

柔嫩艾美耳球虫早熟耐药株对几种抗球虫药的敏感性

陈赵英, 郑明学*, 古少鹏

(山西农业大学动物科技学院, 山西太谷 030801)

摘要:为了探讨鸡柔嫩艾美耳球虫早熟耐药株对常用抗球虫药的敏感性, 采用尼卡巴嗪、氯苯胍、球痢灵、地克珠利和常山酮 5 种抗球虫药, 对由晋球 1 号球虫疫苗虫株复制的病鸡进行防治试验, 通过相对卵囊产量(ROP)、相对增重率、抗球虫指数(ACI)、病变记分减少率(RLS)和最适抗球虫活性百分率(POAA)5 项指标进行综合评定。结果表明, 柔嫩艾美耳球虫早熟耐药株对盐酸氯苯胍无抗药性, 对地克珠利有轻度抗药性, 对常山酮、球痢灵、尼卡巴嗪有部分抗药性, 它们的抗球虫指数为 187.46~246.75, 达到了抗球虫效果。

关键词:柔嫩艾美耳球虫早熟耐药株; 敏感性; 鸡

中图分类号: S852.723

文献标识码: A

文章编号: 1007-5038(2009)02-0026-04

鸡球虫病(Coccidiosis)是由顶复器门艾美耳属(*Eimeria*)的几种艾美耳球虫引起的鸡寄生虫病的总称^[1-2], 其发病率为 50%~70%, 病死率达 20%~30%, 严重时可达 80%, 给养禽业造成了极大的经济损失^[3-6]。据 Allen 报道, 世界各地每年仅球虫病造成的经济损失就达 80 亿美元^[7], 鸡球虫病的不断发生, 严重危害养鸡业的发展^[8]。在几种鸡艾美耳球虫中, 鸡柔嫩艾美耳球虫(*E. tenella*)是其中致病力最强的一种, 主要侵害盲肠及其附近区域, 故又叫盲肠球虫^[9]。山西农业大学研制的鸡球虫病活疫苗(鸡柔嫩艾美耳球虫早熟耐药株, 晋球 1 号球虫疫苗)虫株是对制菌磺和土霉素耐药的早熟弱毒活疫苗, 用于鸡柔嫩艾美耳球虫病(鸡盲肠球虫病)的预防。为防止晋球 1 号球虫疫苗在生产中因使用剂量过大引起鸡发病而造成损失, 本试验采用对第 1 代和第 2 代裂殖体具有预防和治疗作用的尼卡巴嗪、氯苯胍、球痢灵、地克珠利和常山酮 5 种常用抗球虫药^[2, 10], 对由晋球 1 号球虫疫苗虫株复制的病鸡进行防治试验, 通过相对卵囊产量(ROP)、相对增重率、抗球虫指数(ACI)、病变记分减少率(RLS)和最适抗球虫活性百分率(POAA)5 项指标进行综合评定, 以探讨鸡柔嫩艾美耳球虫早熟耐药株对常用抗球虫药的敏感性。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验用动物 将刚孵化出壳的海兰白公雏

饲养于消毒的笼舍中, 饲料和饮水均消毒, 在无球虫环境下育雏至 13 日龄, 试验前查无球虫卵囊后进行称重、分组。

1.1.2 疫苗 晋球 1 号球虫疫苗虫株, 来自山西隆克尔生物制药有限公司中间试制产品鸡球虫病活疫苗(鸡柔嫩艾美耳球虫早熟耐药株, 2008001)。

1.1.3 试验药物 尼卡巴嗪为杭州丰和生物技术有限公司产品, 批号 060312; 球痢灵为济南奥德凯药业有限公司产品, 批号 080203; 盐酸氯苯胍为济南奥德凯药业有限公司产品, 批号 080205; 地克珠利为浙江新昌国邦兽药厂产品, 批号 070421; 常山酮为山东圣旺药业股份有限公司生产, 批号 070512。

1.2 方法

1.2.1 分组 选择 63 只 13 日龄健康状况良好的雏鸡逐只空腹称重, 随机分为 7 组, 其中 T₁~T₅为加药组, T₀为攻虫不加药组(阳性对照组), C₀为不攻虫不加药组(空白对照组), 每组 9 只, 每组再分为 3 个重复小组, 每小组 3 只, 适当调整各组体重, 使其相近, 记录初始重。各组鸡只处理(给药种类、给药剂量及感染剂量)详见表 1。试验采用双盲法(试验鸡的处理和观察记录两人分别完成)。

