

不同养殖环境对商品肉鸡免疫功能的影响

张红双¹ 秦梅¹ 柴同杰¹ 苗增民¹
黄蓉¹ 柳敦江¹ 周玉法²

1. 山东农业大学动物科技学院, 泰安 271018; 2. 山东省泰安市岱岳区畜牧局, 泰安 271000

摘要 将体质量基本一致的健康1日龄AA肉鸡320只,随机分为对照组和试验组,饲养在环境管理条件不同的2个鸡舍中。通过定期测定气载细菌、真菌、内毒素等气溶胶的含量和新城疫抗体水平与免疫器官指数等肉鸡免疫方面的功能来研究不同的养殖环境对商品肉鸡免疫功能的影响。结果表明,试验组的微生物含量显著高于对照组;对照组的新城疫抗体水平高于试验组,在35、42、49日龄时差异显著;与对照组相比,试验组鸡只的脾脏指数显著降低,胸腺指数极显著降低,法氏囊指数降低不明显。由此可见,鸡舍环境质量差、微生物气溶胶含量高,对鸡体的ND抗体效价和免疫器官的发育功能会产生负面影响。故而,保持饲养环境良好的清洁卫生条件,是健康养殖的重要措施之一。

关键词 养殖环境; 微生物气溶胶; 免疫功能; 抗体效价; 脏器指数

中图分类号 S 851.2⁺4 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2011)01-0034-05

规模化密集的畜禽舍环境中的微生物及其代谢产物形成的气溶胶不仅会导致环境污染,影响动物的健康及生产能力^[1],而且还能导致气源性传染病的流行。空气中极少量的病原微生物就可以直接导致畜禽的呼吸道感染,尤其是下呼吸道感染;一定含量的选择性病原微生物在适宜的条件下致病;高浓度的非病原微生物导致机体免疫负荷过重,抵抗力降低,易感性升高^[2-3]。研究表明,气载需氧菌含量的增高能够导致动物免疫力下降、生长缓慢以及降低生产性能^[4-5];许多致病真菌都可产生毒素,能够引起禽类真菌毒素中毒症,发育迟缓、免疫力低下、器官机能障碍及中毒死亡等^[6];长期暴露于高浓度气载内毒素中的动物容易引起混合性呼吸道疾病或加重呼吸道疾病的临床症状^[7],并且内毒素还影响人的体液免疫和细胞免疫^[8]。

国内外在畜禽舍环境与人类和动物的健康方面已做过很多研究,如 Crowe 等^[9]、Urbain 等^[10]、Whyte 等^[11]都曾经指出空气的质量状况较差会导致人及动物的一些疾病的发生,主要是呼吸道疾病、机体免疫力下降等。特别是空气中的微生物以及其

代谢产物(内毒素)是影响动物健康的潜在因素。涉及肉鸡免疫功能的研究较多^[12-14],本研究针对不同养殖环境中微生物气溶胶的含量与家禽机体免疫器官发育和对疫苗免疫应答的影响进行了探讨,以期商品肉鸡的养殖提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验鸡与饲养

试验于2008年9月8日至10月27日进行,选用1日龄健康AA肉鸡300只,随机分为2组,每组150只,分别饲养在面积(20 m²)、光照、饲养密度均相同的2个鸡舍中,均平养。2组的免疫程序是:7日龄,新城疫疫苗(lasota),滴鼻或点眼;14日龄,传染性法氏囊疫苗,饮水;21日龄,新城疫疫苗(lasota),滴鼻或点眼。日粮配方均相同。试验期为49 d。

对照组每天室内喷雾消毒,3种消毒药(拜安/拜洁/拜净,德国拜耳公司)交替使用。食槽、饮水器消毒清洗,地面每日撒垫料1次,每3 d清除1次粪便和垫料,白天通过排风扇通风;试验组不消毒,不

收稿日期:2010-05-04

基金项目:国际合作项目(2009DFA32890)

张红双,硕士研究生。研究方向:环境微生物学。E-mail: zhslovely@126.com

通讯作者:柴同杰,教授。研究方向:环境微生物与分子细菌学。E-mail: chaitj117@163.com

打扫粪便和垫料,不通风。

1.2 样品采集与细菌、真菌的鉴定

1)空气样品收集。采用国际标准 Andersen-6 级微生物空气样品收集器,气流速率为 28.3 L/min,驱动时间根据不同卫生条件和不同细菌掌握在 1~10 min。气载需氧菌以普通营养琼脂(杭州天和微生物试剂有限公司)、气载真菌以沙堡落培养基(Sabourand's Agar:葡萄糖 40 g,蛋白胨 10 g,琼脂 20 g,蒸馏水 1 000 mL)为介质,分别于 10、20、30、40、49 日龄进行采集。收集器设置于鸡舍中央,收集时尽可能避免打扰鸡群。

