

王秀琴,李颖康,马吉峰,等. 中药治疗人工感染猪弓形虫病试验[J]. 江苏农业科学,2015,43(4):222-224.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.04.081

# 中药治疗人工感染猪弓形虫病试验

王秀琴<sup>1</sup>,李颖康<sup>2</sup>,马吉峰<sup>2</sup>,梁小军<sup>2</sup>

(1. 宁夏农林科学院,宁夏银川 750002; 2. 宁夏农业科学院草畜工程技术研究中心,宁夏银川 750002)

**摘要:**为寻求抗弓形虫病特效药,进行了人工感染猪弓形虫病治疗和生物回归试验研究,结果表明,中药 AT<sub>10</sub>、混合制剂 AT<sub>10+20</sub>对弓形虫滋养体具有 100% 杀灭作用,对包裹分别有 100% 和 98.04% 杀灭作用,中药 AT<sub>20</sub>对滋养体有 95% 杀灭作用,对包裹无效,打破了传统西药治疗弓形虫病药只对滋养体有效而对包裹无效的结论。

**关键词:**中药;治疗;猪弓形虫病;生物回归试验

**中图分类号:**S855.99      **文献标志码:**A      **文章编号:**1002-1302(2015)04-0222-02

弓形虫病是由弓形虫(*Toxoplasma gondii*)引起的一种人畜共患原虫病,人类通过接触终末宿主猫科动物和食入寄生弓形虫包裹的猪、羊、鸡等产品而感染<sup>[1-2]</sup>。人感染弓形虫病可导致孕妇流产、死胎和新生儿先天性弓形虫病等。弓形虫病是严重影响人类健康及畜牧业发展的人畜共患寄生虫病之一<sup>[3-4]</sup>。对弓形虫病的治疗,多年来一直采用螺旋霉素和磺胺类药物,这些药品仅对滋养体有效,对包裹无效<sup>[5-6]</sup>。为了寻求既能杀灭滋养体又对包裹有特效的抗弓形虫药物,我们对人工感染猪弓形虫病进行了治疗试验。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

1.1.1 弓形虫强毒株 试验用标准强毒虫株 CN,引自中国农业科学院兰州兽医研究所。

1.1.2 试验药物 试验用抗弓形虫中药及混合制剂 AT<sub>10</sub>(AT:Anti-Toxoplasma 的缩写,下同),AT<sub>20</sub>、AT<sub>10+20</sub>混合制剂,由宁夏中药研究所研制。

1.1.3 试验动物 45 d 健康猪,由宁夏贺兰县农牧局提供;小白鼠,体质量(20±2) g,购自宁夏自治区药品检验所。

### 1.2 试验方法

1.2.1 药物安全性试验<sup>[7]</sup> 注射药物后 1 h 内和 2、4、8 h 观察试验猪临床反应多次。停药后每日上午下午各观察 1 次,连续观察 3 d。无任何临床反应为安全,有一定临床反应,但在短期内耐过为基本安全,临床反应重,甚至部分猪死亡,或较长时间方能耐过为不安全。

1.2.2 药物治疗试验<sup>[8]</sup> 弓形虫 CN 强毒株,采用腹腔注射攻毒试验。试验动物小白鼠,垂直传递 3 代以上,抽取小白鼠腹腔液,用生理盐水稀释,每头试验猪腹腔注射 3 000 万~3 750 万个弓形虫滋养体。对照组又分强毒对照:每批试验共设 1 组,每组 1 头;药物对照:每种药物设 1 头;健康对照:每

批试验共设 1 组,每组 1 头。治疗组按不同药物分别分为大、中、小剂量组。

1.2.3 生物回归试验 分别于攻毒后 7、14 d,在 AT<sub>10</sub>、AT<sub>20</sub>、AT<sub>10+20</sub> 3 组中各随机抽样检查经药效判定认为对弓形虫滋养体有效的猪 1 头(共 6 头)剖杀,取腹水、脑、肝、脾、肠淋巴结、膈肌,按病原分离程序和方法,分别接种健鼠 3 只(肝、脾、淋、膈混合为 1 组),并分别于 7、14 d 盲传 1 代,传递 3 代,分别测算各生物回归试验组鼠的阳性率。