1.2.2 感染和给药 除 C₀组(空白对照组)外, 其他各组鸡均于 13 日龄口服接种晋球 1 号球虫疫苗虫株孢子化卵囊 15×10⁴个/只。然后按组隔离饲养于严格消毒的笼中, 器皿、饲料(高压灭菌)、饮水(凉

* 收稿日期: 2008-10-15

基金项目: 山西省财政支持农业科技成果转化项目(2006); 山西省科技攻关项目(993020-1, 2006031059)

作者简介: 陈赵英(1984—), 女, 山西临汾人, 硕士研究生, 主要从事动物传染病发病与免疫机理研究。* 通讯作者

开水)均按要求严格消毒,T₁~T₅组于 13 日龄开始随饲料给药,直至试验结束,试验期间每天观察记录各组鸡的精神状况、食欲、饮水及粪便状况。记录各组鸡的发病和死亡情况,死亡鸡随时称重、剖检并记录死亡原因。

计算攻虫后第 6 天和第 7 天的卵囊产量和平均每克粪便中卵囊数(Oocyst per gram feces, OPG),攻虫后第 8 天,将试验鸡全部空腹称重、处死,进行盲肠病变记分,收集各组鸡粪便、盲肠及内容物,测定相应的试验指标。

表 1 鸡只处理情况
Table 1 Treatment situation of chickens

组别 Group	小组别 Small group	试验鸡数 Chicken number	给药剂量/(mg·kg ⁻¹) Drug dose	感染剂量/(×10 ⁴ 个·只 ⁻¹) Infection dose	给药种类 Coccidiostat types
T ₁	T ₁₁	3	125	15	尼卡巴嗪 Nicarbazin
	T ₁₂	3	125	15	尼卡巴嗪 Nicarbazin
	T ₁₃	3	125	15	尼卡巴嗪 Nicarbazin
T ₂	T ₂₁	3	250	15	球痢灵 Zoalene
	T ₂₂	3	250	15	球痢灵 Zoalene
	T ₂₃	3	250	15	球痢灵 Zoalene
T ₃	T ₃₁	3	60	15	盐酸氯苯胍 Chloroquanidi hydrochloride
	T ₃₂	3	60	15	盐酸氯苯胍 Chloroquanidi hydrochloride
	T ₃₃	3	60	15	盐酸氯苯胍 Chloroquanidi hydrochloride
T ₄	T ₄₁	3	2	15	地克珠利 Diclazurl
	T ₄₂	3	2	15	地克珠利 Diclazurl
	T ₄₃	3	2	15	地克珠利 Diclazurl
T ₅	T ₅₁	3	6	15	常山酮 Halofuginone
	T ₅₂	3	6	15	常山酮 Halofuginone
	T ₅₃	3	6	15	常山酮 Halofuginone
T ₀	T ₀₁	3	—	15	—
	T ₀₂	3	—	15	—
	T ₀₃	3	—	15	—
C ₀	C ₀₁	3	—	—	—
	C ₀₂	3	—	—	—
	C ₀₃	3	—	—	—

1.2.3 测定指标与方法 相对增重率(%)=(感染组鸡平均增重/不感染组鸡平均增重)×100%。盲肠病变记分:参照 Johnson 和 Reid^[11]的方法进行盲肠病变记分。抗球虫指数(ACI)按照美国默克(Merck)公司公式计算^[2]:ACI=(存活率+相对增重率)-(病变值+卵囊值)。ACI≥180 判为敏感;ACI=160~179 判为部分抗药;ACI<160 判为抗药。病变记分减少率(RLS)=[(感染不用药对照组平均病变记分-感染用药组平均病变记分)/感染不用药组平均病变记分]×100%
RLS≥50%,无抗药性;RLS<50%,有抗药性;
相对卵囊产量(ROP):ROP=感染用药组平均卵囊百万数/感染不用药组平均卵囊百万数×100%。
ROP≥15%,有抗药性;ROP<15%,无抗药性。最适抗球虫活性百分率(POAA):POAA=(感染用药

