超微粉中兽药“鸡球虫散”临床药效研究

李龙瑞¹, 张吉鸱^{2*}, 张庆生³, 赖贻奎³, 黎观红⁴, 陈金兴¹, 邵智军¹, 李检香¹

(1. 江西新天地药业有限公司兽药研究院, 江西 峡江 331400; 2. 江西省农业科学院畜牧兽医研究所, 南昌 330200, 3. 吉安市畜牧兽医局, 江西 吉安 343000; 4. 江西农业大学动物科技学院, 南昌 330045)

摘要: 临床药效是兽药制剂最关键的一项研究指标。本试验采用人工诱发鸡球虫病的治疗试验来进行超微粉中兽药“鸡球虫散”的临床药效研究, 试验攻虫为鸡柔嫩艾美耳球虫南昌株。试验共选取同1日龄、大小均匀伊莎小公鸡240羽, 分成8组, 每组3个样本, 每个样本10个重复, 以抗球虫指数(ACI)作为疗效判定依据。结果: 阴性对照组(不攻虫, 不用药)、阳性对照组(攻虫, 不用药)、细粉鸡球虫散组(1%细粉鸡球虫散拌料, 约300目)、地克珠利组(5 μ g/g地克珠利拌料)、低剂量超微粉鸡球虫散组(0.5%超微粉鸡球虫散拌料, 约1000目, 下同)、高剂量超微粉鸡球虫散组(1%超微粉鸡球虫散拌料)、低剂量超微粉鸡球虫散-地克珠利联用组(0.5%超微粉鸡球虫散+2.5 μ g/g地克珠利拌料)和高剂量超微粉鸡球虫散-地克珠利联用组(1%超微粉鸡球虫散+2.5 μ g/g地克珠利拌料)的ACI依次为200.00、88.73、146.45、178.28、143.99、160.82、170.31和188.04, 6个用药组中, 高剂量超微粉鸡球虫散-地克珠利联用组为显效(ACI $\geq$ 180), 地克珠利组、高剂量超微粉鸡球虫散组和低剂量超微粉鸡球虫散-地克珠利联用组为有效(ACI=160~179), 细粉鸡球虫散组与低剂量超微粉鸡球虫散组为低效(ACI<160)。说明中兽药超微粉碎后不仅能提高其药效, 而且超微粉中兽药制剂与化学兽药联用不仅能增强药效, 而且降低了化学兽药的用量。

关键词: 抗球虫指数; 地克珠利; 超微粉鸡球虫散; 细粉鸡球虫散; 临床药效

中图分类号: S858.31

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2019)04-0050-09

Studies on Clinical Efficacy of Ultrafine Traditional Chinese Veterinary Medicine Chicken Coccidia Powder

LI Longrui¹, ZHANG Jikun^{2*}, ZHANG Qingsheng³, LAI Yikui³, LI Guanhong⁴, CHEN Jinxing¹, SHAO Zhijun¹, LI Jianxiang¹

(1. Veterinary Medicine Research Institute, Jiangxi New World Pharmaceutical Co, Ltd., Xiajiang 331400; 2. Institute of Animal Science, Jiangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanchang 330200; 3. Jian Animal Husbandry and Veterinary Bureau, Jian 343000; 4. College of Animal Science and Technology, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

Abstract: The clinical efficacy of ultrafine traditional Chinese veterinary medicine Chicken Coccidia Powder (CCP) was studied in this trial. The trial chickens were artificially infected coccidiosis by Nanchang strain of chicken *E. tenella* and then treated according to the design. The 240 test Isa cockerel of the same age, same weight were selected and divided into eight groups, three samples each group, 10 repeated per sample, and the Anticoccidial Index (ACI) was used as a index for therapeutic efficacy. The ACI of the negative control group (no insect attack, without medication), the positive control group (insect attack, without medication), fine CCP group (1% fine CCP feeding, about 300 mesh), the Diclazuril group (5 μ g/g Diclazuril feeding), low-dose ultrafine CCP group (0.5% ultrafine CCP feeding, about 1 000 mesh, the same below), high-dose ultrafine CCP group (1% ultrafine CCP feeding), low-dose combination of ultrafine CCP and Diclazuril group (0.5% ultrafine CCP + 2.5 μ g/g Diclazuril feeding) and high-dose combination of ultrafine CCP and Diclazuril groups (1% ultrafine CCP + 2.5 μ g/g Diclazuril feeding) were 200.00, 88.73, 146.45, 178.28, 143.99, 160.82, 170.31 and 188.04, respectively. In six treatment groups, the

收稿日期: 2018-11-29

基金项目: 江西省重点研发计划项目(20132BBF60043); 国家自然科学基金项目(31360563)

作者简介: 李龙瑞(1964-), 男, 教授级高级工程师, 博士, 主要从事兽药及其加工工艺研究。

通讯作者: 张吉鸱, 男, 博士, 研究员, E-mail: zjk31060313@126.com

high-dose combination of ultrafine CCP and Diclazuril groups was the efficient ($ACI \geq 180$). The Diclazuril group, high-dose ultrafine CCP group and low-dose combination of ultrafine CCP and Diclazuril group were in effect ($ACI = 160 \sim 179$), fine CCP group and low-dose ultrafine CCP group was low efficient ($ACI < 160$). The results showed that ultrafine traditional chinese veterinary medicine can improve efficacy after ultrafine grinding, and they combined with chemical veterinary medicine not only could enhance the efficacy, but also reduced the amount of chemical veterinary medicine.

