doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2018.06.08

常山口服液抗鸡柔嫩艾美耳球虫广东分离株的疗效研究

王 玲¹,郭志廷¹*,龚振兴²,蔡建平²,杨 峰¹

- (1 中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所 农业部兽用药物创制重占实验室 甘肃 兰州 730050.
 - 2. 中国农业科学院兰州兽医研究所,家畜疫病病原生物学国家重点实验室,甘肃 兰州,730046)

[收稿日期] 2017-10-20 [文献标识码]A [文章编号]1002-1280 (2018) 06-0046-06 [中图分类号]8853.7

[摘 要] 研究旨在明确常山口服液治疗鸡球虫病的疗效和最佳给药剂量。试验选取90只14日龄健康雏鸡,随机分为9组,每组10只,即常山口服液组(分别为2.5、5.0、15.0、25.0、35.0、50.0 mL/L水剂量)、妥曲珠利组(1 mL/L 水)、感染对照组和健康对照组。除健康对照组外,每只鸡接种7×10⁴个柔嫩艾美耳球虫广东分离株的孢子化卵囊,饮水给药7d,观察其疗效。结果显示,常山口服液各剂量组其盲肠和十二指肠的肿胀现象较感染对照组明显减轻,血液性内容物明显减少,抗球虫指数(ACI)分别为87.7、136.2、141.8、136.2、109.7和108.0、均高于感染对照组;常山口服液按5.0、15.0及25.0 mL/L 水剂量给药,抗球虫指数均高于对照药物妥曲珠利组(ACI=124.8)。结果表明,人工感染条件下,常山口服液较化学药物妥曲珠利具有更好的抗球虫疗效,且作为中药提取物,疗效对比试验效果较为理想。

「关键词」 常山口服液:鸡球虫病:柔嫩艾美耳球虫:抗球虫药

Curative Efficacy of Radix Dichroa Oral Liquid on Coccidiosis Induced by *E.tenella* Isolated from Guangdong in Chickens

WANG Ling¹, GUO Zhi-ting^{1*}, GONG Zhen-xing², CAI Jian-ping², YANG Feng¹

(1. Key Laboratory of New Animal Drug Project, Gansu Province; Key Laboratory of Veterinary Pharmaceutics Discovery, Ministry of Agriculture; Lanzhou Institute of Animal Science and Veterinary Pharmaceutics, Chinese Academy of Agricultural Sciences (CAAS), Lanzhou 730050, China;

2. State Key Laboratory of Veterinary Etiological Biology, Lanzhou Veterinary Research Institute,

Chinese Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730046, China)

 $Corresponding \ author: \ GUO \ Zhi-ting, \ E-mail: guozhiting@\ caas.cn$

Abstract: To determine the curative effect and the better drug delivery dose of Radix dichroa oral liquid (RDOL) on chicken coccidiosis, 90 Lingnan-yellow chicken were divided into 9 groups randomly with 10 chickens in each group, which including RDOL group (2.5,5.0,15.0,25.0,35.0,50.0 mL/L water, respectively), toltrazuil group

基金项目: 中央级公益性科研院所专项资金项目(1610322017018),甘肃省科技支撑计划(1604NKCA069-01)

作者简介:王玲,副研究员,硕士,从事兽医微生物及免疫学方面研究。

通讯作者: 郭志廷。E-mail:guozhiting@caas.cn

(1.0 mL/L water), *E.tenella* infected control group and healthy control group. Every chicken was inoculated 7× 10⁴ *E.tenella* oocysts (Guangdong isolates) on 14-day with the exception of the chicken in healthy control group, by administration of drugs through drinking water for 7 days, and the curative effects were observed. Compared with infected control group, the results showed that the cecum and duodenum in RDOL treatments were significantly alleviated, and the blood contents were reduced significantly, the anticoccidial index (ACI) of RDOL treatments were 87.7 \,136.2 \,141.8 \,136.2 \,109.7 and 108.0, respectively, which were higher than infected control groups. The anticoccidial index of 5.0, 15.0 and 25.0 mL/L water of RDOL group were higher than toltrazuil group (ACI=124.8). It is showed that RDOL has better anticoccidial efficacy rather than toltrazuil under the condition of artificial infection, and the results suggested that RDOL as a kind of herbal extract is expected to become new anticoccidial drugs due to its good anticoccidial efficacy.

