

二甲氧苄啶对磺胺类药物的抗球虫 增效作用研究

王 峰, 王国永, 郝雪琴, 赵振升*

(河南科技大学 动物科技学院, 河南 洛阳 471003)

摘要: 选用 10 日龄健康雏鸡 190 只, 随机分为 19 组, 每组 10 只。试验组和阳性对照组雏鸡人工感染柔嫩艾美耳球虫, 建立雏鸡球虫病模型。在感染后 3 d 开始用药, 以存活率、相对增重率、盲肠病变值和盲肠卵囊值为观察指标, 以抗球虫指数(ACI)为判定标准, 研究二甲氧苄啶(DVD)以 1:5 比例与几种磺胺药联合应用的抗球虫增效作用。结果表明, 0.06% 磺胺二甲嘧啶(SM₂)、0.05% 磺胺喹恶啉(SQ)、0.05% 磺胺-6-甲氧嘧啶(SMM)、0.05% SQ+0.06% 磺胺氯吡嗪(Esb₃)的 ACI 分别为 161、142、157、147。DVD 与不同浓度 SM₂ 联用的 ACI 分别为 179、166、155; 与不同浓度 SQ 联用的 ACI 分别为 178、168、152; 与不同浓度 SMM 联用的 ACI 分别为 184、174、163; 与不同浓度 SQ 和 Esb₃ 混合组联用的抗球虫指数分别 167、176、186。表明 DVD 与几种磺胺药联用后均产生了抗球虫增效作用。

关键词: 磺胺药; 二甲氧苄啶(DVD); 柔嫩艾美耳球虫; 抗球虫指数

中图分类号: S884.2⁺3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2013)02-0142-04

Synergistic Effect of Ditrimehoprim(Diaveridine) Combind with Several Sulfa Drugs on Chicken Coccidiosis

WANG Feng, WANG Guo-yong, HAO Xue-qin, ZHAO Zhen-sheng*

(College of Animal Science and Technology, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China)

Abstract: In this study, a total of 190 10-day-old healthy chickens were randomly divided into 19 groups. Chicks in experiment groups and positive control group were artificially infected with *Eimeria tenella* at 10 days of age to establish chicken coccidiosis model. Chickens in experiment groups were treated with different sulfa drugs 3 days post-infection(dpi). Survival rate, relative weight gain, value of cecal lesion, and value of oocyst in cecal were detected, and anticoccidial index(ACI) was assessed. Different concentrations of sulfa drugs were combined with diaveridine (DVD) at 5:1 ratio and their synergistic anticoccidial effect was evaluated. The results showed that ACI of 0.06% SM₂ group, 0.05% SQ group, 0.05% SMM group, and mixture of 0.05% SQ with 0.06% Esb₃ group were 161, 142, 157, and 147, respectively. ACI of DVD combined with different concentration of SM₂ was 179, 166, and 155, respectively. ACI of DVD combined with different concentration of SQ was 178, 168, and 152, respectively. ACI of DVD combined with different concentration of SMM was 184, 174, and 163, respectively. ACI of DVD combined with different concentration of SQ mixed with Esb₃ was 167, 176, and 186, respectively.

Key words: sulfa drug; diaveridine; *Eimeria tenella*; anticoccidial index

收稿日期: 2012-08-16

作者简介: 王 峰(1979-), 男, 河南唐河人, 在读硕士研究生, 研究方向: 动物药理学。E-mail: 787523534@qq.com

* 通讯作者: 赵振升(1956-), 男, 河南洛阳人, 副教授, 硕士, 主要从事动物药理学及毒理学研究。E-mail: zzshkd@126.com

球虫病危害巨大^[1],多年以来,防治鸡球虫病主要依靠抗球虫药物^[2]。但是,抗球虫药物的广泛使用也带来了球虫耐药性问题。为了避免或延缓球虫耐药性的产生,人们多采用增加药物浓度、轮换用药、穿梭用药、配合用药等措施。配合用药可以增加药物的疗效,降低药物用量,减少不良反应,也可以延缓耐药性的产生,并且可以降低药物的残留量^[3]。因此,进行抗球虫药物配合应用方面的研究具有一定的现实意义。二甲氧苄啶(DVD)是常用的磺胺增效剂,与磺胺药联合应用可以在不同的环节抑制球虫的叶酸代谢,可能存在相互之间的协同作用^[1-2]。本试验将DVD以1:5的比例与不同剂量磺胺二甲嘧啶(SM₂)、磺胺喹恶啉(SQ)、磺胺-6-甲氧嘧啶(SMM)和SQ+磺胺氯吡嗪(Esb₃)混合组联合应用,观察研究DVD与磺胺药联合应用对人工感染雏鸡柔嫩艾美耳球虫的治疗效果,为抗菌增效剂与磺胺药联合应用提高药物抗球虫的效果提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 试验用鸡 试验鸡为海兰褐公雏,由洛阳公华禽业有限公司提供。

