

柔嫩艾美耳球虫长春分离株对 7 种抗球虫药的抗药性研究^{*}

魏峰¹, 许越¹, 殷丽红¹, 杨欢欢¹, 张西臣^{2*}

1. 吉林农业大学生命科学学院, 长春 130118; 2. 吉林大学农学部畜牧兽医学院, 长春 130062

摘要: 以 AA 肉仔鸡为试验材料, 以最适抗球虫活性百分率 (POAA)、病变记分减少率 (RLS)、相对卵囊产量减少率 (ROP) 和抗球虫指数 (ACI) 为判定指标, 检测了长春市柔嫩艾美耳球虫分离株对 7 种抗球虫药物的抗药性。结果表明: 长春市柔嫩艾美耳球虫分离株对莫能菌素、妥曲珠利无抗药性, 对尼卡巴嗪有轻度抗药性, 对马杜霉素和地克珠利有中度抗药性, 对氯羟吡啶和盐霉素有完全抗药性。

关键词: 柔嫩艾美耳球虫; 抗球虫药; 抗药性

中图分类号: R382.32; S858.31 文献标识码: A 文章编号: 1000-5684(2010)03-0345-04

A Survey of Drug Resistance to Coccidiostats of *E. tenella* Isolates from Changchun

WEI Feng¹, XU Yue¹, YIN Li-hong¹, YANG Huan-huan¹, ZHANG Xi-chen²

1. College of Life Science, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China; 2. College of Animal Science, Jilin University, Changchun 130062, China

Abstract: The sensitivity of *E. tenella* isolates from Changchun, Jilin province in China to 7 commonly used coccidiostats was studied in broilers. Based on the criteria of percent of optimum anticoccidial activity (POAA), relative oocyst production (ROP), reduction of small intestinal and cecal lesion scores (RLS) and anticoccidial index (ACI), the study revealed that *E. tenella* isolates were not resistant to monensin and toltrazuril, light resistant to nicarbazin, medium resistant to maduramicin and diclazuril, and high resistant to clodidol and salinomycin.

Key words: *Eimeria coccidia*; coccidiostats; drug resistance

鸡球虫病 (Coccidiosis) 是一种分布广、危害严重的疾病, 可引起鸡只死亡、增重减缓、产蛋减少、饲料利用降低等^[1-2]。近年国内外学者对鸡球虫活疫苗及基因工程疫苗等进行了大量研究, 但还未能广泛应用于生产中。目前预防鸡球虫病的主要方法是在饲料中添加抗球虫药物^[3-4], 由于球虫抗药性的不断产生, 使药物防治效果降低甚至失效。孔繁瑶、刘群等对广东、山东、陕西等地鸡球虫抗药性进行了调查研究, 发现鸡球虫抗药性现象普遍存在^[5-7]。本试验利用 7 种抗球虫药物饲喂肉鸡, 以最适抗球虫活性百分率 (POAA)、病变

记分减少率 (RLS)、相对卵囊产量减少率 (ROP) 和抗球虫指数 (ACI) 为判定指标, 研究长春市柔嫩艾美耳球虫分离株对抗球虫药物的抗药性, 旨在为长春市养鸡生产中合理使用抗球虫药提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物

1 日龄 AA 肉鸡 180 只, 购自吉林德大肉种鸡公司。根据 AA 肉鸡饲养标准自配无抗球虫药全价饲料。试验鸡自由采食、饮水, 在 24 h 光照、严格消毒、无球虫环境下饲养。于 12、13 日龄连续

* 基金项目: 国家自然科学基金项目 (30170696)

作者简介: 魏峰, 男, 博士, 副教授, 研究方向: 寄生虫免疫。

收稿日期: 2009-11-27 修回日期: 2010-03-22

** 通讯作者

粪检 2 d,无球虫卵囊鸡用于试验。

1.2 卵囊

在长春市合隆翔大肉鸡场、德惠市张伟养殖场和榆树市九星牧业公司肉鸡场采集鸡新鲜粪便,分离柔嫩艾美耳球虫(*E. tenella*),单卵囊接种。接种后第 5 d 剖杀鸡只,采集鸡盲肠内容物,采用饱和盐水漂浮法收集球虫卵囊,置 28℃ 恒温箱孢子化。传代、扩增卵囊。