Key words: Radix dichroa oral Liquid (RDOL); chicken coccidiosis; E.tenella; coccidiostat

中药常山为虎耳草科植物常山(Dichroa febrifuga Lour., DFL) 的干燥根,味苦辛,性寒,具有杀虫、截 疟、祛痰之功效[1]。常山作为具有抗球虫活性的中 药材,可单独使用或作复方制剂的主药使用,而有 效活性单体常山碱(即常山碱乙或常山乙素,febrifugine, dichroine B, β-dichroine)和异常山碱(即常 山碱甲, isofebrifugine, dichroine A, α - dichroine)即 为常山提取物中的抗球虫有效组分[2-4]。鸡球虫病 是一种全球流行、发病率高和死亡率高的肠道寄生 虫病,全球每年因该病造成的经济损失约为50亿 美元,我国在30亿元左右,其中抗球虫药物费用约 为6亿元。目前鸡球虫病防治主要依靠化学药物, 包括地克珠利、妥曲珠利及常山碱衍生物(如常山 酮)等[5-6]。鉴于抗球虫化学药物存在严重的耐药 性和药物残留,且中药复方中抗球虫有效活性成分 常山碱的含量偏低,目前迫切需要研发新型安全高 效的抗球虫药物。应用现代中药分离技术,提取中 药常山的有效活性成分常山碱,通过优化生产工艺 制备常山口服液,并将其用于防控鸡球虫病,具有 抗球虫疗效好、低毒低残留和不易产生耐药性等优 点。本试验拟通过人工感染鸡柔嫩艾美艾球虫(E. tenella)复制病理模型,探讨常山口服液对鸡球虫病 的临床疗效,并确定最佳给药剂量,以期为今后常山 口服液作为抗球虫新兽药的研发奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验动物 1日龄的岭南黄雏鸡120只,购自

甘肃省兰州华陇家禽育种公司。雏鸡饲料购自兰州市富昌饲料厂,未添加任何抗球虫药物。饲养条件与管理:在中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所标准化实验动物房(经严格消毒,无鸡球虫卵囊污染环境),隔离笼养。按常规饲喂饲料,自由采食饮水,饲养至14日龄,按体重随机分组,分笼饲养。1.2 试验药物 常山口服液,由中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所农业部兽用药物创制重点实验室制备,黄色液体,常山碱含量为2.2 mg/50 mL。主要制备过程:常山提取物,加入1.0%的无水酒精助溶剂和4.0%的双乙酸钠防腐剂,调节pH值至7.2,过滤、分装、冷藏、备用。

对照药物:百球清(妥曲珠利溶液,口服制剂,含量 2.5%),购自拜耳(四川)动物保健有限公司,按生产厂家推荐剂量 1.0 mL/L 水,饮水给药。

- 1.3 试验虫株 柔嫩艾美耳球虫广东株(1996年 分离自广东花都,对尼卡巴嗪轻度抗药,对常山酮 和克球粉中度抗药,对球痢灵、氯羟吡啶、马杜拉霉 素、拉沙洛菌素、盐霉素、莫能霉素严重抗药),由中 国农业科学院兰州兽医研究所蔡建平研究员提供。 1.4 抗球虫试验
- 1.4.1 分组与给药 雏鸡饲养至 12 日龄时,连续两天对试验鸡进行粪便检查,确定无球虫感染后,于 14 日龄开始试验。感染前选取 90 只健康无球虫雏鸡,饲喂前 2 h 禁止摄入饲料和水,逐只称重。选取体重相近雏鸡,随机分为 9 个组,每组 10 只。

