

NDV 抗体水平作为鸡大肠杆菌病抗性的免疫遗传标记的可行性研究

周秀红 (安徽农业大学生物技术中心, 安徽合肥 230036)

摘要 [目的]研究新城疫抗体水平与大肠杆菌抗病性的相关性,为抗病育种提供参考资料。[方法]选择淮南麻黄鸡、红宝鸡,及其杂交鸡,于攻毒前全群采血,采用血凝抑制法(HI)检测新城疫抗体水平。通过攻毒试验区分抗病鸡和易感鸡,并与新城疫抗体水平进行相关性分析。[结果]试验鸡的新城疫抗体水平与抗大肠杆菌病抗性呈中等程度正相关,相关系数在0.60左右。[结论]该研究可为寻找抗病性遗传标记和从免疫遗传学角度控制大肠杆菌病提供参考资料。

关键词 鸡;新城疫抗体;大肠杆菌病;遗传抗病性

中图分类号 S831 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2013)02-00614-01

Feasibility of NDV Antibody Titer as an Immune Genetic Marker of Colibacillosis Resistance

ZHOU Xiu-hong (Biotechnology Center of Anhui Agricultural University, Hefei, Anhui 230036)

Abstract [Objective] To study the correlation between NDV Antibody (Ab) titer and chicken's genetic disease resistance, and provide reference data for anti-disease breeding. [Method] 60 chickens of each breed (Huainan spotted-brown chicken, redbro chicken and their reciprocal hybrids) were selected. The chickens were divided into two groups by infection, the resistance and the susceptibility. The NDV Ab titer was tested by the method of HI, and the data were used in correlation analyses with chicken's genetic disease resistance. [Result] The results showed that the correlation between the NDV Ab titer and the experimental chickens' resistance to colibacillosis was the middle positive correlation ($0.60 < r < 0.66$). [Conclusion] The study provides reference data for seeking anti-disease genetic marker and controlling colibacillosis from the perspective of immunogenetics.

Key words Chicken; NDV Ab; Colibacillosis; Genetic disease resistance

近年来,人们发现感染性疾病的发生及预后不仅与微生物本身的致病力和环境因素有关,还与不同感染者个体的遗传基因及其多态性以及免疫应答的影响密切相关^[1-2]。因此,有关感染性疾病遗传易感性及免疫应答的研究逐渐受到人们关注,其不仅有利于探讨感染性疾病的发病机制,为患者预后提供依据,而且有利于开辟新的基因治疗途径,还可为抗病育种提供依据,为解决感染性疾病的一些问题奠定理论基础^[1-4]。目前,免疫遗传学迅速发展,免疫应答的遗传机制已在家禽中得到了广泛研究,许多研究表明免疫应答的遗传控制存在于所有畜禽品种中,通过遗传选择改变免疫生理是可行的^[5]。

禽大肠杆菌病(Avian colibacillosis)指部分或全部由大肠杆菌(*E. coli*)所引起的局部或全身性感染的疾病。随着集约化养禽业的发展,鸡大肠杆菌病已成为严重威胁养鸡业的传染病之一,造成严重的经济损失^[6]。目前,防治该病主要依靠抗生素。但是,抗生素滥用的现象越来越严重,不仅会造成养殖成本增高,也会导致细菌产生耐药性从而推高防治难度,同时药物残留也会造成食品安全问题^[7]。疫苗接种由于大肠杆菌血清型众多,其推广使用范围有限。如何防制大肠杆菌病已成为当前研究该病的重要课题。基于此,笔者对鸡新城疫抗体与大肠杆菌病抗病性的关系进行了研究,旨在为寻找抗病性遗传标记和从免疫遗传学角度控制大肠杆菌病提供参考资料。

1 材料与与方法

1.1 实验动物 淮南麻黄鸡由安徽农业大学牧场提供;红宝鸡由合肥市正旺畜禽有限责任公司提供;杂交鸡:以淮南

麻黄鸡为母本(♀)、以红宝鸡为父本(♂)进行杂交,选出麻黄红宝杂交组合鸡群(简称杂交鸡)。

1.2 菌种 禽大肠杆菌 O₁ 标准株(C84010)、O₂ 标准株(C84002)和 O₇₈ 标准株(C84008),均购自中国兽医药品监察所。

1.3 雏鸡的饲养管理 3种鸡均系取种蛋同期孵化,落盘时分别给每枚种蛋套上出雏袋,雏鸡出壳后打上翅号。选择健康雏鸡地面垫料平养,饲料为不含抗生素的黄鸡料(H530)。

