

# 硝基苯对鸭免疫器官及禽流感免疫应答的影响

吕树文<sup>1</sup>, 孙 刚<sup>2</sup>, 张加勇<sup>2</sup>, 刘 娣<sup>3</sup>

(1.大庆石油管理局供水公司,黑龙江大庆 163451; 2.黑龙江省动物卫生监督所,黑龙江哈尔滨 150090; 3.东北林业大学博士后流动站,黑龙江省农业科学院博士后工作站,黑龙江哈尔滨 150086)

**摘要:**为探讨硝基苯对鸭免疫器官及免疫应答的影响,以鸭为试验动物,按 53.66 mg·kg<sup>-1</sup>灌胃硝基苯,复制鸭硝基苯中毒及模型。结果表明:(1)硝基苯对免疫器官发育及体液免疫功能造成广泛的抑制效应。(2)硝基苯影响了禽流感抗体的产生,并在较低的水平上维持。(3)硝基苯中毒组胸腺、脾脏、法氏囊脏器指数均低于对照组,(4)硝基苯中毒组鸭胸腺、脾脏、法氏囊出现广泛实质性变化,包括淋巴细胞数量显著减少、变性、坏死,滤泡减少或无滤泡形成,胸腺皮质萎缩。

**关键词:**鸭;硝基苯;免疫器官;禽流感;免疫应答

中图分类号: S834      文献标识码: A      文章编号: 1002-2767(2009)01-0110-03

## Effect of Nitrobenzene Toxication on Immune Organs and Function in Avian Influenza Immune Response in Duck

LÜ Shu-wen<sup>1</sup>, SUN Gang<sup>2</sup>, ZHANG Jia-yong<sup>2</sup>, LIU Di<sup>3</sup>

(1. Water Supply Corporation of Petroleum Administration Bureau in Daqing, Daqing, Heilongjiang 163451; 2. Heilongjiang Institute of Animal Health Inspection, Harbin, Heilongjiang 150090; 3. Postdoctor Research Station In Northeast Forestry University, Postdoctor Research Station In Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

**Abstract:** In this paper, ducks were allocated into two groups the ducks in the contrast group were only fed with the basic diet, the poisoning group was fed with the diet supplemented with 53.66 mg·kg<sup>-1</sup> nitrobenzene. Ducks of the poisoning group showed ducks signs of nitrobenzene toxication. Ducks toxicology model caused by subchronic nitrobenzene toxication was deeply studied trough clinical findings pathohistological changes, the ELISA of AI and the measurement of thymus, spleen and bursa of FAB. The result showed (1) From organizing pathology, clinical symptom index to observation, nitrobenzene toxication has caused the extensive restrain effect to immune organ development and immune function. (2) Nitrobenzene toxication has influenced the production of the antibody seriously, and kept on the relatively low level. The reducing of the antibody ELISA result titer of AI proved that the immune function received the obvious injury at the same time. (3) Thymus, spleen and brusal in group nitrobenzene toxication organs indexes were lower than those of the contrast group. It proved that the nitrobenzene would suppress the growing of immune organ seriously. (4) Immune organ in histology was observed, including lymphocyte reduce notably by quantity, necrosis, straining and steep strained and steep forming.

**Key words:** ducks; nitrobenzene; immune organ; avian influenza; immune response

硝基苯(NB, nitrobenzene), 无色或微黄色具苦杏仁味的油状液体, 是重要的有机合成原料, 主要用于生产苯胺, 此外还是重要的有机溶剂<sup>[1]</sup>, 被美国环保局规定为优先监测物, 具有可疑致突变性和可疑致癌性, 对人体及动植物危害极大<sup>[2,3]</sup>。目前, 国际癌症研究署

(IARC)已充分证实 NB 对实验动物有致癌作用, 美国国立环境卫生科学研究所将它指定为致癌物。随着硝基苯更广泛的应用和产量的不断增加, 以及含有 NB 工业废水的不合理排放, 由 NB 造成的环境污染越来越严重, 其已成为常见的有毒环境污染物。NB 对环境的危害已经影响到了生态环境的可持续发展, 也直接危害到野生动植物, 特别对野生水禽的影响越来越重。国内外一些学者关于 NB 对人类、哺乳动物及微生物的毒性效应已进行了大量的研究, 但关于 NB 致水禽的毒性效应研究未见报道。2005 年松花江硝基苯水污染事

收稿日期: 2008-08-15  
第一作者简介: 吕树文(1965-), 男, 黑龙江人, 大专, 畜牧师, 从事畜牧科技推广工作。Tel: 13836103861, 82388735; E-mail: sungang2006@yahoo.com.cn.