常山口服液 6 个药物剂量组(分别为 2.5、5.0、15.0、 25.0、35.0、50.0 mL/L 水, 饮水给药)、妥曲珠利对 照组(1.0 mL/L 水, 饮水给药)、攻虫不给药组(感 染对照组)和不攻虫不给药组(健康对照组)。除 不攻虫不给药组外,其余各感染组每只鸡经口接种 完全孢子化卵囊 7×10⁴ 个(卵囊为柔嫩艾美耳球虫 广东株球虫孢子化卵囊),接种24 h后,开始给药, 连续给药7d。第8天试验结束时,对每组存活鸡 进行单只称重,统计存活率,计算各组相对增重率。 1.4.2 临床及病理剖检观察 接种柔嫩艾美耳球 电后 观察和记录各组试验鸡的发病情况及临床表 现。感染后第3天,每天检查粪便,记录血便情况, 直至试验结束。感染后第5~8天,每天收集粪便 称重,用麦氏虫卵计数法(McMaster's 法)计算每克 粪便卵囊数(Oocvsts per gramme, OPG)。试验结束 时(球虫感染第8天),每组存活鸡逐只称重后,全 部扑杀,剖检记录盲肠病变值,同时,收集各组盲肠 内容物及粘膜上皮组织,进行盲肠内容物称重及盲 肠卵囊数量检测等。

1.4.3 药物疗效评定指标和标准 试验鸡称重分别于感染前和试验结束逐只称量雏鸡体重。按以下公式计算相对增重率。增重率=(试验结束后平均体重-试验开始时的平均体重×100%,相对增重率=(感染试验组的平均增重;健康对照组平均增重)×100%

存活率:存活率(%)=(存活鸡只数/开始鸡只数)×100%。

病变记分:试验期间每日观察各组鸡的精神、食欲、粪便、死亡等情况,并记录结果,对试验期间死亡的鸡进行尸体解剖。参考 Johnson & Reid (1970)评价标准^[7-8],根据剖检后肠道病变的严重程度对每组鸡盲肠进行病变计分。病变记分在 0~4+范围之内,0表示无肉眼病变;4+表示最严重病变,盲肠出血严重,高度肿胀,肠腔内充满凝血及黏膜碎片。试验中因球虫病死亡的鸡只,其肠道病变记分均记为 4 分。病变值:每组鸡的平均病变记分×10。

血便记分:参照 Morehouse 和 Baron (1970)评价标准^[7,9],非正常粪便记分在 0~4+范围之内,0 表示未见异常,粪便不带血;4+表示最严重的异

常稀粪,粪便中带有血液和黏液。

卵囊值 $^{[7,10]}$:按角田清(1986)方法计算,以感染对照组的卵囊量为100%(40分),卵囊比数为 $0\sim1\%(卵囊值记为0)$;卵囊比数为 $1%\sim25\%(卵囊值记为5)$;卵囊比数为 $26%\sim50\%(卵囊值记为10)$;卵囊比数为 $51%\sim75\%(卵囊值记为20)$;卵囊比数为 $76%\sim100\%(卵囊值记为40)$ 。卵囊值=(试验组卵囊/感染对照组卵囊)×100%。

效果判定:根据各组试验鸡的相对增重率、存活率、病变值和卵囊值,按美国 Merck 公司的方法,计算抗球虫指数(Anticoccidial index, ACI)^[7]。以ACI 为标准判定药物疗效,ACI≤120 为无效;ACI介于120~160为低效;ACI介于160~180为中效;ACI>180为高效。ACI=(相对增重率+存活率)×100-(病变值+卵囊值)。

2 结果与分析

2.1 临床症状及血便情况 接种球虫后第3天,除健康对照组鸡只外,其他感染试验组鸡只均表现出不同程度的临床症状,如采食量减少、羽毛蓬乱、两翼下垂、缩头缩颈、闭眼昏睡、不愿走动、离群呆立、排血便等情况。

接种球虫后第 4 天和第 5 天,除健康对照组粪便记分为 0 外,感染对照组鸡只仍表现排出大量血便症状(粪便记分为 4),所有药物剂量组的鸡只其血便明显减少,精神状况和采食量出现明显好转迹象(粪便记分为 3)。

