

柔嫩艾美耳球虫田间分离株对地克珠利和盐霉素的耐药性检测

徐向东¹, 吴文君^{1,2}, 蔡为民¹, 李文静¹, 程振扬¹, 刘丹丹¹, 许金俊¹, 李金贵¹, 陶建平^{1*} (1.扬州大学兽医学院/江苏省动物重要疫病与人兽共患病防控协同创新中心, 江苏扬州 225009; 2.江苏省如东县岔河畜牧兽医站, 江苏南通 226432)

摘要 采用鸡体试验法, 利用相对卵囊产量(ROP)、病变记分减少率(RLS)、最适抗球虫百分数(POAA)和抗球虫指数(ACI)4项指标, 测定了2株分离自如东县养殖场的柔嫩艾美耳球虫对地克珠利和盐霉素的耐药性。结果显示, 2株分离株对地克珠利无耐药性或轻度耐药, 对盐霉素均完全耐药。建议如东县养鸡场停用盐霉素, 将地克珠利列入抗鸡球虫病药物方案中。

关键词 柔嫩艾美耳球虫; 田间分离株; 耐药性; 检测

中图分类号 S855.9 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2021)12-0080-04

doi:10.3969/j.issn.0517-6611.2021.12.021

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Drug Resistance Detection of Field Isolates of *Eimeria tenella* to Diclazuril and Salinomycin

XU Xiang-dong¹, WU Wen-jun^{1,2}, CAI Wei-min¹ et al (1.Jiangsu Co-innovation Center for Prevention and Control of Important Animal Infectious Diseases and Zoonoses/College of Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009; 2.Chahe Animal Husbandry and Veterinary Station of Rudong County, Nantong, Jiangsu 226432)

Abstract Selecting four indices of the relative oocyst production (ROP), the reduction of lesion scores (RLS), the percent of optimum anti-coccidial activity (POAA) and anticoccidial index (ACI), the body-testing method was used to detect the resistance of two field isolates of *Eimeria tenella* collected from a farm in Rudong County to diclazuril and salinomycin. The results revealed that the two isolates showed no or mild resistance to diclazuril, and resistance to salinomycin. It was suggested that salinomycin should be withdrawn, and diclazuril could be used in the anti-coccidiosis drug plan in the farm of Rudong County.

Key words *Eimeria tenella*; Field isolate; Drug resistance; Detection

鸡球虫病是由一种或多种艾美耳球虫寄生于鸡消化道引起的一种寄生虫病, 死亡率20%~30%, 严重时高达80%, 病愈的雏鸡生长受阻, 给养鸡业造成巨大的经济损失^[1-3]。长期以来, 鸡球虫病主要采用化学药物进行防治, 并获得了很好的经济效益, 但药物的长期使用不可避免地导致耐药虫株的产生。迄今为止, 鸡球虫几乎对所有药物均出现不同程度的耐药性, 且对同类或作用机理相同的药物产生一定程度的交叉耐药性^[4-7]。球虫的耐药性使药物的防治效果降低甚至失效, 有时即使增加药物浓度, 防治效果仍然不佳, 导致临床或亚临床球虫病的发生。增加用药剂量或延长用药时间可造成药物残留肉蛋, 影响食品安全。江苏省如东县是农业与养殖业大县, 据统计2018年全年家禽出栏2430.72万羽, 其中草三黄、青脚鸡、狼山鸡等本土品种鸡的饲养量占约50%, 家禽规模养殖占99.28%以上, 但饲养管理水平总体不高, 再加上如东县属于北亚热带海洋性季风气候区, 气候温和、雨水充沛、空气相对湿度大, 这有利于鸡球虫病的流行, 故鸡球虫病时有发生, 给养鸡业带来很大的危害。为了解如东县养鸡场鸡球虫耐药性的发生情况, 笔者对分离自2个鸡场的柔嫩艾美耳球虫(*Eimeria tenella*)进行了耐药性检测, 旨在指导生产中合理用药和正确选择抗球虫药提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物 黄羽肉鸡购自江苏京海禽业集团有限公司,

基金项目 国家重点研发计划项目(2018YFD0500302); 江苏省高校优势学科建设工程项目。

作者简介 徐向东(1992—), 女, 江苏连云港人, 硕士研究生, 研究方向: 鸡球虫病研究。吴文君(1986—), 女, 江苏如东人, 硕士研究生, 研究方向: 动物疫病检测与防疫。徐向东与吴文君为共同第一作者。*通信作者, 教授, 从事兽医寄生虫病及其防治技术研究。

