

尹理君, 方肆云, 林栩慧, 等. 3株柔嫩艾美耳球虫广东地区临床分离株的耐药性分析 [J]. 畜牧与兽医, 2024, 56 (10): 63-70.

YIN L J, FANG S Y, LIN X H, et al. Analysis of drug resistance of three clinically isolated *Eimeria tenella* strains in Guangdong area [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2024, 56 (10): 63-70.

3株柔嫩艾美耳球虫广东地区临床分离株的耐药性分析

尹理君^{1,2#}, 方肆云^{2#}, 林栩慧¹, 廖申权¹, 李娟¹, 吕敏娜², 吴彩艳¹, 蔡海明¹,
胡俊菁¹, 肖文婉¹, 张小慧¹, 张健骅¹, 戚南山^{1*}, 孙铭飞^{1*}

(1. 广东省农业科学院动物卫生研究所/广东省畜禽疫病防治研究重点实验室/农业农村部禽流感等
家禽重大疾病防控重点实验室, 广东 广州 510640;
2. 温氏食品集团股份有限公司, 广东 新兴 527400)

摘要: 为了解广东地区鸡球虫耐药性情况, 分别从惠州、肇庆和韶关地区采集鸡场样品, 利用球虫单卵囊分离纯化技术得到优势虫株柔嫩艾美耳球虫纯种卵囊, 通过鸡体试验对各地区优势虫株进行复方磺胺氯吡嗪钠、尼卡巴嗪、地克珠利等11种常用抗球虫药物的耐药性评估。以抗球虫指数 (ACI)、病变记分减少率 (RLS)、相对卵囊产量 (ROP) 和最适抗球虫百分率 (POAA) 4项指标, 综合评估不同地区虫株对不同抗球虫药物的耐药性及耐药程度。结果: 柔嫩艾美耳球虫惠州株 (ETHZ-Y) 对氯羟吡啶耐药性最强, 对马度米星呈中度耐药; 肇庆株 (ETZQ-Y) 对氯羟吡啶、盐酸氯苯胍、癸氧喹酯、甲基盐霉素和地克珠利等药物完全耐药, 对拉沙洛西钠耐药性最弱; 韶关株 (ETSG-Y) 对氯羟吡啶和地克珠利等药物耐药性最为严重, 而尼卡巴嗪的抗球虫效果相对较好; 3个地方虫株普遍对复方磺胺氯吡嗪钠、地克珠利、癸氧喹酯、二硝托胺、氯羟吡啶、甲基盐霉素、莫能菌素和盐酸氯苯胍均产生完全或重度耐药。综上, 惠州、肇庆和韶关地区的鸡球虫耐药情况较为严重, 应及时针对性地改变用药策略, 加强防控、改善环境, 避免鸡球虫病暴发的风险。

关键词: 鸡球虫病; 抗球虫药物; 耐药性; 抗球虫指数

中图分类号: S831.7 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2024)10-0063-08

Analysis of drug resistance of three clinically isolated *Eimeria tenella* strains in Guangdong area

YIN Lijun^{1,2#}, FANG Siyun^{2#}, LIN Xuhui¹, LIAO Shenquan¹, LI Juan¹, LYU Minna²,
WU Caiyan¹, CAI Haiming¹, HU Junjing¹, XIAO Wenwan¹, ZHANG Xiaohui¹,
ZHANG Jianfei¹, QI Nanshan^{1*}, SUN Mingfei^{1*}

(1. Institute of Animal Health, Guangdong Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Livestock Disease Prevention of Guangdong Province/Key Laboratory of Avian Influenza and Other Major Poultry Diseases Prevention and Control, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangzhou 510640, China;
2. Wens Foodstuff Group Co., Ltd., Xinxing 527400, China)

Abstract: The aim of this study was to determine the drug resistance of chicken coccidiosis in the areas of Huizhou, Zhaoqing and Shaoguan of Guangdong Province and to provide a reasonable control program for this parasite. Samples were collected from chicken farm in the above mentioned areas, and the dominant coccidium (*Eimeria tenella*) oocysts were obtained by the single oocyst isolation and purification technology. The drug resistance of the dominant strains in different areas to 11 common anticoccidial drugs, such as compound sulfachloropyrazine sodium, nicarbazine and diclazuril was evaluated by animal trials. The drug resistance and the resistance degree to different anticoccid-

收稿日期: 2023-08-21; 修回日期: 2024-08-02

基金项目: “十四五”广东省农业科技创新十大主攻方向“揭榜挂帅”项目 (2022SDZG02); 广东省科技计划项目 (2021B1212050021); 广州市科技计划项目 (2023A04J0789); 科技创新战略专项资金 (高水平农科院建设) 项目 (202110TD, 202122TD, R2020PY-JC001, R2019YJ-YB3010, R2020PY-JG013, R2020QD-048, R2021PY-QY007, R2023PY-JG018); 广东省现代农业产业技术体系创新团队建设专项 (2022KJ119); 广东省农业科学院协同创新中心项目 (XTXM202202)