Key words: Anticoccidial Index (ACI); Diclazuril; Ultrafine Chicken Coccidia Powder (CCP); Fine CCP; Clinical efficacy

鸡球虫是鸡常见且危害十分严重的寄生虫病,它给养鸡业造成巨大的经济损失。据报道,雏鸡的球虫病发病率与致死率均较高,分别为50%~70%与20%~30%,严重的可达80%^[1-2]。病愈的雏鸡生长受阻,增重缓慢;成年鸡则多为带虫者,但增重和产蛋能力降低^[1]。据统计,全世界每年因鸡球虫病的损失约80亿美元,我国的损失在6亿~18亿元^[2]。

迄今为止,国内外对鸡球虫病的防治主要是依靠化学药物。从1936年首次出现专用抗球虫的化学兽药以来,已报道的抗球虫药高达40余种,现今广泛使用的就有20种,如地克珠利、妥曲珠利、氨丙啉、马杜霉素、盐霉素等,这些药物单用或复方使用大都具有较好的防治球虫的效果。然而化学兽药用于防治球虫病面临着诸多的问题,主要是药物的耐药性、药物残留以及防治费用大等问题,所以化学兽药需轮换用药或穿梭用药,而且要有一定的休药期。尽管治疗球虫病的中兽药及其复方制剂成分复杂,配伍亦不够规范,作用机理亦不甚明了,但实践证明中兽药不仅对鸡球虫病具有较好的疗效,而且还具有毒副作用小、不易产生耐药性,并能促进生长的特点^[3-5],具有广阔的发展前景。《中华人民共和国兽药典》二部(2010版)就收录了一个治疗鸡球虫病的中兽药方剂——鸡球虫散,其细度要求为全部过8号筛、95%过9号筛,粉碎粒度约200目^[6]。有关中兽药防治鸡球虫病的研究已有诸多报道^[7-10],但有关防治鸡球虫病的超微粉中兽药的研究则鲜见报道^[11]。虽然中兽药防治鸡球虫病取得了一些成果,但仍处于较低水平,多数还是停留在禽场所进行的与化学兽药的对比试验上^[12-18],一些科研工作者甚至借鉴西药的研究方法来探讨中兽药治疗鸡球虫病的作用机理^[19-24]。本试验旨在研究中兽药鸡球虫散经超微粉后对球虫病的疗效,同时对超微粉鸡球虫散与化学药地克珠利联合用于

防治鸡球虫病的效果进行探讨,以对超微粉中兽药鸡球虫散作出科学的临床评价。

1 材料与方法

1.1 研究思路

1.1.1 处方原理

球虫病在中兽医属于虫积范畴,只有采用杀虫积的中兽药治疗,方可达到理想的防治效果。经研究证实,青蒿、常山、苦参等具有抗球虫作用,其所含的生物碱是抗球虫的主要成分^[23]。本研究所用鸡球虫散的细粉及超微粉处方均为《中华人民共和国兽药典》二部(2010版)所载验方,即青蒿3 000 g、仙鹤草500 g、何首乌500 g、白头翁300 g、肉桂260 g,共5味组成。本研究所用细粉鸡球虫散按《中华人民共和国兽药典》二部(2010版)“鸡球虫散”规定的质量要求进行制备^[6],所用超微粉鸡球虫散则是将细粉鸡球虫散进一步进行超微粉碎所得^[25]。

1.1.2 人工诱导鸡球虫病,以药物的综合抗球虫指数(ACI)判定疗效

以人工诱导的鸡球虫病进行药物疗效研究,以药物的综合抗球虫指数(ACI)作为判定疗效依据,通过对各个用药方案的综合抗球虫指数(ACI)高低的比较分析,得出理想的用药方案。

1.1.3 本研究的对照用化学兽药地克珠利

地克珠利属三嗪苯乙腈化合物,为新型、高效、低毒抗球虫药,主要用于防治家禽柔嫩、堆型、毒害、布氏、巨型艾美耳球虫,用药后能有效地控制盲肠球虫的发生和家禽的死亡。特别是对氟嘌呤、氯羟吡啶、常山酮、氧苯胍、莫能菌素耐药的柔嫩艾美耳球虫仍然有效,是目前较为理想的杀球虫药,已广泛用于鸡球虫病防治。地克珠利对球虫的主要作用峰期,随球虫的不同种属而异,如对柔嫩艾美耳球虫主要作用点在第二代裂殖体球虫的有性周期;对巨型艾美耳球虫作用点在球虫的合子阶段;对布氏艾美耳球虫则在小配

子体阶段有高效。此外,地克珠利对形成孢子化卵囊也有抑制作用。李致宝^[26]的研究表明,地克珠利抗球虫指数(ACI)高达182.87。

1.2 试验材料

1.2.1 试验动物

从江西某种鸡试验场选购1日龄健康伊萨公雏鸡300羽,置于用高锰酸钾和甲醛熏蒸消毒2次的鸡舍笼养。试验鸡全程不接种任何疫苗,所用饲料也不含其它抗球虫类及抗菌药物,试验鸡饲养至2周龄备用。

1.2.2 试验用试剂及药物

①自制饱和食盐水;②细粉鸡球虫散(300目),江西新天地药业有限公司生产,批号为120130,经检验符合质量要求;③超微粉鸡球虫散(中心粒径 d_{50} 为14.96 μm),为同批次细粉鸡球虫散进一步超微粉碎而得(使得试验可比性强),批号同为120130;④地克珠利,浙江国邦制药有限公司生产,批号:111125-4,经过检验为合格产品。

1.2.3 试验用仪器

尼康(Nikon)倒置显微镜 ECLIPSE TS100/TS100-F(Japan Nikon Corporation),麦氏计数室。

1.3 试验方法

1.3.1 球虫卵囊的接种

将18 d无球虫感染的雏鸡,经口接种南昌株柔嫩艾美耳球虫卵囊,10万个/羽,25 d宰杀,回收纯化卵囊。试验用南昌株柔嫩艾美耳球虫卵囊由江西农业大学动物科技学院禽病研究室提供并鉴定。

1.3.2 试验动物分组

将试验动物分成1个阴性对照组(不攻虫即不接种球虫卵囊、不用药)、1个阳性对照组(攻虫、不用药)、1个细粉鸡球虫散组、1个西药地克珠利组、2个梯度超微粉鸡球虫散组、2个梯度超微粉鸡球虫散+50%规定用量地克珠利联合用药组共8个组。试验雏鸡随机分为8组,每组设3个样本,每个样本设10个重复,攻虫后开始用药,直至试验结束,试验鸡只的分组设计详见表1。

