

新城疫壳聚糖微球疫苗免疫效果的研究

翟荣玲¹, 徐怀英², 王友令², 秦卓明^{2*}, 姜世金^{1*}

(¹ 山东农业大学动物科技学院 泰安 270108)

(² 山东省农业科学院家禽研究所 济南 250100)

摘 要 鸡新城疫是由新城疫病毒引起的鸡的一种急性、烈性、高度接触性传染病,是危害养禽业的最严重疫病之一。控制新城疫最根本的措施是进行有效的疫苗接种,目前常用的疫苗是弱毒活疫苗和灭活疫苗,但二者在实际应用中均存在一定的局限性。口服微球疫苗可以诱导较强的粘膜免疫,同时还能够诱导产生系统的体液免疫和细胞免疫,已成为 ND 疫苗研究的热点。以壳聚糖为囊材,新城疫 La Sota 抗原液为芯材,戊二醛为交联剂,制备出新城疫壳聚糖微球疫苗,通过了实验室安全检验和效力检验。将新城疫壳聚糖微球疫苗与 La Sota 活疫苗和新城疫油剂灭活疫苗分别免疫 SPF 鸡,利用 MTT、血凝抑制法(HI)和 ELISA 等分别检测不同疫苗免疫后的细胞免疫、体液免疫和粘膜免疫抗体 IgA,并在当免疫鸡 HI 抗体降到 2³ 的情况下进行了攻毒试验。结果表明,新城疫壳聚糖微球疫苗安全性好,免疫后可刺激机体产生较强的细胞免疫、体液免疫和局粘膜免疫,具有较好的保护作用。

关键词: 壳聚糖微球疫苗,新城疫病毒,免疫效果

中图分类号: Q78; Q939 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209(2007)04-0692-05

鸡新城疫(Newcastle disease, ND)是由新城疫病毒(Newcastle disease virus, NDV)引起的鸡的一种急性、烈性、高度接触性传染病,是危害养禽业的最严重疫病之一。控制新城疫最根本的措施是进行有效的疫苗接种,目前常用的疫苗是弱毒活疫苗和油剂灭活疫苗,但二者在实际应用中均存在一定的局限性。油剂灭活疫苗通过注射免疫鸡体后能够产生高水平的体液抗体,但不能有效阻止 NDV 经粘膜侵入体内,ND 弱毒活疫苗虽然可以产生一定的粘膜免疫和体液免疫,但受免疫方法和途径影响,且疫苗激发机体产生的免疫水平通常较低。饮水免疫很容易造成疫苗被消化道降解,导致疫苗吸收率低,滴鼻点眼也只能使疫苗在鼻腔内存在 15min,不能激发较高的粘膜免疫^[1],气雾免疫产生的粘膜免疫效果较好,但容易诱导慢性呼吸道疫病,且弱毒活疫苗均不能产生较高的血清抗体等。因此,研制出既能产生较强的体液免疫抗体又能产生高效的局部粘膜免疫的新型疫苗已成为 ND 疫苗研究的焦点。

壳聚糖是一种优良的天然载体,具有良好的生物相容性和生物降解性,制备的微球(microsphere, MS)具有控制释放、靶向作用等特点,已被广泛地用作药物、酶等的载体^[2,3]。国内外尚未有利用 NDV

进行微球疫苗研究的报告。本试验利用壳聚糖微球做载体,以 La Sota 为芯材,对 NDV 微球疫苗进行了研制,并按照兽医生物制品规程对其免疫效果和常规疫苗进行了比较试验。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 试剂 壳聚糖脱乙酰度 90%,粘度 < 100cps; 25%戊二醛水溶液 BR,石油醚(60~90°),36%乙酸等试剂为分析纯,淋巴细胞分离液,均购自中国医药集团上海化学试剂公司;MTT,RPM1640 培养基,ConA 均购自 Sigma 公司。新城疫灭活疫苗,购自南京天邦,批号为 200604;La Sota 活疫苗,购自齐鲁动物保健品厂,批号为 0605004。新城疫强毒 F48E8 购自中国兽药监察所;新城疫诊断抗原为自制^[4],HA 效价为 2¹⁰;IgA 试剂盒由 BETHYL 生产。

1.1.2 实验动物 7 日龄 SPF 鸡由山东省农科院家禽所 SPF 种鸡场提供。

1.1.3 2.5%壳聚糖 2%乙酸溶液的配制 称取壳聚糖 5g 分散于 188mL 灭菌蒸馏水中,在磁力搅拌下,缓慢加入 12mL 36%乙酸,继续搅拌 10min,静置 1h,待气泡消去即可。