1.3 试验药物及添加剂量

地克珠利(Diclazuril,商品名“伏球 Clinacox”,比利时 Janssen 公司)添加质量分数 1×10^{-6} mg/kg,氯羟吡啶(Clopidol,商品名“克球粉”,浙江黄岩兽药厂)添加质量分数 125×10^{-6} mg/kg,莫能菌素(Monensin,商品名“欲可胖 Coban”,美国礼来公司)添加质量分数 100×10^{-6} mg/kg,马杜霉素(Maduramicin,商品名“抗球王”,河南三宝药业股份有限公司)添加质量分数 5×10^{-6} mg/kg,盐霉素(Salinomycin,商品名“赛可喜 Sacox”,德国赫司特公司)添加质量分数 60×10^{-6} mg/kg,尼卡巴嗪(Nicarbazin,商品名“球净”,美国 Prince 农业有限公司)添加质量分数 100×10^{-6} mg/kg,妥曲珠利(Toltrazuril,商品名“百球清”,武汉远城科技公司)添加质量分数 10×10^{-6} mg/kg。

1.4 试验方法

试验鸡于 14 日龄 08:00 逐只称重,编号。随机分成 9 组,每组 20 只。9 组分别为阴性组(不感染不给药)、阳性组(感染不给药)、地克珠利组、氯羟吡啶组、莫能菌素组、马杜霉素组、盐霉素组、尼卡巴嗪组、妥曲珠利组。试验鸡于 14 日龄至 22 日龄采用饲料给药。除阴性组外其他各组鸡在 14 日龄经口接种 1.2×10^5 个孢子化卵囊,收集感染后第 5~8 d 粪便,计数克粪便卵囊数(OPG 值)。于感染后第 9 d 逐只称重,剖杀,按 Johnson 等^[8]方法做盲肠病变记分。

1.5 抗药性判定指标

用最适抗球虫活性百分率(POAA)、病变记分减少率(RLS)、相对卵囊产量减少率(ROP)和抗球虫指数(ACI)4 项指标综合判定鸡球虫抗药性^[9-10]。每项指标有抗药性用(+)表示,无抗药性用(-)表示。

$POAA = [(试验组 GSR - 阳性组 GSR) / (阴性组 GSR - 阳性组 GSR)] \times 100\%$,其中, $GSR = 平$

均末重/平均始重。 $POAA \leq 50\%$ 表示有抗药性(+), $POAA > 50\%$ 表示无抗药性(-)。

$RLS = [(阳性组病变记分 - 试验组病变记分) / 阳性组病变记分] \times 100\%$, $RLS < 50\%$ 有抗药性(+), $RLS \geq 50\%$ 无抗药性(-)。

$ROP = (试验组卵囊数 / 阳性组卵囊数) \times 100\%$, $ROP \geq 15\%$ 有抗药性(+), $ROP < 15\%$ 无抗药性(-)。

$ACI = (存活率 + 相对增重率) - (病变值 + 卵囊值)$,其中,存活率(%) = (存活只数/开始鸡数) $\times 100$,相对增重率(%) = (阳性组或感染用药组增重率/阴性组增重率) $\times 100$;病变值 = 每组平均病变记分 $\times 10$;卵囊值是阴性组或感染用药组 OPG 值与阳性组 OPG 值的比值,当二者的比值分别为 1% 以下、1%~25%、26%~50%、51%~75%和 76%~100%时,卵囊值分别为 0,5,10,20 和 40。 $ACI < 160$ 有抗药性(+), $ACI \geq 160$ 无抗药性(-)。

1.6 抗药性评定标准

按 4 项指标中出现阳性指标数量确定抗药程度:无抗药性—4 项测定指标均为阴性,轻度抗药—4 项测定指标中有 1 项指标为阳性,中度抗药—4 项测定指标中有 2 项指标为阳性,完全抗药—4 项测定指标中有 3 项及以上指标为阳性。

2 结果与分析

2.1 各组鸡增重、卵囊产量、盲肠病变记分结果

由表 1 可见,各试验组的平均初重基本相同。试验结束后,莫能菌素组、妥曲珠利组、尼卡巴嗪组的相对增重率均高于 90%,且莫能菌素组的相对增重率高于阴性对照组,说明其抗球虫效果和促生长效果很好;马杜霉素组、盐霉素组、地克珠利组的相对增重率均高于 80%,说明它们有一定的促生长作用;只有氯羟吡啶组的相对增重率为 75.2%,说明其抗球虫效果较差。莫能菌素组卵囊产量、盲肠病变记分均为 0,说明其对球虫有完全的杀灭作用;妥曲珠利组、尼卡巴嗪组、马杜霉素组、地克珠利组的卵囊产量分别为 0.13,2.7,3.8,3.9,其相对卵囊产量均低于阳性对照组的 25%,各组的盲肠病变记分也相应较低,说明它们均有一定的抗球虫作用;盐霉素组和氯羟吡啶组的卵囊产量分别为 9.3 和 9.8,盲肠病变记分为 2.85 和 2.90,鸡只盲肠病变比较严重,说明它们

