

陈晓兰,杨海峰,张 龙. 桑杜口服液增强猪蓝耳疫苗免疫效果[J]. 江苏农业科学,2018,46(22):182-184.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.22.043

桑杜口服液增强猪蓝耳疫苗免疫效果

陈晓兰,杨海峰,张 龙

(江苏农牧科技职业学院,江苏泰州 225300)

摘要:拟考察桑杜口服液对猪蓝耳疫苗的免疫效果。选择100头健康仔猪,平均分为桑杜口服液高、中、低剂量组,免疫对照组和空白对照组。33日龄首次免疫接种猪蓝耳疫苗,1个月后进行二免,每次免疫前3d灌胃桑杜口服液,每天1次,连用7d。分别于首免后7、14、21、28d采血,测定血清中猪蓝耳病特异性抗体水平,以及首免后7、14、21d血清IL-2、IFN- γ 、IgG含量,并于30日龄和60日龄时称体质量,比较各组指标的变化。结果表明,桑杜口服液高、中剂量组在首免后大部分时间均能显著提高血清中猪蓝耳病特异性抗体水平与血清IL-2、IFN- γ 、IgG含量,并且中剂量组具有显著的促生长作用。表明桑杜口服液高、中剂量口服给药可显著提高猪蓝耳病疫苗免疫效果,可开发为中药免疫增强剂。

关键词:桑杜口服液;猪蓝耳疫苗;免疫

中图分类号: S858.285.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)22-0182-03

猪蓝耳病是由猪繁殖与呼吸综合征病毒引起的猪繁殖与呼吸障碍性疾病,又称猪繁殖与呼吸综合征(porcine reproductive and respiratory syndrome,简称PRRS),该病以繁殖障碍、呼吸困难、耳朵蓝紫色为主要症状,严重危害养猪业的发展,在发病过程中还会并发其他传染病^[1]。该病的发生没有明显的季节性,通常经呼吸道传播,患病猪和带毒猪均可

以向空气中排毒,严重污染周围的环境,若消毒措施做得不到位,病毒能在猪场内存长期存在。气候骤变或未经检测直接引进猪种,是本病诱因^[2]。

目前该病没有特殊的治疗方法,预防被认为是最为有效的手段。而蓝耳疫苗在免疫过程中,经常会出现免疫失败,疫苗免疫效果差是其中最为重要的原因。因此,本研究在药理试验基础上,选择桑杜口服液(MP-EUP oral solution)作为免疫增强剂,观察其对猪蓝耳疫苗免疫效果的影响。

收稿日期:2017-06-28

基金项目:江苏省自然科学基金(编号: BK20161368);江苏省产学研合作项目(编号: BY2015066-01);江苏省高校自然科学研究面上项目(编号: 16KJB230005);江苏农牧科技职业学院重点项目(编号: NSFZD1404)。

作者简介:陈晓兰(1979—),女,江苏海安人,博士,副教授,从事中兽医药理及新药开发研究。E-mail: cxl7972563@163.com。

通信作者:张 龙,博士,教授,主要从事药物新剂型研究工作。E-mail: longz98@163.com。

对平武红鸡肉质组成是否有影响仍有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Jung Y, Jeon H J, Jung S, et al. Comparison of quality traits of thigh meat from korean native chickens and broilers[J]. Korean Journal for Food Science of Animal Resources, 2011, 31(5): 684-692.
- [2] 陈国宏,侯水生,吴信生,等. 中国部分地方鸡肌肉肌苷酸含量研究[J]. 畜牧兽医学报, 2000, 31(3): 211-215.
- [3] Knight M I, Daetwyler H D, Hayes B J, et al. An independent validation association study of carcass quality, shear force, intramuscular fat percentage and omega-3 polyunsaturated fatty acid content with gene markers in Australian lamb[J]. Meat Science, 2014, 96(2): 1025-1033.
- [4] 文 杰. 全国肉鸡遗传改良计划(2014—2025)[J]. 北方牧业, 2014(11): 18.
- [5] 林亚秋,徐亚欧,张润锋,等. 藏鸡 *Chemerin* 和 *ChemR23* 基因时序表达及其与肌肉脂肪含量的相关性研究[J]. 畜牧兽医学报, 2015(8): 1290-1299.