基金项目:山东省科技攻关项目(003100103);山东省科技攻关重点支持项目(030317)

* 通讯作者。Tel 86-531-88961344 E-mail: qinzm1997@163.com sjjiang@sdau.edu.cn

作者简介:翟荣玲(1982-),女,山东莱芜人,硕士研究生,主要从事畜禽传染病与分子病毒学研究。E-mail: rdlingzhai@163.com

其它作者:贾强²,李莉²,欧阳文军²

收稿日期:2006-12-25 接受日期:2007-03-15 修回日期:2007-05-28

1.2 新城疫壳聚糖微球的制备

在壳聚糖乙酸溶液中加入 8mL 吐温-80, 磁力搅拌下使其融解, 再加入 25% 的戊二醛 2.0mL, 快速搅匀 2min(控制反应温度为 5~10℃), 立即将壳聚糖溶液倒入高速搅拌的 500mL 液体石蜡中, 经 1.5h 微球化后, 倒入砂芯漏斗真空抽干, 然后用石油醚洗涤 3~5 次, 无菌蒸馏水洗涤 3~5 次, 再次真空干燥得空白微球^[5,6]。将新城疫病毒加入稍高浓度的壳聚糖乙酸溶液中混匀, 按空白微球法制备微球疫苗, 然后加入一定量的处理好的 La Sota 尿囊液, 4℃ 吸附 48h 后调整 pH 值至 8.0, 真空干燥。

取冻干微球疫苗 100μg, 加入至 10mL pH7.2PBS 中, 加入适量胰酶处理, 置 4℃ 冰箱放置 72h, 取上清液做 10 倍系列稀释, 取 10⁻⁴、10⁻⁵、10⁻⁶、10⁻⁷ 共 4 个稀释度各接种 10 日龄 SPF 鸡胚 5 个, 置 37℃ 温箱继续孵化, 弃去 24h 内死亡的鸡胚, 此后每 6h 照蛋一次, 及时将死亡鸡胚取出, 置 2~8℃ 保存, 至 120h 将鸡胚全部取出, 逐个检测鸡胚尿囊液的 HA 效价, 然后按 Reed-Muench 法计算 EID₅₀。

1.3 壳聚糖微球的粒径及形态观察

观察壳聚糖微球外观物理性状, 将微球制片用导电胶固定喷金, 用扫描电镜观察微球, 在带标尺的光学显微镜下观察微球形状和分散性, 选取有代表性的区域, 计数 400 个微球的粒径大小, 用 SPSS 软件进行平均粒径、大小分布范围及正态分布曲线的分析。

1.4 壳聚糖微球疫苗的安全性检验

将疫苗接种 4 周龄左右 SPF 鸡 10 只, 每只鸡口服 100μg(10 羽份), 观察 3 周鸡只有无异常变化。

1.5 壳聚糖微球疫苗的免疫效果检测

将制备的新城疫壳聚糖微球疫苗(口服)、La Sota 活疫苗(滴鼻、点眼)、La Sota 油剂灭活疫苗(肌肉注射)同等剂量(1 羽份)分别免疫 40 只 30 日龄 SPF 鸡, 同时设 10 只未免疫对照。

1.5.1 鸡细胞免疫功能检测: MTT 法检测淋巴细胞转化率, 免疫组每组随机取 8 只鸡, 对照组取 2 只。无菌心脏采血 5mL, 加肝素钠 0.5mL, 加入 5mL RPMI 1640 培养基, 混匀平分为 2 份。血样沿离心管壁轻轻加于 4mL 淋巴细胞分离液上层, 2000r/min 离心 20min, 取中间白色淋巴细胞层, 移入另一无菌离心管, 加 RPMI1640 完全营养液 2~3mL, 吹散淋巴细胞, 2000r/min 离心 20min。淋巴细胞再用营养液洗涤 2 遍, 计数, 调整细胞浓度为 4 × 10⁶ 个/mL。取 RPMI1640 完全营养液(含 ConA 20μg/mL)加入 96 孔

无菌细胞培养板中, 再加淋巴细胞液 50μL/孔, 置 37℃, CO₂ 培养箱, 培养 44h 后取出, 加入 5mg/mL MTT 15μL/孔, 继续培养 4h 后取出, 加 10% SDS-HCL 100μL/孔, 继续培养 2h 后取出, 室温放置 5min 后, 用酶标仪测 OD₅₆₀ 处的吸光值, 计算各组的平均值^[7]。

