

日粮氟水平对雏鸡免疫影响的研究

朱基美 殷生章 刘付育华 毕英佐

(华南农业大学动物科学系, 广州 510642)

摘要 研究了日粮氟水平对雏鸡免疫的影响。试验将 150 只 1 天龄海兰雏公鸡随机分成空白对照、免疫对照、试验 I ~ IV 组等共 6 组, 每组 25 只, 在隔离器内饲养 6 周。从 1 天龄起, 空白对照组和免疫对照组喂以基础日粮, 试验 I ~ IV 组分别饲喂氟含量为 250、500、1 000 和 2 000 mg/kg 的日粮。14 天龄时除空白对照组外, 其余各组用 ND+IBD 双价油剂灭活苗进行免疫, 每周定期采血, 用 ELISA 法检测 IBD 和 ND 抗体水平, 试验结束时测定囊重、囊体比、囊指数等, 并对法氏囊进行组织学切片检查, 结果表明: (1) 日粮中氟含量达 500 mg/kg 以上时法氏囊生长发育受阻, 当氟含量达 2 000 mg/kg 时, 严重影响法氏囊的生长发育, 囊指数仅为 0.7, 且囊重、囊体比及囊指数均明显低于其余各组($P < 0.01$)。 (2) 当饲料中氟含量达到 500 mg/kg 以上时, 对法氏囊有毒害作用, 主要引起小血管扩张、充血和出血, 法氏囊局部粘膜上皮皱缩和脱落。在氟含量达 2 000 mg/kg 时还见法氏囊部分淋巴小结髓质坏死、部份上皮基底细胞增生。 (3) 高氟日粮(含氟 500 mg/kg 以上)会导致 IBD 和 ND 母源抗体的消失加快, 并对免疫抗体的产生有抑制作用, 而适量的氟对免疫抗体的产生是有益的。

关键词 鸡; 氟; 免疫

中图分类号 S 852. 42

氟是动物必需的微量元素之一, 在动物体内起着不可替代的作用(李西峰, 1995)。但过量的氟又常常引发氟中毒。近年来, 由于饲料工业中常有使用一些氟含量严重超标的劣质磷酸氢钙, 致使家禽氟中毒的情况时有发生, 造成极大的损失。国内外许多学者已就过量氟对畜禽生长发育的影响、对骨相和非骨相的损害等作了深入的研究, 对氟中毒的病因、毒理、病理、临床和防治措施等也都进行了许多的探讨(荀黎红, 1991; 王俊东等, 1990; 周婷, 1988; Michel et al, 1984; Cakir et al, 1978; Guenfer et al, 1986), 而日粮氟水平对动物免疫影响的研究报道则不多。李西峰(1995)认为氟中毒可使机体外周血 T 淋巴细胞百分率和绝对数明显下降, 机体细胞免疫功能受到抑制。 Kapoor(1994)对犊牛的试验表明, 随着日粮氟水平的升高, 淋巴细胞的转化率显著下降, 认为高氟日粮对牛具有免疫抑制作用。为了探讨日粮氟水平对雏鸡免疫的影响, 特进行本研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验鸡 1 天龄海兰 W₃₆ 公雏鸡 150 只, 由广州力康公司提供。

1.1.2 疫苗 ND+IBD 双价油剂灭活苗, 由美国 Solvay 公司生产, 批号为 465070。

1.1.3 基础日粮 按海兰蛋鸡饲养标准自行配制的粉料, 含总能 16.41 MJ/kg, 粗蛋白

20%, 粗脂肪 4.0%, 钙 1.21%, 磷 0.77%, 氟 33.06 mg/kg。所有饲料均经高压灭菌后备用。

1.1.4 氟化钠 由广州化学试剂厂生产, 含氟量为 45.24%。

1.1.5 饮用水 为灭菌注射用水, 由广州惠华动物保健品有限公司生产提供, 氟含量为零。

1.1.6 IBD、ND 抗体检测酶标试剂盒和 Emax 酶标仪 美国 IDEXX 公司出品。

1.2 方法

1.2.1 试验分组及处理 将 150 只供试海兰公雏鸡随机分成 6 组, 每组 25 只。

空白对照组(1 组): 仅喂以基础日粮, 不进行任何处理。

免疫对照组(2 组): 喂以基础日粮, 并于 14 天龄用 ND+IBD 双价油剂灭活苗颈部皮下注射, 每只 0.3 mL。

试验 I ~ IV 组(3~6 组): 自 1 天龄起, 喂以基础日粮 + 氟化钠, 氟含量按纯氟计算分别调至 250、500、1 000 和 2 000 mg/kg, 并分别于 14 天龄用 ND+IBD 双价油剂灭活苗颈部皮下注射, 每只 0.3 mL。

