

谈谈鱼类免疫

王宇

(浙江自然博物馆, 杭州 310007)

黄立峰

(浙江水产干部学校)

鱼类在脊椎动物中是比较低等的一类, 其免疫系统和免疫反应与高等脊椎动物比较也是较原始的。鱼类免疫在国际上最早研究的时间是 1942 年, 我国研究的时间较晚, 1977 年才开始系统的研究, 取得了可喜的成绩, 经过免疫的草鱼, 病毒性出血病的发病率大为减少, 草鱼的成活率可稳定在 85% 左右。草鱼种免疫防病已在全国范围内推广, 已给草鱼生产带来明显的效益。

目前国内外对鱼体免疫的途径有注射, 浸泡, 口服, 喷雾四种, 经试验和应用以注射法效果最佳, 其次浸泡法, 此法不大稳定, 当前尚在试验中。口服和喷雾两种均无效果。

所谓鱼类免疫, 是指外来病原侵入鱼体时, 鱼类机体动员自身的防御力量, 进行一系列生理反应, 防止病原体的入侵、阻止入侵者的生长繁殖, 控制其散布, 解除病原体对鱼体的毒害作用, 修复其损失, 这个过程称免疫。

鱼类免疫可以用于预防细菌性鱼病和病毒性鱼病, 特别是后者, 用病毒颗粒在细胞内繁殖生长的、很难用药物治疗, 用注射灭活疫苗的方法效果很好。国内鱼类已发现 14 种病毒病, 也普遍采用了免疫法防治。

现分别介绍鱼类抗原的制备, 抗体的形成, 非特异性免疫和特异性免疫的一些基本知识, 以供从事水产技术人员和鱼类免疫工作者参考。

(一) 鱼类抗原的制备和抗体的形成

1. 抗原制备 抗原又叫免疫原, 它能刺激鱼体产生免疫反应的化学物质。一般由灭活细菌制成的用以预防细菌性鱼病的生物制品称为

“菌苗”; 由灭活病毒或病毒组织浆制成的用以预防病毒性鱼病的称为“疫苗”。

鱼类菌苗的制备 取典型症状的病鱼, 先进行外部消毒。剖腹后, 取出肝、脾、肾、称重, 放在乳钵中, 加入 0.85% 生理盐水稀释 5—10 倍, 制成组织浆。然后用双层纱布过筛去渣, 取滤液, 用水浴锅加温, 保持 60—65℃ 两小时灭活, 再加入福尔马林使成 1% 的浓度(兼灭活和防腐)后即可作菌苗使用。注射量视鱼体大小, 鱼尾注射 0.1—0.3 毫升。此菌苗可以预防鱼类细菌性鱼病。

鱼类病毒疫苗的制备 取典型症状的病鱼, 先行外部消毒、取肾、脾、肝和肌肉组织, 剪碎, 以 10 倍的 0.85% 生理盐水匀浆使其稀释成十分之一或百分之一浓度。以每分钟 3000 转速度离心 30 分钟, 取上清液, 按照每毫升病毒悬液加入青霉素 800 单位, 链霉素 800 微克, 最后加入 10% 的福尔马林溶液, 使最终浓度成为 0.1% (也就是说 10 毫升的病毒悬液加 10% 的福尔马林, 只要加 0.1 毫升就行了) 摇匀后放入 32℃ 恒温水浴中灭活 72 小时, 灭活后, 取样作安全和效力试验。疫苗制成后, 置于 4—8℃ 冰箱中保存备用。

安全与效力试验 取上述灭活好的疫苗, 对当年健康的草鱼进行腹腔注射, 每尾注射 0.2—0.5 毫升, 在水温 25—28℃ 的水缸中饲养, 连续观察 15 天, 另设未经免疫的对照组, 若对照组全部发生出血病, 死亡率在 70% 以上, 而免疫组获得保护, 仍健康存活, 说明该疫苗有效。免疫预防时, 视鱼种大小, 每尾可注射 0.2—0.5 毫升。为便于操作注射前鱼种应用晶