收稿日期 2020-11-05

出壳后即运回实验室, 饲养在严格消毒的铁丝笼中, 饲喂不含抗球虫药物的全价饲料。试验前用饱和盐水漂浮法检查, 确认无球虫感染后用于试验。

1.2 试验虫株 2株柔嫩艾美耳球虫田间分离株, 分离自江苏如东县2个养鸡场。球虫分离与种类鉴定过程如下: 按照常规方法从鸡场分离卵囊, 卵囊经孢子化培养后感染雏鸡, 第8天从感染鸡盲肠黏膜中分离卵囊, 并培养至孢子化卵囊; 孢子化卵囊再经单卵囊接种雏鸡^[8], 获得柔嫩艾美耳球虫纯种株。试验前按照常规方法扩增卵囊, 孢子化后置于4℃冰箱中保存备用。

1.3 试验药物与给药途径 12.96%盐霉素钠预混剂, 购自内蒙古拜克生物有限公司, 批号为201705018, 按 65×10^{-6} 的剂量混饲7d。地克珠利溶液, 购自齐鲁动物保健品有限公司, 批号为1704003, 按 1×10^{-6} 的剂量饮水7d。

1.4 试验分组 25日龄黄羽肉鸡逐只称重、编号, 选择体重相近的雏鸡110羽, 分成11个组, 每组10只鸡。每个虫株设置5个组, 即4个药物试验组(每种药物有1组重复)、1个感染不给药组(阳性对照组)、1个不感染不给药组(2个虫株的共同阴性对照组)。除了阴性对照组外, 其余各试验组每只鸡经喷雾接种 8×10^4 个孢子化卵囊。

1.5 临床观察与卵囊计数 感染后每天观察鸡的精神状态、饮食、饮水和粪便情况, 记录血便排出情况, 并参照 Morehouse 等^[9]的标准进行血便记分。在试验过程中死亡的鸡, 要及时剖检, 以确定是否死于鸡球虫病。感染后第8天, 将全部试验鸡称重并剖杀, 取盲肠观察肠道病变, 参照 Johnson 等^[10]的方法进行肠道病变记分。从第5天起, 每天收集各组鸡排出的全部粪便, 采用麦克马斯特氏法计数卵囊。第8天取盲肠内容物与肠黏膜, 用胃蛋白酶消化后收集卵囊, 用麦

克马斯特氏法计数卵囊。将盲肠中卵囊数与该试验组第 5~8 天粪中卵囊数相加,即得到卵囊总产量,然后求出每组每只鸡平均卵囊数。

1.6 耐药性判定方法与标准 参照黄兵等^[11]的方法,以最适抗球虫百分数(percent of optimum anticoccidial activity, POAA)、相对卵囊产量(relative oocyst production, ROP)、病变记分减少率(reduction of lesion scores, RLS)和抗球虫指数(anticoccidial index, ACI)4 项指标综合判定不同虫株对药物的耐药程度。POAA > 50% 为阴性, POAA ≤ 50% 为阳性; ROP ≥ 15% 为阳性, ROP < 15% 为阴性; RLS ≥ 50% 为阴性, RLS < 50% 为阳性; ACI ≥ 160 为阴性, ACI < 160 为阳性。4 项指标全部为阴性则判定为无耐药性,1 项指标为阳性则判定为轻度耐药,2 项指标为阳性则判定为中度耐药,3~4 项指标为阳性则判定为完全耐药。各项指标计算公式如下:

$$POAA = (\text{感染给药组 GSR} - \text{感染不给药组 GSR}) \div (\text{不感染不给药组 GSR} - \text{感染不给药组 GSR}) \times 100\% \quad (1)$$

$$GSR = \text{笼末重} \div \text{笼初重} \quad (2)$$

$$ROP = \text{感染给药组平均卵囊产量} \div \text{感染不给药组} \times 100\% \quad (3)$$

$$RLS = (\text{感染不给药组平均病变记分} - \text{感染给药组平均病变记分}) \div \text{感染不给药组平均病变记分} \times 100\% \quad (4)$$

$$ACI = (\text{存活率} + \text{相对增重率}) - (\text{病变值} + \text{卵囊值}) \quad [12] \quad (5)$$