1.1.2 试验用饲料 育雏料(蛋鸡花·111)由洛阳鲲鹏饲料有限公司提供,豫(洛)公司(生)字(2007)005号,产品标准编号:GB/T5916-93,产品各成分的分析保证值:粗蛋白质 $\geq 18.0\%$,粗纤维 $\leq 3.5\%$,总灰分 $\leq 8.0\%$,钙含量 $0.7\% \sim 1.2\%$,总磷 $\geq 0.6\%$,食盐 $0.3\% \sim 0.8\%$,水分 $\leq 13.0\%$,蛋氨酸 $\geq 0.14\%$,锌 $\geq 36 \text{ mg/kg}$,维生素E $\geq 3 \text{ IU/kg}$,不含抗生素和抗球虫药物。

1.1.3 试验用药 DVD由如皋市信宇兽药材料有限公司生产,批号:20060119;SM₂由南海北沙有限公司生产,批号:20061201;SQ由浙江黄岩兽药厂生产,批号:20060804;Esb₃由江都市动物药厂生产,批号:20060208;SMM由哈尔滨制药六厂生产,批号:20061021。

1.1.4 球虫卵囊 柔嫩艾美耳球虫由中国农业科学院上海寄生虫研究所提供,使用前在无球虫鸡体内复壮。

1.2 方法

1.2.1 试验分组及处理 将220只海兰褐公雏饲养至10日龄,逐只称质量,并淘汰弱雏和体质量过大者,随机分成19组,每组10只。其中A组为空白对照组,B组为感染不给药组,C、D、E、F分别为DVD、SM₂、SQ、SMM单独用药组;G组为SQ

(0.05%)+Esb₃(0.06%)组,其余为DVD与不同剂量SM₂、SQ、SMM和SQ+Esb₃联合应用组。

1.2.2 感染量及感染途径 除A组外,其余各组鸡只每只经口灌服柔嫩艾美耳球虫孢子化卵囊 1×10^5 个,剂量参照文献^[3-4]设计。除A组(空白对照组)和B组(阳性对照)外,其余各组鸡只于感染球虫第3天饲养含抗球虫药物的饲料。每天观察并记录鸡群的精神状态、采食情况、粪便变化等。对死亡鸡只称质量,剖检,若为柔嫩艾美耳球虫感染引起的死亡,病变记分为+4分。所有鸡只于10d后逐只称质量剖检,进行盲肠病变记分,取盲肠内容物收集虫卵并计数,统计各组鸡只的体质量增加情况^[1]。

1.2.3 试验指标 抗球虫指数(anticoccidia index, ACI)按下列公式计算:ACI=相对增重率+存活率-(卵囊值+病变值);增重率=(试验结束后平均体质量-试验开始时平均体质量)/试验开始时平均体质量 $\times 100\%$;存活率=存活鸡数/试验用鸡总数 $\times 100\%$;相对增重率=试验组增重/空白组增重 $\times 100\%$;病变记分参考Johnson等^[5]所述方法记录,病变值=每组平均病变记分 $\times 10$ 。将卵囊数按照角田清的方法换算成卵囊值^[6]。

1.2.4 判定标准 ACI <120 为无效,120~160为弱效,160~180为中效,在180以上的为强效。

2 结果与分析

2.1 临床症状观察

接种柔嫩艾美耳孢子化卵囊第2天,病鸡开始出现精神沉郁、呆立、食欲减退、饮水增加等症状;接种第4天,感染不给药组鸡只出现少量血便;接种第5天,血便明显增加,羽毛凌乱,闭目昏迷,群集一处,粪便较稀,泄殖腔周围羽毛粘有粪便块;接种第6~7天,病鸡血便最多。

2.2 试验效果

2.2.1 SM₂单独或与DVD联合应用的效果 从表1可以看出,应用 0.06% SM₂药物对照组的ACI值为161,抗球虫效果为中效;DVD以1:5比例与 0.06% 、 0.03% 、 0.015% 的SM₂配伍的ACI值分别为179、166、155。联合应用后的抗球虫效果最少增加2倍以上,且与SM₂的用量呈正相关。

2.2.2 SQ单独或与DVD联合应用的效果 单独应用 0.05% SQ药物对照组的ACI值为142,抗球虫效果为弱效,DVD以1:5的比例与 0.05% 、 0.025% 、 0.0125% SQ配伍的ACI值分别为178、168、152。加入DVD后抗球虫效果最少提高4倍以上,且与SQ用量呈正相关。