体敌百虫(一般浓度为5千分之一)麻醉。

2 抗体 抗体是由抗原刺激机体而产生的具有特异性的球蛋白,存在于血清及体液之中,它能与相应抗原结合发生免疫反应。鱼类产生的抗体特异性,不象人和其他哺乳动物产生的抗体那样具备高度的特异性,但对鲤鱼,八目鳗等研究结果证实,鱼类对抗原的刺激是产生免疫抗体的。鱼类免疫球蛋白似乎主要是19S型,相当于人体的IgM。王德铭等(1960)曾应用纸上电泳法分析草鱼血清蛋白,分离得到四种成分:清蛋白; α -球蛋白; β -球蛋白和 γ -球蛋白,其结果与哺乳动物的血清蛋白成分相同。

(二) 鱼类非特异性免疫

非特异性免疫是机体的防御机制,它取决于机体的遗传和生理功能。在第一次接触抗原时能起反应,再次接触同种抗原时同样起反应,它能和机体一起遇到的各种各样抗原起反应。这种免疫虽然是动物(包括鱼类)机体的一种自然属性,但受多种因素影响。

1. 鱼类非特异性免疫的机制

(1) 屏障功能 粘液——是非常有效的第一道防线。粘液由体表的粘液细胞产生,它们不断地更新和补充。一般来说,水中的病原体,特别是细菌,很难突破这道防线。这主要是因为:粘液是一种胶体状的物质,限制了细菌的运动,形成一种天然屏障。粘液是由多糖类和蛋白质组成,其中含有大量的溶菌和杀菌的物质,可以杀灭病原体。粘液中还含有特异性抗体,这些特异性抗体是由鱼体内产生的,然后分泌到粘液中。由于这些原因,粘液有自我消毒的能力。

皮肤和鳞片也是阻挡病原体入侵的重要屏障。皮肤破损和鳞片脱落处是病原体最易入侵的部位,如发生水霉、打印、赤皮病等。

(2) 吞噬作用 实验证明,鱼类存在消化特别物质的吞噬细胞如多核白血球和巨噬细胞等,这些吞噬细胞部分来源于前肾的原血细胞。吞噬细胞有三个重要的特点:其一它们是活动的;含有消化酶以降解被吞噬的物质;巨噬细胞还是非特异性免疫和特异性免疫之间的重要环

节,巨噬细胞一方面把抗原及其产物传递给淋巴细胞;另一方面它们有保留抗原的作用,以保证淋巴细胞不被过剩的抗原所抑制。吞噬现象在鱼类中很普遍,它担任捕捉和消化侵入有机体中微生物的吞噬细胞的吞噬现象、也是鱼类有机体抵抗疾病的方法。

(3) 体液因素 体液因子主要有补体,备解素,溶菌酶和干扰素等。

补体 是一组极其复杂的血清蛋白,由球蛋白和粘球蛋白合成,以低浓度存在于正常新鲜的血清中。它能吸引多形核吞噬细胞,到达抗原抗体相互作用的区域,并帮助白血球的吞噬。当有机体存在时,对病原体中的一些革兰氏阴性细菌表现出强力的溶菌作用。

备解素 它属于 β 球蛋白。在补体协助下,它可以杀死许多革兰氏阳性菌和阴性菌,原虫等,也可灭活一些病毒。

溶菌酶 它是一种低分子量的碱性蛋白质,经常存在于组织浸出液,血液及腺体分泌物中,以相当高的浓度存在于多形核白血球中。它具有粘液分解的功用,能从许多革兰氏阳性菌细胞壁上的糖多肽中分解出糖,因而引起细菌的溶解。

干扰素 它是在病毒感染中,由被感染细胞释放出来的一种物质,干扰素对同一病毒或无关病毒的再感染都有抑制作用,是非特异性的。据报道它能抑制原生动物的、细菌、立克次氏体以及枝原体等在内的其它微生物。

遗传因素 非特异性免疫是受遗传控制的,如鱼的种类不同,对病原体的抵抗能力也不同。

2. 影响非特异性免疫因素

影响非特异性免疫的因素有环境因子如氧、水质、温度等,营养因素如鱼类营养不良对各种细菌病的感染率增高;还有个体差异和年龄的影响。对同一种病原体来说,鱼体之间的易感性是存在着个体差异的,通常体格强壮的鱼抵抗疾病的能力也强。一龄以内的鱼,免疫机能不成熟,影响到处理外来抗原的能力。