第一作者: 尹理君, 男, 硕士研究生; 方肆云, 男, 本科, 中级职称。[#]共同第一作者

* 通信作者: 戚南山, 研究员, 主要研究方向为动物源寄生虫病综合防控技术, E-mail: nanshanqi@163.com; 孙铭飞, 研究员, 主要研究方向为兽医寄生虫生化代谢与新药创制及寄生虫入侵机制, E-mail: smf7810@126.com。

ial drugs in the different areas were evaluated by four indexes, including the anticoccidial index (ACI), reduction of lesion scores (RLS), relative oocyst production (ROP) and percent optimum anticoccidial activity (POAA). The results showed that the Huizhou strain (ETHZ-Y) of *Eimeria tenella* was the most resistant to clopidol and moderately resistant to maduramicin ammonium. The strain of Zhaoqing (ETZQ-Y) was completely resistant to clopidol, robenidine hydrochloride, decoquinate, narasin and diclazuril, but of the weakest resistance to lasalocid sodium. The strain of Shaoguan (ETSG-Y) was the most seriously resistant to clopidol and diclazuril, while the nicarbazin had a relatively good anticoccidial effect. The three strains generally developed complete or severe resistance to compound sulfachloropyrazine sodium, diclazuril, decoquinate, dinitolmide, clopidol, narasin, monensin and robenidine hydrochloride. These results indicated that drug resistance of chicken coccidiosis was very serious in the Huizhou, Zhaoqing and Shaoguan areas of Guangdong Province. Therefore, drug use strategies should be changed in time, prevention and control measures should be strengthened, and the environment should be improved to avoid the risk of chicken coccidiosis outbreak.

Keywords: chicken coccidiosis; anticoccidial drugs; drug resistance; anticoccidial index

鸡球虫病是由一种或多种艾美耳球虫寄生于鸡肠道上皮细胞内而引起一种肠道寄生性原虫病^[1], 其病原由艾美耳亚目 (Eimeriorina)、艾美耳科 (Eimeriidae)、艾美耳属 (*Eimeria*) 内的 7 个虫种组成^[2]。目前国内公认的鸡艾美耳球虫种类可分为柔嫩艾美耳球虫、毒害艾美耳球虫、巨型艾美耳球虫、堆型艾美耳球虫、早熟艾美耳球虫、和缓艾美耳球虫和布氏艾美耳球虫^[3], 其中柔嫩艾美耳球虫的致病力最强, 危害最为严重, 常引起鸡血便、腹泻, 饲料转化率下降, 生产性能降低^[4], 严重时可导致鸡群大量死亡, 该病每年可给全球养鸡业造成约 104 亿美元经济损失^[5]。

目前鸡球虫病的防治主要采用在饲料中添加抗球虫药物^[6], 抗球虫药物主要可分为聚醚离子载体类药物和化学合成药物, 如尼卡巴嗪、马杜拉霉素、盐霉素、氯羟吡啶等^[7]。随着抗球虫药物的长期使用及不合理用药等因素, 各地区虫株已对众多抗球虫药物产生不同程度的耐药性^[8], 缩短了抗球虫药的使用年限, 同时虫株耐药性的产生亦是鸡球虫病防治失败和大暴发主要因素^[9]。迄今为止, 田间不同分离虫株对大部分抗球虫药物均产生了不同程度的耐药性^[10], 部分虫株甚至产生了不同程度的多重耐药及交叉耐药现象, 降低了抗球虫药物对鸡球虫病的防治效果, 影响家禽产品质量^[11]。为了更好地了解和评估不同抗球虫药物对各地区不同虫株的防治效果, 选择合理的用药方案、降低鸡球虫病引起的经济损失以及对该地区的田间优势虫株进行耐药性调查是必要前提。本试验分别以广东省惠州、肇庆和韶关地区分离纯化得到的优势虫株——柔嫩艾美耳球虫为研究对象, 通过鸡体试验对各地区优势虫株进行复方磺胺氯吡嗪钠、尼卡巴嗪、地克珠利等 11 种常用抗球虫药物耐药性评估试验, 旨在为制定该地区鸡球虫病的综合防控策略和临床用药提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物

14 日龄慢大型岭南黄鸡, 购自广东智威优质鸡畜牧有限公司, 隔离饲养于无球虫环境, 饲喂不含任何抗球虫药物的全价饲料。

1.2 粪便样品

从广东省惠州、肇庆和韶关地区感染球虫鸡场采集粪便样品共 75 份, 经检测确定为多种艾美耳球虫混合感染, 其中柔嫩艾美耳球虫为优势虫种。

1.3 试验药物

尼卡巴嗪预混剂 (含量 25%, 有效药物 125 mg/kg), 地克珠利预混剂 (含量 0.5%, 有效药物 50 mg/kg), 癸氧喹酯预混剂 (含量 6%, 有效药物 453 mg/kg), 二硝托胺预混剂 (含量 25%, 有效药物 500 mg/kg), 氯羟吡啶预混剂 (含量 25%, 有效药物 500 mg/kg), 盐酸氯苯胍预混剂 (含量 10%, 有效药物 600 mg/kg), 均购自浙江汇能生物股份有限公司; 复方磺胺氯吡嗪钠 (含量 30%, 有效药物 1 000 mg/kg), 马度米星铵预混剂 (含量 1%, 有效药物 500 mg/kg), 甲基盐霉素预混剂 (含量 10%, 有效药物 800 mg/kg), 莫能菌素预混剂 (含量 20%, 有效药物 1 000 mg/kg), 拉沙洛西钠预混剂 (含量 20%, 有效药物 625 mg/kg), 均购自礼来 (上海) 动物保健有限公司。本试验所用药物均参考其公司相应产品的推荐剂量进行添加。

1.4 柔嫩艾美耳球虫的单卵囊分离

采用琼脂块单卵囊分离法^[12], 分别从惠州、肇庆和韶关地区采集的粪便样品中回收的混合虫株里, 挑取柔嫩艾美耳球虫单卵囊扩增得到 3 株临床分离株。首先吸取适量体积混合卵囊通过无限稀释法在倒置生物学显微镜下进行稀释观察, 依据柔嫩艾美耳球虫卵囊的形态学特征, 使用毛细吸管吸取视野中的单