组 GSR-感染不用药组 GSR)/(不感染不用药组 GSR-感染不用药组 GSR)×100%,GSR=笼末重/笼初重。
POAA>50%,无抗药性;POAA≤50%,有抗药性。
1.2.4 抗药性综合评定 参照有关文献^[12-15],按以下标准进行判定。
无抗药性:ACI、RLS、ROP、POAA 4 项指标都达到无抗药性。
轻度抗药:4 项中有 3 项指标无抗药性,1 项指标有抗药性。
部分抗药:4 项中有 2 项指标无抗药性,2 项指标有抗药性。
完全抗药:4 项中有 3 项以上指标有抗药性。
1.2.5 数据处理方法 每组中的 3 个重复小组数

据结果作为该组的 3 个重复结果,并对各组数据采用 SPSS10.0 统计学软件进行方差分析, Duncan^a 检验,所有数据以平均值±标准差表示,分析数据之间的差异显著性。

2 结果

柔嫩艾美耳球虫早熟耐药株感染鸡防治组中相对增重率常山酮组、尼卡巴嗪组、球痢灵组、地克珠利组和盐酸氯苯胍组依次增高,且盐酸氯苯胍组极显著 ($P<0.01$)和地克珠利组显著 ($P<0.05$)高于感染不给药组鸡,盐酸氯苯胍组显著 ($P<0.05$)高于不感染不给药组鸡,这是由于盐酸氯苯胍杀死了肠道中大量的球虫卵囊,少量的卵囊刺激肠道蠕动,引起机体消化吸收加强,有关机理有待进一步研究;平均 OPG 球痢灵组、常山酮组、尼卡巴嗪组、地克珠利组和盐酸氯苯胍组依次降低,且均极显著 ($P<0.01$)低于感染不给药组鸡,尤其地克珠利组和盐酸

氯苯胍组鸡粪便中已检测不到卵囊。病变记分球痢灵组、常山酮组、地克珠利组、尼卡巴嗪组和盐酸氯苯胍组依次降低,略低于感染不给药组鸡(表 2)。

在四项指标(ACI、RLS、ROP 和 POAA)统计结果中可以看出,常山酮组、球痢灵组、尼卡巴嗪组、地克珠利组和盐酸氯苯胍组的 ACI 依次增高,且均达到了有效抗球虫作用。

盐酸氯苯胍组的 ACI、RLS、ROP 和 POAA 4 项指标均达到无抗药性标准,表明柔嫩艾美耳球虫早熟耐药株对其无抗药性;地克珠利组的 ACI、ROP 和 POAA 3 项指标达到无抗药性标准,表明柔嫩艾美耳球虫早熟耐药株对其有轻度抗药性;常山酮组、球痢灵组、尼卡巴嗪组的 ACI 和 POAA 2 项指标达到无抗药性标准,柔嫩艾美耳球虫早熟耐药株对其有部分抗药性(表 3)。

表 2 常用抗球虫药抗柔嫩艾美耳球虫早熟耐药株的效果
Table 2 Effects of common coccidiostats on the precocious strain of *E. tenella* to

组别 Groups	相对增重率/% Relative weight gain rate	平均 OPG/(×10 ⁶) Average OPG	病变记分 Lesion score
T ₁	108.84±30.97 ^{abc}	0.28±0.03 ^{abc}	0.67±0.00 ^{abc}
T ₂	109.23±19.11 ^{abc}	0.31±0.05 ^{abc}	1.11±0.19 ^{abe}
T ₃	152.3±9.86 ^{ade}	0.00±0.00 ^{def}	0.56±0.51 ^{abc}
T ₄	133.07±12.3 ^{abe}	0.00±0.00 ^{def}	0.89±0.38 ^{abe}
T ₅	98.46±10.47 ^{abc}	0.28±0.01 ^{abc}	1.00±0.33 ^{abe}
T ₀	81.15±16.37 ^{bef}	0.72±0.04 ^{ghi}	1.11±0.19 ^{abe}
C ₀	100.00±36.89 ^{abc}	0.00±0.00 ^{def}	0.00±0.00 ^{cdl}

注:同一列内 3 个字母中有 2 个或 3 个相同,差异不显著 ($P>0.05$);2 个字母不同,差异显著 ($P<0.05$);3 个字母均不同,差异极显著 ($P<0.01$)。

Note: the data marked with two or three same letters mean no significant difference ($P>0.05$);the data with two different letters mean significant difference ($P<0.05$); the data with three different letters means extremely significant difference ($P<0.01$) .

