

谭文彪,朱玉苹,王李松,等. 利用紫茎泽兰花第三级提取物治疗鸡球虫病试验[J]. 江苏农业科学,2013,41(12):227-229.

利用紫茎泽兰花第三级提取物治疗鸡球虫病试验

谭文彪, 朱玉苹, 王李松, 王安位, 黄高峰, 杨美兵

(西南林业大学生命科学学院, 云南昆明 650224)

摘要:将紫茎泽兰花的第三级提取物作为试验药物,开展鸡球虫病治疗试验,并测定试验鸡血液的丙氨酸氨基转移酶(ALT)活性,试验结束后对其解剖观察,测定了试验药物的化学结构。结果表明,紫茎泽兰花第三级提取物的抗球虫指数为 180.20,疗效达到高效;试验药物组 ALT 活性平均值为 108.77,比空白对照组低 30.09%;试验鸡除肠道外其他器官未见异常症状,表明试验药物毒性较小;试验药物为含有酮、醚、醇、氯的结构复杂的萜胺衍生物。

关键词:紫茎泽兰;提取物;治疗;鸡球虫病

中图分类号:S859.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2013)12-0227-02

球虫病是饲养场常见病,在集约化养鸡场中球虫病难以避免,且球虫的抗药变异性强,目前所用的抗球虫药物几乎都已出现抗药虫株^[1],即使在用药情况下仍可暴发球虫病或出现亚临床感染情况^[2-3],给养鸡业造成很大损失^[4-6]。紫茎泽兰是外来入侵植物,对动物、植物均有危害,难以防治^[7],已在我国南方地区广泛蔓延^[8-9],对生态系统造成严重破坏^[10],被国家环保部列为外来有害物种^[11]。本研究利用紫茎泽兰花的第三级提取物进行鸡球虫病的治疗试验,探究紫茎泽兰毒素对鸡球虫的抑制能力,以期治疗鸡球虫病寻找新药物,为紫茎泽兰的利用探索新途径。

1 材料与方法

1.1 材料

紫茎泽兰花采自野生植株。含球虫卵囊鸡粪采自暴发球虫病的养鸡场。试验动物为 25 日龄铁脚麻鸡,饲料为无药物添加剂的小鸡饲料。

主要试剂及药物:乙醇、石油醚、乙酸乙酯、2.5% 重铬酸钾溶液、生理盐水、硅胶(200~300 目)、抗球虫药物地克珠利、丙氨酸氨基转移酶测定试剂盒、肝素。

主要仪器:干燥箱、旋转蒸发仪、培养箱、离心机、显微镜、微量移液器、色谱柱管、电子天平、半自动生化分析仪。

1.2 方法

1.2.1 材料处理 试验药物的获取。将紫茎泽兰鲜花置于干燥箱内 65℃ 烘干,粉碎后于试剂瓶中用乙醇浸泡 5 d,过滤,用旋转蒸发仪浓缩滤液。用硅胶柱层析法对浓缩液进行组分分离,各级洗脱液为:石油醚,石油醚:乙酸乙酯(分 5 级:3:1,2:1,1:1,1:2,1:3),乙酸乙酯,乙酸乙酯:乙醇(分 3 级:2:1,1:1,1:2),乙醇。最终分离出多种组分,用

旋转蒸发仪把第三级组分的洗脱液蒸发后即得试验药物。

球虫孢子囊的获取。将球虫病患鸡粪便放入清水中搅拌成悬液后用棉布过滤,滤液经离心(3 000 r/min,10 min)后弃去上清液,加清水把沉淀物搅溶后再离心,重复上述操作 3 次,弃去上清液后得到含多种球虫的球虫卵囊。将球虫卵囊放入 2.5% 重铬酸钾溶液中于 29℃ 中培养 5 d,显微镜下观察,在确认卵囊孵化为孢子囊后将培养液离心,弃去上清液后加清水洗涤离心 3 次,弃去上清液,加入适量生理盐水得球虫孢子囊悬液。用微量移液器吸取 2 μL 该悬液于载玻片上,显微镜下计数孢子囊数量,重复 3 次,用其平均值算出 1 mL 悬液中的孢子囊数量。

1.2.2 感染与治疗 购进鸡后观察 2 d,淘汰特小个体,将其随机分为 3 组,每组 10 羽,分别对各组鸡称重。给第 2、3 组小鸡滴喂球虫孢子囊,每羽鸡滴喂量为 2 万~4 万个,根据上述计数结果确定悬液滴喂量。接种球虫第 3 天后,鸡会出现血便现象,取血便于显微镜下检查,确认鸡患上球虫病后给第 2 组鸡投喂抗球虫药物地克珠利,用量为 0.15 mL/L 水(按药物使用说明),给第 3 组鸡投喂试验药物,用量为 0.5 g/kg 饲料。投药 7 d 后对各组鸡分别称重、抽血、屠宰、解剖。