表 1 DVD 与几种磺胺药联合应用的抗球虫效果

组别	鸡数/只	存活率/%	相对增重率/%	病变值	卵囊值	ACI	抗球虫效果
A	1	100	100	0	0	200	
B	10	100	36.48	28	40	68	
C	10	100	71.95	20	20	132	弱效
D	10	100	75.10	9	5	161	中效
E	10	100	62.98	16	5	142	弱效
F	10	100	72.63	6	10	157	弱效
G	9	90	71.67	10	5	147	弱效
D ₁	10	100	82.11	3	0	179	中效
D ₂	10	100	75.67	5	5	166	中效
D ₃	10	100	72.70	9	10	155	弱效
E ₁	10	100	81.66	4	0	178	中效
E ₂	10	100	74.83	6	0	168	中效
E ₃	10	100	68.12	8	5	152	弱效
F ₁	10	100	88.07	4	0	184	强效
F ₂	10	100	81.53	7	0	174	中效
F ₃	10	100	76.63	9	5	163	中效
G ₁	10	100	76.90	10	0	167	中效
G ₂	10	100	83.18	8	0	176	中效
G ₃	10	100	88.73	3	0	186	强效

注: A. 空白对照; B. 感染不给药; C. 0.012% DVD; D. 0.06% SM₂; E. 0.05% SQ; F. 0.05% SMM; G. 0.05% SQ + 0.06% Esb₃; D₁. 0.06% SM₂ + 0.012% DVD; D₂. 0.03% SM₂ + 0.006% DVD; D₃. 0.015% SM₂ + 0.003% DVD; E₁. 0.05% SQ + 0.01% DVD; E₂. 0.025% SQ + 0.005% DVD; E₃. 0.012 5% SQ + 0.002 5% DVD; F₁. 0.05% SMM + 0.01% DVD; F₂. 0.025% SMM + 0.005% DVD; F₃. 0.012 5% SMM + 0.002 5% DVD; G₁. 0.05% SQ + 0.06% Esb₃ + 0.01% DVD; G₂. 0.025% SQ + 0.03% Esb₃ + 0.005% DVD; G₃. 0.012 5% SQ + 0.015% Esb₃ + 0.002 5% DVD。

2.2.3 SMM 单独或与 DVD 联合应用的效果 单独应用 0.05% SMM 药物组的 ACI 值为 157, 抗球虫效果为弱效; DVD 以 1 : 5 的比例与 0.05%、0.025%、0.012 5% 的 SMM 联合应用后的 ACI 值分别为 184、174、163。抗球虫效果亦显著高于不加增效剂的药物对照组, 疗效最少提高 4 倍以上, 且与 SMM 用量呈正相关。其中 DVD 与 0.05% SMM 联合应用的抗球虫效果为高效。

2.2.4 SQ + Esb₃ 和 SQ + Esb₃ + DVD 的效果 应用 0.05% SQ + 0.06% Esb₃ 的 ACI 值为 147, 抗球虫效果为弱效。而 DVD 与 0.05% SQ + 0.06% Esb₃、0.025% SQ + 0.03% Esb₃、0.012 5% SQ + 0.015% Esb₃ 配伍的 ACI 值分别为 167、176、186; 抗球虫效果明显高于不加增效剂的药物对照组, 疗效最少提高 4 倍以上, 随 SQ 和 Esb₃ 用量增加抗球虫效果减弱。

3 讨论

磺胺药是被广泛用于防治球虫病的药物, 通过阻断叶酸合成途径阻止球虫的正常发育。磺胺类药物的基本化学结构与对氨基苯甲酸相似, 可与对氨基苯甲酸竞争二氢叶酸合成酶, 同时还可抑制二氢叶酸合成酶的活性, 妨碍二氢叶酸的合成, 最终影响核蛋白的合成, 从而抑制了球虫细胞的生长发育, 抗菌增效剂 DVD 和磺胺药物对球虫叶酸代谢产生双重阻断作用^[1], 相互配合应用可明显提高抗球虫的效果, 并可减少药物用量。

本试验结果表明, 加入 DVD 可明显提高磺胺药 SM₂、SQ、SMM 以及 SQ + Esb₃ 的抗球虫效果, 并且在一定的剂量范围内, 抗球虫效果与磺胺药的用量呈正相关。但是在本试验的剂量范围内 DVD 与 SQ + Esb₃ 配伍, 则表现出抗球虫 (下转第 148 页)