1.2.4 临床检查<sup>[9]</sup> 每天测温 2 次(上午体温超过 40 ℃,下午超过 40.5 ℃即认为升温,并以此统计稽留期),脉搏、呼吸、心、肺、眼结膜、鼻、胃肠、食欲、粪尿、体表淋巴结和精神、行动等常规观察与检查 1 次,检查期 30 d。分别统计体温稽留小时数,并采用 *t* 测定法进行均数差异显著性分析,比较各组与强毒对照组的差异性。

1.2.5 荷虫量检查<sup>[10]</sup> 分别在投药前和临床检查结束时抽取腹水,以压片镜检法观察虫体形态、运动和活力。以白细胞计数法计算荷虫量,计算减少率。并采用  $\chi^2$  测定法进行差异显著性分析,比较各组与强毒对照的差异性。

减少率 =  $(1 - \frac{\text{投药后荷虫数}}{\text{投药前荷虫数}}) \times 100\%$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 药物安全性试验

通过 45 头猪的药物安全性观察,获得不同药物的安全有效剂量,结果见表 1。

表 1 试验药物安全剂量

试验药物	大剂量		中剂量		小剂量	
	剂量 (mg/kg)	试验猪数 (头)	剂量 (mg/kg)	试验猪数 (头)	剂量 (mg/kg)	试验猪数 (头)
AT <sub>10</sub>	2.50	10	0.25	3	0.05	2
AT <sub>20</sub>	50.0	10	2.50	3	0.50	2
AT <sub>10+20</sub>	2.50+25.0	10	0.25+2.50	3	0.05+0.50	2

AT<sub>10</sub>以大剂量腹腔注射试验猪后,15 min 内出现口涎增多、扭腰、步履蹒跚、精神迟滞等毒副反应。30 min 左右明显缓解,1 h 左右基本恢复正常。注射第 2、第 3 剂后都曾出现类似反应,但未再加剧。在正式治疗试验中也未出现严重药

收稿日期:2014-06-05

基金项目:宁夏农林科学院科技创新先导资金(编号:nkyj-14-20)  
作者简介:王秀琴(1964—),女,宁夏平罗人,副研究员,主要从事动物疾病预防及诊断研究。E-mail:nxnkyw@163.com。

通信作者:梁小军,研究员,主要从事家畜繁殖育种和健康养殖方面的研究与示范。E-mail:Lxj0520@163.com。

物毒副反应,基本安全。以中剂量腹腔注射试验猪后均未见异常反应,安全性能良好。以 7.5 mg/kg 大剂量腹腔注射试验猪后 15 min 出现严重毒副反应,口吐大量白色泡沫,扭腰伸颈,后肢伸直,站立不稳,行走困难,频频起卧,肌肉震颤,精神沉郁。2 h 后逐渐缓解,4~8 h 基本恢复。注射第 2 剂后 15 min 内出现上述症状,并逐渐加剧,其中 1 头注第 2 剂后 25 min 死亡,另 1 头注第 2 剂后 8 h 基本恢复。注第 3 剂后仍出现类似症状,8 h 左右基本康复。

AT<sub>20</sub>以大剂量腹腔注射试验猪后,15 min 内出现呕吐、伸腰、行走不稳等反应。1 h 左右开始缓解,2 h 基本恢复,注射第 2、第 3 剂曾出现过类似反应,但未见加剧。在正式试验中均未出现严重药物毒副反应,基本安全。以中剂量腹腔注射仔猪后,均未见任何异常反应,安全性能良好。

AT<sub>10+20</sub>以大剂量腹腔注射试验猪后,15 min 内出现口涎增多、呕吐、扭腰、步履蹒跚、精神迟滞等毒副反应,15 min 后毒副反应逐渐缓解,2 h 左右基本恢复正常。注射第 2、第 3 剂后,都曾出现过类似反应,但未见加剧,似无蓄积现象。以中、小剂量腹腔注射试验猪,均未见异常反应,安全性能良好。