式中,存活率 = (存活鸡数 ÷ 开始鸡数) × 100%; 相对增重率 = (用药组或感染不给药组鸡的平均增重 ÷ 不感染不给药组鸡的平均增重) × 100%。病变值 = 每组的平均盲肠病变记分 × 10。卵囊值按角田清^[13]的方法计算,即当 ROP 为 0~1% 时,卵囊值为 0; 当 ROP 为 1%~25% 时,卵囊值为 5; 当 ROP 为 26%~50% 时,卵囊值为 10; 当 ROP 为 51%~75% 时,卵囊值

为 20; 当 ROP 为 76%~100% 时,卵囊值为 40。

1.7 数据统计与分析 使用 SPSS 23.0 软件对试验数据进行描述性统计分析,并用邓肯氏新复极差法对组间平均值进行多重比较 ($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 临床观察与成活率 地克珠利给药组排出血便数最少,血便记分为 0 (分离株 1)、0.3 和 1.0 分 (分离株 2),鸡未发生死亡。盐霉素给药组排出血便数较多,血便记分为 3.3、3.6 分 (分离株 1)、4.0 分 (分离株 2),分离株 1 有 1 组死亡鸡 1 只,分离株 2 分别死亡 1 只和 2 只。感染不给药组排出血便数最多,血便记分为 4.0 分,分离株 2 死亡 3 只鸡。在整个试验期间,不感染不给药组鸡均正常,试验结束时粪检未见卵囊。

2.2 平均增重与最适抗球虫百分数 各组的平均增重与最适抗球虫百分数见表 1。由表 1 可知,各地克珠利组的平均增重与不感染不给药对照组相比差异不显著 ($P > 0.05$),各盐霉素组的平均增重与不感染不给药对照组相比差异显著 ($P < 0.05$),与感染不给药组相比差异不显著 ($P > 0.05$)。各地克珠利组的最适抗球虫百分数均大于 50%,各盐霉素组的最适抗球虫百分数均小于 50%。

2.3 病变记分减少率与相对卵囊产量 各组平均病变记分与病变记分减少率见表 2。由表 2 可知,各地克珠利组的平均病变记分显著低于感染不给药对照组 ($P < 0.05$),各盐霉素组的平均病变记分与感染不给药对照组差异不显著 ($P > 0.05$)。各地克珠利组的病变记分减少率均大于 50%,各盐霉素组的病变记分减少率均小于 50%。各盐霉素组相对卵囊产量均在 60% 以上,均达耐药指标。各地克珠利组的相对卵囊产量,除了虫株 2 有一个组为 17.5%,其余均小于 15%,均为药物敏感。

表 1 各组鸡的增重与最适抗球虫百分数的比较

Table 1 The comparison of weight gain of chicken and the percent of optimum anticoccidial activity in each group

虫株 Strain	组别 Group	平均初重 Average initial weight // g	平均末重 Average final weight // g	平均增重 Average weight gain // g	相对增重率 Relative weight gain rate // %	最适抗球虫百分数 Percent of optimum anticoccidial activity // %
分离株 1 Isolate 1	地克珠利-1	380.7	652.2	270.5 ± 13.3 a	93.4	67.7
	地克珠利-2	381.1	629.9	265.9 ± 18.9 a	92.9	61.3
	盐霉素-1	381.8	657.4	216.6 ± 27.2 ab	85.9	19.4
	盐霉素-2	381.5	612.1	210.6 ± 29.0 ab	85.0	16.1
	感染不给药	381.1	607.9	193.8 ± 10.0 b	82.5	—
分离株 2 Isolate 2	地克珠利-1	380.9	495.8	239.9 ± 14.9 a	89.1	58.7
	地克珠利-2	380.9	519.8	230.9 ± 15.0 a	87.8	52.2
	盐霉素-1	381.3	542.8	150.5 ± 20.4 b	76.3	6.5
	盐霉素-2	381.6	534.8	153.2 ± 36.7 b	76.8	8.7
	感染不给药	381.2	556.0	138.8 ± 13.3 b	74.6	—
	不感染不给药组	383.3	668.7	285.4 ± 22.4 a	100.0	—

注:同一分离株各组间标有不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

Note: Different lowercase letters marked in different groups of the same isolate indicated significant differences ($P < 0.05$)

2.4 抗球虫指数 各试验组的抗球虫指数见表 3。由表 3 可知,分离株 1 地克珠利组抗球虫指数均大于 180,属于抗球虫高效水平;分离株 2 的地克珠利组抗球虫指数均大于 170,