- 882-885.
- [5] 闫晓菲, 黄兵, 岳城. 堆型艾美耳球虫生物学特性研究进展[J]. 中国兽医寄生虫病, 2007, 15(5): 40-44.
- [6] 林娇娇, 沈杰. 畜禽寄生虫病防治技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001.
- [7] Wilson R J M, Denny P W, Preiser P R, *et al.* Complete gene map of the plastid-like DNA of the malaria parasite *Plasmodium falciparum*[J]. J Mol Biol, 1996, 261(2): 155-172.
- [8] Parson M, Karnataki A, Feaqin J E, *et al.* Protein trafficking to the apicoplast: deciphering the apicomplexan solution to secondary endosymbiosis [J]. Eukaryot Cell, 2007, 6(7): 1081-1088.
- [9] Fernandez S, Pagotto A H, Furtado M M, *et al.* A multiplex PCR assay for the simultaneous detection and discrimination of the seven *Eimeria species* that infect domestic fowl[J]. Parasitology, 2003, 127: 317-325.
- [10] Delwiche C F, Palmer J D. The origin of plastids and their spread via secondary endosymbiosis[J]. PLSyst Evol, 1997, 11(suppl): 51-86.
- [11] Kohler S, Delwiche C F, Denny P W, *et al.* A plastid of probable green algal origin in apicomplexan parasites[J]. Science, 1997, 275: 1485-1489.
- [12] Cai X M, Fuller L, McDougald L R, *et al.* Apicoplast genome of coccidian *Eimeria tenella*[J]. Gene, 2003, 321: 39-46.
- [13] Ralph S A, Dooren G G, Waller R F. Tropical infection diseases: metabolic maps and functions of the *Plasmodium falciparum* apicoplast[J]. Nat Rev Microbiol, 2004, 2(3): 203-216.
- [14] Dooren G G, Stimmler L M, McFadden G I. Metabolic maps and functions of the *Plasmodium* mitochondrion [J]. FEMS Microbiol Rev, 2006, 30(4): 596-630.
- [15] 张维, 刘群. 顶复门寄生虫顶质体的研究进展[J]. 中国兽医科学, 2006, 36(8): 674-678.
- [16] Cynthia Y He, Michael K Shaw, Charles H Pletcher, *et al.* A plastid segregation defect in the protozoan parasite *Toxoplasma gondii*[J]. The EMBO Journal, 2001, 20(3): 330-339.

(上接第 144 页) Esb_3 用量呈负相关。是否由于磺胺剂量过大产生毒副作用所致, 尚不得而知, 原因有待进一步探讨。

所试几种磺胺药单独应用时的抗球虫效果均不理想, 与 DVD 配伍后抗球虫效果均有所提高, 联合用药 D_1 组 (0.06% SM_2 + 0.012% DVD)、 E_1 组 (0.05% SQ + 0.01% DVD)、 F_2 组 (0.025% SMM + 0.005% DVD) 和 G_2 组 (0.025% SQ + 0.03% Esb_3 + 0.005% DVD) 的抗球虫指数分别为 179、178、174、176, 抗球虫效果为中效 (接近于高效); 联合用药 F_1 组 (0.05% SMM + 0.01% DVD) 和 G_3 组 (0.0125% SQ + 0.015% Esb_3 + 0.0025% DVD) 抗球虫指数分别为 184、186, 抗球虫效果为高效, 表现出很好的抗球虫效果。

本试验中, 除 E_3 、 F 组外 DVD 分别与 SM_2 、SQ、SMM 联合应用的抗球虫效果为中效, 且与 SM_2 、SQ、SMM 的剂量呈正相关, 在此基础上继续增加上述磺胺药的剂量是否会进一步提高抗球虫效

果, 尚待研究; 同理, DVD 与 SQ + Esb_3 配伍, 随用量减小抗球虫效果增强, 其最佳用量是多少有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 索勋, 李国清. 鸡球虫病[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [2] 樊生超, 姚惠娟, 陈金伟, 等. 抗鸡球虫药配合用药方案的优化及疗效测定[J]. 上海农业学报, 2005(1): 109-113.
- [3] 陈杖榴. 兽医药理学[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2011: 227-230, 234.
- [4] 朱模忠. 兽药手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002: 187.
- [5] Johnson J, Reid W M. Anticoccidiosis drugs: lesion-scoring techniques in batte yand floor-open experiments with chickens[J]. Exp Parasitology, 1970, 28: 30-36.
- [6] 角田清·监修. 鸡球虫病[M]. 陈谊, 明如镜, 译. 上海: 上海科学技术文献出版社, 1986: 87-93.