(三) 鱼类特异性免疫

1. 特异性免疫出现的条件是：入侵的微生物必须接触到免疫系统的细胞（巨噬细胞和淋巴细胞），才能导致针对该微生物的一种特异性免疫反应的发生。特异性免疫可分自动免疫和被动免疫。

(1) 自动免疫：抗体是由被感染动物通过自己的生理活动而形成的，免疫力较持久稳定。它又可分为：

自然自动免疫 由于机体患病或隐性传染后，而获得的不感受性。自然自动免疫在鱼类中已证实存在，有人证实鲤鱼患赤斑病后鱼体可以获得免疫。感染一定强度锚头蚤的鲢、鳙鱼种，在虫体脱落病愈后可获得明显的免疫力，而且免疫期可持续一年以上。

人工自动免疫 用人工方法，注射菌苗，疫苗等，使机体产生免疫性。这种免疫方法对于预防传染病是有重大意义的，草鱼出血病是我省最严重的鱼病，它由呼肠孤病毒引起。尚无有效的药物治疗，几年来我们采用注射病毒疫苗的方法，草鱼的成活率可达到 85—90%，免疫期可维持 14 个月。此种免疫已推广全省淡水渔区，据统计免疫草鱼已达 1419 万尾。同未免疫的草鱼相对照可增加鱼产量达 447 万斤，增加收入 1788 万元。

(2) 被动免疫：免疫力不是自身产生的，而是由体外输入的一种免疫能力，借助血液，血清成分等，把免疫力从一个有免疫的个体传递到另一个无免疫的个体身上，它分为：

自然被动免疫 自然被动免疫被许多试验所证实，如苏联人利用免疫的遗传性，在养鲤业中选择获得免疫力的亲鲤，繁殖后代，培育免疫鱼种，已得到很大成功。

人工被动免疫：将已经获得免疫的同种或异种动物的抗血清，注入未曾免疫的动物，使被动地获得一时性的免疫力。如有人曾用家兔的抗荧光假单胞菌血清注射入鱼体，比较注射前后的 LD_{50} ，得到保护指数 152，采用此法可挽救

一部分病鱼免于死亡。此法可用于对病鱼的治疗。

2. 特异性免疫的机制 根据对哺乳动物的研究，抗原进入机体后，在抗原刺激和淋巴样组织的影响下，淋巴细胞分化，发育成两种类型的淋巴细胞群体，其过程如下：

(1) 免疫活性细胞 参加免疫反应的细胞很多，但主要是小淋巴细胞。小淋巴细胞有两种：一种其发育和成熟与胸腺有关，称为 T 细胞，主管细胞免疫；另一种其发育和成熟与胸腺无关，称为 B 细胞，主管体液免疫。这两种细胞功能不同，但形态一样。在机体发育的早期，它们起源于骨髓，成熟后即通过血流分布到全身淋巴结和脾脏等与免疫有关的器官中去发挥免疫作用。

(2) 致敏 抗原进入体内，首先被巨噬细胞吞噬，并被消化成为较小的分子，但却保留抗原决定簇的物质，后者与巨噬细胞的核糖核酸结合成复合物，可吸引小淋巴细胞。当小淋巴细胞靠拢后，胞浆互相渗入，巨噬细胞即通过此种方式把抗原信息传给 T 细胞，这叫致敏。致敏后，该 T 细胞就定型成为只对该抗原起反应的致敏 T 细胞。

(3) 分化，增殖和反应 T 细胞被致敏后即根据抗原性质不同向不同方面分化。如该抗原是引起细胞免疫的，致敏 T 细胞即分化繁殖，最终成为一大群能对抗原起反应的 T 细胞群，并分泌介质吸引巨噬细胞来协助破坏或清除抗原等。如果该抗原是引起体液免疫的，致敏 T 细胞即把抗原信息传给 B 细胞，后者就分化增殖，最后变成浆细胞，浆细胞产生抗体，抗体和抗原结合以排斥或清除抗原的危害性。

参 考 文 献

- [1] 河北水产学校 1980 鱼病学 13—26 农业出版社。
- [2] 鱼病防治编写组 1985 鱼病防治 109—118 农业出版社。
- [3] 殷 震等 1985 动物病毒学 科学出版社。