属于抗球虫中效水平。分离株 1 的盐霉素组抗球虫指数均大于 120,但小于 160,属于抗球虫低效水平;分离株 2 的盐霉素组抗球虫指数均小于 120,属于抗球虫无效水平。

表2 各组鸡的病变记分减少率与相对卵囊产量的比较

Table 2 The comparison of the reduction of lesion scores and relative oocyst production of chicken in each group

虫株 Strain	组别 Group	平均病变记分 Average lesion score	病变值 Lesion value	病变记分减少率 Reduction of lesion scores//%	平均卵囊产量 Average oocyst production// $\times 10^7$	相对卵囊产量 Relative oocyst production//%	卵囊值 Oocyst value
分离株 1 Isolate 1	地克珠利-1	0.00±0.00 b	0	100	2.20	5.4	5
	地克珠利-2	0.00±0.00 b	0	100	2.50	6.2	5
	盐霉素-1	2.70±0.20 a	27.0	0.10	26.70	65.9	20
	盐霉素-2	2.80±0.17 a	28.0	0.07	26.20	64.7	20
	感染不给药	3.00±0.25 a	30.0	—	40.50	—	40
分离株 2 Isolate 2	地克珠利-1	0.75±0.32 b	7.5	78.30	4.50	17.5	5
	地克珠利-2	0.40±0.19 b	4.0	88.40	3.80	14.8	5
	盐霉素-1	3.30±0.20 a	33.0	0.06	17.90	69.6	20
	盐霉素-2	3.40±0.19 a	34.0	0.03	16.30	63.4	20
	感染不给药	3.50±0.15 a	35.0	—	25.70	—	40
不感染不给药组		0.00±0.00 b	0	100	0.00	0.0	0

注:同一分离株各组间标有不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)Note: Different lowercase letters marked in different groups of the same isolate indicated significant differences ($P<0.05$)

表3 各试验组抗球虫指数的比较

Table 3 Anticoccidial index comparison among different groups

虫株 Strain	组别 Group	存活率 Survival rate//%	相对增重率 Relative weight gain rate//%	病变值 Lesion value	卵囊值 Oocyst value	抗球虫指数 Anticoccidial index(AIC)
分离株 1 Isolate 1	地克珠利-1	100	93.5	0	5	188.5
	地克珠利-2	100	92.9	0	5	187.9
	盐霉素-1	100	85.9	26.5	20	139.4
	盐霉素-2	90	85.0	27.5	20	127.5
	感染不给药	100	82.5	30.0	40	132.5
分离株 2 Isolate 2	地克珠利-1	100	89.1	7.5	5	176.6
	地克珠利-2	100	87.8	4.0	5	178.8
	盐霉素-1	90	76.3	33.5	20	112.8
	盐霉素-2	80	76.8	34.0	20	102.8
	感染不给药	70	74.6	34.5	40	70.1
不感染不给药组		100	100	0	0	200.0

2.5 耐药性判定结果 2株柔嫩艾美耳球虫田间分离株对地克珠利和盐霉素的耐药性见表4。从POP、RLS、POAA、ACI这4个指标进行综合评价,2株分离株对盐霉素均完全

耐药,而分离株1对地克珠利无耐药性,分离株2对地克珠利无耐药性或轻度耐药。

表4 耐药性判定结果

Table 4 The judgement results of drug resistance test

虫株 Strain	组别 Group	判定指标 Judgment indices								综合判定 结果 Compre- hensive judgment result
		ROP %	结果判定 Result judgement	RLS %	结果判定 Result judgement	POAA %	结果判定 Result judgement	ACI	结果判定 Result judgement	
分离株 1 Isolate 1	地克珠利-1	5.4	-	100	-	67.7	-	188.5	-	无耐药性
	地克珠利-2	6.2	-	100	-	61.3	-	187.9	-	无耐药性
	盐霉素-1	65.9	+	0.10	+	19.4	+	150.1	+	完全耐药
分离株 2 Isolate 2	盐霉素-2	64.7	+	0.07	+	16.1	+	123.3	+	完全耐药
	地克珠利-1	17.5	+	78.30	-	58.7	-	176.6	-	轻度耐药
	地克珠利-2	14.8	-	88.40	-	52.2	-	178.8	-	无耐药性
	盐霉素-1	69.6	+	0.06	+	6.5	+	73.1	+	完全耐药
	盐霉素-2	63.4	+	0.03	+	8.7	+	79.7	+	完全耐药