1.2.3 试验药物疗效评判 用抗球虫指数(anticoagulant index,ACI)作为判定药效的指标,按以下方法计算药物的抗球虫指数^[12]。

抗球虫指数 = 相对增重率 + 存活率 - 病变值 - 平均卵囊值;

$$\text{相对增重率} = \frac{\text{试验药物组平均增重}}{\text{空白对照组平均增重}} \times 100\%; \quad (2)$$

$$\text{存活率} = \frac{\text{每组期末存活数}}{\text{每组初始鸡羽数}} \times 100\%。 \quad (3)$$

病变值计算方法。先根据病变严重程度,用 Johnson 等的标准^[12]进行病变记分,具体记分方法为:肠道壁无肉眼可见病变者记为 0 分;肠道壁有少量散在瘀血点、肠道壁不增厚,内容物正常者记为 1 分;肠道壁有较多瘀血点,肠道内容物明显带血,肠道壁增厚,盲肠内容物正常者记为 2 分;肠道有较多血液或有盲肠芯(血凝块或灰白色干酪样块状物),肠道壁明显增厚者记为 3 分;肠道充满大量血液或盲肠芯很大,致使盲肠肿大或鸡死亡者记为 4 分。对每羽鸡分别记分后算

收稿日期:2013-05-07

基金项目:云南省重点学科野生动植物保护与利用项目(编号: XKZ200904);云南省优势特色重点学科生物学一级学科建设项目(编号:50097505)。

作者简介:谭文彪(1957—),男,广西上林人,副教授,主要从事动物营养学和疾病学的教学和科研工作。Tel:(0871) 63864978; E-mail:tanwb1995@sina.com。

出各组鸡的平均病变记分,再按下式计算每组病变值。

病变值 = 组内平均病变记分 × 10。(4)

平均卵囊值计算方法。取 1 g 肠道内容物于 10 mL 水中,充分搅拌成悬液后用微量移液器吸取 2 μL 于载玻片上,显微镜下计数卵囊数量,重复 3 次,用其平均值算出 1 g 肠道内容物中的卵囊数,按下式算出克卵囊数(OPG):

克卵囊数 = 1 g 肠道内容物的卵囊数 × 10⁻⁶。(5)

再按下述方法将克卵囊数折算为卵囊值:0 ≤ OPG < 0.1,卵囊值为 0;0.1 ≤ OPG < 1,卵囊值为 1;1 ≤ OPG < 6,卵囊值为 10;6 ≤ OPG < 11,卵囊值为 20;OPG ≥ 11,卵囊值为 40。对每羽鸡的卵囊值单独计算,再算出各组平均卵囊值。

1.2.4 试验药物毒性测定 以试验鸡血液中丙氨酸氨基转移酶活性高低作为药物毒性大小的指标。屠宰前对鸡进行采血,每羽鸡采 10 mL,置于配好肝素的试管中,轻摇约 2 min 后离心(2 000 r/min,10 min),取上清液,加入丙氨酸氨基转移酶(ALT)测定试剂,充分反应后用半自动生化分析仪测定丙氨酸氨基转移酶活性。此外,通过解剖观察,了解试验鸡各器官组织的病变情况,以此判断试验药物毒性的大小。

1.2.5 试验药物分子结构测定 由中国科学院昆明植物研究所植化分析测试中心对试验药物样品进行质谱(MS)、红外光谱(IR)、核磁共振(NMR)H 谱和 C 谱测定,测定其分子结构。

2 结果与分析

2.1 试验药物疗效

按默克公司的方法,用试验药物的抗球虫指数(ACI)作为判定药物疗效的指标,其标准为:ACI ≥ 180 者为高效,180 > ACI ≥ 160 者为中效,160 > ACI ≥ 120 者为低效,ACI < 120

者为无效^[12]。

从表 1 可以看出,试验药物组鸡的抗球虫指数虽然低于高效抗球虫药物地克珠利组,但是其疗效也达到高效,表明试验药物具有较强的抗球虫能力。从试验过程中试验动物病情变化来看,投喂药物后第 2 天鸡血便现象消失,这也表明试验药物对鸡球虫有较强的抑制作用。从病变值来看,试验药物组的病变值略小于地克珠利组,这可能是因为病变记分是由人为主观打分,对各羽鸡的病变程度判断上有偏差所致。从解剖观察结果来看,试验药物组和地克珠利组一样,除了肠道有典型的球虫病病变症状外,其他器官均未出现异常症状,这表明试验药物毒性较小,对鸡机体没有产生可见的毒副作用。

表 1 治疗试验结果

组别	相对增重率 (%)	存活率 (%)	病变值 (分)	平均卵囊值	抗球虫指数
空白对照组	100	100			
地克珠利组	93	100	7	0.5	185.35
试验药物组	87	100	6	0.6	180.20

