

朱俊平. 双黄连纳米乳口服液对枫叶鸭免疫功能的影响[J]. 江苏农业科学, 2020, 48(17): 183–185.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.17.036

双黄连纳米乳口服液对枫叶鸭免疫功能的影响

朱俊平

(山东畜牧兽医职业学院, 山东潍坊 261061)

摘要:将 120 羽 1 日龄枫叶鸭分成 3 组(I 组、II 组、III 组), I 组、II 组分别在日常饮水中加入双黄连纳米乳口服液 1.0、0.5 mL/L, III 组为对照组。结果显示, I 组、II 组与 III 组相比, 胸腺指数分别提高 13.89% ($P < 0.05$)、10.19% ($P < 0.05$), 脾指数分别提高 10.43% ($P < 0.05$)、3.48% ($P > 0.05$), 法氏囊指数分别提高 19.84% ($P < 0.05$)、12.70% ($P < 0.05$); DVH 中和抗体分别提高 19.51% ($P < 0.05$)、14.63% ($P < 0.05$); H₅ 亚型禽流感 Re-6 血凝抑制抗体分别提高 23.90% ($P < 0.05$)、16.98% ($P < 0.05$), H₅ 亚型禽流感 Re-8 血凝抑制抗体分别提高 23.39% ($P < 0.05$)、13.51% ($P < 0.05$)。结果表明, 双黄连纳米乳口服液能够显著提高枫叶鸭免疫功能。

关键词:双黄连; 纳米乳; 枫叶鸭; 免疫功能

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)17-0183-03

双黄连是由金银花、黄芩、连翘三味药物复方精提的中药制剂, 主要有清热解毒、抗炎消肿、抑制病原和免疫调节等药理作用^[1]。双黄连纳米乳口服液是由运用纳米技术制造的粒径小于 200 nm 的药物成分制成, 具有药物溶出率高、在消化道的吸收率高、生物利用度高等优点^[2]。本试验研究了双黄连纳米乳口服液对枫叶鸭免疫器官指数及疫苗免疫效果的影响, 为该产品的临床应用特别是在鸭

生产上的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验动物 120 羽 1 日龄枫叶鸭购自山东永惠枫叶种鸭有限公司; SPF 鸡胚购自山东斯帕法斯生物技术有限公司。

1.1.2 试验药品 疫苗双黄连纳米乳口服液由山东广元药业科技有限公司试产, 含有黄芩苷 13.2 mg/mL、绿原酸 1.2 mg/mL、连翘苷 0.6 mg/mL; 鸭病毒性肝炎(DVH)活疫苗(A66 株)由南京天邦生物科技有限公司生产; 重组禽流感病

收稿日期: 2019-09-26

基金项目: 山东省潍坊市科技发展项目(编号: 2017GX047)。

作者简介: 朱俊平(1968—), 男, 山东寿光人, 硕士, 副教授, 从事兽医临床教学和研究。E-mail: shdmyzhujunping@163.com。

[27] Parsons G J, Dadswell M J. Effect of stocking density on growth, production, and survival of the giant scallop, *Placopecten magellanicus*, held in intermediate suspension culture in Passamaquoddy Bay, New Brunswick [J]. *Aquaculture*, 1992, 103 (3/4): 291–309.

[28] Côté J, Himmelman J H, Michel C, et al. Influence of density and depth on the growth of juvenile sea scallops (*Placopecten magellanicus*) in suspended culture [J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1993, 50(9): 1857–1869.

[29] 刘德经, 张克存, 李正华. 放养密度对西施舌稚贝生长的影响[J]. *特产研究*, 2008, 30(4): 14–16, 33.

[30] 张国新. 不同养殖密度对南美白对虾生长的影响[J]. *河北渔业*, 2008(8): 12–15.

[31] 张玉勇, 徐革锋, 金舒博, 等. 养殖密度对饵料驯化期细鳞鱼稚鱼生长的影响[J]. *上海水产大学学报*, 2008, 17(3): 321–326.

[32] 邵邻相, 谢 炜, 叶菲菲. 养殖密度对地图鱼幼鱼生长发育的影响[J]. *水产科学*, 2005, 24(4): 7–9.

