

# 云芝多糖对鸡新城疫体液免疫效果的影响

关玲敏<sup>1</sup>, 姜新<sup>2</sup>, 田冬梅<sup>1</sup>, 李丽<sup>1</sup> (1. 铁岭卫生职业学院, 辽宁铁岭 112000; 2. 辽宁省畜牧兽医科学研究所, 辽宁沈阳 111000)

**摘要** [目的]探究云芝多糖对鸡新城疫体液免疫抗体水平的影响。[方法]云芝多糖以肌肉注射、口服和稀释疫苗滴鼻点眼3种方式配合鸡新城疫克隆30疫苗免疫7日龄雏鸡,首免10d后进行第2次免疫,并分别于首免后第5、10、18、25、30、40、70天测定其血凝抑制(HI)抗体效价。[结果]3种作用方式下的云芝多糖均具有明显增强体液免疫效果的作用。其中,以口服免疫组的抗体水平上升得最高,持续时间最长,但其用量较大;注射组抗体产生最快,但持续时间比口服组略短。滴鼻点眼组的抗体效价与对照组差异显著( $P < 0.05$ )。[结论]云芝多糖能大大提高机体的体液免疫水平。

**关键词** 云芝多糖;疫苗;免疫力

中图分类号 S188 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2013)10-04390-02

## Effect of *Polystictus versicolor* Polysaccharide on the Humoral Immune Response to Newcastle Disease

GUAN Ling-min et al (Tieling Health Collage, Tieling, Liaoning 112000)

**Abstract** [Objective] The research aimed to explore the effects of *Polystictus versicolor* polysaccharide on the humoral antibody level to newcastle disease. [Method] 7-day-old chicken immunized with newcastle disease clone 30 vaccine were treated with *P. versicolor* polysaccharide by three means of intramuscular injection, oral administration and nose/eye-dropped with diluted vaccine. The second immunization was made on the 10th day after the first immunization. The hemagglutination inhibition antibody titer was determined on the 5th, 10th, 18th, 25th, 30th, 40th and 70th day after the first immunization. [Result] *P. versicolor* polysaccharide by three means all had the role of significantly enhancing humoral immunity response. The antibody level in oral group increased faster than the other two groups and its maintained time was the longest, but the dose of *P. versicolor* polysaccharide was larger. The antibody in injection group produced faster, but its maintained time was slightly shorter than oral group. The antibody titer in nose/eye-dropped group had significant difference with that in control group ( $P < 0.05$ ). [Conclusion] *P. versicolor* polysaccharide could greatly improve the humoral immunity level.

**Key words** *Polystictus versicolor* Polysaccharide; Vaccine; Immunity

近年来,由于各种原因引起的免疫失败使免疫增强剂成为研究热点。多糖类(主要包括灵芝多糖、花粉多糖和酵母多糖等)作为免疫增强剂的研究报道虽然不多,但却引起了广大医务工作者的高度重视。它们具有多方面的生物活性,能显著增强机体的细胞免疫和体液免疫能力<sup>[1]</sup>,促进增重<sup>[2]</sup>,更重要的是,作为一种生物活性物质,多糖类对机体无任何毒副作用,并且易于应用,可配合疫苗的使用,用作弱疫苗的免疫增强剂。新城疫是严重危害我国养鸡业发展的一种病毒性传染病。笔者以该病为基础研究了云芝多糖的体液免疫增强活性,并筛选出较适宜的使用方法和剂量,旨在寻找较为理想的免疫增强剂。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 云芝多糖。**云芝多糖由沈阳农业大学研制,多糖含量>70%。