1 材料与与方法

1.1 药物和疫苗

猪繁殖与呼吸综合征(porcine reproductive and respiratory syndrome virus, 简称 PRRSV)活疫苗(R98株,批号为1201030),购于江苏南农高科技股份有限公司,根据使用说明在临用前用40 mL灭菌生理盐水进行稀释。

2015(8):1290-1299.

- [6] 余春林,杨朝武,熊 霞,等. 放养模式下不同鸡种屠宰性能,肉质特性及相关基因表达规律研究[J]. 中国家禽, 2016, 38(12): 10-15.
- [7] 贾健斌,越熙和. 食品中氨基酸的测定: GB/T 5009.124—2003[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003: 115-119.
- [8] 陈继兰,文 杰,王述柏,等. 鸡肌肉肌苷酸和肌肉脂肪沉积规律研究[J]. 畜牧兽医学报, 2005, 36(8): 843-845.
- [9] 张小玲,蒋小松,杜华锐,等. 优质鸡肌肉脂肪(IMF)和肌苷酸(IMP)含量比较分析[J]. 中国家禽, 2006, 28(13): 19-21.
- [10] 李庆海,张成先,章学东,等. “光大梅黄1号”黄羽肉鸡的肌肉品质分析[J]. 杭州农业与科技, 2013(6): 31-34.
- [11] 朱仁俊,唐臻睿,李 清,等. 武定鸡肌肉肌苷酸及相关核苷酸含量的比较[J]. 食品研究与开发, 2014, 35(11): 19-22.
- [12] 王爱侠,刘进国,李同树. 黄羽肉鸡肌肉中脂肪酸组成的分析比较[J]. 饲料博览, 2004(3): 1-3.

复方桑杜口服液,是由桑叶多糖和杜仲水提物制成的口服液,总多糖含量为 24 mg/mL,由江苏农牧科技职业学院提供。取适量体积桑杜口服液,将其稀释为 2.4、1.6、0.8 mg/mL,待用。

1.2 试剂与仪器

PRRSV ELISA 抗体检测试剂盒,购自武汉科前生物股份有限公司;Porcine IgG ELISA KIT、Porcine IL-2 ELISA KIT、Porcine IFN- γ ELISA KIT 均购自生工生物工程(上海)股份有限公司;高速冷冻离心机,购自上海安亭科学仪器厂;酶标仪-ELX800,购自美国伯腾仪器有限公司。

1.3 动物及免疫

100 头 30 日龄健康三元杂交仔猪(海安某养殖场),饲喂猪全价饲料。随机分为 5 组,每组 20 头。分组与处理方法见表 1。33 日龄时各免疫组颈部肌注射稀释好的 PRRSV 活疫苗(R98 株),1 mL/头,各给药组分别于免疫前 3 d 开始给药,桑杜口服液高、中、低剂量组分别灌胃总多糖浓度为 2.4、1.6、0.8 mg/mL 的桑杜口服液稀释溶液各 5 mL。连续给药 7 d,首免后 30 d(即 63 日龄时)进行二免(二免方法同首免),二免前 3 d 对 3 个给药组同法给药。

表 1 动物分组及处理

组别	处理方法	给药量 (mg/头)	给药量 (mL)	给药时间 (d)	给药总量 (mg/头)
MP-EUP _H	免疫+灌胃	12	5	7	84
MP-EUP _M	免疫+灌胃	8	5	7	56
MP-EUP _L	免疫+灌胃	4	5	7	28
免疫对照组	免疫				
空白对照组	不免疫				