2.2 药物治疗试验

根据药效判定标准认为以 AT<sub>10</sub>0.25~2.5 mg/kg 治疗猪弓形虫病,对滋养体杀灭率为 100%;以 AT<sub>10</sub>0.05 mg/kg 治疗猪弓形虫病,对滋养体杀灭率为 95.23%。

根据药效判定标准认为以 AT<sub>20</sub>0.5~50 mg/kg 治疗猪弓形虫病,对滋养体杀灭率达到 95% 左右。

根据药效判定标准认为以 AT<sub>10+20</sub>的 0.05~2.5+0.5~25 mg/kg 治疗猪弓形虫病,对滋养体杀灭率为 100%(表 2)。

表 2 不同药物治疗效果比较

试验药物	组别	荷虫量(mm <sup>3</sup> )					体温		
		治疗前虫数 (头)	治疗后		差异显著性		稽留时间 (h)	差异显著性	
			虫数(头)	减少率(%)	χ <sup>2</sup> 值	结果		t 值	结果
AT <sub>10</sub>	大剂量	10 730	0	100	333.37	P<0.01	44.4	6.860	P<0.01
	中剂量	10 634	0	100	330.37	P<0.01	68.0	4.698	P<0.01
	小剂量	10 600	506	95.23	282.44	P<0.01	84.0	7.639	P<0.01
	强毒对照	11 254	12 100				123.27		
AT <sub>20</sub>	大剂量	9 954	512	94.85	256.06	P<0.01	44.4	21.814	P<0.01
	中剂量	10 400	500	95.19	276.92	P<0.01	68.0	3.188	P<0.01
	小剂量	10 900	511	95.31	283.58	P<0.01	84.0	2.276	P<0.01
	强毒对照	11 254	12 100				123.27		
AT <sub>10+20</sub>	大剂量	11 260	0	100	349.84	P<0.01	2.40	21.303	P<0.01
	中剂量	11 534	0	100	356.84	P<0.01	36.0	6.475	P<0.01
	小剂量	10 800	0	100	335.51	P<0.01	60.0	2.578	P<0.05
	强毒对照	11 254	12 100				123.27		

2.3 生物回归试验

由表 3 可知,AT<sub>10</sub>、AT<sub>10+20</sub>对包囊有效,对包囊的杀灭率分别达到 100%、98.04%。AT<sub>20</sub>对包囊无效。强毒攻击后自

然耐过猪剖杀取材回归小白鼠,结果表明,第 1 代鼠 100% 典型发病并在 7 d 内死亡。

表 3 生物回归试验阳性率结果比较

组别	回归试验小鼠阳性率(%)								总阳性率
	7 d 组				14 d 组				
	腹水	脑	肝、脾、淋、膈	平均	腹水	脑	肝、脾、淋、膈	平均	
AT <sub>10</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AT <sub>20</sub>	35.71	35.71	30.77	33.33	83.33	25.00	29.17	41.67	37.25
AT <sub>10+20</sub>	0	0	0	0	8.33	8.33	0	4.16	1.96
强毒对照	100	100	100	100					

3 结论与讨论

治疗弓形虫病的理想药物应能阻止感染和预防包囊形成,如已形成包囊则应破坏它或使包囊内的虫体死亡<sup>[11-12]</sup>。本试验用 5 种中药对人工感染猪弓形虫病进行治疗试验,通过治疗结果比较,筛选出 3 种治疗弓形虫病的新特效药 AT<sub>10</sub>、AT<sub>20</sub>、AT<sub>10+20</sub>,其中 AT<sub>10</sub>和 AT<sub>10+20</sub>对弓形虫体滋养体和包囊均有强大的杀灭作用,AT<sub>20</sub>仅对弓形虫滋养体有效。AT<sub>10</sub>、AT<sub>20</sub>均系中药制剂,药源广、成本低、用量少、疗效高,相关药理机制还有待进一步研究。