个柔嫩艾美耳球虫卵囊滴于琼脂糖凝胶粒上，经口灌服3日龄无球虫感染雏鸡，感染后第5天收集粪便，光学显微镜下镜检是否存在卵囊，感染后7d进行盲肠和粪便卵囊回收，并利用形态学进行虫种鉴定，初步鉴定为单一纯种柔嫩艾美耳球虫，分别命名为ETHZ-Y株、ETZQ-Y株和ETSG-Y株。试验所用卵囊均经过复壮扩繁。

1.5 柔嫩艾美耳球虫临床分离株的鉴定

采用Vrba等^[13]的方法设计7种球虫的荧光定量PCR特异性鉴定引物，由生工生物工程（上海）股份有限公司合成（见表1）。利用广东省农业科学院动物卫生研究所寄生生物学研究室所保存的7种球虫

参考株对其引物特异性进行验证，7种球虫参考株分别为：柔嫩艾美耳球虫ETGD-4、毒害艾美耳球虫ENYF-3、巨型艾美耳球虫EAHF-3、堆型艾美耳球虫EMXH-2、和缓艾美耳球虫EBHY-2、早熟艾美耳球虫EIQY-1和布氏艾美耳球虫EPGM-1。使用BIO-RAD荧光定量PCR仪，PCR采用10 μL反应体系：TB Green 5 μL，上、下游引物（10 nmol/L）各1 μL，ddH₂O 2 μL，DNA模板1 μL。反应程序：95℃预变性30 s；95℃变性5 s，60℃退火30 s，共40个循环。结果使用Bio-Rad CFX Maestro软件分析处理。

表1 7种鸡艾美耳球虫荧光定量PCR特异性引物

种类	引物序列 (5'→3')	预期长度/bp	退火温度/℃
柔嫩艾美耳球虫	F-TCGTCTTTGGCTGGCTATTC	100	52.5
	R-CAGAGACTCGCCGTCACAGT		
毒害艾美耳球虫	F-AACGCCGGTATGCCTCCTCG	134	52.5
	R-GTACTGGTGCCAACGGAGA		
巨型艾美耳球虫	F-TCGTTGCATTGACAGATTC	138	52.5
	R-TAGCGACTGCTCAAGGTTT		
堆型艾美耳球虫	F-GCAGTCCGATGAAAGGTATTTG	103	52.5
	R-GAAGCGAAATGTTAGGCCATCT		
早熟艾美耳球虫	F-CACATCCAATGCGATATAGGG	117	65
	R-ACAGAAAAACGCAAAGAGCAA		
和缓艾美耳球虫	F-CAAGGGGATGCATGGAATATAA	115	65
	R-CAAGACGAATGGAATCAATCTG		
布氏艾美耳球虫	F-AGCGTGAATCTGCTTTTGGAA	118	58
	R-TGGTCGCAGACGTATATTAGG		

1.6 试验分组

随机选取体重相近、健康状态良好的14日龄岭南黄鸡130只，分为G1~G13共13组，每组10只，其中，G1~G11组为感染用药组、G12为感染不给药组、G13为不感染不给药组。感染用药组依据推荐剂量分别饲喂添加指定药物的饲料（见表2），自由饮水、采食。

1.7 球虫感染与观察

感染用药组分别经口感染柔嫩艾美耳球虫惠州株、肇庆株和韶关株孢子化卵囊 8×10^4 个/只，每天密切观察记录鸡的精神状态、采食情况、死亡状况以及粪便形态；攻虫后5d进行血便记分，对于死亡鸡进行称重、剖检，检查是否因球虫引起的死亡，若因球虫死亡，则盲肠病变记分记为4分；攻虫后的第7天分别对各组鸡进行称重、剖检，并记录肠道病变记分，统计每克粪便卵囊数、相对增重率、病变计分减少率

和存活率等相应指标。

表2 感染用药组给药情况

组别	药物名称	药物浓度/(mg·kg ⁻¹)	给药途径
G1	复方磺胺氯吡嗪钠	1 000	饮水
G2	尼卡巴嗪	125	拌料
G3	地克珠利	50	拌料
G4	癸氧喹酯	453	拌料
G5	二硝托胺	500	拌料
G6	氯羟吡啶	500	拌料
G7	盐酸氯苯胍	600	拌料
G8	马度米星铵	500	拌料
G9	甲基盐霉素	800	拌料
G10	莫能菌素	1 000	拌料
G11	拉沙洛西钠	625	拌料

1.8 病变记分标准

Johnson 等^[14]在 1970 年制定的病变记分标准中,对柔嫩艾美耳球虫造成的病变进行详细评分,两侧盲肠病变不一致时,以严重的一侧为准。0 分,无肉眼病变;+1 分,盲肠壁有少量散在的瘀点,肠壁不增厚,内容物正常;+2 分,病变数量较多,盲肠内容物明显带血,盲肠壁稍增厚,内容物正常;+3 分,盲肠内有多量血液或有盲肠芯(血凝块或灰白色干酪样的香蕉型块状物),盲肠壁肥厚明显,盲肠中粪便含量少;+4 分,因充满大量血液或肠芯而盲肠肿大,肠芯中含有粪渣或不含,死亡鸡也记+4 分。