所有鸡均在正压的隔离器中饲养, 自由采食和饮水。

1.2.2 囊重、囊体比、囊指数 42 天龄分别将各组鸡称重、剖杀、称法氏囊重。囊体比和囊指数(BBIX)按下列公式测定。

$$\text{囊体比} = \frac{\text{法氏囊重}}{\text{体重}}, \text{BBIX} = \frac{\text{试验组鸡囊重}}{\text{空白对照鸡囊重}} / \frac{\text{体重}}{\text{体重}}$$

1.2.3 法氏囊组织切片检查 42 天龄剖杀各组鸡, 取法氏囊用 10% 甲醛溶液固定, 石蜡切片, H&E 染色, 在显微镜下观察。

1.2.4 IBD 和 ND 抗体水平检测 分别于 1、7、14、21、28、35、42 天龄时, 每组随机取 15 只鸡静脉采血, 分离血清, -85 °C 冰箱保存; IBD 和 ND 抗体用酶联免疫吸附试验(ELISA)进行检测, 数据处理采用 IDEXX 公司提供的 FLOCKCHEK 系统进行。

2 结果与分析

2.1 不同处理组囊重、囊体比及囊指数变化

结果见表 1。由表 1 可见, 第 6 组囊重、囊体比和囊指数均明显小于其他各组, 差异极显著($P < 0.01$)。第 5 组囊重较 1~4 组小, 差异极显著($P < 0.01$), 囊体比、囊指数也较 1~4 组小, 但差异不显著($P > 0.05$)。第 4 组囊重比第 2 组小, 差异显著($P < 0.05$)。第 3 组囊重、囊体比、囊指数与第 1、2 组相比, 差异不显著($P > 0.05$)。第 2 组囊重、囊体比、囊指数均

表 1 囊重、囊体比及囊指数变化¹⁾

组别	样本数	囊重/g (平均值±标准误)	囊体比($\times 10^{-3}$) (平均值±标准误)	囊指数 (平均数±标准误)
1	25	2.552±0.094 A a	5.13±0.19 A a	1.00±0.04 A a
2	25	2.817±0.094 A B b	5.72±0.19 A B b	1.11±0.04 A B b
3	25	2.591±0.094 ABC abc	5.40±0.19 ABC abc	1.05±0.04 ABC abc
4	24	2.527±0.096 ABCD acd	5.43±0.20 ABCD abcd	1.06±0.04 ABCD abcd
5	24	1.933±0.096 E e	5.20±0.20 ABCDE abcde	1.01±0.04 ABCDE abcde
6	25	0.780±0.094 F f	3.62±0.20 F f	0.70±0.04 F f

1) 同列各组间, 相异大写字母表示差异极显著($P < 0.01$), 相异小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

比第 1 组大, 差异显著($P < 0.05$), 表明注射 ND+IBD 油苗对法氏囊的生长发育具有明显的促进作用。

2.2 囊组织切片检查

结果见表 2 和图版。

表 2 法氏囊组织切片检查结果

组别	囊组织切片检查
1	法氏囊组织淋巴小结间局部纤维组织轻度增生, 其余未见异常(见图版—a)。
2	法氏囊局部组织粘膜上皮皱缩并脱落, 其余未见异常(见图版—b)。
3	法氏囊局部粘膜上皮皱缩和脱落, 淋巴小结间部份纤维组织增生(见图版—c)。
4	法氏囊局部粘膜上皮皱缩和脱落; 淋巴小结内小血管扩张淤血或有出血, 此种变化多位于淋巴小结未分化上皮附近, 部份间质小血管扩张淤血(见图版—d)。
5	法氏囊局部粘膜上皮皱缩和脱落(见图版—e①); 淋巴小结内未分化上皮附近血管扩张淤血或有出血(见图版—e②); 间质小血管淤血、出血(见图版—e③)。
6	法氏囊淋巴小结内出血, 部份上皮基底细胞增生(图版—f 箭头所示), 一些淋巴小结髓质坏死(图版—g①), 见坏死细胞碎屑(残骸)(图版—g②、图版—h①), 并见淋巴细胞有丝分裂像(图版—h②)。间质淤血或有轻度出血。囊粘膜上皮局部坏死和脱落。