表1 试验鸡只的分组及用药表

序号	组别	羽数	用药	备注
1	阴性对照组	30	不攻虫、不给药	/
2	阳性对照组	30	攻虫、不给药	/
3	细粉鸡球虫散组	30	1%细粉鸡球虫散(约300目)拌料	据《中华人民共和国兽药典》二部(2010年版)鸡球虫散的质量标准配制、使用
4	地克珠利组	30	5 $\mu\text{g/g}$ 地克珠利拌料	《兽药质量标准》推荐的地克珠利剂量
5	低剂量超微粉鸡球虫散组	30	0.5%超微粉鸡球虫散拌料	《中华人民共和国兽药典》二部(2010年版)所推荐的鸡球虫散剂量的50%
6	高剂量超微粉鸡球虫散组	30	1%超微粉鸡球虫散拌料	《中华人民共和国兽药典》二部(2010年版)所推荐的鸡球虫散剂量
7	低剂量超微粉鸡球虫散-地克珠利联用组	30	0.5%超微粉鸡球虫散+2.5 $\mu\text{g/g}$ 地克珠利拌料	《中华人民共和国兽药典》二部(2010年版)所推荐的鸡球虫散剂量的50%+《兽药质量标准》推荐的地克珠利剂量的50%
8	高剂量超微粉鸡球虫散-地克珠利联用组	30	1%超微粉鸡球虫散+2.5 $\mu\text{g/g}$ 地克珠利拌料	《中华人民共和国兽药典》二部(2010年版)所推荐的鸡球虫散剂量+《兽药质量标准》“地克珠利”推荐剂量50%

1.3.3 试验动物攻虫

根据卵囊计数,将卵囊稀释成每毫升含卵囊 1×10^4 个,每羽试验鸡口服1 mL,即每羽试验鸡攻虫 1×10^4 个^[14, 18, 27]。

1.3.4 试验动物增重效果

试验鸡饲养至第7天逐羽称重,淘汰弱小残次鸡只,并按体重大小随机分成8组,第18天时逐羽称重,并按分组要求进行攻虫,攻虫后按组别要求一直饲喂相应的添加药物与不加药饲料,于26 d再次逐羽称重并宰杀,观察攻虫前、后8 d

试验鸡只二个时间段内的体重变化情况,然后计算平均增重和相对增重^[14, 18, 27]。

$$\text{平均增重 I} = (\text{攻虫时重} - 7 \text{日龄重}) / 11$$

$$\text{平均增重 II} = (\text{宰杀时重} - \text{攻虫时重}) / 8$$

$$\text{相对增重} = (\text{试验组增重} / \text{对照组增重}) \times 100\%$$

1.3.5 试验动物OPG(克盲肠内容物卵囊数)

按麦克马斯特法计算卵囊,即攻虫后第8天,宰杀全部鸡,逐羽取其盲肠内容物,并刮取盲肠黏膜混匀,各取2 g,加10 mL蒸馏水搅匀制成10倍稀释液,然后再加50 mL饱和食盐水,混匀后立

即取溶液充满两个计数室,静止1~2 min,镜检计数两个计数室的卵囊数。计数室容积为 $1\times 1\times 0.15=0.15$ mL,0.15 mL内含盲肠内容物 $2\times 0.15/(10+50)=0.005$ g,两个计数室则为0.01 g所得卵囊数乘100即为克盲肠内容物卵囊数^[14, 18, 26]。

卵囊减少率(%)=(阳性对照组卵囊数-各组卵囊数)/阳性对照组卵囊数 $\times 100\%$

表2 卵囊值换算表

克盲肠内容物卵囊数(10^5)	卵囊值
<0.1	0
0.1~1.0	1
2.0~5.0	10
6.0~10.0	20
>11.0	40

1.3.6 试验动物盲肠病变计分

攻虫后第8天,宰杀全部试验鸡只,分别取盲肠,按Johnson等的方法进行盲肠病变计分。也就是将盲肠病变分为0~+4五个等级。0分:表示正常,无肉眼病变;+1分:从盲肠中部浆膜面看有散在的针尖出血点或白色斑点,黏膜损伤不明显;+2分:从盲肠中部浆膜面看有多量的出血点,也可看到中部肠管稍充气;+3分:肠腔有大量出血,浆膜面粗糙,增厚,有许多针尖状出血点,肠内容物含量少,充气达盲肠下半段,盲肠粗度明显加大,但长度明显缩小;+4分:盲肠因严重出血而呈暗红色、褐色,大部分肠管气胀明显,黏膜增厚加剧,肠腔内充满血液和黏膜组织的碎片,从浆膜面看,在感染部位组织见到白色或红色病状,死亡鸡只病灶为白色和黑色,呈“白盐与黑胡椒”之外观,有些情况可见到寄生性肉芽肿,肠管增粗一倍,长度缩短一倍,死亡鸡只也记+4分^[14, 18, 27]。

1.3.7 试验动物抗球虫指数(ACI)

ACI是将存活率、增重、病变、卵囊值等多项参数包括在内进行综合评定后作为判定球虫耐药性或药物效力的指标,也可用作球虫疫苗保护效果指标。但是,不同的研究者在计算ACI时所采用的参数指标、计算方法和判定标准不尽相同。本研究采用以下ACI值作为抗球虫判定标准,即:当 $ACI\geq 180$,为保护效果明显;当ACI位于160~179之间,为保护效果一般;当 $ACI<160$,保护效果弱或无保护效果^[14, 18, 26]。

$ACI=(存活率+相对增重率)-(病变值+卵囊值)$

存活率=(试验结束时存活鸡羽数/试验组鸡

羽数) $\times 100\%$

相对增重率=(试验组增重率/非感染非免疫组增重率) $\times 100\%$

病变值(0~4)=各试验组的平均病变计分(0~4) $\times 10$

卵囊值(0~40)按表2方法计算。

1.3.8 试验结果统计

各组间的差异性比较采用统计软件SPASS 11.5进行,以单变量方差分析进行统计,比较其差异显著性水平。

2 结果与分析

2.1 增重变化

攻柔嫩艾美耳球虫前后的试验鸡增重变化见表3。从表3可以看出,各试验组与对照组之间的相对增重I差异都不显著($P>0.05$),说明试验动物符合试验要求。攻入球虫卵囊后的阳性对照组(攻虫、不用药)与阴性对照组(不攻虫、不用药)之间的相对增重II差异显著($P<0.05$),说明攻虫成功。