1.9 抗药性判定标准

抗药性评价参照文献 [15] 的判定标准,以抗球虫指数 (ACI)、相对卵囊产量 (ROP)、病变记分减少率 (RLS)、最适抗球虫活性百分率 (POAA) 这 4 项指标综合判断,用“-”表示敏感,用“+”表示耐药。有 1 项指标为“+”时,综合判定为轻度耐药;有 2 项指标为“+”时,综合判定为中度耐药;有 3 项指标为“+”时,综合判定为重度耐药;4 项指标均为“+”时,综合判定为完全耐药;4 项指标均为“-”时,综合判定为敏感。

$POAA = (\text{感染用药组 GSP} - \text{感染不用药对照组 GSP}) / (\text{不感染不用药对照组 GSP} - \text{感染不用药对照组 GSP}) \times 100\%$,其中 GSP = 笼末重/笼初重。 $POAA \leq 50\%$ 时判定为“+”, $POAA > 50\%$ 时判定为“-”。

$RLS = (\text{感染不用药对照组病变记分} - \text{感染用药组病变记分}) / \text{感染不用药组病变记分} \times 100\%$ 。 $RLS \leq 50\%$ 时判定为“+”, $RLS > 50\%$ 时判定为“-”。

$ROP = (\text{感染用药组平均卵囊数} / \text{感染不用药组平均卵囊数}) \times 100\%$ 。 $ROP < 15\%$ 时判定为“-”,

$ROP \geq 15\%$ 时判定为“+”。

$ACI = (\text{相对增重率} + \text{存活率}) - (\text{卵囊值} + \text{病变值})$,其中相对增重率 = (感染用药组平均增重率/不感染不用药组平均增重率) × 100%。 $ACI \geq 160$ 时判定为“-”, $ACI < 160$ 时判定为“+”。当用药组 OPG 值与感染不用药组 OPG 值的比值分别为 < 1%、≥ 1% ~ 25%、≥ 25% ~ 50%、≥ 50% ~ 75%、≥ 75% ~ 100% 范围时,其对应的卵囊值分别为 0、5、10、20、40^[16]。

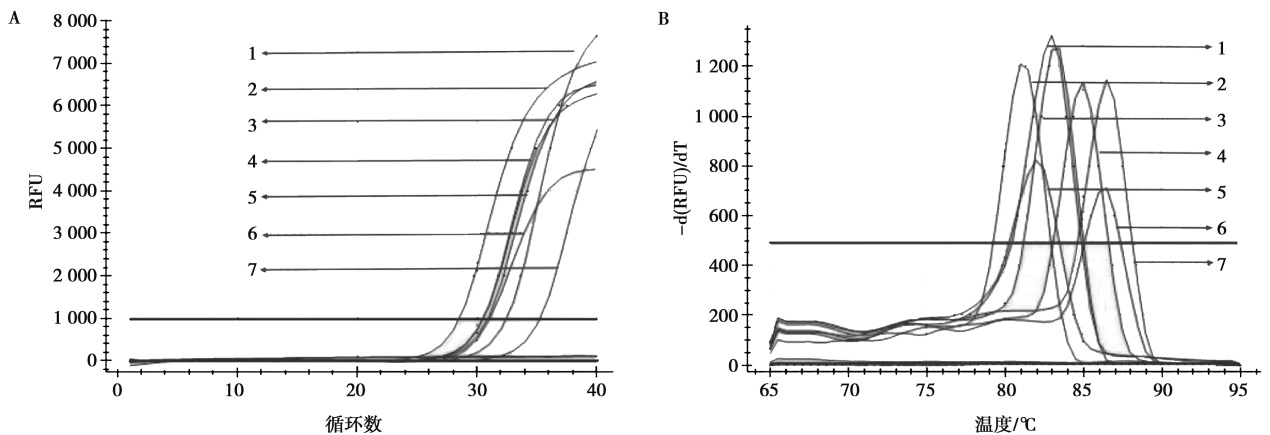
2 结果

2.1 柔嫩艾美耳球虫临床分离株鉴定

提取 7 个参考虫株的全基因组 DNA 进行荧光定量 PCR 鉴定,7 种艾美耳球虫引物特异性良好,可稳定扩增出特异性峰值(图 1),可用于艾美耳球虫种的鉴定。图 2 结果显示临床分离株核酸 DNA 样本的定量循环值(C_q值)为 32.23, T_m 值为 86.0 °C,符合柔嫩艾美耳球虫扩增曲线特征,且其余 6 种虫株均未检出,由此认定此单卵囊临床分离株为纯种柔嫩艾美耳球虫,通过荧光定量 PCR,确定虫株 ETHZ-Y、ETZQ-Y 和 ETSG-Y 均为柔嫩艾美耳球虫。