2.2 试验药物对丙氨酸氨基转移酶活性的影响

试验结束后各组鸡血液中丙氨酸氨基转移酶活性见表 2。试验药物组的丙氨酸氨基转移酶活性平均值比空白对照组低 30.09%,比地克珠利组低 3.03%。用 SPSS 13.0 统计软件进行独立样本 t 检验,结果表明试验药物组的 ALT 活性与空白对照组差异极显著,试验药物组的 ALT 活性与地克珠利组差异不显著,这表明试验药物有一定毒性,其毒性大小与地克珠利在同一水平上。从解剖观察结果来看,试验药物组和地克珠利组一样,除了肠道有病变症状外,其他器官均未出

表 2 试验药物对丙氨酸氨基转移酶活性的影响

组别	丙氨酸氨基转移酶活性的吸光度										
	平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	平行 7	平行 8	平行 9	平行 10	平均值
空白对照组	164.88	150.38	148.09	145.61	150.56	167.11	151.05	161.50	163.65	153.09	155.59
地克珠利组	120.40	114.72	112.76	111.80	110.85	107.98	102.25	115.62	113.76	111.53	112.17
试验药物组	102.82	115.21	112.09	116.96	104.42	101.71	115.24	108.54	103.82	106.87	108.77

现异常症状,这表明试验药物的毒性较小,其毒副作用没有对鸡机体代谢造成严重影响。

2.3 试验药物的分子结构

从图 1 可知,试验药物为含酮、醚、醇、氯的结构复杂的萘胺衍生物,因条件所限,本研究未对其抑制球虫的作用机理进行研究,仅测定了其分子结构,以期能为紫茎泽兰的进一步研究提供参考。

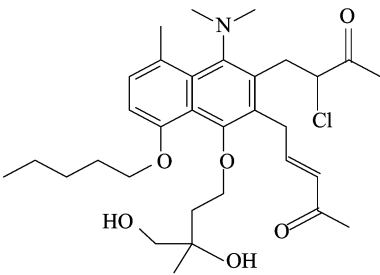


图 1 试验药物分子结构

3 结论

本研究表明,紫茎泽兰花的第三级提取物对鸡球虫具有较强的抑制作用,对鸡球虫病的疗效虽略逊于高效抗球虫药物地克珠利,但仍达到高效,其毒副作用较小,不会对鸡机体造成明显损害。

致谢:本研究得到云南省森林灾害预警与控制重点实验室的鼎力支持,在此表示由衷感谢。

参考文献:

[1]沈克姑,田淑琴. 鸡球虫抗药性问题的解决措施[J]. 养禽与禽病防治,2008(9):36-38.
[2]吉朝松,王天奇,董发明,等. 托曲珠利抗柔嫩艾美耳球虫洛阳分离株的效果研究[J]. 河南畜牧兽医,2008,29(3):5-7.
[3]刘高生,卢升云. 鸡球虫病的防治[J]. 中国家禽,2004,26(11):30-32.

胡路锋,刘贤侠,王少华,等. 应用 B 超辅助诊断奶牛临床子宫疾病[J]. 江苏农业科学,2013,41(12):229-234.

应用 B 超辅助诊断奶牛临床子宫疾病

胡路锋¹, 刘贤侠¹, 王少华², 姜志涛³, 高 树⁴, 杨 恒¹, 王建梅¹, 陈爱江³, 贡莎莎¹, 王汉魁¹

(1. 石河子大学动物科技学院, 新疆石河子 832003; 2. 北京东方联鸣科技发展有限公司, 北京 100085;

3. 新疆西部牧业股份有限公司, 新疆石河子 832000; 4. 新疆天康畜牧生物技术股份有限公司, 新疆乌鲁木齐 830032)

摘要:在调查病史、临床症状观察结合直肠检查的基础上,应用 B 超辅助诊断了奶牛临床子宫疾病,主要对奶牛临床子宫内膜炎、子宫蓄脓、子宫积液、子宫肿瘤、慢性子宫内膜炎黏膜增生进行了声像图的描述。结果表明,上述疾病的典型声像图可以应用于 B 超辅助诊断奶牛临床子宫疾病。