所有试验组与阳性对照组之间的差异均达到显著水平($P<0.05$),说明所用的药物对抗球虫感染均有一定的作用。高剂量超微粉鸡球虫散-地克珠利联合用药组及地克珠利组的相对增重II最高,依次为97.74%和89.41%,与阴性对照差异不显著($P>0.05$),但显著高于其它4个试验组($P<0.05$);其它4个试验组之间的相对增重II差异不显著($P>0.05$),但都显著高于阳性对照组($P<0.05$),同时显著低于阴性对照组($P<0.05$)。表明:地克珠利单用或与高剂量超微粉鸡球虫散联用,试验鸡都表现出较好的增重效果,且联合用药组比地克珠利组要高($P<0.05$),同时比二个超微粉鸡球虫散组的增重亦高($P<0.05$)。超微粉鸡球虫散组的增重率高于同剂量的细粉鸡球虫散组,但差异不显著($P<0.05$)。说明:中兽药与化学兽药联用具增效作用,并能降低化学兽药的用量,中兽药超微粉能提高试验鸡的生长性能。黄兰等^[10]的研究亦表明,中草药复方制剂(主含商陆、白头翁、常山、仙鹤草、金银花)能提高球虫感染雏鸡的生长性能,提高饲料转化率,并促进雏鸡免疫器官(胸腺、法氏囊、脾脏)的生长发育。

2.2 克盲肠内容物卵囊数(OPG)

所测定的克盲肠内容物卵囊数(OPG)结果见表4。由表4可以看出,阳性对照组与阴性对照组间的OPG差异显著($P<0.05$),说明本研究攻虫

是成功的。地克珠利组、2个超微粉鸡球虫散-地克珠利联合用药组均未发现卵囊,且OPG为0,较其余各试验组低,差异显著($P<0.05$),卵囊减少率为100%。高剂量超微粉鸡球虫散组的OPG较低剂量超微粉鸡球虫散组及细粉鸡球虫散组的低($P<0.05$),卵囊减少率为92.95%。低剂量超微粉鸡球虫散组与细粉鸡球虫散组的OPG差异不

显著($P>0.05$)。表明地克珠利及其与超微粉鸡球虫散联合用药可以彻底清除卵囊,且超微粉鸡球虫散可降低地克珠利的用量,同时鸡球虫散超微粉后还可显著降低OPG($P<0.05$)。周作勇分别用2%和5%浓度的中兽药“球康”(由常山、青蒿、苦参等组成,粉碎至300目)处理攻虫的试验鸡只,亦显著降低了OPG^[23]。

表3 攻柔嫩艾美耳球虫前后的试验鸡增重变化

组别	平均增重 I (g)	相对增重 I (%)	平均增重(g)	相对增重 II (%)
阴性对照组	74.58±21.17 ^a	100.00	57.6±6.96 ^a	100.00
阳性对照组	75.42±23.45 ^a	101.13	33.5±15.16 ^a	58.16
细粉鸡球虫散组	72.45±21.36 ^a	97.14	44.8±15.77 ^b	77.78
地克珠利组	71.10±18.17 ^a	95.33	51.5±8.82 ^a	89.41
低剂量超微粉鸡球虫散组	73.46±29.07 ^a	99.84	41.1±14.46 ^b	71.32
高剂量超微粉鸡球虫散组	73.26±25.61 ^a	98.23	45.4±13.03 ^b	78.75
低剂量超微粉鸡球虫散-地克珠利联合用药组	72.89±23.94 ^a	97.73	47.2±5.83 ^b	81.94
高剂量超微粉鸡球虫散-地克珠利联合用药组	74.53±22.81 ^a	99.93	56.3±12.24 ^a	97.74

注:同一列数据肩标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),肩标相同字母或无字母标注表示差异不显著($P>0.05$),下同

表4 试验鸡攻柔嫩艾美耳球虫后的克盲肠内容物卵囊数值

组别	克盲肠内容物卵囊数($\times 10^5$)	卵囊减少率(%)
阴性对照组	0.00±0.00 ^a	100.00
阳性对照组	66.7±15.2 ^d	0.00
细粉鸡球虫散组	6.5±1.7 ^b	90.25
地克珠利组	0.00±0.00 ^a	100.00
低剂量超微粉鸡球虫散组	7.9±2.6 ^c	88.15
高剂量超微粉鸡球虫散组	4.7±1.3 ^b	92.95
低剂量超微粉鸡球虫散-地克珠利联合用药组	0.00±0.00 ^a	100.00
高剂量超微粉鸡球虫散-地克珠利联合用药组	0.00±0.00 ^a	100.00

2.3 盲肠病变记分情况

柔嫩艾美耳球虫病主要侵害感染鸡的盲肠,试验鸡在攻虫后第8天全部捕杀,进行盲肠病变计分,盲肠病变记分情况见表5。从表5可以看出,阳性对照组与阴性对照组的差异显著,这进一步说明攻虫是成功的。病变程度较轻微的有低剂量超微粉鸡球虫散组和高剂量超微粉鸡球虫散组,显著低于其它各试验组($P<0.05$);细粉鸡球虫散组、地克珠利组、低剂量超微粉鸡球虫散-地克珠利联合用药组、低剂量超微粉鸡球虫散-地克珠利联合用药组均有病变,组间没有显著差异($P>0.05$)。结果说明,各用药组都有减轻病变作用,但低剂量和高剂量超微粉鸡球虫散组均能显著降低盲肠病变,效果好于细粉鸡球虫散及其它各组($P<0.05$),说明鸡球虫散超微粉能显著降低盲肠病变。郭红斌等研究表明,4个中药方剂(主