参考文献:

[1]姜淑芳,王 珊,杜云静. 我国弓形虫病研究新进展[J]. 实用寄

生虫病杂志,2002,10(1):37-39.  
[2]孙志伟,王明道. 弓形虫病化疗药物的研究进展[J]. 中国寄生虫病防治杂志,1996,9(3):222-223.  
[3]刘九生,陈恩辉. 仔猪急性腹泻型弓形体病的治疗[J]. 四川畜牧兽医,1996(4):42-43.  
[4]吕元聪. 治疗弓形虫病的几种新药物[J]. 右江医学,1999,27(4):224-227.  
[5]舒衡平,蒋立平,刘 多. 几种广谱抗生素抗小鼠急性弓形虫病的效果观察[J]. 中国人兽共患病杂志,2000,16(1):59-60.  
[6]甘绍伯. 弓形虫病的治疗[J]. 中国抗感染化疗杂志,2001,1(2):118-120.  
[7]Derouin F,Chastang C. In vitro effects of folate inhibitors on *Toxoplasma gondii*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1989,33(10):1753-1759.

李迎晓, 安 辉, 焦凤超, 等. 鸭大肠杆菌与沙门氏菌混合感染的分离鉴定及药敏试验[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(4): 224–225.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.04.082

# 鸭大肠杆菌与沙门氏菌混合感染的分离鉴定及药敏试验

李迎晓<sup>1</sup>, 安 辉<sup>2</sup>, 焦凤超<sup>1</sup>, 陈宏智<sup>1</sup>

(1. 信阳农林学院动物科学系, 河南信阳 464000; 2. 河南省信阳市畜牧工作站, 河南信阳 464000)

**摘要:** 利用细菌分离、生化鉴定及药敏试验方法, 从河南省信阳市鸭场病死鸭脑、脾脏中分离出鸭大肠杆菌和鼠伤寒沙门氏菌各 1 株。药敏试验结果显示, 分离菌对头孢曲松、黏杆菌素、左旋氧氟沙星、恩诺沙星、新霉素高度敏感; 对磺胺甲基异恶唑、洁霉素、强力霉素耐药。

**关键词:** 鸭; 大肠杆菌; 沙门氏菌; 分离鉴定; 药敏试验; 人工感染试验

**中图分类号:** S858.32 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)04-0224-02

鸭大肠杆菌病是由某些致病性大肠杆菌引起的较为常见的细菌性疾病。各种年龄的鸭均可感染鸭大肠杆菌病, 雏鸭最易感, 2~6 周龄多发, 发病率和死亡率较高, 在商品肉鸭中死亡率可高达 50% 左右, 成年鸭和种鸭则出现零星死亡现象<sup>[1]</sup>。鸭沙门氏菌病别称鸭副伤寒, 是由鼠伤寒等几种沙门氏菌所引起的疾病总称, 属一种急性和慢性传染病, 主要引起雏鸭发病, 常呈地方性流行, 并可引起大批死亡<sup>[2]</sup>。2014 年 3 月, 养殖户送检的表现为神经症状、腹泻、脾脏坏死的 10 日龄病死雏鸭, 经细菌分离培养、生化试验和致病性试验确定为鸭大肠杆菌与鼠伤寒沙门氏菌混合感染, 本研究将对混合感染的菌株进行鉴定, 并对其进行药敏性试验。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

大肠杆菌标准菌株 ATCC25922、肠杆菌科生化鉴定管、药敏片、营养琼脂、营养肉汤、伊红美蓝琼脂、三糖铁琼脂和麦康凯琼脂培养基购自浙江省杭州市天和微生物试剂有限公司; 鲜血平板为在营养琼脂基础上加入 5% 无菌羊血配制而成; 试验所用的 7 日龄健康非免疫樱桃谷肉雏鸭购自河南华英集团公司。