2.2 临床症状

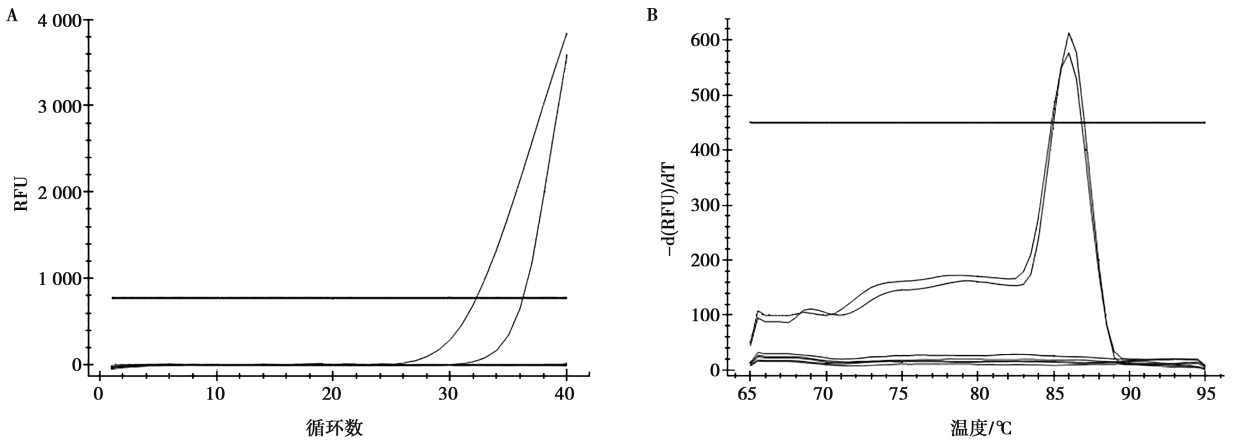
各试验组感染新鲜孢子化卵囊后,各药物组和攻虫对照组鸡逐渐出现精神状态下降、采食量减少等临床症状。感染后第 4 天、第 5 天,各药物组和攻虫对照组均有不同严重程度的血便排出。死亡鸡剖检发现盲肠肿大、有出血点和凝血块等严重病变,空白对照组鸡无异常情况。



1. 早熟艾美耳球虫; 2. 堆型艾美耳球虫; 3. 布氏艾美耳球虫; 4. 毒害艾美耳球虫; 5. 和缓艾美耳球虫; 6. 柔嫩艾美耳球虫; 7. 巨型艾美耳球虫。

A. 扩增曲线; B. 熔解曲线。

图 1 7 种艾美耳球虫特异性引物荧光定量 PCR 鉴定



A. 扩增曲线; B. 溶解曲线。

图2 柔嫩艾美耳球虫临床分离株荧光定量PCR鉴定

2.3 各虫株耐药性检测

2.3.1 ETHZ-Y 株耐药性检测

ETHZ-Y 株的耐药性结果见表3, 该虫株对11种试验药物均表现不同程度耐药性。其中对氯羟吡啶表现为完全耐药, 对复方磺胺氯吡嗪钠、尼卡巴嗪、地克珠利、癸氧喹酯、二硝托胺、盐酸氯苯胍、甲基盐霉素、莫能菌素和拉沙洛西钠等表现为重度耐药, 对马度米星铵耐药程度最低, 其 POAA 和 ROP 分别为 64.71% 和 2.99%, 表现为中度耐药。

2.3.2 ETZQ-Y 株耐药性检测

ETZQ-Y 株的耐药性结果见表4, 其中对地克珠利、癸氧喹酯、氯羟吡啶、盐酸氯苯胍和甲基盐霉素

均表现为完全耐药, 对复方磺胺氯吡嗪钠、尼卡巴嗪、二硝托胺、马度米星铵和莫能菌素表现为重度耐药, 而对拉沙洛西钠则表现为中度耐药, 其 POAA 和 RLS 分别为 81.82% 和 52.17%。

2.3.3 ETSG-Y 株耐药性检测

ETSG-Y 株的耐药性结果见表5, 该虫株对11种常见抗球虫试验药物均表现不同程度耐药性。其中对地克珠利、癸氧喹酯、氯羟吡啶、盐酸氯苯胍、莫能菌素和拉沙洛西钠均表现为完全耐药, 对复方磺胺氯吡嗪钠、二硝托胺、马度米星铵和甲基盐霉素均表现为重度耐药, 对尼卡巴嗪表现为中度耐药。

表3 柔嫩艾美耳球虫 ETHZ-Y 株对11种药物的耐药性检测

组别	药物	存活率/%	相对增殖率/%	病变值	卵囊值	POAA/%	RLS/%	ROP/%	ACI	综合判断
给药组	复方磺胺氯吡嗪钠	100	68.43	19	40	82.35 (-)	5 (+)	52.24 (+)	109.43 (+)	重度耐药
	尼卡巴嗪	100	38.90	18	20	23.53 (+)	10 (+)	13.43 (-)	100.90 (+)	重度耐药
	地克珠利	100	57.16	19	40	58.82 (-)	5 (+)	46.27 (+)	98.16 (+)	重度耐药
	氧喹酯	100	66.25	19	20	70.59 (-)	5 (+)	19.40 (+)	127.25 (+)	重度耐药
	二硝托胺	100	67.69	17	40	70.59 (-)	15 (+)	43.28 (+)	110.69 (+)	重度耐药
	氯羟吡啶	100	47.09	15.6	40	29.41 (+)	22 (+)	49.25 (+)	91.49 (+)	完全耐药
	盐酸氯苯胍	100	90.82	20	40	88.24 (+)	0 (+)	80.60 (+)	130.82 (+)	重度耐药
	马度米星铵	100	67.26	11	5	64.71 (+)	45 (+)	2.99 (+)	151.26 (+)	中度耐药
	甲基盐霉素	100	89.65	20	40	88.24 (+)	0 (+)	52.24 (+)	129.65 (+)	重度耐药
	莫能菌素	100	74.07	17.8	20	64.71 (+)	11 (+)	19.40 (+)	136.27 (+)	重度耐药
	拉沙洛西钠	90	74.07	19	20	128.76 (+)	5 (+)	28.36 (+)	125.07 (+)	重度耐药
感染不给药	...	100	30.43	20	40
不感染不给药	...	100	100	0	0