1.5.2 鸡血清抗体 IgG 检测: 免疫后每周用常规 HI 方法检测血清中新城疫 IgG 抗体。

1.5.3 哈德氏腺中 IgA 抗体检测: 免疫后每周自免疫组取下 2 只鸡的哈德氏腺, 匀浆离心取上清。用 IgA 试剂盒检测哈德氏腺中新城疫 IgA 抗体。

1.5.4 气管中 IgA 抗体检测: 免疫后每周自免疫组取下 2 只鸡中段约 1cm 的气管, 匀浆离心取上清。用 IgA 试剂盒检测气管中新城疫 IgA 抗体。

1.5.5 免疫攻毒试验: 为了检验不同疫苗免疫后所产生的粘膜免疫对机体的保护力, 选择在各免疫组 ND 血清抗体降至 2³ 左右时随机取 10 只鸡进行攻毒, 用 F₄₈E₈ 毒株 10⁸EID₅₀/0.1mL, 口服 0.2mL/只, 同时设 5 只 SPF 鸡口服对照攻毒组, 观察 14d。

2 结果

2.1 新城疫壳聚糖微球的制备结果

制备的新城疫壳聚糖微球疫苗 100μg 经以上处理后接种鸡胚, 逐个检测鸡胚尿囊液的 HA 效价, HA ≥ 8log₂ 判为阳性。按 Reed-Muench 法计算 EID₅₀ 结果为 1.08 × 10⁶ EID₅₀/mL, 与 La Sota 活疫苗每羽份病毒含量一致。

2.2 壳聚糖微球形态观察

制备的壳聚糖微球为黄褐色微粒, 在带标尺的光学显微镜下观察微球形状和分散性, 选取有代表性的区域, 计数 400 个微球的粒径, 用 SPSS 软件进行平均粒径及正态分布曲线的分析。壳聚糖微球的分布呈正态分布, 2~10μm 微球占 94.7%, 微球平均粒径为 5.83μm(图 1)。

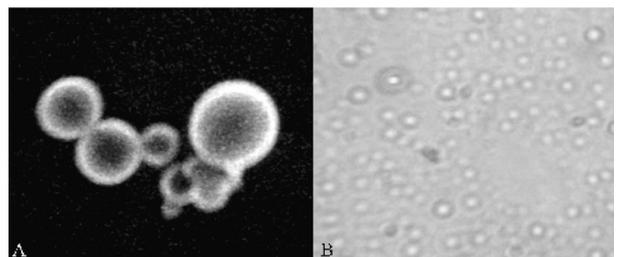


图 1 壳聚糖微球的形态

Fig. 1 Morphology of chitosan microspheres. A: Scanning electron microscope photograph of chitosan microspheres(3000 ×); B: Light

电子显微镜扫描显示,壳聚糖微球呈完整球形,表面光滑无明显孔洞,通过空白壳聚糖微球与包载 NDV 抗原微球粒径大小比较结果表明,对微球表面结构无明显影响,粒径大小基本无差异。

2.3 安全性检验结果

观察 3 周,免疫鸡精神、采食、饮水及粪便均正常,证实大剂量口服是安全的。

表 1 不同 ND 疫苗免疫后各组鸡血清中 IgG 抗体效价 (\log_2)

Table 1 IgG titers of ND in the serum of the chicken groups immunized with different vaccine respectively (\log_2)

Group	Time post immunization											
	1W	2W	3W	4W	5W	6W	7W	8W	9W	10W	11W	12W
ND microsphere vaccine	4.0	5.2	8.2	8.6	8.3	7.5	7.3	6.9	6.6	6	5.5	5.7
La Sota live vaccine	3.8	4.5	5.6	5.7	5.57	4.5	4.5	4.1	3.7	3.4	3.2	3.3
Inactivated NDV vaccine	3.2	5.5	6.86	7.5	7.2	7.1	6.8	6.4	6.0	5.9	4.9	4.5
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

2.5 淋巴细胞转化率

MTT 法检测各组淋巴细胞转化率,结果显示(表 2),用 SPSS12.0 对以上数值进行成对比较,结果 ND 微球疫苗组与其它各组的 t 值分别为:2.422、2.37 和 $2.839 > t_{(0.05,7)} = 2.365$,有显著差异;La Sota