它们抗球虫效果不好。

表1 E. tenella 对7种抗球虫药抗药性结果

Table 1. Results of drug resistance to coccidiosis of E. tenella

组别 Group	平均始重/g Average initial weight	平均末重/g Average final weight	最适抗球虫活性百分率/% POAA	相对增殖率/% GSR	存活率/% Survival Rate	盲肠病变记分 Cecum score	病变记分减少率/% RLS	克粪便卵囊/ ($\times 10^5$) OPG	相对卵囊产量 ROP	抗球虫指数 ACI
阴性组 Negative group	304	488	100	100.0	100	0	100.00	0	0	200.0
阳性组 Positive group	305	399	0	50.9	70	3.75	0	16.20	100.00	43.4
地克珠利组 Diclazuril group	307	458	61	81.3	100	1.30	34.70	3.90	24.10	163.3
氯羟吡啶组 Clopidol group	310	451	48	75.2	80	2.90	22.70	9.80	60.50	126.2
莫能菌素组 Mnensin group	299	483	102	101.7	100	0	100.00	0	0	201.7
马杜霉素组 Maduramicin group	296	450	70	86.0	95	1.35	36.00	3.80	23.50	162.5
盐霉素组 Salinomycin group	308	462	63	82.0	80	2.85	24.00	9.30	57.40	113.5
尼卡巴嗪组 Nicarbazin group	306	473	79	90.2	100	0.95	74.70	2.70	16.70	175.7
妥曲珠利组 Toltrazuril group	304	483	93	97.3	100	0.15	96.00	0.13	6.17	189.8

2.2 抗药性综合判定

由表2可见,莫能菌素组、妥曲珠利组、尼卡巴嗪组、马杜霉素组、盐霉素组、地克珠利组的POAA值大于界定值50%,为阴性,只有氯羟吡啶组的POAA值小于界定值50%,为阳性。从粪便排出的卵囊计数来看,各用药组的OPG值均低于阳性组的OPG值,只有莫能菌素组、妥曲珠利组的ROP值小于15%,为阴性,其余各组的ROP值均大于15%,为阳性。盲肠病变记分获得的病变记分减少率(RLS)结果表明,莫能菌素组、妥曲珠利组和尼卡巴嗪组的RLS值大于50%,为阴性,

其余4组为阳性。抗球虫指数(ACI)计算结果表明,地克珠利组、马杜霉素组和尼卡巴嗪组的ACI值为160~180,具有中等程度的抗球虫效力,而氯羟吡啶组和盐霉素组的ACI值低于160,为阳性,已有完全的抗药性,莫能菌素组和妥曲珠利组的ACI值大于180,具有较好抗球虫效果。

根据抗药性评定标准,长春市柔嫩艾美耳球虫分离株对氯羟吡啶、盐霉素有完全抗药性,对尼卡巴嗪有轻度抗药性,对地克珠利和马杜霉素有中度抗药性,对莫能菌素、妥曲珠利无抗药性。

表2 各组抗药性综合判定结果

Table 2. Results of drug resistance in different groups

组别 Group	最适抗球虫活性百分率/% POAA	病变记分减少率/% RLS	相对卵囊产量/% ROP	抗球虫指数 ACI	结果 Result
地克珠利组 Diclazuril group	61(-)	34.70(+)	24.1(+)	163.3(-)	中度抗药性
氯羟吡啶组 Clopidol group	48(+)	22.70(+)	60.5(+)	126.2(+)	完全抗药性
莫能菌素组 Mnensin group	102(-)	100.00(-)	0(-)	201.7(-)	无抗药性
马杜霉素组 Maduramicin group	70(-)	36.00(+)	23.5(+)	162.5(-)	中度抗药性
盐霉素组 Salinomycin group	63(-)	24.00(+)	57.4(+)	113.5(+)	完全抗药性
尼卡巴嗪组 Nicarbazin group	79(-)	74.70(-)	16.7(+)	175.7(-)	轻度抗药性
妥曲珠利组 Toltrazuril group	93(-)	96.00(-)	6.17(-)	189.8(-)	无抗药性

