

文章编号:1003-8701(2013)01-0040-04

滴鼻接种不同剂量新城疫疫苗对 塞北乌骨鸡免疫效果的影响

刘海斌,郑雪花,赵月平,杨兆伟

(河北北方学院动物科技学院,河北 宣化 075131)

摘要: 随机选取 1 日龄塞北乌骨鸡 240 只,随机分为 4 组,每组 60 只,在同一饲养条件下,每组鸡按常规免疫程序进行基础免疫后,饲养至 35 日龄,分别用 2、3、4、5 倍剂量新城疫疫苗滴鼻接种,测定血清抗体效价和免疫器官指数。结果表明:3 倍量的新城疫疫苗滴鼻免疫塞北乌骨鸡产生的抗体效价显著高于其他各组,对免疫器官指数的促进作用也明显,是适宜的免疫剂量。

关键词: 塞北乌骨鸡;新城疫疫苗(Lasota 株);滴鼻免疫;免疫器官指数;抗体效价

中图分类号: S858.31

文献标识码: A

Effect on Immune Efficacy of Saibei Silkies Intranasal Inoculated with Different Levels of NDV

LIU Hai-bin, ZHENG Xue-hua, ZHAO Yue-ping, YANG Zhao-wei

(College of Animal Science and Technology, Hebei North University, Xuanhua 075131, China)

Abstract: 240 1-day-old Saibei Silkies were divided into 4 groups randomly, 60 for every group in average. They were intranasal inoculated with 2NDV (Newcastle Disease Vaccine), 3NDV, 4NDV, 5NDV on 35 days in the same breeding conditions and basic immunization. The antibody titer and immune organ index was determined. The results showed that the antibody titer and the immune organs index of 3NDV inoculation were significantly higher than the other groups. It was appropriate for Saibei silkies.

Keywords: Saibei Silky; NDV (Lasota strain); Intranasal vaccination; Immune organ index; Anti-body titer

鸡新城疫(Newcastle disease, ND)又称亚洲鸡瘟,是由禽副粘病毒属新城疫病毒(Newcastle disease virus, NDV)引起的一种主要侵害鸡、火鸡、野禽及观赏鸟类的高度接触性、传染性、致死性疾病。家禽发病后的主要特征是呼吸困难,下痢,伴有神经症状,成鸡严重产蛋下降,黏膜和浆膜出血,感染率和致死率高^[1]。本病的主要传染源是病鸡以及在流行间歇期的带毒鸡,传播途径主要是呼吸道和消化道,鸡蛋也可带毒而传播,本病一年四季均可发生,但以春秋两季较多。易感鸡群

一旦被速发性嗜内脏型新城疫病毒所传染,可迅速传播呈毁灭性流行,发病率和病死率可达 90% 以上^[2-3]。

当前 ND 免疫仍是防治新城疫的最好办法,但是此病仍然经常发生,而且经常发生非典型 ND,给养鸡行业造成巨大的损失。因此 ND 在我国养鸡生产中仍是最严重的传染病之一^[4-5]。

通常通过监测抗体效价来确定免疫的效果,也有人认为免疫器官指数与免疫效果有很大的关系,免疫器官指数(胸腺指数、脾脏指数和法氏囊指数)降低,为免疫抑制所致,而免疫器官指数增加,则为免疫增强的表现^[6-7]。

本试验通过用不同剂量的 Lasota 疫苗滴鼻免疫塞北乌骨鸡,监测抗体效价,测定免疫器官指数,筛选出新城疫 Lasota 苗适宜的接种剂量,为

收稿日期:2012-08-01

基金项目:河北省畜牧局基金(2010-1-12);河北北方学院青年基金(2001013)

作者简介:刘海斌(1970-),男,研究员,硕士,主要从事家禽生产与疾病防治研究。

生产实践提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物

河北北方学院试验牧场提供的 1 日龄塞北乌骨鸡 240 只,随机分为 4 组,每组 60 只,每组设 3 个重复,每个重复 20 只。

1.2 仪器及用品

滴瓶、注射器、手术刀、手术剪、镊子、解剖盘、电子秤、96 微型孔血凝板、微量移液器、1%鸡红细胞悬液、微量振荡器、4 单位新城疫病毒液、恒温箱、生理盐水、离心机、全价配合饲料、纸箱、鸡笼、Lasota 疫苗等。