2)气载细菌、真菌的分离鉴定。用于分离鉴定需氧菌总数的空气样品,置于 37 °C 恒温箱中培养 24 h;用于真菌分离鉴定的样品在 25 °C 恒温箱培养 72 h(有的真菌在第 7 天观察计数)。然后,菌落计数,计算出细菌或真菌浓度(cfu/m³)。

1.3 气载内毒素空气样品收集及鉴定

采用国际标准 AGI-30 收集器和显色基质鲎试验法(chromogenic limulus amoebocyte lysate, CLAL)^[15]测得,以 50 mL 无热原水为采样介质,采样时气流速率为 12.5 L/min,驱动时间为 30 min。采样时,样本采集在正常工作时间进行,尽量避免打扰鸡群。CLAL 试验检测内毒素,然后根据采样时间和气流速率,计算出气载内毒素含量(EU/m³)^[16]。

1.4 免疫功能指标检测

1)抗体效价检测。分别于 14、21、28、35、42、49 日龄早晨饲喂前,每组随机抽取 10 羽,翅静脉采血,分离血清,采用 HI 试验测新城疫抗体(newcastle disease antibody,ND-Ab)。

2)免疫器官指数测定。分别于 21、35、49 日龄时每组随机抽取 8 羽,空腹称质量后,颈部放血屠宰,摘取胸腺、脾脏、法氏囊。剔除脏器表面的脂肪组织和结缔组织,用滤纸吸去血渍,用电子天平(上海精天电子仪器有限公司,0504006)称质量,分别计算胸腺、脾脏、法氏囊指数。脏器指数=脏器质量(g)/体质量(kg)。

1.5 数据处理和统计分析

用 SPSS 11.5 和 Excel 统计软件对数据进行分析,以均数±标准差($\bar{X} \pm S$)表示。微生物气溶胶浓度采用中间值表示,用最大值和最小值反应数值的波动^[17]。

2 结果与分析

2.1 两鸡舍空气微生物浓度的测定结果

试验组需氧菌浓度在 $2.9 \times 10^6 \sim 5.12 \times 10^6$ cfu/m³ 之间,真菌浓度在 $2.8 \times 10^5 \sim 5.6 \times 10^5$ cfu/m³ 之间。而对照组的细菌浓度在 $0.57 \times 10^6 \sim 1.83 \times 10^6$ cfu/m³ 之间,真菌浓度在 $0.72 \times 10^5 \sim 1.1 \times 10^5$ cfu/m³ 之间,可见试验组的细菌浓度和真菌浓度显著高于对照组($P < 0.05$),并且试验组一直处于上升趋势(图 1、图 2)。

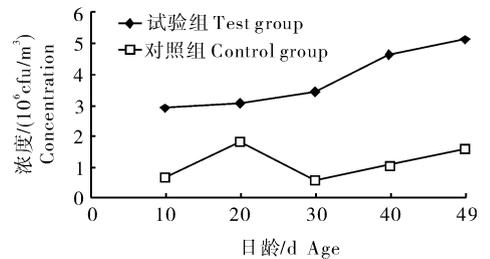


图 1 气载需氧细菌浓度变化

Fig. 1 Changes of airborne aerobic bacteria concentration

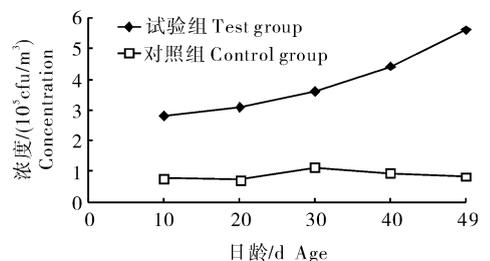


图 2 气载需氧真菌浓度变化

Fig. 2 Changes of airborne fungi concentration

在 15 至 45 日龄之间,对照组内毒素浓度变化在 $2.4 \times 10^3 \sim 3.1 \times 10^3$ EU/m³ 之间,试验组的内毒素浓度变化在 $2.5 \times 10^3 \sim 16 \times 10^3$ EU/m³ 之间,随着试验鸡只日龄的增长,有明显的上升趋势(图 3)。