2.4 血清抗体检测结果

表 1 为特异性血清抗体检测结果。用 SPSS12.0 对以上数值进行成对比较,结果 ND 微球疫苗组与 La Sota 活疫苗组和新城疫油剂灭活疫苗组 t 值分别为 $8.845、4.935 > t_{(0.01,11)} = 3.106$,有极显著差异,说明 ND 微球疫苗的免疫效果显著好于 La Sota 活疫苗组和新城疫油剂灭活疫苗组。

活疫苗组与新城疫油剂灭活疫苗组及对照组的 t 值为 2.323 和 $1.114 < t_{(0.05,7)} = 2.365$,差异不显著,以上结果显示壳聚糖具有增强 T 淋巴细胞免疫功能的作用。

表 2 不同疫苗免疫对 SPF 鸡淋巴细胞转化率的影响

Table 2 Effects on the rate of lymphocyte transformation of SPF chicken in different vaccine groups

Group	Time post immunization							
	1W	2W	3W	4W	6W	8W	10W	12W
ND microsphere vaccine	0.133	0.75	0.24	0.36	0.318	0.33	0.304	0.331
La Sota live vaccine	0.122	0.147	0.194	0.21	0.201	0.22	0.203	0.2
Inactivated NDV vaccine	0.125	0.591	0.297	0.293	0.259	0.275	0.288	0.27
Control	0.109	0.181	0.262	0.163	0.163	0.14	0.158	0.17

2.6 免疫鸡哈德氏腺中 NDV IgA 抗体的动态变化

表 3 为免疫鸡哈德氏腺中 NDV IgA 抗体的动态变化。La Sota 活疫苗组的哈德氏腺 IgA 抗体上升速度在免疫后两周内较微球疫苗组略快,二者均在免疫 3 周后达最高峰,但微球疫苗组的抗体高于 La Sota 活疫苗组,且下降速度较慢,维持期较长,而新

城疫油剂灭活疫苗基本不产生粘膜抗体。用 SPSS12.0 对以上数值进行成对比较,结果微球疫苗组与 La Sota 活疫苗组的 t 值为 $2.281 < t_{(0.05,7)} = 2.365$,二者差异不显著,与新城疫油剂灭活疫苗组的 t 值为 $9.656 > t_{(0.01,7)} = 2.835$,差异显著。

表 3 不同 ND 疫苗免疫后各组鸡哈德氏腺中 IgA 抗体效价

Table 3 IgA titers of ND in the gland of Harder of the chicken groups immunized with different vaccine respectively

Group	Time post immunization									
	0W	1W	2W	3W	4W	6W	8W	10W	12W	
ND microsphere vaccine	0.054	0.852	1.54	2.33	2.179	2.006	1.97	1.66	1.228	
La Sota live vaccine	0.054	0.97	1.737	2.12	1.978	1.671	1.431	1.226	1.001	
Inactivated NDV vaccine	0.054	0.062	0.073	0.095	0.056	0.044	0.063	0.058	0.059	
Control	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	

2.7 免疫鸡气管中 NDV IgA 抗体的动态变化

免疫鸡气管中 NDV IgA 抗体的动态变化为表 4。La Sota 活疫苗组在免疫后 2 周即可达到最高值,

尽管微球疫苗组气管中 IgA 抗体在免疫后 3 周达最高峰,但其峰值比 La Sota 高,且下降速度较慢,维持期较长,而 ND 油剂灭活疫苗基本不产生粘膜抗体。

用 SPSS12.0 对以上数值进行成对比较,结果微球疫苗组与 La Sota 活疫苗组的 t 值为 $1.883 < t_{(0.05,7)} = 2.365$,微球疫苗组抗体略高于 La Sota 活疫苗组,但

二者没有显著差异;微球疫苗组与 ND 油剂灭活疫苗组的 t 值为 $9.784 > t_{(0.01,7)} = 2.875$,二者差异显著。

表 4 不同 ND 疫苗免疫后各组鸡气管中 IgA 抗体效价

Table 4 IgA titers of ND in the trachea of the chicken groups immunized with different vaccine respectively

Group	Time post immunization									
	0W	1W	2W	3W	4W	6W	8W	10W	12W	
ND microsphere vaccine	0.088	0.589	1.023	1.095	0.97	0.936	0.839	0.667	0.57	
La Sota live vaccine	0.088	0.767	1.035	1.02	0.946	0.77	0.616	0.461	0.256	
Inactivated NDV vaccine	0.088	0.1	0.095	0.089	0.07	0.098	0.087	0.091	0.13	
Control	0.088	0.088	0.088	0.088	0.088	0.088	0.088	0.088	0.088	