要含有青蒿、常山等13味中药)对肉鸡感染柔嫩艾美耳球虫的治疗效果,均能显著降低鸡盲肠病变值($P<0.05$)^[18]。

2.4 抗球虫指数综合评价

抗球虫指数综合评价见表6。

2.4.1 存活率、增重、病变、克盲肠内容物卵囊数等多项参数的综合分析

综合分析存活率、增重、病变、克盲肠内容物卵囊数等多项参数,发现:①死亡率,各组之间差异不大;②相对增重,各用药组的增幅均较阳性对照组高,增幅在12.76%~39.58%,尤以超微粉鸡球虫散-地克珠利联用组最好,增幅达到39.58%;③病变计分,各用药组的病变计分值明显低于阳性对照组;④卵囊值,地克珠利组及超微粉鸡球虫散-地克珠利联用组效果最好,均为0,卵囊减少率达100%。

2.4.2 抗球虫综合指数(ACI)的分析

由表6可知,细粉鸡球虫散组、地克珠利组、低剂量超微粉鸡球虫散组、高剂量超微粉鸡球虫散组、低剂量超微粉鸡球虫散-地克珠利联用组、高剂量超微粉鸡球虫散-地克珠利联用组共6个用药组的抗球虫综合指数(ACI)分别为146.45、178.28、143.99、170.82、170.31、188.04,分别较阳性对照组高出57.72、89.55、55.26、72.09、81.58、99.31。表明,高剂量超微粉鸡球虫散-地克珠利联用组优于其它各实验组,ACI值 ≥ 180 ,保护效果明显;地克珠利组、高剂量超微粉鸡球虫散组、低剂量超微粉鸡球虫散-地克珠利联用组则均在160~179之间,有保护效果;细粉鸡球虫散组、低剂量超微粉鸡球虫散组均 < 160 ,保护效果差。结果表明,鸡球虫散超微粉后能明显提高ACI,超微粉鸡球虫散与地克珠利联用能提高鸡综合抗球虫指数,并大幅度降低化学兽药地克珠利的用量,

这一结果与其它有关报道相似,主要的有:①郭红斌等^[18]比较了4个中药复方(冲泡混饮)对肉鸡感染柔嫩艾美耳球虫的治疗效果,发现主要由青蒿、常山、白头翁、大黄、地榆炭、黄芪等组成的方剂的ACI最高(166.1),效果最好。②刘陆军等的研究表明,盐霉素($60\mu\text{g}/\text{kg}$)抗球虫指数为159.5,效果一般;中药组(0.5%拌料)的抗球虫指数为181.5,效果较好;盐霉素与中药联合用药的抗球虫指数为200.2,效果显著,联合用药效果好于中兽药和盐霉素单独用药的效果^[14]。③刘秀玲等^[4]发现,常青克球灵微粉(主要含常山、青蒿、大黄、柴胡、地榆炭、苦参、黄芪、黄连,粉碎至300目,2%添加)与地克珠利($2.5\text{ mg}/\text{L}$)联用,感染前1d给药,比单用效果好,ACI达192.9。④周作勇^[23]报道,中药“球康”(由常山、青蒿、苦参等组成,300目)2%、1%和克球嘉(磺胺对甲氧嘧啶)500 mg/kg拌料,ACI分别为175.96、166.89、163.23。

表5 试验鸡攻柔嫩艾美耳球虫后的盲肠病变记分结果

组别	小肠病变记分结果	病变值
阴性对照组	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	0.0
阳性对照组	2.81 $\pm$ 0.35 ^e	28.1
细粉鸡球虫散组	0.80 $\pm$ 0.23 ^a	8.0
地克珠利组	0.78 $\pm$ 0.20 ^a	7.8
低剂量超微粉鸡球虫散组	0.40 $\pm$ 0.10 ^b	4.0
高剂量超微粉鸡球虫散组	0.46 $\pm$ 0.13 ^b	4.6
低剂量超微粉鸡球虫散-地克珠利联用组	0.83 $\pm$ 0.25 ^a	8.3
高剂量超微粉鸡球虫散-地克珠利联用组	0.97 $\pm$ 0.28 ^a	9.7

表6 试验鸡攻柔嫩艾美耳球虫后的抗球虫指数分析

组别	存活率(%)	相对增重率(%)	病变值	卵囊值	ACI
阴性对照组	96.67	100.00	0.0	0	200.00
阳性对照组	96.67	58.16	28.1	40	88.73
细粉鸡球虫散组	96.67	77.78	8.0	20	146.45
地克珠利组	96.67	89.41	7.8	0	178.28
低剂量超微粉鸡球虫散组	96.67	71.32	4.0	20	143.99
高剂量超微粉鸡球虫散组	96.67	78.75	4.6	10	160.82
低剂量超微粉鸡球虫散-地克珠利联合用药组	96.67	81.94	8.3	0	170.31
高剂量超微粉鸡球虫散-地克珠利联合用药组	100.00	97.74	9.7	0	188.04

3 讨论

本实验通过超微粉鸡球虫散对人工感染鸡球虫的治疗试验,并与同处方的细粉鸡球虫散、化学兽药地克珠利以及中兽药与化学兽药联用的治疗效果进行对比,旨在系统分析比较超微粉中兽

药制剂确切的临床疗效。试验测定存活率、增重、克盲肠内容物卵囊数(OPG)和盲肠病变计分4个指标,最后以抗球虫指数(ACI)对超微粉中兽药鸡球虫散的临床药效进行综合评价。