2.3 血清 IBD 抗体水平检测

结果见表 3。

表 3 血清 IBD 抗体水平的检测结果¹⁾

组别	第 1 组		第 2 组		第 3 组		第 4 组		第 5 组		第 6 组	
	日龄	ET CV/ (%)										
1	3	019. 3	30. 2									
7	2	188. 9	59. 0	2 355. 9	47. 2	1 747. 2	44. 0	2 806. 1	31. 1	2 591. 4	60. 6	2 638. 3
14	2	212. 0	34. 2	2 030. 6	50. 5	1 863. 5	42. 7	1 060. 7	70. 1	1 026. 5	56. 2	727. 4
21		391. 6	126. 8	316. 6	72. 5	137. 1	55. 1	204. 4	69. 1	350. 5	67. 1	197. 9
28		128. 1	138. 9	403. 0	137. 9	183. 6	109. 2	137. 5	85. 9	241. 4	79. 1	222. 1
35		55. 2	131. 0	935. 6	91. 4	827. 5	67. 7	682. 7	83. 0	796. 1	149. 6	1 167. 2
42		45. 8	91. 9	1 075. 7	86. 5	1 122. 9	76. 4	869. 3	70. 7	713. 5	109. 3	960. 7

1) 鸡血清中 IBD 抗体水平用 ET 值表示, ET 为 ELISA 滴度; CV(%) 示变异系数

由表 3 可知: (1) 空白对照组鸡 IBD 母源抗体呈下降趋势, ET 值由 1 天龄的 3 019. 3 下降至 42 天龄的 45. 8, 与母源抗体在体内逐渐消失的规律相一致(杜念兴, 1985), 说明隔离器工作良好, 鸡群未受野毒感染。(2) 免疫对照组鸡的抗体滴度先下降, 14 天龄免疫后, 抗体继续下降然后才慢慢回升, 符合灭活苗一般免疫规律。(3) 3~6 组在 14 天龄免疫前, IBD 母源抗体也呈下降趋势, 且随着日粮氟含量的增加及喂高氟日粮时间的延长, IBD 母源抗体下降的幅度增大。4、5、6 组 14 天龄的 IBD 抗体滴度明显较 1、2、3 组为低。(4) 14 天龄免疫后, 各试验组(包括免疫对照组)的抗体先下降后上升, 但各组上升的快慢各有不同。第 5、6 组在 35 天龄上升到较高的抗体滴度, 但到 42 天龄时抗体滴度已开始下降, 而其余的 2、3、4

组抗体滴度均在缓慢上升。(5)42 天龄时, 第 3 组的抗体滴度最高。

2.4 血清 ND 抗体水平检测结果

结果见表 4。

表 4 血清 ND 抗体水平检测结果¹⁾

组别 日龄	第 1 组		第 2 组		第 3 组		第 4 组		第 5 组		第 6 组	
	ET	CV/ (%)	ET	CV/ (%)	ET	CV/ (%)	ET	CV/ (%)	ET	CV/ (%)	ET	CV/ (%)
1 8	617.8	36.1										
7 8	849.3	35.2	9016.5	38.3	10933.4	32.3	9738.8	34.1	9677.3	25.9	8607.8	38.1
14 4	511.2	44.8	4965.4	55.9	4335.1	66.9	4076.4	43.0	3723.5	90.5	3052.3	71.7
21 1	645.1	109.4	2194.6	47.0	1641.5	74.3	2667.1	68.9	2177.3	85.2	898.3	90.7
28	752.5	100.7	766.9	70.5	928.4	80.5	828.2	70.0	410.0	63.8	323.0	99.6
35	146.9	197.5	1668.3	81.1	2652.5	97.9	2008.2	74.1	2132.6	196.0	2416.8	101.3
42	107.3	139.2	2230.1	46.9	4631.1	77.8	3296.8	106.4	2953.3	105.3	1978.6	77.8