注: -表示敏感, +表示耐药, ...表示无此项, 下同。

表 4 柔嫩艾美耳球虫 ETZQ-Y 株对 11 种药物的耐药性检测

组别	药物	存活率/%	相对增重率/%	病变值	卵囊值	POAA/%	RLS/%	ROP/%	ACI	综合判断
给药组	复方磺胺氯吡嗪钠	100	73.08	11.2	20	36.36 (+)	51.30 (-)	45.01 (+)	135.08 (+)	重度耐药
	尼卡巴嗪	100	76.92	10.5	20	45.45 (+)	54.35 (-)	26.00 (+)	140.92 (+)	重度耐药
	地克珠利	100	73.08	18	20	36.36 (+)	21.74 (+)	50.86 (+)	135.08 (+)	完全耐药
	癸氧喹酯	100	73.08	18	40	36.36 (+)	21.74 (+)	66.49 (+)	115.08 (+)	完全耐药
	二硝托胺	100	65.38	8.5	40	18.18 (+)	63.04 (-)	59.85 (+)	103.38 (+)	重度耐药
	氯羟吡啶	100	69.23	19	40	27.27 (+)	17.39 (+)	68.89 (+)	110.23 (+)	完全耐药
	盐酸氯苯胍	100	76.92	22	20	45.45 (+)	4.35 (+)	34.99 (+)	134.92 (+)	完全耐药
	马度米星铵	100	57.69	17	10	0.00 (+)	26.09 (+)	7.62 (-)	130.69 (+)	重度耐药
	甲基盐霉素	100	73.08	19	40	36.36 (+)	17.39 (+)	66.09 (+)	114.08 (+)	完全耐药
	莫能菌素	100	69.23	17	10	27.27 (+)	26.09 (+)	9.04 (-)	142.23 (+)	重度耐药
	拉沙洛西钠	100	92.31	11	40	81.82 (-)	52.17 (-)	68.40 (+)	137.31 (+)	中度耐药
感染不给药	...	100	57.69	23	40
不感染不给药	...	100	100.00	0	0

表 5 柔嫩艾美耳球虫 ETSG-Y 株对 11 种药物的耐药性检测

组别	药物	存活率/%	相对增重率/%	病变值	卵囊值	POAA/%	RLS/%	ROP/%	ACI	综合判断
给药组	复方磺胺氯吡嗪钠	100	91.48	13	20	80.85 (-)	41.44 (+)	48.28 (+)	158.48 (+)	重度耐药
	尼卡巴嗪	90	79.31	10.8	40	78.01 (-)	51.35 (-)	72.84 (+)	118.51 (+)	中度耐药
	地克珠利	100	59.81	15.3	20	23.40 (+)	31.08 (+)	45.40 (+)	124.51 (+)	完全耐药
	癸氧喹酯	100	59.81	13.8	40	23.40 (+)	37.84 (+)	85.63 (+)	115.51 (+)	完全耐药
	二硝托胺	100	86.21	14.3	20	68.09 (-)	35.59 (+)	50.86 (+)	151.91 (+)	重度耐药
	氯羟吡啶	100	55.17	17	40	17.02 (+)	23.42 (+)	70.40 (+)	98.17 (+)	完全耐药
	盐酸氯苯胍	100	62.07	13.3	40	29.79 (+)	40.09 (+)	86.35 (+)	108.77 (+)	完全耐药
	马度米星铵	100	87.97	12.7	20	74.47 (-)	42.79 (+)	42.24 (+)	155.27 (+)	重度耐药
	甲基盐霉素	100	77.41	13	20	55.32 (-)	41.44 (+)	39.37 (+)	144.41 (+)	重度耐药
	莫能菌素	90	64.66	13	40	42.55 (+)	41.44 (+)	83.91 (+)	101.66 (+)	完全耐药
	拉沙洛西钠	100	51.72	11.3	40	10.64 (+)	49.10 (+)	87.36 (+)	100.42 (+)	完全耐药
感染不给药	...	90	42.22	22.2	40
不感染不给药	...	100	100	0	0

3 讨论

由于鸡球虫病是一种广泛的、危害严重的肠道寄生虫病，每年给养鸡业带来巨大的经济损失^[17]。目前控制鸡球虫病的主要手段仍然是依赖化学合成类药物和聚醚离子载体类药物^[18]，但因抗球虫药的长期使用和部分养殖户盲目、滥用药物，使得鸡球虫产生不同程度的耐药性^[19]，降低了药物敏感性^[20]。上世纪 40 年代开始，鸡球虫的耐药性问题已经越来越严重^[21]。我国的球虫田间分离株几乎对所有抗球虫药物产生一定的耐药性，抗药谱广，交叉或多重抗药性

明显^[22]。李超等^[23]研究表明，我国各地区鸡球虫对大部分常用药物均具有不同程度的耐药情况，其中对地克珠利基本都是中度耐药，且有交叉耐药产生。王海霞^[24]通过药敏试验研究发现，鸡体内柔嫩艾美耳球虫分离株对地克珠利、癸氧喹酯、甲基盐霉素和盐酸氯苯胍等药物呈中度抗药或完全抗药。

针对当地球虫对各种药物的抗药性程度，通过药敏试验选择敏感性高的抗球虫药物，确定合理的用药方案，确保抗球虫药物的治疗效果，是有效预防和控制鸡球虫病发生的重要措施^[25]。本试验以广东省不同地区 3 株柔嫩艾美耳球虫分离株对目前常用的 11