**1.1.2 鸡新城疫疫苗。**鸡新城疫(ND)克隆30弱毒苗,由辽宁省益康生物制品厂生产。

**1.1.3 ND检验抗原。**ND检验抗原由中国兽医药品监察所提供。

**1.1.4 鸡红细胞液。**1%鸡红细胞液按照常规方法进行配制。

### 1.2 方法

**1.2.1 血凝抑制(HI)抗体效价测定。**采用 $\beta$ -微量血凝抑

制试验(常规方法)进行血凝抑制抗体效价测定。

**1.2.2 试验分组。**1日龄小公鸡500只,随机分为10组,每组50只。7日龄(测定其母源HI抗体效价低于 $2\log_2$ ),用鸡ND克隆30弱毒苗首免(采用滴鼻点眼),同时试验组口服、滴鼻点眼或胸肌注射云芝多糖,对照组用生理盐水稀释疫苗;首免后10d用同样的方法进行鸡ND二次免疫。具体分组情况为:①A组为1%多糖液胸肌注射组。取提取的多糖1g,溶于灭菌的蒸馏水100ml,配成1%多糖水溶液,经巴氏灭菌供试验使用。A<sub>1</sub>组,注射1ml(10mg)多糖/羽;A<sub>2</sub>组,注射0.5ml(5mg)多糖/羽;A<sub>3</sub>组,注射0.25ml(2.5mg)多糖/羽。②B组为多糖饮水口服组。B<sub>1</sub>组,日均口服多糖20mg/羽;B<sub>2</sub>组,口服多糖10mg/羽;B<sub>3</sub>组,口服多糖5mg/羽。从试验前1d开始服用,连续5d。③C组为10%多糖液稀释疫苗滴鼻点眼组。取提取的多糖10g,溶于灭菌的蒸馏水100ml,配成10%多糖水溶液,经巴氏灭菌供试验使用。按照常规方法用10%多糖液作为稀释剂稀释疫苗。C<sub>1</sub>组:将10%多糖液与用多糖液稀释后的疫苗以3:1的比例混合,每只鸡滴鼻点眼4滴(约0.2ml,含多糖20mg,分2次,先滴入2滴,吸收后再滴入2滴);C<sub>2</sub>组:将10%多糖液与用多糖液稀释后的疫苗以1:1的比例混合,每只鸡滴鼻点眼2滴(约0.1ml,含多糖10mg);C<sub>3</sub>组:用多糖稀释后的疫苗每只鸡点眼1滴(约0.05ml,含多糖5mg)。各组都加入稀释后的疫苗1滴,疫苗总量保持不变。④D组为对照组,用生理盐水稀释鸡ND克隆30弱毒苗进行免疫。观察各组试验结果并通过HI试验测定其体液免疫效果。分别于首免后第5、10、18、25、30、40和70天采血并分离血清,用 $\beta$ -微量血凝抑制试验测定HI抗体效价,计算出各组的几何平均滴度,并

对各组数据进行 *t* 检验。

## 2 结果与分析

**2.1 肌肉注射云芝多糖对鸡 ND 免疫抗体水平的影响** 由表 1 可知,3 个剂量胸肌注射多糖组抗体效价几何平均滴度均显著高于对照组,经 *t* 检验, A<sub>1</sub> 组从首次免疫后第 18 ~ 30

天与对照组差异极显著 ( $P < 0.01$ ), 试验组血清抗体几何平均滴度提高 1.01 ~ 2.49 个。第 18 ~ 25 天 A<sub>2</sub>、A<sub>3</sub> 组与对照组差异极显著 ( $P < 0.01$ ), 而第 30 天 A<sub>2</sub> 组与对照组差异显著 ( $P < 0.05$ )。将 3 个剂量组进行比较, A<sub>1</sub> 组抗体效价较高, 持续时间也较长。

表 1 各组血清 HI 抗体效价的几何平均滴度

组别	首免后 5 d	首免后 10 d	首免后 18 d	首免后 25 d	首免后 30 d	首免后 40 d	首免后 70 d
A <sub>1</sub> 组(注射 10 mg)	5.30	6.06	9.02	8.47	5.66	3.04	2.35
A <sub>2</sub> 组(注射 5 mg)	5.50	6.17	9.05	8.28	4.19	3.06	2.23
A <sub>3</sub> 组(注射 2.5 mg)	5.38	6.09	8.99	8.77	3.23	3.01	2.59
B <sub>1</sub> 组(口服 20 mg)	4.74	6.13	8.21	7.48	3.56	3.53	3.46
B <sub>2</sub> 组(口服 10 mg)	4.96	6.25	8.28	7.99	5.48	3.60	3.29
B <sub>3</sub> 组(口服 5 mg)	5.14	5.79	8.27	8.26	3.22	3.55	3.22
C <sub>1</sub> 组(滴鼻 20 mg)	6.52	5.54	8.16	7.90	4.16	2.40	2.66
C <sub>2</sub> 组(滴鼻 10 mg)	6.15	5.70	8.20	8.00	3.74	2.37	2.70
C <sub>3</sub> 组(滴鼻 5 mg)	6.52	5.65	8.29	7.45	3.00	2.56	2.20
D 组(对照组)	5.67	5.68	7.96	7.46	3.17	2.52	2.16

**2.2 饮水口服云芝多糖对鸡 ND 免疫抗体水平的影响** 由表 1 可知,3 个剂量多糖组血清抗体滴度均显著高于对照组, B<sub>1</sub> 组在首免后第 40 ~ 70 天血清抗体几何平均滴度比对照组提高 1.01 ~ 1.30 个, 差异极显著 ( $P < 0.01$ ); B<sub>2</sub> 组从第 30 ~ 70 天与对照组差异极显著 ( $P < 0.01$ ), 几何平均滴度提高 1.08 ~ 2.31 个; B<sub>3</sub> 组于免疫后第 40 ~ 70 天与对照组差异极显著 ( $P < 0.01$ )。相对而言, B<sub>2</sub> 组优势更为明显。