注:MP-EUP_H 表示桑杜口服液高剂量;MP-EUP_M 表示桑杜口服液中剂量;MP-EUP_L 表示桑杜口服液低剂量。下表同。

表 2 中药复方多糖对免疫猪蓝耳疫苗猪血清抗体效价的影响

组别	血清抗体效价				
	0 d	7 d	14 d	21 d	28 d
MP-EUP _H	1.00 ± 0.58a	9.00 ± 0.58a	8.67 ± 0.33b	11.67 ± 0.58ab	10.67 ± 0.33ab
MP-EUP _M	1.33 ± 0.33a	9.67 ± 0.33a	10.67 ± 0.33a	12.33 ± 0.58a	11.33 ± 0.33a
MP-EUP _L	1.33 ± 0.33a	6.67 ± 0.33b	10.00 ± 0.58b	11.00 ± 1.00bc	10.00 ± 0.58bc
免疫对照组	0.67 ± 0.33a	5.33 ± 0.33c	8.00 ± 0.58b	10.33 ± 0.58c	9.33 ± 0.33c
空白对照组	1.00 ± 0.00a	0.00 ± 0.00d	0.00 ± 0.00c	0.00 ± 0.00d	0.00 ± 0.00d

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),下表同。

2.3 血清 IL-2 浓度的变化

由表 3 可知,猪首次免疫猪蓝耳疫苗后 7 d,桑杜口服液中剂量组血清中的 IL-2 浓度显著高于除高剂量组外的其他各组;在首免后 14 d,中剂量组血清中 IL-2 浓度显著高于其他各组;在首免后 21 d,高、中剂量组血清中 IL-2 浓度显著高于其他各组。

表 3 血清中 IL-2 浓度的变化

组别	IL-2 浓度 (ng/L)		
	7 d	14 d	21 d
MP-EUP _H	0.279 ± 0.005abc	0.322 ± 0.009bc	0.359 ± 0.011a
MP-EUP _M	0.288 ± 0.011a	0.349 ± 0.005a	0.370 ± 0.002a
MP-EUP _L	0.258 ± 0.005d	0.310 ± 0.002cd	0.340 ± 0.001b
免疫对照组	0.211 ± 0.004e	0.293 ± 0.008e	0.322 ± 0.004c
空白对照组	0.147 ± 0.012f	0.151 ± 0.002f	0.166 ± 0.013d

1.4 检测指标

1.4.1 临床体征观察 每天观察记录各组猪的精神状态、采食、饮水、粪便等变化情况。

1.4.2 血清抗体及相关细胞因子含量 猪首次免疫后 7、14、21、28 d,每组随机抽取 4 头猪,进行前腔静脉采血,5 mL/头,制备血清。采用酶联免疫吸附测定法(enzyme-linked immunosorbent assay,简称 ELISA)测定血清中猪蓝耳特异性抗体效价,并测定免疫后 7、14、21 d 各组血清中白介素 2(IL-2)、 γ -干扰素(IFN- γ)、免疫球蛋白 G(IgG)等细胞因子的分泌量。

1.4.3 体质量 分别于 30 日龄和 60 日龄称取各组猪体质量,并计算平均增质量率:增质量率 = [(称量体质量 - 首免前体质量)/首免前体质量] × 100%。

1.5 数据分析

数据以平均值 ± 标准差表示,用 SPSS 18.0 软件进行 Duncan's 多重分析,比较血清抗体、相关细胞因子及体质量变化。

2 结果与分析

2.1 临床体征变化

试验期间,各组猪精神状态良好,采食、饮水正常,粪便正常,未见死亡。

2.2 血清抗体效价的变化

由表 2 可知,在首免前,各组血清特异性抗体效价无显著差异;在首免后 7 d,各给药组的血清抗体效价均显著高于免疫对照组和空白对照组;在首免后 14 d,中剂量组抗体效价显著高于其他各组;在首免后 21、28 d,高、中剂量组均显著高于免疫对照组和空白对照组。

2.4 血清 IFN- γ 浓度的变化

由表 4 可知,猪首次免疫猪蓝耳疫苗后 7、14 d,复方桑杜口服液高、中剂量组血清 IFN- γ 浓度显著高于其他各组;在首免后 21 d,中剂量组血清 IFN- γ 浓度显著高于除高剂量组外的其他各组。

表 4 血清中 IFN- γ 浓度的变化

组别	IFN- γ 浓度 (ng/L)		
	7 d	14 d	21 d
MP-EUP _H	0.219 ± 0.023a	0.231 ± 0.008a	0.237 ± 0.006ab
MP-EUP _M	0.219 ± 0.013a	0.233 ± 0.003a	0.239 ± 0.005a
MP-EUP _L	0.204 ± 0.007b	0.219 ± 0.001b	0.225 ± 0.004b
免疫对照组	0.192 ± 0.010b	0.212 ± 0.004b	0.213 ± 0.006c
空白对照组	0.155 ± 0.016c	0.167 ± 0.018c	0.159 ± 0.013d