3.1 存活率

各组成活率都较高,阳性对照组(攻虫,非用

药)只有1羽死亡。试验各组成活率均在96.67%以上,各组之间差异不显著($P>0.05$),说明本次试验鸡柔嫩艾美耳球虫卵囊南昌株对试验鸡的致死性不强。

3.2 增重

平均增重 I 各组之间差异显著($P<0.05$),表明所选用试验动物及试验各项条件选择是成功的。平均增重 II 表示攻虫后各组对试验鸡增重的影响,从表3结果可以看出,阳性对照组的平均增重 II 最小,与其他组的差异均显著($P<0.05$),表明试验鸡在感染球虫后,用药组对鸡的增重均有积极的作用。与阴性对照组比较,高剂量超微粉鸡球虫散-地克珠利联用组及地克珠利组可以将鸡球虫对鸡增重的影响降到最低,说明超微粉鸡球虫散与地克珠利联用效果好于超微粉中兽药鸡球虫散单用效果,联合用药降低了地克珠利用量,同时说明化学兽药地克珠利对鸡球虫病亦具有较好的疗效。低剂量超微粉鸡球虫散组、高剂量超微粉鸡球虫散组以及细粉鸡球虫散组3个组之间相对增重率 II 差异不显著($P>0.05$),说明本研究低剂量超微粉鸡球虫散与高剂量细粉鸡球虫散的疗效相似,超微粉可以降低中兽药的用药剂量。El-Abasy 等用中药甘蔗提取物(SCE)进行球虫病防治试验,发现口服 SCE 组的增重率要显著高于阳性对照组($P<0.05$),而血便记分和卵囊排出量则显著降低($P<0.05$),并可以缓解因为球虫病感染而引起的盲肠扁桃体内 CD₄ 细胞的下降($P<0.05$),说明 SCE 对鸡感染 *E.tenella* 有免疫刺激和保护作用^[28]。

3.3 克盲肠内容物卵囊数(OPG)

由表4可以看出,各用药组与阳性对照组的克盲肠内容物卵囊数(OPG)差异显著($P<0.05$),说明试验各组均能显著地减少球虫卵囊的繁殖。其中地克珠利组及2个剂量超微粉鸡球虫散-地克珠利联用组都没有发现卵囊,杀虫效果显著,说明化学兽药地克珠利对鸡球虫卵囊具有较强的驱杀效果,同时中兽药与化学兽药联用不仅能降低化学兽药50%的用量,而且具有标本兼治的作用。低剂量超微粉鸡球虫散组、高剂量超微粉鸡球虫散组以及细粉鸡球虫散组的卵囊值分别为20、10和20,虽然卵囊值较高,但与阳性对照组的差异均达到显著水准($P<0.05$),且卵囊减少率高,依次为88.15%、92.95%和90.25%,说明本研究细粉鸡球虫散与超微粉鸡球虫散均具有较好的驱除卵囊效果,且鸡球虫散超微粉碎能降低用药

量。Murtaza 等^[29]在用印度楝树果与盐霉素对鸡球虫病进行疗效对比试验时,发现在饲料中添加楝树果(150 g/kg),其卵囊排出量和死亡率明显低于其它治疗组($P<0.05$)。陈蒲丹等^[9]用青蒿、使君子等中兽药组成的制剂处理未孢子化柔嫩艾美耳球虫卵囊悬液后孵育,感染14 d 艾维茵肉鸡,发现中兽药处理组 ACI 值达187.0,说明中兽药制剂对孢子化卵囊具有显著的抑杀作用($P<0.05$)。目前,我国有关中兽药制剂的抗球虫试验多停留在临床阶段,有关中兽药抑制球虫卵囊孢子化试验及离体球虫卵囊的杀灭试验的报道不多^[1],本研究丰富了该方面的研究。

3.4 盲肠病变

每组每羽试验鸡口服 1×10^4 个球虫卵囊后,阳性对照组病变最为明显,2 对照组与各试验组差异均显著($P<0.05$)。病变计分较低的是2个超微粉鸡球虫散组,效果最好;地克珠利组、2个剂量超微粉鸡球虫散-地克珠利联用组及细粉鸡球虫散组次之。说明各试验组均能在一定程度上减轻球虫引起的盲肠病变。鸡球散超微粉后能降低盲肠病变值,可能与超微粉中兽药的表面效应增加其在肠道内的滞留时间有关。杜爱芳等^[30]分别用钩藤、仙鹤草、地榆、白头翁、苦参、熟地等组成的方剂粉末及其煎液进行鸡球虫病的防治试验,发现中兽药能降低病变记分($P<0.05$),显著提高增重率($P<0.05$),具有较强的抗柔嫩艾美耳球虫感染作用。需要特别指出的是,虽然地克珠利组及2个剂量超微粉鸡球虫散-地克珠利联用组卵囊值为0,但3个组均呈现一定的病变值,这与感染鸡球虫病鸡通常的病变规律不同。可能加药组仍然处在球虫病感染过程中,因而出现了盲肠病变,但经过持续的药物治疗,抑杀了球虫的繁殖与卵囊化,这也说明鸡球虫病防治要有一定的疗程。

3.5 综合抗球虫指数(ACI)

3.5.1 中兽药与化学兽药联合使用,呈现出协同抗球虫作用

综合抗球虫指数(ACI)是通过综合存活率、增重、病变及卵囊产量等多项参数来对各用药组的临床效果进行整体评价,当 $ACI \geq 180$ 时,药效显著;当 ACI 位于 160 ~ 179 时,药效较好;当 $ACI < 160$ 时,药效一般。从表6可以看出,所有用药组的 ACI 值均高于阳性对照组,说明所有试验药物均有一定程度的保护作用。其中,高剂量超微粉鸡球虫散-地克珠利联用组的 ACI 值为 188.04,保

护效果明显。地克珠利组、低剂量超微粉鸡球虫散-地克珠利联合用药组、高剂量超微粉鸡球虫散组的ACI值分别为178.28、170.31和160.82,保护效果较好。细粉鸡球虫散组、低剂量超微粉鸡球虫散组则分别为146.45和143.99,保护效果较差。综合以上各试验组的评价参数,不难看出地克珠利组、2个剂量超微粉鸡球虫散-地克珠利联合用药组和高剂量超微粉鸡球虫散组在相对增重、卵囊记数、小肠病变计分和综合抗球虫指数方面都有良好效果,细粉鸡球虫散组及低剂量超微粉鸡球虫散组有一定效果,但不是很理想。与新型化学兽药地克珠利比较,超微粉鸡球虫散对鸡球虫病也有好的疗效,但以超微粉鸡球虫散-地克珠利联合用药组的效果最好,这一结果与其它类似研究报导的结果相似^[12,14,16-17,31]。地克珠利的ACI高达178.28,也有可能是因为柔嫩艾美耳球虫南昌株对地克珠利无耐药性。