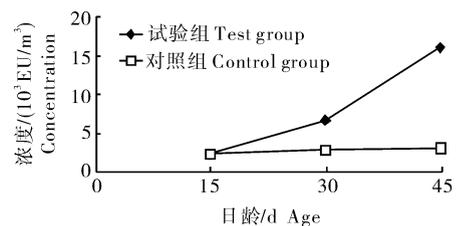


图 3 内毒素浓度变化

Fig. 3 Changes of endotoxin concentration

2.2 2种养殖环境下试验鸡新城疫抗体水平的比较

试验组和对照组鸡抗新城疫疫苗抗体水平均在 28 日龄时达到最高值,分别为 6.1 和 5.3,对照组的

抗体水平始终高于试验组。在14、21、28日龄时,2组肉鸡新城疫抗体水平差异都不显著。然而,在35、42、49日龄时2组肉鸡新城疫抗体水平分别为4.9与6.1、4.4与5.6、3.6与4.8,差异均显著(表1)。

表1 2种养殖环境下肉鸡抗新城疫疫苗
抗体效价的比较(\log_2)¹⁾

Table 1 Comparison of broiler newcastle disease
antibody titer in the two sheds(\log_2)

组别 Group	时间 Time					
	14 d	21 d	28 d	35 d	42 d	49 d
试验组 Test	3.7±	4.8±	5.3±	4.9±	4.4±	3.6±
	0.67	0.79	0.67	0.88	0.97	1.26
对照组 Control	3.7±	5.1±	6.1±	6.1±	5.6±	4.8±
	0.95	1.20	1.20	1.52*	1.35*	1.03*

1) * : $P < 0.05$.

2.3 2种养殖环境下肉鸡免疫器官指数的比较

21日龄时,2组试验鸡的脾脏指数、法氏囊指数、胸腺指数差异甚小;35日龄时,试验组和对照组的胸腺指数分别为 2.31 ± 0.51 和 3.36 ± 0.72 ($P < 0.05$);49日龄时,试验组的脾脏指数分别为 1.06 ± 0.28 和 1.18 ± 0.14 ($P < 0.05$),而胸腺指数分别为 1.79 ± 0.25 和 2.92 ± 0.73 ,差异极显著 ($P < 0.01$)。而2组的法氏囊指数差异不显著 ($P > 0.05$) (表2)。

表2 2种养殖环境下肉鸡脏器指数的比较¹⁾

Table 2 Comparison of broiler organ index in the two sheds

日龄/d Age	组别 Group	g/kg		
		脾脏指数 Spleen index	法氏囊指数 Bursa index	胸腺指数 Thymus index
21	试验组 Test group	0.97 ± 0.15	2.35 ± 0.25	3.58 ± 0.50
	对照组 Control group	0.96 ± 0.34	2.56 ± 0.53	3.81 ± 0.95
35	试验组 Test group	1.06 ± 0.28	0.66 ± 0.21	2.31 ± 0.51
	对照组 Control group	1.18 ± 0.14	0.53 ± 0.16	$3.36 \pm 0.72^*$
49	试验组 Test group	$0.72 \pm 0.11^*$	0.38 ± 0.18	1.79 ± 0.25
	对照组 Control group	0.91 ± 0.13	0.26 ± 0.02	$2.92 \pm 0.73^{**}$

1) * : $P < 0.05$; ** : $P < 0.01$.

3 讨论

畜禽舍环境中的化学、物理和生物应激因素都会对动物的免疫机能产生影响,使得动物易感性升

高。本试验主要研究了不同养殖环境微生物气溶胶的浓度不同对肉鸡免疫功能的影响。畜禽舍微生物气溶胶起源于动物体本身及其排泄物,它们的含量与种类反映了舍内的环境卫生状况,也是该群动物疫病流行的指征^[18]。本试验中试验组的气载细菌、真菌和内毒素的含量均高于对照组,通过对不同的环境卫生状况下肉鸡的抗体水平、免疫器官指数的对比检测可以得出,微生物气溶胶对肉鸡免疫功能产生不良影响。

细菌内毒素是革兰氏阴性菌细胞壁上构成成分(LPS),细菌死亡后释放,黏附在其他细胞时表现其毒性。它可以视为革兰氏阴性菌的致病因子,因而在革兰氏阴性菌感染的发病机理中起着十分重要的作用。Zucker等研究显示,鸡舍环境中气载内毒素与气载革兰氏阴性菌的含量呈弱的正相关。与需氧阴性菌的含量相比,气载内毒素的含量显著较高,其原因可能是:气载内毒素具有热稳定性,它能够在空气中较长时间存活,逐渐积累,致使含量升高^[19],而需氧革兰氏阴性活菌在空气中存活时间短,采样过程也可使其部分活性丧失。结果显示,内毒素的变化曲线随着日龄的增加迅速上升,尤其在后期由于内毒素的积累,内毒素浓度上升加快。

