康,等. 几种中药成分与 IL-2 免疫协同
作用的比较[J]. 南京农业大学学报,2005,28(3):140-142.