[33] 尤仲杰. 不同放养密度对泥螺生长的影响[J]. *水产科学*, 2007, 26(2): 103–105.

[34] 周 毅, 杨红生, 张福绥. 栉孔扇贝生理生态学特征的实验研究[J]. *应用生态学报*, 2003, 14(2): 227–233.

[35] 贺先钦, 薛真福, 王有君, 等. 虾夷扇贝地播增殖的试验[J]. *水产科学*, 1997, 16(2): 7–10.

[36] 张景山. 关于改进虾夷扇贝养殖技术的探讨[J]. *水产科学*, 1999, 18(3): 46.

[37] 刘永峰, 王淑波, 张传宝. 海湾扇贝筏式笼养不同放养密度试验[J]. *水产科学*, 1990, 9(1): 10–13.

[38] 印丽云, 高永利, 杨振才, 等. 不同规格近江牡蛎的排氨率和耗氧率分析[J]. *热带海洋学报*, 2013, 32(1): 60–63.

[39] 武晋宣. 桑沟湾养殖海域氮、磷收支及环境容量模型[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2005: 8–9.

毒 H₅ 亚型二价(Re - 6 株 + Re - 8 株)灭活苗由肇庆大华农生物药品有限公司生产。

1.1.3 诊断试剂 禽流感病毒 H₅ 亚型 Re - 6 株和 Re - 8 株血凝抑制抗原、阴性及阳性血清,由哈尔滨维科生物技术有限公司生产。

1.2 试验方法

1.2.1 试验分组 将 120 羽 1 日龄枫叶鸭随机分成 3 组,每组 4 个重复,每个重复 10 羽枫叶鸭。I 组、II 组为双黄连纳米乳口服液应用试验组,III 组为空白对照组。2 组枫叶鸭在相同条件下饲养。

1.2.2 给药方案 I 组枫叶鸭的日常饮水中加入双黄连纳米乳口服液 1.0 mL/L,II 组枫叶鸭的日常饮水中加入双黄连纳米乳口服液 0.5 mL/L,从 5 日龄开始连用 7 d;III 组是空白对照组,枫叶鸭的日常饮水中不添加双黄连纳米乳口服液。

1.2.3 免疫方案 7 日龄,根据疫苗说明书,I 组、II 组的枫叶鸭皮下注射鸭病毒性肝炎(DVH)活疫苗(A66 株)0.5 mL/羽。

14 日龄,根据疫苗说明书,I 组、II 组的枫叶鸭肌肉注射重组禽流感病毒 H₅ 亚型二价(Re - 6 株 + Re - 8 株)灭活苗 0.5 mL/羽。

1.2.4 检查指标 (1)免疫器官指数。试验鸭 30 日龄时,参照胡振华等的方法^[3]进行屠宰,并采集胸腺、脾和法氏囊进行称质量,计算免疫器官指数(胸腺指数、脾指数和法氏囊指数)。(2)鸭病毒性肝炎活疫苗免疫效果。试验鸭 21 日龄时,翅静脉采血分离血清,参照徐新红等的方法^[4-5],测定鸭病毒性肝炎(DVH)中和抗体。(3)重组禽流感病毒 H₅ 亚型二价(Re - 6 株 + Re - 8 株)灭活疫苗免疫效果。试验鸭 28 日龄时,翅静脉采血分离血清,按照农业农村部《高致病性禽流感防治技术规范》的方法测定禽流感血凝抑制抗体。

1.3 数据处理与分析

应用 SPSS 程序软件统计分析 3 组数据的显著性差异,结果以“平均值 ± 标准差”表示。

2 结果与分析

2.1 双黄连纳米乳口服液对枫叶鸭免疫器官指数的影响

从表 1 可以看出,I 组、II 组与 III 组相比,胸腺指数分别提高 13.89% ($P < 0.05$)、10.19% ($P < 0.05$),脾指数分别提高 10.43% ($P < 0.05$)、3.48% ($P > 0.05$),法氏囊指数分别提高 19.84% ($P <$