1.3 饲养管理

试验鸡在同一育雏笼饲养,采用相同的管理方法,饲喂相同的全价配合饲料,自由饮水,各组间隔离开,并保持一定的距离。

1.4 测定项目

塞北乌骨鸡血清抗体效价和塞北乌骨鸡免疫器官指数。

1.5 测定方法

每组鸡按常规免疫程序进行基础免疫后,饲养至 35 日龄,分别用 2 倍量、3 倍量、4 倍量、5 倍量 Lasota 疫苗进行滴鼻免疫。

免疫当天及免疫后每隔 1 周采血 1 次,连续 5 次,分离血清,用血凝抑制试验(HI)检测血清中抗体效价。

在免疫当天及免疫后每隔 1 周,每组随机选取 6 只鸡,禁食禁水 12 h,屠宰,测定胸腺、脾、法氏囊的重量,计算免疫器官指数^[10]。

胸腺指数 = 胸腺重(g)/宰前活重(kg)

脾脏指数 = 脾脏重(g)/宰前活重(kg)

法氏囊指数 = 法氏囊重(g)/宰前活重(kg)

1.6 数据统计分析

采用 Excel 2003 和 SPSS 统计软件进行统计分析,绘制其曲线变化图。

2 结果与分析

2.1 新城疫 IV 系(Lasota 株)滴鼻免疫对塞北乌骨鸡 HI 抗体效价的影响

滴鼻免疫后不同时间各组 HI 抗体效价见表 1,不同时间的变化曲线见图 1。

表 1 滴鼻免疫后不同时间各组 HI 效价

组别	免疫剂量(倍量)	免疫后不同时间 HI 效价 / log ₂				
		0 周	1 周	2 周	3 周	4 周
1	2	2.0± 0.46a	3.8± 0.45c	4.1± 0.63c	3.6± 0.54b	3.2± 0.56b
2	3	2.0± 0.45a	4.6± 1.01b	5.9± 1.12a	4.7± 0.78a	3.8± 0.45a
3	4	2.0± 0.90a	3.7± 0.57c	3.5± 0.38d	2.6± 0.34c	1.8± 0.23c
4	5	2.0± 0.36a	5.1± 0.68a	5.2± 0.74b	3.8± 0.89b	3.0± 0.52b

注:同列不同字母差异显著($p < 0.05$)。

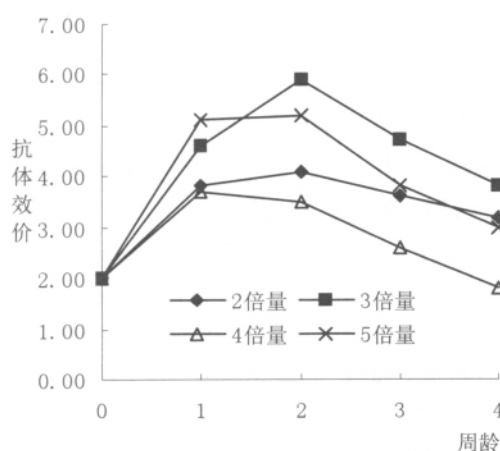


图 1 免疫后不同时间 HI 效价变化曲线

由表 1 和图 1 可知,用不同剂量 Lasota 疫苗免疫塞北乌骨鸡,抗体效价均表现为上升趋势,但

上升的幅度有差异,免疫后 1 周,5 倍量的抗体效价最高,为 5.1,比 2、3、4 倍量的分别高 34.21%、10.87%和 37.84%,差异显著($p < 0.05$);免疫后 2 周,3 倍量的抗体效价最高为 5.9,比 2、4、5 倍量的抗体效价分别高 41.98%、45.00%和 52.18%,差异显著($p < 0.05$);免疫 3 周和 4 周后,抗体效价均表现出下降趋势,3 倍量抗体效价均处于最高水平。