3 讨论

目前报道的鸡球虫耐药性检测方法有鸡体实验法、细胞和鸡胚培养法、超微结构比较法、同工酶分析测定法、聚丙烯

酰胺电泳技术、RAPD测定法和PCR技术等^[14]。在现场或鸡场检测鸡球虫的耐药性一般用鸡体实验法,即将试验药物按规定剂量混饲或饮水饲喂一定日龄的雏鸡,当天或一定时

间后接种从现场分离的球虫,最后通过某些指标,比如粪便记分、饲料转化率、死亡率、卵囊产量或相对卵囊产量(ROP)、病变记分或病变记分减少率(RLS)、增重或最适抗球虫活性百分率(POAA)、抗球虫指数(ACI)等判定球虫的耐药性,或者以 POAA、ROP、RLS 3 个指标或 POAA、ROP、RLS、ACI 4 个指标进行综合评定^[6,11,15-16]。陈兆国等^[16]对 POAA、ROP、RLS 和 ACI 4 项球虫抗药性判定指标的准确性进行了评价,发现 ACI 准确性最好,ROP 和 RLS 准确性较低,POAA 准确性又高于 RLS 和 ROP,认为采用 4 项指标进行综合判断比较科学。该研究采用 POAA、ROP、RLS 和 ACI 4 项指标进行综合判断。

自从 20 世纪 40 年代发现磺胺能治疗鸡球虫病以来,药物防治成为鸡球虫病的主要防控措施^[17]。目前在临床上使用的抗球虫药有数十种,主要包括化学合成类和离子载体抗生素类^[18]。地克珠利是在 1986 年由比利杨森制药厂研制的一种化学合成类抗球虫药,对柔嫩艾美耳球虫、毒害艾美耳球虫、堆型等艾美耳球虫均有效。地克珠利对球虫的作用峰期随球虫的不同而异,对柔嫩艾美耳球虫的无性生殖和有性生殖期都有作用,能抑制第一代和第二代裂殖生殖,抑制大、小配子间的受精作用,还能抑制卵囊壁的形成。地克珠利在我国于 20 世纪末就已成功合成,并在全国推广使用^[19]。地克珠利的耐药性在 1994 年就出现了相关报道^[20]。盐霉素是在 1968 年由日本研究制药株式会社东京研究所从白色链球菌的培养物中提取的产物,是第三个上市的离子载体类抗球虫药,对尚未进入肠上皮细胞的球虫孢子有高度杀灭作用,对裂殖体有较强的抑制作用,对柔嫩艾美耳球虫等多种球虫有效。盐霉素的作用机制是促使离子和水过多进入球虫虫体而使其膨胀破裂。由于盐霉素能提高饲料利用率和促进雏鸡生长发育作用,故在国内外广泛使用^[1]。盐霉素耐药性虫株 1984 年就出现在捷克^[21]。

地克珠利与盐霉素的耐药性在我国最早报道于 1994 年和 1996 年^[22-23],现已在多个地区报道^[4-5]。黄仪娟等^[24]检测了四川部分地区的 6 株鸡球虫对 11 种抗球虫药的耐药性,结果显示有 2 株球虫对地克珠利完全耐药;刘颖等^[25]对柳州市分离于鸡场的鸡球虫进行耐药性检测,结果发现对地克珠利完全耐药,对盐霉素轻度耐药;李星星等^[26]比较了地克珠利、盐霉素、莫能菌素、尼卡巴嗪和海南霉素钠对柔嫩艾美耳球虫田间分离株的疗效,结果显示地克珠利和盐霉素的 ACI 分别为 159.8 和 159.6,均小于 160。笔者测定了地克珠利和盐霉素对如东县柔嫩艾美耳球虫田间分离株的耐药性,结果显示 2 株田间分离株对地克珠利无耐药性或轻度耐药,而对盐霉素有完全耐药。究其原因,可能是盐霉素在该县曾经或现在已有广泛使用,而地克珠利在该市使用较少或停用时间较长。鉴于这一检测结果,建议该地区停用盐霉素,使用地克珠利,同时必须定期进行抗药性的监测。在使用抗球虫药物时应进行轮换用药或联合用药,以延长药物的使用寿命,