种抗球虫药物进行了抗药性试验,用 POAA、RLS、ROP 和 ACI 这 4 项指标进行综合判断,结果表明:柔嫩艾美耳球虫惠州分离株 ETHZ-Y 对甲基盐霉素抗药性最强,对马度米星胺最为敏感;肇庆分离株 ETZQ-Y 对氯羟吡啶、盐酸氯苯胍和地克珠利药物抗药性最强,对拉沙洛西钠抗药性最弱;韶关分离株 ETSG-Y 对氯羟吡啶和地克珠利的抗药性最为严重,而尼卡巴嗪药物对其的抗球虫效果较好。3 株分离株普遍对复方磺胺氯吡嗪钠、地克珠利、癸氧喹酯、二硝托胺、氯羟吡啶和盐酸氯苯胍药物完全或重度耐药。

复方磺胺氯吡嗪钠属磺胺类药物,通过与氰苯甲酸竞争二氢叶酸合成酶^[26],阻止二氢叶酸合成,影响核蛋白的合成,从而抑制球虫的生长和繁殖,但其并无直接杀灭球虫的作用^[27]。本试验 3 株分离株均已对复方磺胺氯吡嗪钠产生重度抗药,分别对马度米星胺、拉沙洛西钠和尼卡巴嗪的抗药性程度属于部分抗药阶段,可利用穿梭用药或联合药物进行控制。Ojmelukwe 等^[28]研究显示,采用穿梭用药或联合用药的方法可有效控制球虫病的暴发。地克珠利属于三嗪类抗球虫药,对于各种球虫有着极佳的杀虫作用^[29],但 ETHZ-Y 株已对其产生重度抗药,ETZQ-Y 株和 ETSG-Y 株已对其产生完全抗药。莫能菌素属于单价离子载体类抗球虫药^[30],可通过转运阳离子如钠离子、钾离子等打破细胞膜内的离子平衡,达到抑制或杀死细胞膜外的孢子子和裂殖子的目的^[31],3 株分离株均已对莫能菌素具有重度耐药甚至完全耐药,同时对癸氧喹酯、二硝托胺、氯羟吡啶、盐酸氯苯胍和甲基盐霉素等已产生完全耐药或重度耐药,因此在广东惠州、肇庆和韶关地区应谨慎使用抗球虫药。

综上,惠州、肇庆和韶关地区的鸡球虫耐药情况十分严重,对复方磺胺氯吡嗪钠、尼卡巴嗪和莫能菌素等 11 种临床常用抗球虫药物均已产生不同程度的耐药性。该地区应及时针对性的改变用药策略,适时选用中草药或相应弱毒疫苗进行预防控制,同时应严格控制养殖环境,加强对养殖环境卫生的综合治理,加大环境消毒力度,运用科学免疫手段,提高科学饲养管理水平,避免鸡球虫病暴发的风险。

参考文献:

- [1] CUNHA A F, SANTIN E, KOGUT M. Editorial: poultry coccidiosis: strategies to understand and control [J]. *Front Vet Sci*, 2020, 7: 599322.
- [2] 郭海婷,林瑞庆,张衡,等. 2018 年安徽省部分地区散养鸡群球虫感染情况调查 [J]. *畜牧与兽医*, 2020, 52 (5): 97-102.
- [3] 曹玉娟,黄杰,黄俊杰,等. 青蒿槟榔复方防治鸡柔嫩艾美球虫地克珠利耐药株感染的研究 [J]. *畜牧与兽医*, 2021, 53 (5): 107-111.
- [4] 蒲响林,潘仰栋,相权珈,等. 巨型艾美耳球虫 Th1 类细胞因子刺激性分子 EmARM-β 对鸡 PBMC 和 T 细胞亚群免疫功能的影响 [J]. *南京农业大学学报*, 2024, 47 (1): 9-17.
- [5] QUIROZ-CASTANEDA R E, DANTAN-GONZALEZ E. Control of avian coccidiosis: future and present natural alternatives [J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 430610.
- [6] 相权珈,蒲响林,陆明敏,等. 巨型艾美耳球虫纳米 DNA 疫苗的制备及免疫保护效果 [J/OL]. *南京农业大学学报*, 2024, 1-11. [2024-07-29]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/32.1148.S.20240528.1348.002.html>.
- [7] 张梦娇. 探讨鸡球虫病的综合防治措施 [J]. *吉林畜牧兽医*, 2020, 41 (12): 48-50.
- [8] 彭昊,陶建平,马春霞,等. 我国田间鸡球虫耐药性现状与控制对策 [J]. *畜牧与兽医*, 2011, 43 (5): 85-91.
- [9] SHARMA S, AZMI S, IQBAL A, et al. Pathomorphological alterations associated with chicken coccidiosis in Jammu division of India [J]. *J Parasit Dis*, 2015, 39 (2): 147-151.
- [10] 黄仪娟,王新秋,刘丽丹,等. 鸡艾美耳球虫福建龙岩田间虫株的耐药性调查 [J]. *养禽与禽病防治*, 2020 (6): 7-16.
- [11] 王静,王黎霞,李畅,等. 柔嫩艾美耳球虫分离株对 4 种抗球虫药敏感性检测 [J]. *中国兽医杂志*, 2018, 54 (5): 32-35.
- [12] 林青,于三科,陈秀荔,等. 鸡柔嫩艾美耳球虫单卵囊分离技术的构建及致病性研究 [J]. *西北农林科技大学学报*, 2002, 30 (3): 35-37.
- [13] VRBA V, BLAKE D P, POPLSTEIN M. Quantitative real-time PCR assays for detection and quantification of all seven *Eimeria* species that infect the chicken [J]. *Vet Parasitol*, 2010, 174 (3/4): 183-190.
- [14] JOHNSON J, REID W M. Anticoccidial drugs: lesion scoring techniques in battery and floor-pen experiments with chickens [J]. *Exp Parasitol*, 1970, 28 (1): 30-36.
- [15] 陈兆国,黄兵,赵其平,等. 四项球虫抗药性判定指标的准确性评价 [J]. *中国兽医寄生虫病*, 2001, 9 (4): 38-42.
- [16] 郭双双,马晓钰,费陈忠,等. 鸡球虫混合种和柔嫩艾美耳球虫分离株对常用抗球虫药的耐药性检测 [J]. *中国家禽*, 2021, 43 (7): 57-63.
- [17] 王文莉,刘丽丹,伍存,等. 和缓艾美耳球虫保定株的分离鉴定与致病性研究 [J]. *畜牧与兽医*, 2019, 51 (3): 101-105.
- [18] ABBAS R Z, IQBAL Z, BLAKE D, et al. Anticoccidial drug resistance in fowl coccidia: the state of play revisited [J]. *World's Poult Sci J*, 2011, 67 (2): 337-350.
- [19] 陈思颖,黄剑梅,张杨,等. 鸡球虫多价多表位亚单位疫苗免疫原性分析及抗球虫感染的效果观察 [J]. *南京农业大学学报*, 2021, 44 (6): 1135-1143.
- [20] 郝振凯,毕菲菲,韩贞艳,等. 鸡球虫耐药性研究进展 [J]. *中国兽医杂志*, 2019, 55 (6): 64-68.
- [21] 黄杰,江燕,王安源,等. 青蒿素与癸氧喹酯联用对鸡柔嫩艾美耳球虫感染的预防作用 [J]. *畜牧与兽医*, 2018, 50 (6): 80-84.
- [22] 姚惠娟,孙凤萍. 鸡野外艾美耳混合球虫抗药性的测定 [J]. *上海畜牧兽医通讯*, 2018 (2): 12-13.
- [23] 李超,汤新明,吕艳丽,等. 我国鸡球虫抗药性现状和抗药机