2.2 新城疫 IV 系(Lasota 株)滴鼻免疫后不同时间免疫器官指数的变化

滴鼻免疫后不同时间免疫器官指数(胸腺指数、法氏囊指数、脾脏指数)的变化曲线见图 2~图 4。

由图 2 可知,滴鼻免疫 Lasota 疫苗后 1 周,3 倍量的胸腺指数最高为 7.00,比 2、4、5 倍量的胸腺指数平均分别高 7.03%、5.74%和 85.68%;免疫

后 2、3 周,3 倍量的胸腺指数有所降低;免疫 4 周,3 倍量的胸腺指数又升至最高。

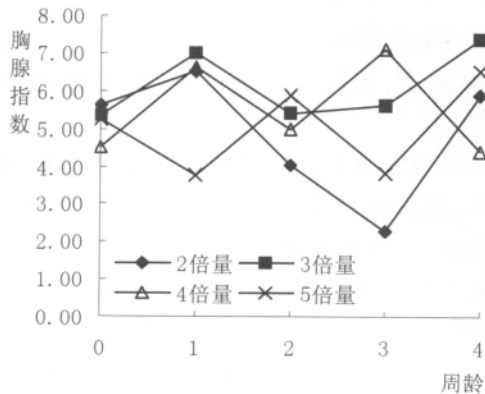


图2 免疫后不同时间胸腺指数变化曲线

由图 3 可知,免疫后 1 周,2、3、4 倍量的法氏囊指数基本保持同一水平,5 倍量分别高于 2、3、4 倍量 40.46%、55.60%和 35.54%;免疫后 2 周,2、4、5 倍量的法氏囊指数逐渐降低,3 倍量的法氏囊指数升高,分别高于 2、4、5 倍量 447.90%、326.14%和 169.42%。从整体来看,不同剂量的疫苗免疫后,法氏囊指数先缓升,后大幅下降。

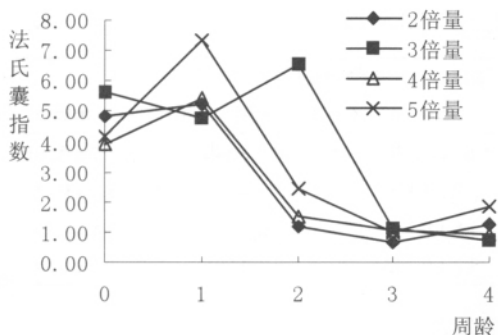


图3 免疫后不同时间法氏囊指数变化曲线

由图 4 可知,免疫后 1 周,4 倍量的脾脏指数升高,而 2、3、5 倍量的脾脏指数略降,4 倍量的脾脏指数分别高于 2、3、5 倍量的脾脏指数的 45.95%、104.55%和 116.00%;免疫后 2 周,各组的脾脏指数均有所升高,2 倍量的脾脏指数分别高于 3、4、5 倍量的 17.29%、15.33%和 10.90%;免疫后 3 周,各组脾脏指数均有所下降,但 4 倍量免疫的脾脏指数最高,高于 2、3、5 倍量的 27.51%、26.84%和 0.41%;免疫后 4 周,3 倍量的脾脏指数最高,高于 2、4、5 倍量的 141.27%、25.62%和 65.82%。从整体来看,不同剂量 Lasota 疫苗免疫后,脾脏指数均有所增加,说明对脾脏指数均有促进作用。