2.5 血清 IgG 浓度的变化

由表 5 可知,猪首次免疫猪蓝耳疫苗后 7 d,各免疫组血

清 IgG 浓度显著高于空白对照组;在首免后 14 d, 桑杜口服液所有给药组血清 IgG 浓度显著高于免疫对照组和空白对照组;在首免后 21 d, 桑杜口服液组中剂量组血清 IgG 浓度显著高于免疫对照组和空白对照组。

表 5 血清中 IgG 浓度的变化

组别	IgG 浓度 (mg/mL)		
	7 d	14 d	21 d
MP-EUP _H	5.802 ± 0.011ab	7.006 ± 0.043a	9.187 ± 0.090ab
MP-EUP _M	5.898 ± 0.460ab	7.476 ± 0.519a	9.280 ± 0.111a
MP-EUP _L	5.718 ± 0.146ab	6.441 ± 0.499ab	8.357 ± 0.067abc
免疫对照组	4.954 ± 0.095b	4.892 ± 0.315c	7.868 ± 0.886bc
空白对照组	2.904 ± 0.750c	3.064 ± 0.111d	5.666 ± 0.690d

2.6 各组猪体质量的变化

由表 6 可知, 各组仔猪 30 日龄时体质量相似, 无显著差异; 60 日龄时复方桑杜口服液中剂量组体质量和增质量率最大, 增质量率显著高于其他各组。

表 6 各组体质量的变化

组别	初始体质量 (kg) (30 日龄)	最终体质量 (kg) (60 日龄)	增质量率 (%)
MP-EUP _H	6.87 ± 0.55a	21.93 ± 1.66ab	219.50 ± 1.68b
MP-EUP _M	6.73 ± 0.49a	22.53 ± 1.88a	234.52 ± 5.93a
MP-EUP _L	6.63 ± 0.40a	19.77 ± 1.67bc	197.71 ± 7.83c
免疫对照组	6.83 ± 0.35a	19.90 ± 0.72bc	191.39 ± 5.84cd
空白对照组	6.83 ± 0.25a	19.43 ± 0.78c	184.37 ± 1.83e

3 结论与讨论

机体免疫力低下常常诱发动物疾病的发生^[3]。中药多糖有抗肿瘤、增强免疫^[4]、降低血糖、抗癌^[5]、抗衰老、抗辐射等多种作用^[6]。因绿色、环保、低毒、低残留等特点^[7], 其增强免疫活性倍受重视^[8]。因此, 在药理研究基础上, 开展桑杜口服液增强免疫的临床效果研究。

PRRSV 免疫猪后, 在血清中会产生特异性 PRRSV 抗体, 抗体效价越高, 则产生的免疫保护力越强^[9]。因此, 本试验选择猪蓝耳病血清特异性抗体作为疫苗免疫水平的指标。结果表明, 在免疫后的所有时间点桑杜口服液中剂量组猪蓝耳病血清特异性抗体效价显著高于低剂量组、免疫对照和空白对照组, 与高剂量组效价相似。表明猪在免疫前 3 d 口服桑杜口服液, 连续给药 7 d, 能显著提高特异性抗体产生水平, 增强体液免疫功能。

T 细胞在免疫应答中发挥关键作用, 其释放的多种细胞因子也参与细胞免疫、体液免疫、炎症反应、损伤修复等多项重要生理过程^[10]。IL-2 主要由 Th1 细胞分泌, 为 T 细胞生长因子, 是造成 T 细胞增殖的主要细胞因子, 除刺激 T 细胞外, 还能刺激 NK 细胞的生长, 并增强 NK 细胞的杀伤能力, 同时激发 B 细胞生长, 促进抗体的产生^[10]。IFN- γ 是由 Th1 细胞分泌的, 参与调节细胞免疫^[11], 如可激活单核细胞或巨噬细胞, 诱导及增加 MHC I 类分子和 MHC II 类分子的表达, 促进 T 细胞的分化, 增强抗原呈递, 从而促进机体特异性免疫^[10,12]。因此, 血清中 IL-2 和 IFN- γ 的浓度的大小可反映机体细胞免疫功能^[13]。本试验结果表明, 桑杜口服液高、中剂量组在首免后大部分时间点血清中 IL-2 和 IFN- γ 含量