关键词:奶牛;B 超;子宫疾病;诊断;声像图

中图分类号: S858.237.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)12-0229-06

目前,制约奶牛场发展的瓶颈因素之一是奶牛的不孕症,该病是奶牛场的四大疾病之一,其中临床子宫疾病是引起不孕症发生的主要因素之一。常见的子宫疾病主要有子宫内膜炎、子宫积液、子宫蓄脓等,其中子宫内膜炎是奶牛子宫疾病中发病率最高、危害性最大的疾病^[1]。产后子宫感染对繁殖性能产生不利影响,且该病的发病率很高^[2-5]。在美国某些牧场 40% 以上产后奶牛因子宫感染接受治疗^[6];英国不孕牛中约 95% 是由子宫内膜炎引起^[7],Roche 等报道为 20% ~ 40% 由子宫内膜炎引起^[8]。Markusfeld 调查了以色列 7 个牧场 2 167 头引奶牛,平均发病率为 36.70%^[9]。加拿大产后 4 ~ 6 周母牛临床型子宫内膜炎的发病率为 15% ~ 20%,亚临床型子宫内膜炎的发病率可达 30% ~ 35%^[10]。我国奶牛子宫内膜炎发病率为 20% ~ 50%,奶牛不孕症中的 60% ~ 90% 是由子宫内膜炎引起^[11]。奶牛子宫内膜炎使情期受胎率降低、延长产犊间隔,增加治疗费用,严重制约着奶牛场的经济效益^[12-14]。目前,对奶牛临床子宫疾病的诊断主要是采用外部观察和直肠检查的方法,经常是在奶牛已表现临床症状后才

进行诊断,具有滞后性,并且受观察次数、时间及直肠检查的限制,诊断的准确率受影响。B 超诊断作为一个有效的手段,在一定程度上提高了奶牛不孕症的诊断准确率,也可以辅助诊断奶牛的子宫疾病。本研究是在临床观察、直肠检查奶牛的基础上应用 B 超对临床子宫疾病进行辅助诊断,以期研究建立奶牛临床子宫疾病的典型超声声像图图谱,为奶牛临床子宫疾病的辅助诊断提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试动物

于 2011 年 6 月至 2013 年 5 月期间在新疆西部牧业股份有限公司、克拉玛依绿成农业开发有限责任公司等地奶牛场,对奶牛场的繁殖、产犊、配种资料调查分析,找出不孕奶牛。以不孕奶牛作为初步筛查对象,按照文献[15-21]的方法剔除仅为卵巢疾病的奶牛,对初步判断为子宫疾病的奶牛作为供试材料。

1.2 仪器及药品

50s 型 Tringa Vet 兽用便携式 B 超仪 2 台,分别配备 3.5/5.0 MHz 变频凸阵探头和 5.0 ~ 7.5 MHz 变频线阵探头,荷兰 Piemed ICAL 公司生产,配备 Ni-MH 12 V 充电电池各 2 个,2215 型 NiCd/NiMH charger 各 1 个,另外有配套 50s Tringa communication software version 1.0 图像处理软件 ODTComm 和双向红外传输接口。耦合剂由天津市南开区华科医疗器械厂生产,规格 250 g。

收稿日期:2013-09-16

基金项目:国家科技支撑计划子课题(编号:2012BAD43B01);新疆生产建设兵团育种攻关计划子课题(编号:2011BA006)。

作者简介:胡路锋(1988—),男,硕士研究生,研究方向为动物生殖调控与产科疾病。E-mail:hulufeng1988@163.com。

通信作者:刘贤侠,副教授,主要从事兽医外产科学的教学和科研工作。E-mail:lx@shzu.edu.cn。

[4] Biggs P M. The world disease of poultry disease[J]. Avian Pathology, 1982, 11(2): 281-300.

[5] 李艳琴,王振海,秦建华,等. 鸡球虫病免疫防治研究进展[J]. 安徽农业科学,2008,36(13): 5438-5440.

[6] Bhogal B S, Miller G A, Anderson A C, et al. Potential of a recombinant antigen as a prophylactic vaccine for day-old broiler chickens against *Eimeria acervulina* and *Eimeria tenella* infections[J]. Veterinary Immunology and Immunopathology, 1992, 31(3/4): 323-335.

[7] 罗 强,张 薇,李立娜. 紫茎泽兰的生物入侵及利用现状[J]. 西昌农业高等专科学校学报,2004(2): 9-11.

[8] 孟秀祥,冯金朝,周宜君,等. 四川西南紫茎泽兰(*Eupatorium ade-*

nophorum)入侵生境因子分析[J]. 中央民族大学学报:自然科学版,2003,12(4): 293-295.

[9] 贺俊英,强 胜,宋小玲,等. 外来植物紫茎泽兰 18 个种群的茎叶形态结构比较研究[J]. 西北植物学报,2005,25(6): 1089-1095.

[10] 贾桂康,梁云贞. 紫茎泽兰对生态系统的危害和防除[J]. 广西植保,2005,18(1): 18-21.

[11] 李 丽,张无敌,尹 芳. 紫茎泽兰的各种利用研究[J]. 农业与技术,2007,27(4): 51-54.

[12] 许金俊. 动物寄生虫病学实验教程[M]. 南京:河海大学出版社,2007: 140-141.