同时还必须做好饲养管理等综合性防治措施。

参考文献

- [1] 索勋,李国清.鸡球虫病学[M].北京:中国农业大学出版社,1998.
- [2] CHAPMAN H D.Milestones in avian coccidiosis research: A review [J]. Poultry Sci, 2014, 93(3): 501-511.
- [3] LEVINE N D.Veterinary protozoology[M].Ames, Iowa: The Iowa State University Press, 1985: 183-184.
- [4] 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.
- [5] 汤新明,李超,胡丹丹,等.我国鸡球虫病研究的回顾、现状与展望简述[J].寄生虫与医学昆虫学报, 2019, 26(3): 188-193.
- [6] CHAPMAN H D.Drug resistance in avian coccidia (a review) [J]. Vet Parasitol, 1984, 15(1): 11-27.
- [7] NOACK S, CHAPMAN H D, SELZER P M. Anticoccidial drugs of the livestock industry [J]. Parasitol Res, 2019, 118(7): 2009-2026.
- [8] 陶建平, 符放齐. 单卵囊感染的雏鸡日龄及某些生物学特性的研究 [J]. 江苏农学院学报, 1997, 18(4): 77-78.
- [9] MOREHOUSE N F, BARON R R. Coccidiosis: Evaluation of coccidiostats by mortality, weight gains, and fecal scores [J]. Exp Parasitol, 1970, 28(1): 25-29.
- [10] 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.
- [11] 黄兵, 赵其平, 吴薛忠, 等. 上海地区鸡球虫对 6 种抗球虫药的抗药程度研究 [J]. 中国兽医寄生虫病, 2001, 9(2): 1-7.
- [12] VETERINARY M S D. Agricultural technical service "anticoccidial index"—A measure of coccidiostat efficacy [M]. New York, USA: Merck Sharp & Dohme International, 1976: 1-4.
- [13] 角田清. 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.
- [14] 毕菲菲, 韩贞艳, 郝振凯, 等. 鸡球虫抗药性检测方法研究进展 [J]. 中国兽医杂志, 2019, 55(6): 69-71.
- [15] 孔繁瑶, 宁长申, 殷佩云. 15 株柔嫩艾美耳球虫 *Eimeria tenella* 对五种抗球虫药的抗药性调查研究 [J]. 北京农业大学学报, 1994(3): 302-308.
- [16] 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.
- [17] CHAPMAN H D. Advances in the control of parasitic diseases of poultry [C]//Proceedings XI international congress of world veterinary poultry association. Cairo-Egypt: [s.n.], 2001: 59-61.
- [18] RIVIERE J E, PAPICH M G. Veterinary pharmacology and therapeutics [M]. 9th Edition. Wiley-Blackwell: Iowa State University Press, 2009: 1148-1149.
- [19] 韩贞艳, 毕菲菲, 郝振凯, 等. 地克珠利抗鸡球虫分子作用机理的研究进展 [J]. 中国兽医杂志, 2019, 55(10): 61-64.
- [20] KAWAZOE U, FABIO J D. Resistance to diclazuril in field isolates of *Eimeria* species obtained from commercial broiler flocks in Brazil [J]. Avian Pathol, 1994, 23(2): 305-311.
- [21] BEDRNÍK P, JURKOVIC P, FIRMANOVÁ A, et al. The effect of ionophore anticoccidial agents on coccidia isolated in field conditions 1984-1985 [J]. Vet Med, 1987, 32(12): 731-739.
- [22] STEPHAN B, ROMMEL M, DAUGSCHIES A, et al. Studies of resistance to anticoccidials in *Eimeria* field isolates and pure *Eimeria* strains [J]. Vet Parasitol, 1997, 69(1/2): 19-29.
- [23] 汪明, 孔繁瑶, 殷佩云, 等. 10 株柔嫩艾美耳球虫对四种药物的抗药性检测 [J]. 中国农业大学学报, 1996, 1(5): 110-114.
- [24] 黄仪娟, 王新秋, 林瑞庆, 等. 四川部分地区鸡球虫分离株对 11 种抗球虫药物的耐药性调查 [J]. 动物医学进展, 2019, 40(3): 133-139.
- [25] 刘颖, 严斯刚, 周远景, 等. 柳州市区域性鸡球虫抗药性检测 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2018(24): 106-108.
- [26] 李星星, 顾梦恬, 侯庆明, 等. 几种抗球虫药对鸡柔嫩艾美耳球虫病疗效的对比分析 [J]. 中国兽药杂志, 2019, 53(10): 55-60.