1) 鸡血清中 ND 抗体用 ET 值表示, ET 为 ELISA 滴度; CV(%) 示变异系数

从表 4 可见, (1) 空白对照组 ND 母源抗体消失规律及免疫对照组抗体消长规律与 IBD 抗体检测结果基本一致。 (2) 3~6 组在 14 天龄免疫前, ND 母源抗体也呈下降趋势, 且随日粮氟含量的增加及摄食时间延长, ND 母源抗体下降幅度增大, 5、6 两组 14 天龄 ND 抗体滴度明显较其余各组低。 (3) 14 天龄免疫后, 各试验组(包括免疫对照组)的 ND 抗体先下降后上升, 35 天龄时, 第 3、6 组 ND 抗体上升到较高的滴度。 (4) 42 天龄时, 第 6 组的抗体滴度已开始下降, 且明显较其余各组(空白对照组除外)为低; 第 3 组的抗体滴度最高, 第 4 组次之。

3 讨论与结论

3.1 不同日粮氟水平对鸡免疫器官的影响

本试验囊重、囊体比和囊指数变化结果表明: 当日粮氟水平在 500 mg/kg 以上时, 会影响雏鸡法氏囊的生长发育; 当日粮氟水平在 2 000 mg/kg 时, 法氏囊的生长发育严重受阻。囊重、囊体比和囊指数均较空白对照组和免疫对照组为低($P < 0.01$), 与空白对照组相比, 囊指数仅为 0.7。法氏囊组织切片结果显示, 当饲料氟含量达 500 mg/kg 以上时, 对法氏囊有一定的毒害作用, 主要引起小血管扩张淤血和出血, 且随着日粮氟含量增加, 这种损害进一步加强。当日粮氟含量达 2 000 mg/kg 时, 法氏囊见部份淋巴小结髓质细胞死亡、囊粘膜上皮局部坏死脱落、淋巴小结出血等。法氏囊是鸡的中枢免疫器官之一, 其状况和功能可影响鸡的体液免疫水平(杜念兴, 1985), 高氟日粮导致法氏囊的生长发育不良和实质性病变, 将会引起前 B 细胞在法氏囊的分化成熟受阻, 从而导致免疫功能的下降。

3.2 不同日粮氟水平对鸡 IBD 抗体水平的影响

IBD 抗体检测结果表明: 免疫前, 当日粮中氟浓度达 500 mg/kg 以上时, 雏鸡母源抗体水平下降速度较快, 且氟浓度愈高, 抗体水平下降速度愈快, 这说明高浓度氟日粮会导致母源抗体的消失加快。其原因可能有二: 一是高浓度氟会破坏外周循环抗体, 导致抗体水平下降; 二是高浓度氟日粮影响小鸡卵黄囊的吸收。但其机理如何, 尚有待进一步研究。14 天龄免疫后, 各试验组和免疫对照组鸡 IBD 抗体仍然继续下降, 然后才缓慢回升, 但在 35 天龄

时, 2 000 mg/kg 组的 IBD 抗体水平较高, 上升幅度较大, 其原因可能是在免疫时, 这一组鸡的母源抗体水平下降到较低水平, 疫苗免疫后较易产生抗体高峰的缘故。到 42 天龄时, 1 000 mg/kg 组和 2 000 mg/kg 组鸡的 IBD 抗体已开始下降, 且氟浓度越高, 下降的幅度越大, 而其他试验组则仍在呈上升的趋势, 且 250 mg/kg 组抗体滴度明显较其他试验组及免疫对照组为高, 这表明, 高氟日粮会抑制 IBD 抗体的产生, 导致抗体滴度不高且维持时间又短。

3.3 不同日粮氟水平对鸡 ND 抗体水平的影响

ND 抗体结果检测表明: 其母源抗体消失及抗体产生的规律与 IBD 抗体消长规律基本一致, 高浓度氟日粮会加快母源抗体消失的速度, 同时会抑制 ND 抗体的产生, 而适量的氟(250 和 500 mg/kg)则有利于 ND 抗体的产生。