均显著高于低剂量组、免疫对照组和空白对照组。说明桑杜口服液在高、中剂量时能显著提高猪体细胞免疫功能。

动物在受到抗原刺激后可产生免疫球蛋白, 其中 IgG 作为一种免疫球蛋白有抗菌、抗病毒、中和毒素、调理、凝集和沉淀抗原等作用, 在体液免疫中非常重要^[14]。本试验中桑杜口服液高、中剂量组在首免后 14 和 21 d 血清中 IgG 含量均显著高于免疫对照组和空白对照组, 表明桑杜口服液配合猪蓝耳病疫苗一起使用可显著提高血清 IgG 水平, 增强机体的抗菌、抗病毒和抗毒素水平。

结果显示, 60 日龄时复方桑杜口服液中剂量组体质量和增质量率最大, 表明中剂量组不仅能提高疫苗的免疫水平, 还具有显著的增质量效果。可以得出结论: 猪在接种猪蓝耳病疫苗的同时以 8 mg/头剂量灌胃桑杜口服液, 可显著提高猪蓝耳病特异性抗体产生水平, 可增强 IL-2、IFN- γ 介导的细胞免疫功能和 IgG 介导的体液免疫功能。

参考文献:

- [1] 符廷法. 浅谈猪蓝耳病防治的有效措施[J]. 科技致富向导, 2011(22):369-369.
- [2] 钟纪伟, 董焕, 于希武. 猪蓝耳病的诊断及防治[J]. 吉林畜牧兽医, 2008, 29(7):23-24.
- [3] 李朝军, 田澍辽, 王建堂. 圈养条件下应激反应对野生动物的影响[J]. 兽医导刊, 2015(2):40-40.
- [4] 何彦丽, 苏俊芳. 中药多糖抗肿瘤免疫药理研究的新思路——对树突状细胞的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2003, 23(1):73-76.
- [5] 代荣, 刘如明, 肖建辉. 菌类中药多糖降血糖效应机制研究进展[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(2):174-179.
- [6] 陈为, 吕士杰. 三七多糖的研究进展[J]. 吉林医药学院学报, 2009, 30(2):106-110.
- [7] 郭志廷, 梁剑平, 韦旭斌, 等. 常山提取物对人工感染鸡柔嫩艾美耳球虫病的疗效观察[J]. 中国兽医学报, 2013, 33(8):148-150.
- [8] 张晓琦, 叶文才, 赵守训. 苍耳属中倍半萜内酯的研究进展[J]. 中草药, 2001, 32(10):951-953.
- [9] 欧阳康. 应用猪口腔液进行 PRRSV 中和抗体监测及纳米颗粒候选疫苗的评估[D]. 南宁: 广西大学, 2013.
- [10] Lentz A K, Feezor R J. Principles of immunology[J]. Nutrition in Clinical Practice, 2003, 18(6):451-460.
- [11] Rauw F, Gardin Y, Palya V, et al. Humoral, cell-mediated and mucosal immunity induced by oculo-nasal vaccination of one-day-old SPF and conventional layer chicks with two different live Newcastle disease vaccines[J]. Vaccine, 2009, 27(27):3631-3642.
- [12] Rauw F, Gardin Y, Palya V, et al. Improved vaccination against Newcastle disease by an *in ovo* recombinant HVT-ND combined with an adjuvanted live vaccine at day-old[J]. Vaccine, 2010, 28(3):823-833.
- [13] 杨朝晖, 秦红兵, 朱清. 麋鹿角醇提液对正常小鼠 IL-2 和 IFN-C 的影响[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(15):1986-1988.
- [14] 赵萌, 郁建生, 郁建平, 等. 藤茶总黄酮对仔猪血清生化指标及免疫功能的影响[J]. 中国畜牧兽医, 2016, 43(5):1221-1225.