1.4 新城疫抗体的监测 攻毒前全群采集自凝血,取血清,采用血凝抑制法^[8](HI)测定鸡新城疫抗体水平。

1.5 攻毒试验 参照周秀红等^[9]的方法进行攻毒试验。饲养至第4周每群鸡取60羽分别用10倍LD₅₀的大肠杆菌 O₁、O₂、O₇₈混悬液胸肌注射攻毒。

每组试验鸡另取20羽注射相同剂量的无菌营养肉汤作为对照组。各组鸡分别隔离饲养。连续观察2周,每天详细记录鸡群的发病、死亡情况,并对病死鸡进行剖检,从中分离病原体并进行鉴定,以验证死鸡确系攻毒所致。

1.6 抽样与数据处理 每群试验鸡攻毒后各取5羽存活鸡、5羽死亡鸡的新城疫抗体进行抗病相关性分析。抗病/易感性属于质量性状,攻毒后存活个体记为1,死亡个体记为2。对易感性与所对应新城疫抗体水平进行相关性分析。利用EXCEL软件对试验数据进行统计与处理,进行T检验及方差分析,结果均以 $\bar{x} \pm SD$ 表示。

2 结果与分析

2.1 抗大肠杆菌病抗病鸡与易感鸡新城疫抗体水平的比较 由表1可知,对大肠杆菌病抵抗力强的个体,新城疫抗体水平较高;对大肠杆菌病易感的个体,鸡新城疫抗体水平较低。

基金项目 安徽农业大学青年基金项目。

作者简介 周秀红(1978-),女,安徽利辛人,助理研究员,从事生物技术方面的科研工作。

收稿日期 2012-11-23

(下转第621页)

-DNA 复合体,起到杀菌作用^[12];三黄汤是水煎中草药提取物,成分复杂,主要通过小檗碱等持续缓释和化学作用,抑制大肠杆菌的增长,但小檗碱溶解度低,会随着小檗碱被细菌的消耗而逐步释出,从而实现持续抑菌。荧光光谱分析表明,其抑菌机理可能是小檗碱的异喹啉端插入到 DNA 双螺旋的沟槽中,抑制 DNA 的复制和转录^[13];另外,三黄汤有可能对细胞膜的通透性存在一定的影响^[2],其中某种组分有可能使得大肠杆菌细胞膜的通透性改变,在较低浓度下细胞膜通透性大,使得外膜抵御外来毒物的能力增加,这样环丙沙星进入细胞内的概率增加,有利于环丙沙星与细菌 DNA 回旋酶结合,从而提高抑菌作用;也可能是三黄汤中某种组分对已产生抗环丙沙星抗药性的大肠杆菌具有明显的消除抗药性作用,目前认为对大肠杆菌携带的耐药性 R 质粒有一定消除作用^[14]。在组合药物条件下转接 20 代后的大肠杆菌对环丙沙星的 MIC 值降至 11.4 μg/ml,对三黄汤的 MIC 值下降较为微弱,很有可能是由于联合用药,对大肠杆菌的抗药机制产生改变,因而联合用药能提高环丙沙星的抗菌效能,但是中药复方与抗生素协同机理复杂,还需进一步探讨。

参考文献

[1] 罗音久,曾中良,杨俊卿. 中药消除大肠杆菌对喹诺酮类耐药性的研究作用[J]. 中国畜牧兽医杂志,2006(5):7-9.

- [2] 芦亚君,程宁. 3 种中药方剂逆转大肠杆菌耐药性的实验观察[J]. 西北药学杂志,2007,13(6):309-311.
- [3] KWON H A, KWON Y J, KWON D Y, et al. Evaluation of antibacterial effects of a combination of *Coptidis Rhizoma*, *Mume Fructus*, and *Schizandrae Fructus* against *Salmonella*[J]. *International Journal of Food Microbiology*,2008,127:180-183.
- [4] 张传津,都业良,彭媛芳,等. 六种中药提取物消除大肠杆菌耐药性的研究[J]. 山东畜牧兽医,2012,33(7):8-10.
- [5] 尉景娟,李惠芬,苏建荣. 八种中药单体对产超广谱 β-内酰胺酶大肠埃希杆菌和耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的体外抑菌活性研究[J]. 中华临床医师杂志,2011(2):164-166.
- [6] 张传美,刘宁波,于淼. 庆大霉素,三黄汤和小檗碱对 *E. coli* 抑菌作用研究[J]. 莱阳农学院学报,2004(1):14-17.
- [7] 晁利刚,谷晓霞,胡功政,等. 环丙沙星与黏菌素联合对猪大肠杆菌的体外抗菌研究[J]. 江西农业学报,2009,21(1):102-104.
- [8] 杜冬冬,王涛,常维山. 五种抗生素联合应用对大肠杆菌效果实验[J]. 中国兽药杂志,2012,46(6):14-16.
- [9] WIKLER M A. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing[M]. Clinical and Laboratory Standards Institute,2006.
- [10] 刘荣欣,鲁改儒,郭吉勇. 中药及其组方对大肠杆菌的体外抑菌试验[J]. 安徽农业科学,2011,39(4):2265-2267.
- [11] 蒋红,王宏军,周铁军,等. 四黄止泻颗粒中六味中药互相配伍对鸡大肠杆菌的作用研究[J]. 中国农学通报,2012,28(14):89-92.
- [12] 陈杖榴. 兽医药理学[M]. 2 版. 北京:中国农业出版社,2001:234-237.
- [13] 骆和生,罗鼎辉. 免疫中药学[M]. 北京:北京医科大学,中国协和医科大学联合出版社,1999.
- [14] TRAN J H, JACOBY G A, HOOPER D C. Interaction of the plasmid encoded quinolone resistance protein Qnr with *Escherichia coli* DNA gyrase[J]. *Antimicrob Agents Chemother*,2005,49(1):118-125.