0.05)、12.70% ($P < 0.05$);I 组和 II 组相比,胸腺指数提高 3.36% ($P > 0.05$),脾指数提高 6.72% ($P > 0.05$),法氏囊指数提高 6.38% ($P > 0.05$)。结果表明,在枫叶鸭的日常饮水中加入 1.0、0.5 mL/L 双黄连纳米乳口服液,都能显著提高枫叶鸭的各免疫器官指数;而在枫叶鸭日常饮水中加入双黄连纳米乳口服液 1.0、0.5 mL/L 处理间各免疫器官指数差异不显著。

表 1 双黄连纳米乳口服液对枫叶鸭免疫器官指数的影响

处理	胸腺指数 (g/kg)	脾指数 (g/kg)	法氏囊指数 (g/kg)
I 组	2.46 ± 0.11a	1.27 ± 0.14a	1.51 ± 0.12a
II 组	2.38 ± 0.12a	1.19 ± 0.13ab	1.42 ± 0.11a
III 组	2.16 ± 0.07b	1.15 ± 0.12b	1.26 ± 0.09b

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。

2.2 双黄连纳米乳口服液对枫叶鸭 DVH 活疫苗免疫效果的影响

从表 2 可以看出,I 组、II 组与 III 组相比,DVH 中和抗体分别提高 19.51% ($P < 0.05$)、14.63% ($P < 0.05$);I 组、II 组相比,DVH 中和抗体提高 4.26% ($P > 0.05$)。结果表明,在枫叶鸭的日常饮水中加入 1.0、0.5 mL/L 双黄连纳米乳口服液,都能显著提高枫叶鸭 DVH 活疫苗免疫效果;而在枫叶鸭日常饮水中加入双黄连纳米乳口服液 1.0、0.5 mL/L 处理间免疫效果差异不显著。

表 2 双黄连纳米乳口服液对枫叶鸭 DVH 活疫苗免疫效果的影响

处理	DVH 中和抗体
I 组	1 : (196 ± 8) a
II 组	1 : (188 ± 10) a
III 组	1 : (164 ± 12) b

2.3 双黄连纳米乳口服液对枫叶鸭重组禽流感病毒 H₅ 亚型二价(Re - 6 株 + Re - 8 株)灭活苗免疫效果的影响

从表 3 可以看出,I 组、II 组与 III 组相比,H₅ 亚型禽流感 Re - 6 血凝抑制抗体分别提高 23.90% ($P < 0.05$)、16.98% ($P < 0.05$),H₅ 亚型禽流感 Re - 8 血凝抑制抗体分别提高 23.39% ($P < 0.05$)、13.51% ($P < 0.05$);I 组和 II 组相比,H₅ 亚型禽流感 Re - 6 血凝抑制抗体提高 5.91% ($P > 0.05$),H₅ 亚型禽流感 Re - 8 血凝抑制抗体提高 8.70% ($P > 0.05$)。结果表明,在枫叶鸭的日常饮水中加入 1.0、0.5 mL/L 双黄连纳米乳口服液,都使枫叶鸭重

组禽流感病毒 H₅ 亚型二价 (Re - 6 株 + Re - 8 株) 灭活苗的免疫效果显著增强;而在枫叶鸭日常饮水中加入双黄连纳米乳口服液 1.0、0.5 mL/L 处理间免疫效果差异不显著。

表 3 双黄连纳米乳口服液对枫叶鸭重组禽流感病毒 H₅ 亚型二价 (Re - 6 株 + Re - 8 株) 灭活苗免疫效果的影响

处理	H ₅ 亚型禽流感 Re - 6 血凝抑制抗体 (log 2)	H ₅ 亚型禽流感 Re - 8 血凝抑制抗体 (log 2)
I 组	5.91 ± 0.43a	6.12 ± 0.54a
II 组	5.58 ± 0.51a	5.63 ± 0.49a
III 组	4.77 ± 0.62b	4.96 ± 0.64b