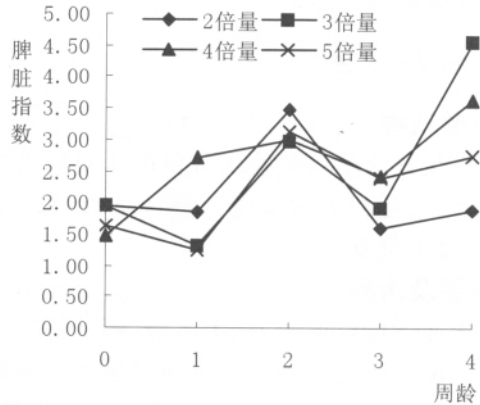


图4 免疫后不同时间脾脏指数变化曲线

3 讨论

3.1 新城疫(Lasota 株)滴鼻免疫对塞北乌骨鸡抗体效价的影响

本试验表明:新城疫(Lasota 株)滴鼻免疫 3 倍量的 HI 效价最高,其次是 5 倍量、2 倍量、4 倍量。赵香汝等^[8]报道海兰小公鸡饮水免疫剂量在 1~3 倍剂量时,随抗原量加大产生的抗体量增多,用 3 倍剂量和 4 倍剂量高峰期抗体效价相当,从 4 倍剂量开始,随免疫剂量的增加,机体产生的 HI 抗体效价逐渐降低。王天奇等^[9]报道,4 倍量除能中和母源抗体外还可刺激机体产生免疫应答,2~3 倍量时,不能排除母源抗体的干扰,5 倍量时会出现免疫麻痹。赵占民等^[10]报道,采用不同的免疫方式(滴鼻和气雾)下,分别用 1.5 羽份、2 羽份和 3 羽份的 ND 弱毒疫苗进行免疫时,免疫效果无显著差异。这和本试验的结果基本一致。说明抗原进入机体后可以刺激机体产生免疫应答,在一定的范围内抗原用量越大,免疫应答越强,但并非疫苗用量越多越好,在临床上进行疫苗免疫时,只要有足够的疫苗用量,即能产生有效的免疫效果,不可任意加大,否则产生免疫麻痹。

3.2 新城疫 IV(Lasota 株)滴鼻免疫对塞北乌骨鸡免疫器官指数的影响

本研究结果表明,不同剂量 Lasota 疫苗对免疫器官均有促进作用,以 3 倍量 Lasota 疫苗对胸腺指数、脾脏指数的促进作用最明显,对法氏囊指数作用不明显。胸腺、脾脏和法氏囊是禽类的主要免疫器官,是免疫活性细胞发育、增殖的场所,参与机体的体液免疫和细胞免疫。法氏囊是 B 细胞分化的场所,脾脏淋巴小结的生发中心也主要为 B 细胞,而胸腺是 T 细胞分化的场所,T 细胞增殖,既能产生更多的淋巴因子提高机体细胞免疫

力,还具有辅助体液免疫的作用,免疫器官的发育状况决定了机体免疫功能的高低^[11]。曙光等^[12]报道,蛋鸡法氏囊指数呈现前期增长迅速,中期增长平稳,后期增长减小的曲线变化,肉鸡法氏囊指数的变化呈现出了波浪式的增加。李奎等^[13]也曾报道,随着固始鸡的生长发育,免疫器官指数总体而言均呈下降趋势,但不同免疫器官也有其不同特点。对脾脏而言,6周龄以前固始鸡脾脏指数呈上升趋势,而后则平稳下降。法氏囊和胸腺的生长发育规律相似,随着固始鸡的生长发育,二者的器官指数逐渐下降。这和本试验结果有一定差异,可能是因为和鸡的日龄有关,免疫器官发育不仅受到抗原刺激的影响,而且不同日龄鸡免疫器官自身的发育程度也存在一定差异。

4 结 论

3倍量的新城疫疫苗(Lasota株)滴鼻免疫塞北乌骨鸡产生的抗体效价最高,对免疫器官指数的促进作用也明显,是适宜的免疫剂量。

参考文献:

- [1] 陈溥言. 兽医传染病学 (第五版)[M]. 北京: 中国农业出版社, 2010.
- [2] 杨玉荣, 郑世民, 马春全, 等. 雏鸡服用益生菌后局部黏膜免疫组织抗体生成细胞的动态变化 [J]. 中国预防兽医学报, 2004, 26(5): 355-358.
- [3] 杨增岐, 赵余放, 王云峰, 等. 鸡新城疫油乳剂灭活疫苗的免

疫效力试验[J]. 中国预防兽医学报, 1997, 19(6): 35-36.