(上接第 614 页)

2.2 新城疫抗体水平与试验鸡抗病性的关系 将鸡新城疫抗体水平与试验鸡抗病/易感性进行相关性分析,结果表明 3 个品种试验鸡的新城疫抗体水平与抗大肠杆菌病抗性呈中等程度正相关,相关系数均在 0.60 左右。

表 1 抗大肠杆菌病抗病鸡与易感鸡的新城疫抗体水平比较

项目	麻黄鸡	杂交鸡	红宝鸡
抗病个体	6.20 ± 0.45 ^b	6.00 ± 0.63 ^b	8.20 ± 0.84 ^a
易感个体	5.40 ± 0.55 ^a	5.20 ± 0.45 ^a	7.20 ± 0.45 ^b

注:同列不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

3 讨论

直接检测大肠杆菌抗体水平能更好地反映鸡对大肠杆菌病的抵抗力,但是大肠杆菌血清型众多,抗体水平不容易检测,而鸡新城疫抗体水平是养殖场日常监测的常规项目,操作简单、方便又经济。另外,根据 R. Yunis 等的研究报道^[10]可知,新城疫抗体水平较高的个体,其大肠杆菌抗体水平也较高,二者存在很强的正相关。基于此,笔者才选择 NDV Ab 作为禽抗大肠杆菌病的免疫遗传标记。

感染性疾病不仅受病原体的毒力和环境因素的控制,而且受到遗传基因及其多态性以及免疫应答的影响^[1-5]。许

多研究表明通过遗传选择改变免疫生理是可行的^[5]。该研究结果表明,新城疫抗体水平与抗大肠杆菌病抗性呈中等程度正相关。因此,可以利用新城疫抗体作为免疫遗传标记,对大肠杆菌抗病性进行标记辅助选择(MAS),通过抗病育种手段来加强对大肠杆菌病的控制。

参考文献

- [1] 王文君,黄路生. 畜禽抗病育种的研究进展[J]. 畜禽业,2000(6):14-16.
- [2] KAIS P. 宿主抗病性的遗传学研究[J]. 中国家禽,2011,33(22):40.
- [3] 叶湘海,刘娟. 鸡的抗病遗传研究进展[J]. 当代畜牧,1993(3):2-4.
- [4] 刘定发. 家禽遗传抗病研究的进展及应用前景[J]. 畜禽业,1999(8):16-17.
- [5] LAMONT S J. Lamont. Impact of genetics on disease resistance[J]. *Poultry Science*,1998,77:1111-1118.
- [6] CALNEK B W. 禽病学[M]. 高福,苏敬良,译. 10 版. 北京:中国农业出版社,1999:158-171.
- [7] 周渝,刘海燕,张平,等. 禽大肠杆菌病流行情况及防治研究进展[J]. 畜牧市场,2009(12):25-27.
- [8] 殷震,刘景华. 动物病毒学[M]. 2 版. 北京:科学出版社,1987:351-353.
- [9] 周秀红,祁克宗,张丽霞,等. 不同接种途径对人工诱发鸡大肠杆菌病的影响[J]. 安徽农业大学学报,2005,32(4):463-466.
- [10] YUNIS R, BEN-DAVID A, HELLER E D. Immunocompetence and Viability Under Commercial Conditions Of Broiler Groups Differing in Growth Rate and in Antibody Response to *Escherichia coli* Vaccine[J]. *Poultry Science*,2000,79:810-816.