Kapoor(1994)研究指出, 高氟日粮能抑制犊牛的细胞免疫功能, 本试验由于条件所限未在这方面进行探讨。本试验的结果表明, 氟对体液免疫具有明显的作用, 且随着日粮氟水平及摄食时间的长短而显示出不同的作用, 高浓度氟日粮对体液免疫具有明显的抑制作用, 而适度摄入氟, 则对增强体液免疫是有益的。

参 考 文 献

- 王俊东, 李敬玺, 迹文琳. 1990. 过量氟对动物健康的影响. 中国兽医杂志, 16(4): 49~51
- 李西峰. 1995. 动物营养中的必需微量元素. 中国饲料, (10): 23~24
- 杜念兴编著. 1985. 兽医免疫学. 上海: 上海科学技术出版社, 12~18, 127~128
- 周 婷. 1988. 浅谈动物氟中毒. 中国兽医科技, (2): 54~57
- 荀黎红. 1991. 氟化物对动物非骨相损害的研究. 动物毒物学, 6(1): 48~50
- Cakir A, Suilivan T W, Mather F B. 1978. Alleviation of fluorine toxicity in starting turkeys and chicks with aluminum. Poultry Sci, 57: 498~505
- Guenfer W, Hahn P H B. 1986. Fluorine toxicity and laying hen performance. Poultry Sci, 65: 769~778
- Kapoor V. 1994. Effect of fluoride ingestion on cell-mediated immune response in calves. Fluoride, 27(1): 3~6
- Michel Norberto Jr, Suttie J W, Sunde M L. 1984. Fluorine deposition in bone as related to physiological state. Poultry Sci, 63: 1407~1411

EFFECTS OF DIETARY FLUORINE ON IMMUNE PROFILE IN CHICKS

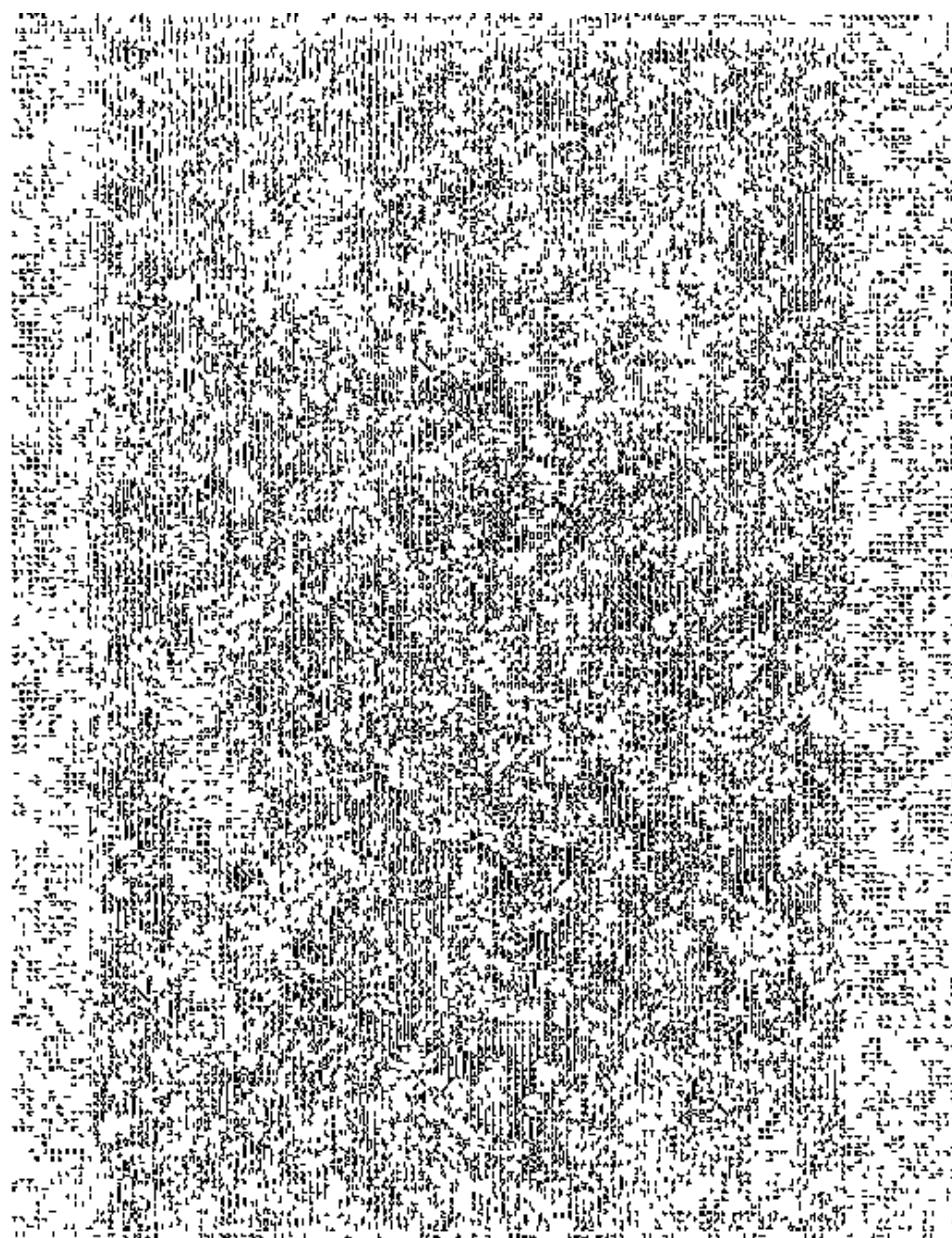
Zhu Jimei Yin Shengzhang Liufu Yuhua Bi Yingzuo