- [4] 孙斌, 任风兰, 孙运刚, 等. 切除结膜结合淋巴组织鸡对新城疫疫苗的免疫反应局部与循环抗体检测 [J]. 畜牧兽医学报, 2002, 33(6): 602-605.
- [5] Reynolds DL, Maraqa AD. Protective immunity against Newcastle disease: the role of cell-mediated immunity[J]. Avian Dis, 2000, 44(1): 145-154.
- [6] Albertvan D, Edwin JA, Veldhuizen, et al. Department of infectious diseases and immunology[J]. Vet Immunol Immunopathol, 2008, 124(1): 1-18.
- [7] Al-Garib SO, Gielkens ALJ, Gruys E, et al. Review of Newcastle disease virus with particular references to immunity and vaccination[J]. World's Poultry Science Journal, 2003, 59(2): 185-200.
- [8] 赵香汝, 徐彤, 靳喜鹏, 等. 接种不同剂量的新城疫疫苗对鸡免疫应答的影响[J]. 中国兽医杂志, 2005, 41(7): 17.
- [9] 王天奇, 张玲, 董发明. 正确认识鸡新城疫的免疫机制[J]. 畜牧兽医学报, 2001, 20(1): 19-22.
- [10] 赵占民, 杨汉春, 刘栓江, 等. 新城疫弱毒疫苗免疫用量与免疫效果关系的探讨[J]. 中国兽医杂志, 2008, 44(2): 31-32.
- [11] Malheiros R D, Moraes V M B, Collin A, et al. Free diet selection by broilers as influenced by dietary macronutrient ratio and corticosterone supplementation. 1. Diet selection, organ weights, and plasma metabolites[J]. Poult Sci, 2003, 82(1): 123-131.
- [12] 曙光, 张勇, 王纯洁. 肉雏鸡与蛋雏鸡法氏囊生长发育规律的探讨[J]. 中国畜牧兽医, 2009, 36(10): 31-33.
- [13] 李奎, 褚雪吟, 康相涛, 等. 固始鸡免疫器官指数的发育规律研究[J]. 动物医学进展, 2009, 30(11): 54-57.

(上接第39页)整叶叶片面积,然后再手工用剪刀裁剪出叶病变区域,最后再对叶病变区域测量,并且在裁剪时会出现存在较小叶病变的区域不容易被裁剪;而使用计算机图像处理自动识别叶绿区域和保留叶病变区域要精确得多。

表1 不同测量方法对比

测量方法	叶面积比值	耗时(S)
方格法	50.53%	约600
本文方法	51.76%	3

3 结 语

本文主要研究内容集中在农业智能化系统中植物叶片因受病虫害等原因导致的病变区域面积比值自动测量方法,主要是利用计算机数字图像处理领域中的各种相关算法,通过对活体待测植物叶片拍照,输入到计算机中进行叶片图像处理,充分利用计算机智能、高速计算的优越性,实现叶片各参数的自动化测量,为农业科研人员提供较

为便捷、精确的测量手段,为推进农业现代化建设做出贡献。该项目成果的推广,能够高效、准确地为农业科研人员提供第一手数据,提高了基础数据的获取效率,为农业科研人员投入更多精力研究后续工作提供了保障。

参考文献:

- [1] 乔宝营, 黄海帆. 草莓叶面积简易测定方法 [J]. 果树学报, 2004, 21(6): 621-623.
- [2] 陶洪斌, 林杉. 打孔称重法与复印称重法和长宽校正法测定水稻叶面积的方法比较[J]. 植物生理学通讯, 2006, 42(3): 496-498.
- [3] 曾黎明, 陈显国. 基于 AutoCAD 软件确定澳洲坚果叶面积的简易方法[J]. 广东农业科学, 2011(2): 155-156.
- [4] 石剑飞. 采用数码图像处理法测定油菜叶面积的方法探讨[J]. 中国油料作物学报, 2010, 32(3): 379-382.
- [5] 李宝光, 陶秀花. 扫描像素法测定植物叶面积的研究[J]. 江西农业学报, 2006, 18(3): 78-81.
- [6] 张艳梅. 利用数码相机测定茶树叶面积的新方法[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(30): 18987-18988.
- [7] 钟取发, 周平. 基于典型叶片模板自动匹配的虫损叶面积测量[J]. 农业工程学报, 2010(3): 216-222.