动物舍环境有计划消毒,能够减少空气中悬浮物和微生物气溶胶的数量,净化空气,达到改善空气质量的目的。屈凤琴^[20]研究指出,消毒后鸡舍空气含4种主要致病菌的杀灭率达88%~100%。本试验结果显示,试验组由于饲养环境较差,空气中微生物气溶胶逐渐积聚,气载需氧细菌浓度在 $2.90 \times 10^6 \sim 5.12 \times 10^6$ cfu/m³之间,真菌浓度在 $2.8 \times 10^5 \sim 5.6 \times 10^5$ cfu/m³之间。而对照组每天坚持消毒,细菌浓度在 $0.57 \times 10^6 \sim 1.83 \times 10^6$ cfu/m³之间,真菌浓度在 $0.72 \times 10^5 \sim 1.10 \times 10^5$ cfu/m³之间波动。试验组的微生物气溶胶的含量都显著高于对照组,显示了对对照组每日的消毒等清洁措施起到了一定的作用。

微生物气溶胶的广泛分布严重危害畜禽健康,其在高浓度下能对机体产生极大危害,主要可导致机体免疫负荷过重、对疫苗的免疫应答力下降、抗病力降低和易感性增强等。Maes等^[21]指出,密集的畜禽养殖产生的生理应激能够导致免疫抑制,易感性升高。Quattro^[22]强调,疫苗的免疫作用会因免

疫抑制、应激等因素而减弱或丧失;他同时指出,在这样的环境中产生的突变菌株,选择性地增加了繁殖的机会,并且,在环境中存活积聚。畜禽舍空气环境中含有非病原、选择性病原和病原微生物,以及缺乏日光暴露等因素,使得禽类的天生抵抗力降低了^[23]。在本试验中,随着日龄的增长以及微生物浓度的逐渐上升,试验组鸡只的免疫负担加重,抵抗力下降。到 35 日龄以后,试验组的新城疫抗体效价显著低于对照组,试验组的免疫器官指数也显著低于对照组,说明试验组鸡只对疫苗免疫应答的能力降低了,鸡的免疫器官发育也受到了影响。结果显示:一方面,环境生物因素对机体的不良影响随着日龄的增加逐渐加重,免疫抑制的不利效果逐渐凸现出来;另一方面,环境有害因子即生物应激抑制了鸡体免疫应答能力。这个结果与 Witter^[24]的结果一致。Witter 强调,减弱的免疫功能降低了疫苗的免疫保护功能。

本研究证实,试验组鸡舍由于饲养环境卫生条件差,环境中大量的生物应激因素的积聚,加重鸡的免疫负担,降低鸡的抵抗力对免疫器官的发育和 NDV-Ab 效价产生不利的影响。因此,做好动物舍环境卫生管理,提高动物体的免疫抵抗力是健康养殖的根本。