(Dept. of Ani. Sci., South China Agric. Univ., Guangzhou 510642)

Abstract

This paper studied the effects of levels of dietary fluorine on immune profile in Hy-Line cockerels. One hundred and fifty Hy-Line cockerels of 1-day old were randomly divided into 6 groups ($n=25$) as the non-treated controls, immunized controls, and the treated groups I to IV. The birds were transferred into isolators from first day of age for 6 weeks. The non-treated and immunized control groups were fed with a basic ration, whereas the treated groups I to IV were offered diets containing fluorine at concentrations of 250, 500, 1 000 and 2 000 mg/kg, respectively. On day 14, all groups were immunized with ND+IBD inactivated vaccines in mineral oil adjuvant. Sera were collected weekly and antibody titres against IBD and ND were measured by ELISA. At the end of trial, bursa of Fabrica were recovered, their weights and relative weights determined and bursa indexes calculated. It was revealed that development of bursa of Fabrica was retarded when dietary levels of fluorine exceeded 500 mg/kg, such phenomenon was especially prominent in Group IV which was fed with the diet containing 2 000 mg/kg fluorine, which produced a bursa index of 0.7, and substantially ($P<0.01$) lower bursa weights, relative bursa weights and bursa index compared with other groups. Histological examination of bursa of Fabrica showed that dietary levels of fluorine exceeding 500 mg/kg was toxic to bursa of Fabrica, leading to swelling, congestion, haemorrhage of capillary vessels, shrinkage and detachment of epithelia of partial membrane of the bursa. Necrosis of medullar lymphnoduli in the bursa was observed with part of basal epithelia hyperplastic. Diets containing high levels of fluorine over 500 mg/kg also accelerated depletion of maternal antibodies against IBD and ND, and also inhibitive to production of antibody. However moderate levels of dietary fluorine was beneficial towards production of antibody.

Key words chick; fluorine; immune



图版 a 法氏囊淋巴小结间纤维组织轻度增生, ($\times 100$); b 法氏囊局部粘膜上皮皱缩和脱落, ($\times 250$); c 法氏囊局部粘膜上皮皱缩和脱落, 淋巴小结间部份纤维组织增生, ($\times 100$); d 法氏囊淋巴小结内小血管扩张淤血或有出血, ($\times 100$); e 法氏囊局部粘膜上皮皱缩和脱落①, 淋巴小结内未分化上皮附近血管扩张淤血或有出血②, 间质出血③, ($\times 100$); f 法氏囊粘膜上皮基底细胞增生, ($\times 400$); g 法氏囊淋巴小结髓质坏死①, 坏死细胞碎屑②, ($\times 400$); h 法氏囊淋巴小结内坏死的细胞碎屑①, 淋巴细胞核有丝分裂像②, ($\times 400$)