件,引起了全社会广泛关注硝基苯污染对环境造成的影响。为充分认识硝基苯对生态环境的危害作用,尤其是对野生水禽的毒性作用,本试验用育成鸭进行慢性硝基苯中毒试验,进而揭示硝基苯对水禽免疫器官和禽流感免疫应答的影响,填补此方面的空白。

1 材料与方法

1.1 饲料

东北农业大学微维饲料厂生产的全价饲料,营养成分:粗蛋白 21%~17%,粗纤维 5%,含灰分 7%,钙 0.8%~1.3%,总磷 0.6%~0.55%,盐 0.3%~0.8%。

1.2 主要试剂

禽流感 ELISA 检测试剂盒(荷兰 BioChek 公司,产品代码 CK401)。硝基苯(上海凌峰化学试剂有限公司,批号为 040410 分析纯 AR)。

1.3 实验动物

8 日龄健康金定鸭 80 只,购自哈尔滨市双城种鸭孵化场,按照常规饲养。

1.4 试验设计

80 只金定鸭分别于 10 日龄和 40 日龄接种 H5N1 亚型禽流感灭活疫苗,随机分为空白对照组、攻毒组,每组各 40 只常规分笼饲养,自由采食。于 80 日龄时试验,攻毒组按 53.66 mg·kg<sup>-1</sup> 攻毒量一次性灌胃染毒(溶剂选用花生油)。空白对照组灌服相当剂量的花生油。试验期 60 d 观察临床表现并记录。

1.5 临床症状及病理学检查

试验开始后每日观察临床症状,分别在 80 日龄后的第 15、30、45、60 d 每组随机抽取 5 只鸭采血后剖杀,解剖检查,60 d 剖杀完毕。并取法氏囊、胸腺、脾脏等组织块固定于 10% 福尔马林磷酸盐缓冲液中,石蜡包埋,切片, H. E. 染色,镜下观察。

1.6 测定免疫器官脏器系数

称重,并取鸭法氏囊、胸腺、脾脏,测定其脏器系数。法氏囊脏器系数=  $\frac{\text{法氏囊重/g}}{\text{体重/kg}}$ ;脾脏脏器系数=  $\frac{\text{脾脏重/g}}{\text{体重/kg}}$ ;胸腺脏器系数=  $\frac{\text{胸腺重/g}}{\text{体重/kg}}$ 。

1.7 血样的采集与处理

在 80 日龄后的第 15、30、45、60 d 每组随机抽取 5 只鸭静脉采血,分离血清,分装冻存待检。用 AI 抗体 ELISA 试剂盒测定 AI 抗体效价。

1.8 试验数据处理与统计

用 Excel 进行数据的统计、处理与分析。

2 试验结果

2.1 临床症状观察

染毒后,部分鸭出现站立不稳,精神沉郁,步态蹒跚;随后出现共济失调,常倒向一侧,挣扎而无法重新站立;后期出现鸣叫、角弓反张、呼吸加长加深。

2.2 病理解剖学检查

中毒死亡鸭脾脏肿大,表面有白色纤维膜,充血,皮质与髓质界限不明显,有的脾脏为灰绿色;胸腺萎缩;法氏囊萎缩充血、出血。消化道变化较明显,腺胃胃壁增厚、黏膜脱落,肠道充血,泄殖腔内充满白色尿酸盐;脑充血;部分鸭肝、肾和睾丸充血。

2.3 病理组织学检查

脾脏脾小梁明显增粗,小动脉管壁增厚,白髓界限不清,很少有淋巴滤泡形成,网状细胞变性坏死;胸腺皮质萎缩变小,髓质相对增厚,皮质中淋巴细胞明显减少,出现淋巴细胞打孔(星空状)现象,网状内皮细胞严重变性坏死,法氏囊皮质髓质界限不明显,皮质变薄,淋巴细胞数减少,部分网状细胞变形坏死。