2.8 攻毒保护试验结果

攻毒保护试验结果表明,口服免疫新城疫壳聚糖微球疫苗后产生了较强的粘膜免疫,导致口服攻毒后病毒更难以侵入机体而发病。分述如下:①ND 微球疫苗组,在攻毒后无一死亡,采食、饮水及精神无异常,剖检气管、泄殖腔无出血,仅在十二指肠的肠道淋巴滤泡密集区、盲肠扁桃体等部位有少量轻微出血;②La Sota 活疫苗组,10 只鸡有 1 只死亡,剖检部分活鸡腺胃出血,肠道出血严重;③灭活新城疫疫苗组,10 只鸡有 3 只死亡,剖检部分活鸡腺胃出血,肠道出血严重;④对照组,在攻毒后 2~5d 内全部死亡,病死鸡鸡冠紫黑,剖检为 ND 典型病变:气管、喉头出血、腺胃乳头间出血、腺胃周围脂肪出血、十二指肠以至整个肠道黏膜、出血。

3 讨论

IgG、IgM 是鸡 ND 体液免疫反应的重要抗体,分泌型 IgA (sIgA) 是参与粘膜免疫反应的主要效应因子。泪液是 sIgA 存在的主要效应部位^[8,9],哈德氏腺是禽特有的局部免疫器官^[10-12]。通过以上试验证实,壳聚糖微球疫苗通过口服方式免疫后,可显著增强 T 细胞的免疫效果,产生较强的体液免疫(血清抗体)和局部的粘膜免疫。

ND 油剂灭活疫苗可产生较高的血液循环抗体,但在抵抗呼吸道和消化道病原感染的粘膜系统中却有局限性,很难阻止病毒通过粘膜组织侵入动物体内,且对已经进入细胞的病毒很难发挥作用;而传统的活疫苗尽管产生一定的粘膜抗体,但产生的循环抗体较低,维持期短。本研究中,尽管进行攻毒试验时所有组别的鸡血清中的 ND 抗体均降到 2^3 ,但壳聚糖微球疫苗组却表现出很好的保护率,其次是 La Sota 活疫苗组,最差的是 ND 油剂灭活疫苗组,这是由于不同疫苗免疫后所产生的粘膜免疫效果不同,导致病毒通过消化道和呼吸道等途径侵入机体的难

易程度不同。这表明,壳聚糖微球疫苗不仅弥补了油剂灭活疫苗和传统的活疫苗的不足,而且还能够同时刺激机体产生高效而持久的全身免疫和局部粘膜免疫。

壳聚糖微球疫苗中的壳聚糖具有免疫佐剂功能和载体功能,可诱导小鼠脾细胞产生相当水平的 IL-2^[13],增加肠道淋巴细胞中 IgA、IgG 的水平^[14],激活补体,刺激巨噬细胞活化,增强吞噬能力,促进粘膜中抗原递呈细胞对抗原的摄取^[15],具有良好的开发潜力。由于壳聚糖微球疫苗具有无毒、生物相容性和可降解性,可改变和控制抗原的释放,提高抗原生物利用度,以及增加抗原局部滞留性等优点^[16],因而是一种具有广阔应用前景的新型载体疫苗。尽管如此,微球疫苗还处于实验阶段,其作用机理急待深入研究,在制备工艺中如何减少各环节对病毒抗原的破坏,延长抗原在体内控释时间等,仍需进行大量的实验工作。

参 考 文 献

- [1] 郭松林, 阚南辉. 粘膜免疫研究进展. 预防兽医学进展, 2000, 2(3): 1-5.
- [2] 李宇红, 樊明文. 壳聚糖与疫苗的粘膜递呈. 国外医学口腔医学分册, 2004, 31(5): 356-358.
- [3] 何强芳, 李国明, 巫海珍, 等. 5-氟尿嘧啶壳聚糖微球的制备及其释药性能. 应用化学, 2004, 21(2): 192-196.
- [4] 王明俊, 冀锡霖, 陈永佃, 等. 兽医生物制品学. 第一版. 北京: 中国农业出版社, 1997, 332-333.
- [5] Kim S E, Park J H, Cho Y W, et al. Porous chitosan scaffold containing microspheres loaded with transforming growth factor- β 1: implications for cartilage tissue engineering. *J Control Release*, 2003, 91(3): 365-374.
- [6] Dhawan S, Singla AK, Sinha VR. Evaluation of mucoadhesive properties of chitosan microspheres prepared by different methods. *AAPS Pharm Sci Tech*, 2004, 5(4): 1-7.
- [7] 乔彦良, 杨汉春, 郭玉璞, 等. 左旋咪唑对鸡细胞免疫和体液免疫功能的作用. 畜牧兽医学报, 2000, 32(2): 109-114.