3 讨论与结论

免疫器官是动物免疫的物质基础,免疫器官指数能够反映动物免疫功能的强弱^[6-7]。抗体效价的高低是评价疫苗免疫效果最直接的方法,同时也能反映动物免疫功能的强弱。因此,本研究选择免疫器官指数、鸭病毒性肝炎中和抗体效价及禽流感血凝抑制抗体效价,研究双黄连纳米乳口服液对枫叶鸭免疫功能的影响。结果表明,在枫叶鸭日常饮水中加入双黄连纳米乳口服液 1.0、0.5 mL/L 与空白对照组相比,各免疫器官指数都有显著提高,本结果与杨丽梅等报道的双黄连蜂胶口服液提高肉鸡免疫器官指数的研究结论^[6]相近;DVH 中和抗体效价提高显著,也高于徐新红等检测的 DVH 中和抗体效价;H₅ 亚型禽流感 Re - 6 血凝抑制抗体效价和 H₅ 亚型禽流感 Re - 8 血凝抑制抗体效价都有显著提高^[4-5],也高于杨飞燕等在鸭首次免疫 14 d 后检测的 Re - 6 和 Re - 8 血凝抑制抗体效价^[8-9]。所有试验结果也都与毕文术等报道^[10]的双黄连提高淋巴细胞转化率,增强体液免疫试验研究相符。说明在枫叶鸭日常饮水中加入双黄连纳米乳口服液 1.0、0.5 mL/L 能显著提高枫叶鸭的免疫器官指数和疫苗免疫效果。

I 组枫叶鸭日常饮水中加入试验品推荐量双黄连纳米乳口服液 1.0 mL/L,高于《中国药典》(2010 年版)关于双黄连口服液有效成分黄芩苷

10.0 mg/mL、绿原酸 0.60 mg/mL、连翘苷 0.30 mg/mL 的量,II 组枫叶鸭日常饮水中加入试验品双黄连纳米乳口服液 0.5 mL/L,各有效成分低于或等于《中国药典》的量。而 II 组也能够显著提高枫叶鸭免疫功能,这可能与本试验产品采用纳米乳生产技术有关。纳米乳技术提高了本试验产品有效成分(黄芩苷、绿原酸、连翘苷)的溶出度、稳定性、在消化道的吸收率和生物利用度^[11],相同药量的情况下,免疫增强效果更佳。在本试验产品的其他作用研究中,将继续研究此用量的效果。

综上所述,通过在日常饮水中加入双黄连纳米乳口服液,显著提高枫叶鸭的免疫功能,可在畜牧业特别是鸭生产上推广应用。

参考文献:

- [1] 侯明香,石朝友. 双黄连制剂在兽医临床中的应用与观察[J]. 当代畜牧,2014(9):82-83.
- [2] 张一帆. 双黄连纳米的制备工艺的研究[J]. 海峡药学,2010,22(1):22-23.
- [3] 胡振华,杨永平,杨宇,等. 枯草芽孢杆菌对樱桃谷肉鸭生长性能、免疫器官指数、肠道菌群及肠道形态的影响[J]. 动物营养学报,2018,30(4):1504-1512.
- [4] 徐新红,屠益平,黄忠. 鸭病毒性肝炎 I 型疫苗中和抗体效果实验[J]. 兽医导刊,2014(13):75-76.
- [5] 丛秋实,胡瑞鸿,李叔伟. 鸭病毒性肝炎灭活疫苗(CH60 株)的田间免疫效果评价[J]. 广东畜牧兽医科技,2015,40(3):51-52.
- [6] 杨丽梅,马力,郭时金,等. 双黄连蜂胶口服液对肉鸡免疫功能的影响[J]. 中国家禽,2015,37(11):59-60.
- [7] 付兴周,路志芳,申海燕. 番茄红素复合添加剂对肉鸡生长性能、免疫器官指数及肉质的影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(19):202-205.
- [8] 杨飞燕,刘颖,张廉,等. 不同剂量禽流感疫苗免疫肉鸭的效果分析[J]. 中国家禽,2015,37(5):64-65.
- [9] 王友令,亓丽红,徐怀英,等. 樱桃谷肉鸭 H₅N₁ 亚型禽流感灭活疫苗(Re - 6 + Re - 8)免疫程序研究[J]. 中国家禽,2017,39(1):60-63.
- [10] 毕文术,杨雪冰. 双黄连免疫增强作用的实验研究[J]. 黑龙江医学,1998(10):56-57.
- [11] 杨雪峰,赵坤,姜金庆. 纳米乳给药系统的应用[J]. 广东农业科学,2011,38(7):125-127.