2.4 免疫器官脏器系数检测结果

表 1 表明,随着染毒时间的延长,对照组鸭脾脏脏器系数呈上升趋势,攻毒组开始则呈下降趋势。在各时间点上,攻毒组与对照组比较差异均极显著(P<0.01);对照组胸腺脏器系数呈显著上升趋势,攻毒组胸腺脏器系数变化趋势基本相同,呈现出先降低后升高的连续波动趋势;不同时间点上,攻毒组与对照组比较差异极显著(P<0.01);对照组法氏囊脏器系数呈下降趋势,攻毒组法氏囊脏器系数变化趋势不尽相同,在各时间点上,攻毒组与对照组比较差异均极显著(P<0.01)。

表 1 不同试验日期免疫器官脏器系数

样品	组别	15 d	30 d	45 d	60 d
法氏囊	对照组	1.12±0.11 <sup>AB</sup>	1.02±0.06 <sup>Aa</sup>	0.84±0.02 <sup>Ab</sup>	0.79±0.03 <sup>Aa</sup>
	攻毒组	0.68±0.05 <sup>Cc</sup>	0.82±0.04 <sup>Cc</sup>	0.64±0.02 <sup>Cd</sup>	0.560±0.03 <sup>Dd</sup>
胸腺	对照组	0.99±0.05 <sup>Dd</sup>	1.68±0.13 <sup>Aa</sup>	2.48±0.18 <sup>Aa</sup>	2.66±0.17 <sup>Aa</sup>
	攻毒组	1.50±0.11 <sup>Cc</sup>	0.76±0.03 <sup>Cc</sup>	1.07±0.09 <sup>Dd</sup>	0.99±0.08 <sup>Cc</sup>
脾脏	对照组	0.62±0.03 <sup>Aa</sup>	0.65±0.01 <sup>Aa</sup>	0.72±0.02 <sup>Aa</sup>	0.74±0.02 <sup>Aa</sup>
	攻毒组	0.44±0.02 <sup>Bd</sup>	0.41±0.01 <sup>Cc</sup>	0.38±0.01 <sup>Dd</sup>	0.57±0.03 <sup>BChc</sup>

2.5 禽流感抗体 ELISA 检测结果

表 2 表明,硝基苯对鸭 AI 特异性抗体效价消涨的

影响明显。攻毒组血清抗体效价水平明显降低,在低水平上维持,但对照组的抗体效价水平明显高,并在高

水平上维持。攻毒组与对照组血清的抗体效价相比差异显著( $P<0.05$ )。

表 2 禽流感 ELISA 抗体效价的消涨情况

组别	15 d	30 d	45 d	60 d
对照组	4431.05±107.93 <sup>ABa</sup>	4323.05±101.83 <sup>ABab</sup>	4415.58±103.34 <sup>ABab</sup>	4383.46±147.59 <sup>ABab</sup>
攻毒组	4159.04±91.13 <sup>CDc</sup>	3571.72±77.94 <sup>Fd</sup>	2435.15±152.28 <sup>h</sup>	991.63±39.01 <sup>Mk</sup>

3 小结与讨论

3.1 本试验结果表明 硝基苯对鸭免疫器官发育、免疫功能造成了广泛的抑制效应。硝基苯严重影响了抗体产生,并在较低的水平上维持,这意味着当大量病原攻击时,鸭没有足够的抗体消灭病原。ELISA 检测 AI 抗体效价降低,说明免疫功能受到明显伤害。中毒组胸腺、脾脏、法氏囊等脏器指数均低于对照组,说明硝基苯抑制胸腺、法氏囊和脾脏的生长发育,进而影响机体免疫功能。组织学检查结果,与对照组相比,中毒组胸腺、脾脏、法氏囊出现实质性变化,包括淋巴细胞数量减少、变性、坏死等。刘伯臣等<sup>[4]</sup>,通过抗氧化指标 MDA、SOD、GSH-Px 和 T-AOC,并对其进行显微和超微结构观察,证明硝基苯对动物免疫组织的毒性作用。