### 1.2 试验方法

1.2.1 尸体剖检 对病死鸭进行尸体剖检, 记录眼观病理变化, 无菌采集脑、脾脏、肝脏、心脏病料, -20℃ 保存备用。

1.2.2 细菌分离培养 在无菌条件下取病死雏鸭脑、脾脏病料并接种于鲜血平板和麦康凯平板上, 再分别置于普通培养箱和烛缸中, 37℃ 培养 24 h, 革兰氏染色和瑞氏染色后镜检;

然后挑取单菌落接种于伊红美蓝琼脂平板、三糖铁琼脂斜面上, 37℃ 培养 20 h, 革兰氏染色后镜检。

1.2.3 生化试验 按肠杆菌科细菌生化鉴定管使用说明进行。

1.2.4 药敏试验 采用纸片扩散法(K-B 法)进行<sup>[3]</sup>, 以大肠杆菌标准菌株 ATCC25922 为质控菌, 取适量被检细菌的培养物, 均匀涂布于营养琼脂表面, 待菌液吸收后, 贴上药敏纸片, 37℃ 培养 18 h, 观察结果, 并用游标卡尺测量抑菌圈直径, 根据抑菌圈直径判定细菌对药物的敏感性。

1.2.5 人工感染试验 挑取分离菌株纯培养物并接种于普通肉汤, 37℃ 振荡培养 18 h, 染色镜检后 4℃ 保存备用。取未免疫过疫苗的 7 日龄健康樱桃谷鸭作为试验对象(每组 10 羽, 共 30 羽)。试验组接种 0.5 mL/羽分离菌纯培养物, 含菌数约为 1.0 亿 CFU, 第 3 组为对照组, 接种等量的生理盐水。接种后观察 10 d, 记录发病和死亡情况。

## 2 结果与分析

### 2.1 病理剖检结果

病死雏鸭外观消瘦, 被毛粗乱, 主要表现为脾脏肿大、坏死, 肝脏肿大、瘀血, 部分病死雏鸭有轻微的肝周炎, 脑膜充血。卵黄吸收不良, 十二指肠、直肠黏膜充血。

### 2.2 细菌分离鉴定

从病死鸭脑和脾脏中分离出 2 株细菌, 其中 1 株在麦康凯琼脂上形成红色、圆形、隆起、光滑湿润、边缘整齐的中大小菌落; 三糖铁琼脂斜面培养基底层变黄, 斜面变黄, 同时产酸、产气; 在伊红美蓝琼脂上形成黑色、具有金属光泽的菌落; 生化鉴定分离菌可引起葡萄糖产酸、产气; 靛基质、甲基红、动力、产气、赖氨酸、鸟氨酸、棉子糖、山梨醇、木胶糖阳性, 硫化氢、枸橼酸盐、苯丙氨酸、葡萄糖酸盐、尿素、侧金盏花醇阴性, 对照《肠杆菌科细菌生化鉴定编码册》判定为大肠杆菌。另 1

收稿日期: 2014-06-04

基金项目: 河南省科技攻关项目(编号: 122102110022)。

作者简介: 李迎晓(1981—), 女, 河南洛阳人, 硕士, 讲师, 从事病原微生物与免疫学研究。E-mail: liyingxiao81@163.com。

[8] 于恩庶. 弓形虫病学[M]. 福州: 福建科学技术出版社, 1992: 3-6.

[9] 肖 达. 氯苯胍对体外弓形虫的作用[J]. 中国人兽共患病杂志, 1991, 7(5): 64.

[10] Moreno S N, Li Z H. Anti-infectives targeting the isoprenoid pathway of *Toxoplasma gondii*[J]. Expert Opin Ther Targets, 2008, 12

(3): 253-263.

[11] 宋贤明, 万红娇, 杨翠萍. 中药抗弓形虫感染的研究思路与方法[J]. 江西中医学院学报, 2006, 18(1): 76-78.

[12] 游运辉, 欧阳颖, 向选东. 用蒿甲醚治疗实验小鼠急性弓形虫感染的研究[J]. 中国现代医学杂志, 2000, 10(6): 35-36.