- 制研究进展 [J]. 寄生虫与医学昆虫学报, 2021, 28 (2): 119-128.
- [24] 王海霞. 柔嫩艾美耳球虫盐霉素耐药株的诱导及耐药相关基因特性的初步分析 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2020.
- [25] CHAPMAN H D. Milestones in avian coccidiosis research; a review [J]. Poultry Sci, 2014, 93 (3): 501-511.
- [26] 张艳, 刘海隆, 林哲敏, 等. 鸡球虫的药敏试验 [J]. 湖北农业科学, 2012, 51 (4): 787-790.
- [27] 杨建峰, 武祥秀. 鸡球虫病的防治措施 [J]. 当代畜禽养殖业, 2017 (10): 56.
- [28] OJIMELUKWE A E, EMEDHEM D E, AGU G O, et al. Populations of *Eimeria tenella* express resistance to commonly used anticoccidial drugs in southern Nigeria [J]. Int J Vet Sci Med, 2018, 6 (2): 192-200.
- [29] ZHANG X, XU G, GADORA K, et al. Dual-sensitive chitosan derivative micelles for site-specific drug release in the treatment of chicken coccidiosis [J]. RSC Adv, 2018, 8 (26): 14515-14526.
- [30] 黄杰, 代幸如, 殷邵杰, 等. 13 株柔嫩艾美耳球虫分离株对地克珠利及盐霉素耐药情况分析 [J]. 畜牧与兽医, 2021, 53 (1): 80-84.
- [31] NOACK S, CHAPMAN H D, SELZER P M. Anticoccidial drugs of the livestock industry [J]. Parasitol Res, 2019, 118 (7): 2009-2026.

· 信息 ·

倡导健康养殖新理念 解读疫病防控新技术 欢迎订阅 2025 年《畜牧与兽医》

ISSN 0529-5130, CN 32-1192/S

《畜牧与兽医》月刊由教育部主管、南京农业大学主办。1935 年创刊, 由原中央大学畜牧兽医系编辑出版, 著名兽医学家罗清生教授任主编, 至今已有 89 年的办刊历史。始终遵循“为社会服务, 为畜牧生产服务”和“理论与实践相结合, 普及与提高并举”的办刊宗旨。本刊连续入选中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)、《中文核心期刊要目总览》, 先后荣获华东地区优秀期刊、江苏期刊方阵双效期刊、江苏省优秀科技期刊、全国高校优秀期刊、全国畜牧兽医类优秀期刊等。

读者对象: 畜牧、兽医科技工作者和大专院校师生等。

主要内容: 主要刊登畜牧、兽医两学科各领域的研究报告、文献综述等。主要栏目有遗传繁育、动物营养、环境卫生、基础兽医、预防兽医、临床兽医和专题综述等。

征订办法: 本刊为月刊, 大 16 开, 定价: 28.00 元, 全年 12 期共 336.00 元。邮发代号: 28-42, 全国各地邮局均可订阅。邮局漏订者可直接汇款至本刊杂志社补订。

地 址: 江苏省南京市江北新区滨江大道 666 号南京农业大学行政楼 A320《畜牧与兽医》编辑部

邮 编: 210031

电 话: 025-84395701 (编辑部)

E-mail: muyizz@njau.edu.cn