表 3 柔嫩艾美耳球虫早熟耐药株对常用抗球虫药的耐药性
Table 3 Drug-resistance of the precocious strain of *E. tenella* to common coccidiostats

组别 Groups	抗球虫指数 Anticoccidial index	病变记分减少率/% Reduction rate of lesion scores	相对卵囊产量/(×10 ⁶) Relative oocysts production	最适抗球虫活性百分比/% Percentage of optimum anticoccidial activity
T ₁	201.18±30.97 ^{abc}	40.00±0.00 ^{abc}	42.18±11.33 ^{abc}	151.7±183.54 ^{abc}
T ₂	197.11±17.38 ^{abc}	0.00±17.32 ^{abe}	46.25±8.08 ^{abc}	159.24±107.80 ^{abc}
T ₃	246.75±14.81 ^{ade}	50.00±45.83 ^{abc}	0.00±0.00 ^{def}	401.35±53.23 ^{ade}
T ₄	224.18±11.11 ^{abe}	20.00±34.64 ^{abe}	0.00±0.00 ^{def}	279.24±69.97 ^{abe}
T ₅	187.46±7.18 ^{abf}	10.00±30.00 ^{abe}	47.59±16.31 ^{abc}	93.05±55.87 ^{abc}
T ₀	169.04±18.19 ^{bef}	0.00±17.32 ^{abe}	99.90±17.68 ^{ghi}	0.00±94.90 ^{bef}
C ₀	200.00±36.89 ^{abc}	100.00±0.00 ^{cdl}	0.00±0.00 ^{def}	100.00±209.84 ^{abc}

注:同一列内 3 个字母中有 2 个或 3 个相同,差异不显著 ($P>0.05$);2 个字母不同,差异显著 ($P<0.05$);3 个字母均不同,差异极显著 ($P<0.01$)。

Note: the data marked with two or three same letters mean no significant difference ($P>0.05$);the data with two different letters mean significant difference ($P<0.05$); the data with three different letters means extremely significant difference ($P<0.01$) .

3 讨论

本试验结果表明,对制菌磺和土霉素耐药的 *E. tenella* 早熟耐药株对盐酸氯苯胍无抗药性,对地克珠利有轻度抗药性。及是由于这两种抗球虫药的化学结构或对球虫的作用途径与制菌磺和土霉素不完全相同,因为制菌磺通过与对氨基苯甲酸竞争二氢叶酸合成酶,阻止二氢叶酸合成,最终影响蛋白质的合成^[16],实现抑制球虫的目的;土霉素主要与 30 S 小亚基结合,进而干扰氨基酰 tRNA 与 30 S 小亚基结合,使氨基酰 tRNA 不能进入 mRNA,抑制了蛋白质合成时的肽链延长,此外它还可以阻止已合成的蛋白质肽链释放,对 70 S 和 80 S 核蛋白体都有作用,作用于球虫的第 1、2 代裂殖体。而盐酸氯苯胍是抑制球虫体内氧化磷酸化和 ATP 酶的活性所致;地克珠利具有干扰核的分裂及线粒体的作用,与虫体的代谢有关。

对制菌磺和土霉素耐药的 *E. tenella* 早熟耐药株对常山酮、球痢灵、尼卡巴嗪有部分抗药性。尼卡巴嗪进入球虫细胞内能够麻痹球虫细胞内提供能量的 ATP,从而中断细胞能量供应,导致细胞壁上的钾钠泵停止工作,钠离子大量进入细胞内的同时带入水,最终使球虫细胞内离子失衡或撑破球虫细胞而使球虫死亡。本结果与程文虹等报道^[17]常山酮由于它独特的化学结构,因而与现有的其他抗球虫药无交叉抗药性不符。球痢灵属于硝基苯酰胺类化合物,其作用是抑制球虫生活周期的无性裂殖阶段,目前抗球虫机理还不太清楚,但化学结构与磺胺类药物和土霉素不同。