一些学者尝试用中西兽药配伍进行抗鸡球虫病研究,发现中西兽药配伍不但可以减少西药即化学兽药的剂量,还能够增强疗效,促进机体生长发育,提高经济效益,典型例子有:①黄柏贤^[2]报道,通过正交试验,中兽药和西兽药配伍组合要比中兽药和中兽药或西兽药和西兽药的配伍更有效,配伍较好的组合有白头翁(10 mg/0.1 mL)与马杜霉素(20 μ g/0.1 mL);常山酮(20 μ g/0.1 mL)与马杜霉素(20 μ g/0.1 mL)。②肖寒等^[17]分别将磺胺喹啉和尼卡巴嗪与马杜霉素、氨丙啉配伍,并进行鸡体试验,筛选出抗鸡球虫复方西兽药,将筛选出的复方西兽药与复方中兽药(主要由黄芪、苦参、仙鹤草、槟榔及白头翁组成)进行配制试验,研制出复方中西兽药散剂,该散剂(氨丙啉125 ppm/磺胺喹啉300 ppm+中药复方0.15%)的综合抗球虫指数(ACI)预防组为189,治疗组为187,效果显著。③颜卉等^[16]研究发现,中兽药与莫能菌素同时使用,可减少西兽药的用量。④都业良等用复方中兽药和盐霉素进行鸡球虫病的防治试验,发现将它们组合使用比单用任何一种药品的抗球虫指数都高,且组合使用能降低盐霉素的用量^[31]。⑤Naidoo等发现给妥曲珠利中加入具有抗氧化活性植物提取物可以显著提高抗球虫效果^[32]。

3.5.2 中兽药抗球虫病的机制

中兽药能缓解球虫感染鸡红细胞总数、红细胞压积、血清总蛋白的下降,并能缓解白细胞总数、血清钾、钙离子升高,提高球虫感染鸡CD4+

T、CD8+T淋巴细胞百分比及其比值,维持鸡的免疫水平^[23,33]。

4 小 结

4.1 中兽药鸡球虫散超微粉能够提高疗效

从治疗人工致病鸡球虫病临床药效看,单用超微粉鸡球虫散防治鸡球虫病也有很好的效果,超微粉比普通细粉疗效好,产品经过超微粉能显著提高疗效,降低用量,同时产品能混饮,使用方便,改变了原有中兽药散剂的投药模式,对食欲减退、只能饮水的感染鸡只的治疗具有优势。

4.2 超微粉中兽药鸡球虫散与化学兽药地克珠利联用能提高抗球虫效果

超微粉鸡球虫散-地克珠利联用不仅效果最好,表现在抗球虫指数(ACI)最高,而且降低了地克珠利的用量。本研究结果验证了中兽药与化学兽药结合防治疫病的理论。本试验所进行的人工攻虫试验,相当于生产实际中的疫病流行爆发期,通过中兽药与化学药联用,能迅速控制病势,达到标本兼治的目的。

4.3 地克珠利为一种优秀的抗球虫药

地克珠利为近年来推广使用的一种新型防治球虫病,用量小(5 μ g/g拌料),综合抗球虫指数(ACI)高(178.28),为理想的抗球虫用化学兽药。地克珠利与高剂量超微粉鸡球虫散联用的抗球虫指数最高(188.04)。

4.4 超微粉鸡球虫散应用前景广阔

超微粉鸡球虫散相对普通细粉鸡球虫散能大幅度提高制剂的疗效,用量小,综合用药成本低,产业化后的市场前景广阔。

参考文献:

- [1] 葛凯,李培英.中草药防治鸡球虫病研究进展[J].动物医学进展,2006,27(2):17-21.
- [2] 张浩男,张秀英.鸡球虫病药物防治策略的研究进展[J].黑龙江畜牧兽医,2012(3):36-38.
- [3] 沈克姑.中草药防治鸡球虫病的研究进展[J].养禽与禽病防治,2010(10):2-4.
- [4] 刘秀玲,王留.中西结合及单独用药对鸡球虫病的疗效对比试验[J].中兽医学杂志,2013(4):6-9.
- [5] 卢福庄,张雪娟,付媛.中草药防治鸡、兔球虫病的研究进展[J].浙江农业学报,2007,19(3):253-257.
- [6] 中国药典编委会.中华人民共和国药典,二部[S].中国农业出版社,2010.
- [7] 葛凯,李培英,汪兴生.中草药复方制剂对柔嫩艾美耳球虫感染鸡血液生化指标的影响[J].畜牧与兽医,2009,41(6):74-78.
- [8] 何华西,王尚荣.中药防治鸡毒害艾美耳球虫病的疗效试验[J].中国兽医寄生虫病,2003,11(4):15-17.