3 讨论

马杜霉素、盐霉素、莫能菌素均为聚醚类离子载体抗球虫药,一般认为球虫不会对它们产生抗药性或产生抗药性缓慢,但随着这类药物的广泛使用,现在对聚醚类离子载体抗球虫药产生的抗药虫株已比较普遍,相关报道也日渐增多^[11]。本试验结果表明,长春市柔嫩艾美耳球虫分离株对莫能菌素完全没有抗药性、对马杜霉素有中度抗药性、对盐霉素有完全抗药性,这与张香斋等人的研究结果基本一致^[12]。马杜霉素是20世纪90年代中期在长春市大量使用的抗球虫药物,由于其毒性较大,除肉鸡外禁止用于其他动物,但在长春地区产生了中度抗药性。盐霉素生产厂家多而且是使用较早的抗球虫药物,长时间用于蛋鸡、肉鸡预防和治疗鸡球虫病,国内外关于盐霉素抗药性报道^[6-7]较多。地克珠利在我国20世纪90年代末期开始大量使用,该药能有效地控制鸡球虫病的发生,并具有广谱、用量小、成本低、安全范围大等优点,并能显著促进增重,近年国内外不断有关于柔嫩艾美耳球虫田间株对地克珠利抗药性的报道^[13-18],本试验也发现长春市柔嫩艾美耳球虫对地克珠利有中度抗药性。氯羟吡啶在鸡预防和治疗球虫病时均有使用,并且使用时间长,因此产生了完全耐药性。妥曲珠利主要用于球虫发病时的治疗。根据本试验结果,建议长春市肉鸡场不再使用氯羟吡啶、盐霉素和马杜霉素3种抗球虫药物,地克珠利和尼卡巴嗪应设计穿梭给药或轮换用药,以延长地克珠利的使用年限,适量使用莫能菌素。

参考文献:

- [1] Dalloul R A, Lillehoj H S, et al. Recent advances in immunomodulation and vaccination strategies against coccidiosis [J]. *Avian Dis*, 2005, 49:1-8.
- [2] Min W, Dalloul R A, Lillehoj H S, et al. Application of biotechnological tools for coccidian vaccine development [J]. *Vet Sci*, 2004, 5:279-288.
- [3] Martin A G, Danforth H D, Barta J R, et al. Analysis of immunological cross protection and sensitivities to anticoccidial drugs among five geographical and temporal strains of *Eimeria maxima* [J]. *Int J Parasitol*, 1997, 5:527-533.
- [4] 汪明,张力伟,付丽,等. 鸡柔嫩艾美球虫不同抗药性虫株的种内多态性研究[J]. *畜牧兽医学报*, 2001, 32(6):544-548.
- [5] 孔繁瑶,宁长申,殷佩云. 15株柔嫩艾美耳球虫对五种抗球虫药的抗药性调查[J]. *北京农业大学学报*, 1994, 20(3):302-307.
- [6] 刘群,韩谦,蒋金书,等. 山东省潍坊地区肉鸡球虫的抗药性调查[J]. *畜牧兽医学报*, 1999, 30(2):187-192.
- [7] 赵其平,韩红玉,黄兵,等. 鸡球虫广东清远分离株对七种药物的抗药性试验[J]. *中国兽医寄生虫病*, 2003, 11(2):13-17.
- [8] Johnson J, Reid W M. Anticoccidial:lesion scoring techniques in battery and floor-pan experiments [J]. *Exp parasitol*, 1970(28):360-362.
- [9] 孔繁瑶,殷佩云. 鸡球虫耐药性的现场检测方法综述[J]. *中国兽医学报*, 1994, 14:90-94.
- [10] 角田清. 鸡球虫病[M]. 陈谊,明如镜,译. 上海:上海科学技术出版社,1983:90.
- [11] 甘德培. 抗球虫药与球虫的抗药性研究进展[J]. *中国兽医寄生虫病*, 1999, 7(2):53-56.
- [12] 张香斋,李佩国,李蕴玉,等. 柔嫩艾美耳球虫秦皇岛和唐山分离株对7种抗球虫药的耐药性[J]. *中国兽医学报*, 2009, 29(8):994-997.
- [13] 吕福明,李春雨. 复方地克珠利对鸡球虫病的防治效果试验[J]. *畜牧兽医杂志*, 2002, 21(4):15-16.
- [14] 陈汉忠,潘存荣,李贵庆. 几种常用抗球虫药对鸡球虫病疗效的评价[J]. *中国兽医学报*, 2002, 22(6):604-606.
- [15] 赵全,张西臣,张伟信,等. 不同地理株柔嫩艾美耳球虫致病性的研究[J]. *吉林农业大学学报*, 2003, 25(5):571-574.
- [16] 彭新宇,张建国,魏文康,等. 柔嫩艾美耳球虫野外分离株对3种化学合成药物的抗药性[J]. *中国兽医学报*, 2000, 20(1):48-50.
- [17] 陈赵英,郑明学,古少鹏. 柔嫩艾美耳球虫早熟耐药株对几种抗球虫药的敏感性[J]. *动物医学进展* 2009, 30(2):26-29.
- [18] 陈峰,吴孔兴,廖秋生,等. 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.