3.2 硝基苯中毒组胸腺、法氏囊、脾脏淋巴细胞数量减少,表明严重影响免疫器官发育。胸腺为中枢免疫器官,是 T 淋巴细胞成熟分化场所。硝基苯中毒严重抑制了鸭胸腺的发育,抑制胸腺和外周 T 淋巴细胞。法氏囊是禽类 B 淋巴细胞发源地,在 B 淋巴细胞成熟过程中起着非常重要的作用。它在成熟前达到最大,以后逐渐萎缩至完全消失,硝基苯中毒破坏法氏囊结构,抑制体液免疫,分泌抗体的浆细胞减少或消失。脾脏为外周免疫器官,在体液免疫中发挥重要作用。结果表明,硝基苯中毒组免疫器官损伤,免疫球蛋白含量

降低,体液功能受到严重影响。

3.3 硝基苯对 AI 特异性抗体效价消涨的影响明显。硝基苯中毒组与对照组相比其血清中的抗体效价明显降低,而且在低水平上维持,但对照组的抗体效价水平明显高,并在高水平上维持,呈现显著性差异。有些学者认为,硝基苯导致 T 细胞亚群减少,抗体产生的减少,主要是由于白细胞总数减少,其形成过程较为复杂。要多种细胞和细胞因子的协同或调节。本试验的结果表明,抗体减少与免疫器官受损及其淋巴细胞数量减少和淋巴组织减少有关。这与 Skoczyuska A 等<sup>[5]</sup>、Kim Yo 等<sup>[6]</sup> 研究结果相似。

参考文献:

[ 1 ] 江景观, 纪云晶, 常元勋. 环境化学毒物防止手册[ M ]. 化学工业出版社, 2004: 724-725.

[ 2 ] 马汐平, 付宝荣, 刘洁, 等. 制药废水中硝基苯致突性的细菌检测试验[ J ]. 辽宁大学学报, 1999, 26(2): 175-178.

[ 3 ] Hankenson K, Schaeffer D J. Microtox assay of trini-trotoluene, diaminonitrotoluene and dinitromethylalanine mixtures[ J ]. Bull Environ Contam Toxicol, 1991, 46(4): 550-553.

[ 4 ] 刘伯臣, 邢厚娟, 丁岚峰, 等. 硝基苯对小鼠脾的毒性作用[ J ]. 中国兽医科学, 2008, 38(04): 355-359.

[ 5 ] Skoczyuska A, Poreba R, Sieradzki A, et al. The impact of lead and cadmium on the immune system[ J ]. Med Pr, 2002, 53(3): 259-264.

[ 6 ] Kim Y O, Ahn Y K, Kim JH. Influence of melatonin on immunotoxicity of cadmium[ J ]. Int J Immunopharmacol, 2000, 22(4): 275-284.

黑龙江省同江市粮食总产达到 4.5 亿 kg

2008 年以来,同江市在推动农业发展中不断优化种植结构调整,推广先进实用技术,以现代农业核心区示范园区为牵动,进一步扩大优势农产品规模,因地制宜发展特色经济。农业生产喜获丰收,粮食最高单产突破 7 500 kg·hm<sup>-2</sup>,总产量创下历史新高。

为推进农业标准化生产,同江市建设了总面积 5.3 万 hm<sup>2</sup> 的现代农业综合示范核心区,重点实施了“三带”、“十区”、“百点”工程建设。通过这种“做给农民看、带着农民干”的示范、引导和牵动方式,在农村大力推广先进的农业科技、实用技术和管理理念,提升了全市农业种植的科技技术含量,同时认真落实对种粮农民的补贴政策,促进了“三农”工作的快速发展。

由于示范区建设严格采取了良种、良法相配套,农机、农艺相结合和“六个统一”的管理方式,以及土地流转规模经营、绿色农业科技示范区、场市共建等多种经营模式,同江市粮食生产喜获丰收。据同江市农业部门介绍,今年,同江市粮食平均单产达到 4 500 kg·hm<sup>-2</sup>,总产量达到 4.5 亿 kg,分别比去年增长 20%和 30%,创下历史最高水平。