- [9] 晋爱兰,张供领,万双秀,等.中草药对肉鸡球虫病临床病例的疗效研究[J].中国畜牧兽医,2010,37(7):208-209.
- [10] 黄 兰,薛敬洁,刘 维,等.中草药复方制剂对球虫感染鸡免疫器官和生长性能的影响[J].中国家禽,2010,32(16):18-20.
- [11] 刘永录,温士杰,董从刚,等.超微粉鸡球虫散常温制备方法及其专用双向气流筛分机[P].中国专利:102512514,2012-06-27.
- [12] 杜美丹.复方中草药与氨丙啉联合使用防治鸡球虫病的效果试验[J].浙江畜牧兽医,2009(5):25-26.
- [13] 高明燕,刘爱玲,刘桂兰,等.抗球虫病药物的研究进展[J].安徽农业科学,2013,41(14):6308-6311.
- [14] 刘陆军,庄小微,郭成亮,等.盐霉素与中药联合用药抗鸡球虫病的疗效试验[J].湖北畜牧兽医,2010(9):10-13.
- [15] 许金俊,陶建平,彭金彪,等.柔嫩艾美耳球虫扬州分离株对8种抗球虫药的抗药性[J].畜牧与兽医,2008,40(1):18-21.
- [16] 颜 卉,郑伟斌,杜绍范,等.中西结合制剂防治鸡柔嫩艾美耳球虫病试验[J].中国兽医杂志,2006,42(5):37-38.
- [17] 肖 寒.鸡球虫的分离鉴定及防治鸡球虫病中西药复方制剂的研究[D].合肥:安徽农业大学,2008.
- [18] 郭红斌,弓素梅,王凤霞.四个抗球虫中药复方对肉鸡球虫病疗效对比试验[J].湖北农业科学,2011,50(13):2702-2703.
- [19] 陈蒲丹,刘 娟.青蒿及其提取物对鸡柔嫩艾美耳球虫的抑制作用[J].中兽医医药杂志,2008(2):24-26.
- [20] 李佩国,李蕴玉,张香斋,等.雏鸡感染柔嫩艾美耳球虫后血清生化指标的动态变化[J].中兽医医药学报,2008,28(6):676-693.
- [21] 薛飞群,费陈忠,赵其平,等.中药抗球虫制剂TF-103的亚慢性毒性试验[J].中国兽医科学,2003,33(5):43-46.
- [22] 薛敬洁.中药复方制剂对球虫感染鸡血液免疫指标和酶活性影响[J].中兽医医药杂志,2010(4):12-15.
- [23] 周作勇.中药球康对鸡球虫病的防治及作用机理的研究[D].重庆:西南大学,2006.
- [24] 樵星芳,陈建康,杨扬,等.中草药防治球虫病研究与应用现状[J].上海畜牧兽医通讯,2011(3):42-43.
- [25] 李龙瑞,张吉鹏,张庆生,等.中兽药超微粉碎工艺研究[J].东北农业科学,2019,44(1):32-39.
- [26] 李致宝.化学抗球虫药和中药对球虫病的疗效对比试验[J].畜禽业,2000(8):16-17.
- [27] 索 勋,李国清.鸡球虫病学[M].北京:中国农业大学出版社,1998:158-167.
- [28] El-Abasy M, Motobu M, NA Ki-Jeong, et al. Protective effects of sugar cane extracts(SCE) on *Eimeria tenella* infection in chickens [J]. Journal of Veterinary Medical Science, 2003, 65(8): 865-871.
- [29] Murtaza Ali Tipu, Pasha T N, Zhlfliqar Ali. Comparative efficacy of salinomycin sodium and Neem Fruit (*Azadirachta Indica*) as feed additive anticoccidials in Broilers[J]. International Journal of Poultry Science, 2002, 1(4): 91-93.
- [30] 杜爱芳.药物对球虫感染鸡血液及生化指标的影响[J].中国兽医学报,2002,22(1):73-74.
- [31] 都业良,刘焕奇,李迎梅,等.复方中药和西药单独及联合用药对鸡 *E. tenella* 的疗效研究[J].安徽农业科学,2009,37(13):5992-5993.
- [32] Naidoo V, McGaw L J, Bisschop S P, et al. The value of plant extracts with antioxidant activity in attenuating coccidiosis in broiler chickens[J]. Veterinary Parasitology, 2008, 153(3): 214-219.
- [33] Guo F C, Kwakkel R P, Williams B A, et al. Effects of mushroom and herb polysaccharides on cellular and humoral immune responses of *Eimeria tenella* infected chickens[J]. Poultry Science, 2004, 83(7):1124-1132.

(上接第18页)

参考文献:

- [1] 高尔明,赵全志,唐 旭,等.硅肥增产的生理效应研究[J].耕作与栽培,1998(5):20-28.
- [2] 李克仁,毛 玲,史书仁,等.硅肥对水稻生产的增产作用[J].作物杂志,2004(5):24-28.
- [3] 高玉凤,焦 峰,沈巧梅.水稻硅营养与硅肥应用效果研究[J].中国农学通报,2009,25(16):156-160.
- [4] 商全玉,张文忠,韩亚东,等.硅肥对北方粳稻产量和品质的影响[J].中国水稻科学,2009,23(6):661-664.
- [5] 徐新朋,魏 丹,李玉影,等.基于产量反应和农学效率的推荐施肥方法在东北春玉米上应用的可行性研究[J].植物营养与肥料学报,2016(6):1458-1467.
- [6] 杨良金,唐宗伟,黄胜海,等.水稻施用硅的增产效果[J].土壤,2001(3):166-167.
- [7] 吴 巍,张 宽,王秀芳,等.硅肥对水稻养分吸收及产量的影响[J].吉林农业科学,1996(3):51-54.
- [8] 任 海,付立东,王 宇,等.硅磷肥对水稻生长发育及产量品质的影响[J].江苏农业科学,2017,45(11):57-61.
- [9] 濂古秀生.水稻の倒伏に関する研究[J].九州農業試験場彙報,1962(7):419-495.
- [10] Seko H. Studies on lodging in rice plants[J]. Journal of Kyushu Agricultural Experiment Station, 1962(7): 419-495.
- [11] 马 均,马文波,田彦华,等.重穗型水稻植株抗倒伏能力的研究[J].作物学报,2004,30(2):143-148.
- [12] 任 海,李 旭,隋 鑫,等.水稻不同收获期茎秆抗倒伏能力及其影响因素研究[J].现代农业科技,2014(5):13-14.
- [13] 张显东,高 强,王培顺,等.硅肥在水稻上的应用研究进展[J].吉林农业科学,2012,37(2):24-26.
- [14] 王 浩,杨宜生,荀贤玉,等.硅肥不同施用方式对水稻增产效果比较试验研究[J].上海农业科技,2017(4):111-113.
- [15] 陈平平.硅在水稻生活中的作用[J].生物学通报.1998,33(8):5-7.
- [16] 许佳莹,朱炼峰,禹盛苗,等.硅肥对水稻产量及生理特性影响的研究进展[J].中国稻米,2012(6):18-22.
- [17] 张忠旭,陈温福,杨振玉,等.水稻抗倒伏能力与茎秆物理性状的关系及其对产量的影响[J].沈阳农业大学学报,1999,30(2):81-85.