参 考 文 献

- [1] GROSS W B. Diseases due to *Esherichia coli* in poultry [M]. Wallingford, UK: CAB International, 1994: 237-259.
- [2] DOUWES J, THORNE P, PEARCE N, et al. Bioaerosol health effects and exposure assessment: progress and prospects [J]. Ann Occup Hyg, 2003, 47(3): 187-200.
- [3] FIEGEL J, CLARKE R, EDUARDE D A. Airborne infectious disease and the suppression of pulmonary bioaerosols [J]. DDT, 2006, 11(1/2): 51-57.
- [4] DUTKIEWICZ J, POMORSKI Z J H, SITKOWSKA J. Airborne microorganisms and endotoxin in animal houses [J]. Grana, 1994, 33(2): 85-90.
- [5] WOLINSKY S M. Public health; chicken monster or chicken little? [J]. Science, 2006, 311(5762): 780-781.
- [6] 李国勤, 曹光荣. 禽曲霉菌病的病原与病因研究进展 [J]. 动物医学进展, 1999, 20(3): 12-14.
- [7] HENDRICK D, BECKETT W, BURGE S P, et al. Occupational disorders of the lung, recognition, management and preven-
- tion [M]. London: Harcourt Publisher, 2002: 425-435.
- [8] BURRELL R. Immunomodulation by bacterial endotoxin [J]. Rev Microbiol, 1990, 17: 189-208.
- [9] CROWE C K, HARRIS D L H, ELLIOTT L P, et al. A possible relationship between low facility dust and endotoxin levels and improved growth rates in pigs reared by Isowean^(SM) [J]. J Swine Health Prod, 1996, 4: 231-236.
- [10] URBAIN B, PROUVOST J F, BEERENS D, et al. Chronic exposure of pigs to airborne dust and endotoxins in an environmental chamber: technical note [J]. Vet Res, 1996, 27: 569-578.
- [11] WHYTE R T. Aerial pollutants and the health of poultry farmers [J]. World's Poultry Science Journal, 1993, 49: 139-156.
- [12] 冯新畅, 李庆章. 环境与鸡的免疫功能 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 1990(11): 36-37.
- [13] 杨海明, 王志跃, 赵秀花. 营养物质对鸡免疫功能的影响 [J]. 山地农业生物学报, 2004, 23(2): 164-168.
- [14] 牛爱军. 不同温度的高温环境对肉仔鸡免疫功能的影响 [J]. 潍坊学院学报, 2006, 6(2): 85-86.
- [15] 王思理, 胡冠时, 贡立青. 细菌内毒素检查法及其应用 [M]. 北京: 气象出版社, 2003.
- [16] 于玺华, 车凤翔. 现代空气微生物学及采检鉴技术 [M]. 北京: 军事医学科学出版社, 1998, 10: 89-98, 153-155, 319, 341.
- [17] 金丕焕. 医学统计方法 [M]. 上海: 上海医科大学出版社, 1992: 20-21.
- [18] CHE F, LI J, CHAI T J. Airborne biology: theory and application [M]. Peking: Science Publishing Company, 2004: 5-48.
- [19] FORUK M J, UHLMAN S, BAKER D B, et al. Analysis of microbial contamination of a ventilation system detected by measurement of microbial volatile organic compounds [J]. Bioaerosols, Fungi and Mycotoxins; Health Effects, Assessment, Prevention and Control, 2001, 47(1): 55-61.
- [20] 屈凤琴. 鸡舍空气中致病微生物的监测 [J]. 中国家禽, 2000, 4(22): 29-30.
- [21] MAES D, DELUYKER H, VERDONCK M, et al. Herd factors associated with the seroprevalences of four major respiratory pathogens in slaughter pigs from farrow-to-finish pig herds [J]. Veterinary Research, 2000, 31(3): 313-327.
- [22] QUATTRO J D. Three scientists introduced into ARS hall of fame. ARS/USDA News and Events, September 17. www.ars.usda.gov/is/pr/1999/990917.html. 1999 [2008-03-18].
- [23] HOJOVEC J, FISET A, KUBICEK K Z. Die Rolle von Indikator keimen fuer die Beurteilung der Stallluft [J]. Mh Vet Med, 1977, 32: 766-769.
- [24] WITTER R L. Control strategies for Marek's disease: a perspective for the future [J]. Poultry Science, 1998, 77(8): 1197-1203.

Effects of different breeding environments on broilers' immune function

ZHANG Hong-shuang¹ QIN Mei¹ CHAI Tong-jie¹ MIAO Zeng-min¹
HUANG Rong¹ LIU Dun-jiang¹ ZHOU Yu-fa²

1. *College of Animal Science and Technology, Shandong
Agricultural University, Tai'an 271018, China;*

2. *Bureau of Animal Husbandry in Daiyue District, Shandong Province, Tai'an 271000, China;*

Abstract Three hundred and twenty one-day-old healthy Arbor Acres(AA) broilers were randomly divided into two groups, i. e., experimental group and control group, and later bred in the chicken houses of different sanitary environmental management conditions. To better understand the impacts of different raising environments on broilers' immune function, the concentrations of aerobic bacteria, fungi, and endotoxins in the air of the chickens' houses were determined periodically. Meanwhile, newcastle disease antibody(ND-Ab) levels and immune organ indexes of broilers were detected. The results showed that the microbial concentrations of the experimental group were significantly higher than those of the control group ($P < 0.05$). Newcastle antibody levels of the control group were higher than those of the experimental group significantly ($P < 0.05$) at 35, 42 and 49 days. The spleen index was influenced significantly ($P < 0.05$) compared with the control one and very significant impact on the thymus ($P < 0.01$) was identified, while little effect on the bursa ($P > 0.05$) was observed. Therefore, the poor sanitary condition and high concentration of microbial aerosols may have a bad effect on the immune functions of broilers, from which it could be concluded that keeping good sanitary condition of raising environments is one of the important measures to keep animals healthy.

Key words raising environments; microbial aerosols; immune function; antibody titer; organ indexes

(责任编辑:边书京)