**2.3 滴鼻点眼云芝多糖对鸡免疫抗体水平的影响** 由表 1 可知,3 个剂量多糖组中只有 C<sub>1</sub> 组于免疫后第 30 天抗体效价与对照组差异显著 ( $P < 0.05$ ), 其余各组及各时间效价检测差异均不显著。

**2.4 注射、口服、滴鼻点眼组间比较** 由表 1 可知,口服免疫组抗体水平上升最快,持续时间最长,但其用量也较大;注射组抗体产生得最快,但持续时间比口服组略短。以上 2 组的抗体水平与不加多糖的对照组差异极显著 ( $P < 0.01$ );滴鼻点眼组的免疫增强效果较差,只有在首免后第 30 天与对照组差异显著 ( $P < 0.05$ )。

## 3 讨论

(1) 国内外学者认为多糖主要具有提高细胞免疫能力的作用,但也能提高机体的体液免疫能力<sup>[3-6]</sup>。猪苓“757”多糖、红芪多糖(RHPS)、黄芪多糖(APS)、刺五加多糖均不同程度地促进抗体生成。该试验结果表明,云芝多糖也能大幅度提高机体的体液免疫能力。

(2) 该试验结果表明,云芝多糖注射组抗体上升较快,用量也比口服组少,但其抗体滴度提高的持续时间较短。这可能与多糖及疫苗在体内被吸收得较快有关。云芝多糖口服

免疫组的抗体滴度提高时间较注射组慢,用量较大,但其持续时间较长,在免疫后第 70 天与对照组 HI 抗体效价的几何平均滴度差异仍极显著 ( $P < 0.01$ )。滴鼻点眼组的免疫增强效果不如注射组和口服组,可能是因为多糖液不易被粘膜吸收或用量太少所致。

(3) 在剂量上,肌肉注射组应以 10 mg/羽(A<sub>1</sub> 组)以上为佳,口服组应以 10 mg/羽为佳(B<sub>2</sub> 组)。若剂量过高或过低,都会影响抗体效价的提高。滴鼻点眼组的剂量以 20 mg/羽(C<sub>1</sub> 组)以上较好。

## 参考文献

- [1] 屈洪岩,郭玉璞,陆钢,等. 花粉多糖对新城疫弱毒疫苗免疫效果影响——玉米、油菜、荞麦 3 种花粉多糖作用的比较[J]. 中国兽医杂志,1998,24(9):3-5.
- [2] 高天舒,廖迎春,高仕琰. 酵母菌多糖对肉鸡增重的影响[J]. 中国兽医杂志,1998,24(9):15.
- [3] 高梅,谢蜀生,秦凤华,等. 猪苓多糖对小鼠免疫功能的增强作用[J]. 中国免疫学杂志,1991,7(3):185-187.
- [4] 章灵华,肖培根. 药用真菌中生物活性多糖的研究进展[J]. 中草药,1992,23(2):95-99.
- [5] 方一苇. 具有药理活性多糖的研究现状[J]. 分析化学,1994(9):955-960.
- [6] 顾学裘,顾茂瑜. 多糖类的生物活性及其发展趋势[J]. 中成药研究,1988(5):37-39.
- [7] LU Y L, SHI Z X, YAN X Y. Preliminary Study on Immunocompetence of Polysaccharides from *Pleurotus citrinopileatus* Sing [J]. Medicinal Plant, 2011, 2(4):32-34.
- [8] 李萍萍,谭本杰,唐湘景,等. 酵母多糖对种鸡生产性能和免疫功能的影响[J]. 畜牧与饲料科学,2011,32(2):88-90.
- [9] 吴旋,白东清,杨广,等. 灵芝多糖对黄颡鱼免疫细胞活性的影响[J]. 华北农学报,2011(3):195-198.
- [10] 郭远发. 黄芪多糖在畜禽疫病防治中的应用[J]. 畜牧与饲料科学,2012,33(4):119.

(上接第 4344 页)

- [3] 胡振琪. 露天煤矿土地复垦研究[M]. 北京:煤炭工业出版社,1995.
- [4] 张绍良,彭得福. 试论我国土地复垦现状与发展[J]. 中国土地科学,1999,13(2):1-5.

- [5] 王天祥,张文学,宋朝辉,等. 兖州市采煤塌陷地生态治理模式探讨[J]. 山东国土资源,2011,27(9):29-35.
- [6] 麦霞梅,赵艳玲,龚必凯,等. 东滩煤矿高潜水位采煤塌陷地土壤含水量变化规律研究[J]. 中国煤炭,2011,37(3):48-51.