- [8] Baba T, Masunoto K, Nishida S, *et al.* Harderian gland dependency of immunoglobulin A production in the lacrimal fluid of chicken. *Immunology*, 1988, **65**: 67–71.
- [9] Russell PH, Ezeifeke GO. The Hitchner B1 strain of Newcastle disease virus induces high levels of IgA, IgG and IgM in newly hatched chicks. *Vaccine*, 1995, **13**(1): 61–66.
- [10] Albini B, Wick G, Rose E, *et al.* Immunoglobulin production in chicken Harderian glands. *Int Arch Allergy Appl Immunol*, 1974, **47**(1): 23–34.
- [11] Gallego M, Click B. The proliferative capacity of the cells of the avian Harderian gland. *Dev Comp Immunol*, 1988, **12**(1): 157–66.
- [12] Tsuji S, Baba T, Kawata T, *et al.* Role of Harderian gland on differentiation and proliferation of immunoglobulin A-bearing lymphocytes in chickens. *Vet Immunol Immunopathol*, 1993, **37**(3–4): 271–83.
- [13] Shibata Y, Foster LA, Bradfield JF, *et al.* Oral administration of chitosan down-regulates serum IgE levels and lung eosinophilia in the allergic mouse. *J Immunol*, 2000, **164**(3): 1314–1321.
- [14] Lim BO, Yamada K, Nonaka M, *et al.* Dietary fibers modulate indices of intestinal immune function in rats. *J Nutr*, 1997, **127**(5): 663–667.
- [15] Lubben IM, Konings FA, Borchard G, *et al.* In vivo uptake of chitosan microparticles by murine Peyer's patches visualization studies using confocal laser scanning microscopy and immunohistochemistry. *J Drug Target*, 2001, **9**(1): 39–47.
- [16] Vanessa L, Goncalves, Maruo CM, *et al.* Effect of crosslinking agents on chitosan microspheres in controlled release of diclofenac Sodium. *Polimeros Cienciae Tecnologia*, 2005, **15**(1): 6–9.

Study on immune efficacy of Newcastle disease chitosan microsphere vaccine

ZHAI Rong-ling¹, XU Huai-ying², WANG You-ling², QIN Zhuo-ming^{2*}, JIANG Shi-jin^{1*}

(¹ College of Veterinary Medicine, Shandong Agriculture University, Tai'an 271018, China)

(² Shandong Institute of Poultry Science, Jinan 250100, China)

Abstract : Newcastle disease is an acute and highly contagious disease caused by Newcastle disease virus (NDV), one of which does great harms to the poultry industry. The most basic measure of controlling New Castle disease is to alid vaccine, now we usually use La Sota live vaccine and inactivated NDV vaccine, but these two vaccines both have more or less limitation. It can produce higher mucosal immunity titers by taking vaccine orally, meanwhile it can induce humoral and cell-mediated immune response and mucosal immunity strongly. Therefore, it becomes the focus of the research, which prepare new pattern vaccines taking orally. NDV chitosan microsphere vaccine was prepared using chitosan as capsule wall material, NDV as core material, glutaraldehyde as cross-linking material, and its even particle diameter was 5.83μm, and its surface was smooth and glossy, no obviously pore space, yellow brown pykno-ball, and its safety and potency were evaluated. The SPF chickens were immunized with NDV chitosan microsphere vaccine, La Sota live vaccine and inactivated NDV vaccine respectively. To evaluate vaccine's immune efficacy, using MTT to measure lymphocytes proliferation in vitro, using HI to measure serum special IgG and using ELISA tests to detect mucosal sIgA titers. The results show that NDV chitosan microsphere vaccine was safe, could induce humoral and cell-mediated immune response and mucosal immunity strongly. The results of the potency tests conformed that the vaccine could produce good protective effect.

Keywords : chitosan microsphere vaccine; Newcastle disease virus; immune efficacy

Foundation item : Project for Science and Technology Development of Shandong Province(003100103); Key Project for Science and Technology Development of Shandong Province(030317)

Other author : JIA Qiang², LI Li², OUYANG Wen-jun²

* Corresponding author. Tel 86-531-88961344 ; E-mail qinzm1997@163.com ; sjjiang@sdau.edu.cn

Received : 25 December 2006/ Accepted : 15 March 2007/ Revised : 28 May 2007 © 2007 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>