总之,常山酮、球痢灵、尼卡巴嗪、地克珠利和盐酸氯苯胍这 5 种常用抗球虫药对试验虫株均有不同程度的抑制作用。柔嫩艾美耳球虫早熟耐药株对盐酸氯苯胍无抗药性,对地克珠利有轻度抗药性,对常

山酮、球痢灵、尼卡巴嗪有部分抗药性,但它们的抗球虫指数均高于 180,达到了抗球虫效果。

参考文献:

- [1] 丁熙成,索 勋.译.鸡球虫病的疫苗控制及其流行病学检测的手段[J].国外畜牧学:猪与禽,1999,6:45-51.
- [2] 索 勋,李国清.鸡球虫病学[M].北京:中国农业大学出版社,1998:117-373.
- [3] Allen P C, Danforth H D, Augustine P C. Dietary modulation of avian coccidiosis[J]. Int J Parasitol, 1998, 28(7):1131-1140.
- [4] 段嘉树.鸡的无血便球虫病的危害[J].北京农学院学报,1991,6(1):56-62.
- [5] 曲琳琳.几种常用抗球虫药对鸡的毒副作用[J].吉林畜牧兽医,2008,29(6):54.
- [6] Shirley M W, Smith A L, Tomley F M, et al. The biology of avian *Eimeria* with an emphasis on their control by vaccination[J]. Adv Parasitol, 2005, 60:285-330.
- [7] Allen P C, Fetterer R H. Recent advances in biology and immunobiology of *Eimeria* species and in diagnosis and control of infection with these coccidian parasites of poultry[J]. Clin Microbiol Rev, 2002, 15(1):58-65.
- [8] Yadav A, Gupta S K. Study of resistance against some ionophores in *Eimeria tenella* field isolates[J]. Vet Parasitol, 2001, 102(1-2):69-75.
- [9] 孔繁瑶.家畜寄生虫学[M].北京:中国农业大学出版社,1981,17-18.
- [10] 王祖兵,竺光良,汪序中.球虫药的归类与应用[J].兽药与饲料添加剂,2002,7(2):45-46.
- [11] Johnson J, Reid W M. Anticoccidial drugs: lesion scoring techniques in battery and floor-pan experiments with chickens[J]. Exp Parasitol, 1970, 28(1):30-36.
- [12] 李安兴,蔡建平,谢明权,等.复合抗球虫药物对鸡球虫抗药虫株的效果[J].中山大学学报:自然科学版,2000,39(6):204-207.
- [13] 陈 峰,吴孔兴,廖秋生.几种不同抗球虫药的药物敏感性试验[J].养禽与禽病防治,2006(1):14-15.
- [14] 孙清平.扬州市某规模化鸡场鸡球虫种类调查及抗药性分析[D].江苏扬州:扬州大学,2007.
- [15] 李 萍,邵艳萍.鸡球虫的抗药性研究[J].养殖技术顾问,2008(7):142-143.
- [16] 李颜亮,高海璞.抗球虫药的种类及基本要点[J].禽病防治,2007,24(7):23-24.
- [17] 程文虹,张震宇.常山酮的抗球虫效果[J].饲料研究,2005(6):35-37.

Sensitivity of the Precocious Strain of *E. tenella* to Several Kinds of Coccidiostats

CHEN Zhao-ying, ZHENG Ming-xue, GU Shao-peng

(College of Animal Science and Veterinary Medicine, Shanxi Agricultural University, Taigu, Shanxi, 030801, China)

Abstract: To confer sensitivity of the precocious strain of *E. tenella* to common coccidiostats, five kinds of common coccidiostats (nicarbazin, chloroquani dihydrochloride, zoalene, diclazuril and halofuginone) were adopted to prevent the sick chickens inoculated with coccidiosis vaccine of Jin Qiu 1. Comprehensive evaluation of the relative oocyst production (ROP), relative weight gain rate, anticoccidial index (ACI), reduction of lesion scores (RLS) and percentage of optimum anticoccidial activity (POAA) was applied. The results indicated that the precocious strain of *E. tenella* was no drug resistance to chloroquani dihydrochloride, mild drug resistance to diclazuril, and partial drug resistance to nicarbazin, zoalene and halofuginone, but their anticoccidial index were higher than 180, which reached high efficient anticoccidial effect.

Key words: Drug-resistant *E. tenella* precocious strain; sensitivity; chicken