- 2.2 病理解剖学变化 病理解剖发现,所有健康对照组试验鸡只,其脏器均正常。感染对照组试验鸡只,盲肠和十二指肠显著肿胀,内含大量血样内容物。所有药物剂量组试验鸡只,盲肠及十二指肠亦出现肿胀、血样性内容物,但病变程度较感染对照组明显减轻,其他脏器未见明显眼观病变。病变值见表 1。
- 2.3 抗球虫及促生长效果 通过相对增重率、存活率、卵囊值和病变值等指标计算 ACI,由表 1 可知,常山口服液各药物剂量组的 ACI 值分别为 87.7、136.2、141.8、136.2、109.7 和 108.0,均高于感染对照组;常山口服液按 5.0、15.0 和 25.0 mL/L 水的剂量饮水给药,其 ACI 值均高于妥曲珠利药物组

(ACI 值为 124.8)。用药各组鸡(除 2.5 mL/L 药物剂量组外)增重明显高于感染对照组,其中以

15.0 mL/L药物剂量组鸡增重最快,比对照药妥曲 珠利组鸡高 12.5%。

表 1 常山口服液抗柔嫩艾美耳球虫疗效试验结果

Tab 1 Curative effect on anticoccidial of Radix dichroa oral liquid (RDOL) to E.tenella in chickens

组别 Groups	鸡数 n	药物浓度 /(mL・L ⁻¹) Drug level		末体重 /kg final weight	相对增重 率/% Relative weight gain	死亡 鸡数 n	存活率 /% Survival rate	病变值 Lesion e score	平均盲肠卵 囊量(×10 ⁶) Oocysts per Gramme	卵囊值 Oocyst score	抗球虫 指数 Anti-coccidial index(ACI)
健康对照组 Control group	10	/	0.247±0.016	0.366±0.032	100	0	100	0	0	0	200
感染对照组 Infected control group	10	/	0.239±0.019	0.319±0.027	54.2	3	70	35.5	6.79	40	48.7
百球清对照组 (妥曲珠利 2.5%) Drug control group (Toltrazuril,2.5%)	10	1.0	0.244±0.024	0.347±0.038	83.3	1	90	38.5	3.11	10	124.8
给药组 1 Drug treated group 1	10	2.5	0.256±0.022	0.316±0.027	41.7	1	90	34.0	5.22	10	87.7
给药组 2 Drug treated group 2	10	5.0	0.251±0.018	0.355±0.037	79.2	0	100	33.0	4.30	10	136.2
给药组 3 Drug treated group 3	10	15.0	0.255±0.023	0.371±0.044	95.8	1	90	34.0	4.44	10	141.8
给药组 4 Drug treated group 4	10	25.0	0.237±0.020	0.352±0.041	79.2	0	100	33.0	4.80	10	136.2
给药组 5 Drug treated group 5	10	35.0	0.248±0.019	0.339±0.032	71.7	1	90	32.0	6.11	20	109.7
给药组 6 Drug treated group 6	10	50.0	0.252±0.015	0.336±0.029	67.5	1	90	29.5	8.11	20	108.0

3 讨论

球虫病是危害极大、呈全球性分布的禽类传染病之一,可导致家禽生长受阻、饲料转化率降低和肉蛋品质下降。在所有的鸡球虫属中,柔嫩艾美耳球虫(E.tenella)对鸡危害最为严重^[11]。目前,国内外主要利用化学合成药物来预防和治疗鸡球虫病,如地克珠利、妥曲珠利和常山酮等,对上述药物的抗球虫作用及机理研究较多^[12]。

中药和化学合成药物在防治球虫病的过程中, 由于来源不同,其作用效果、作用机制和治病理论 存在很大差别,在防治疾病过程中中药一般表现多 靶点、多途径和协同作用的特点。按照中兽医辨证施治理论,鸡球虫病为外感湿热,湿热蕴集大肠,热毒迫血妄行,导致粪便带血,湿困脾土,致使鸡群下痢,其治疗原则应以清热燥湿、凉血止痢为主。中药常山是我国著名的截疟祛痰药,中医主要用于抗疟疾和退热药物使用^[13]。研究表明,由常山中分离提取出的常山碱具有良好的抗球虫效果,其作为一种新型的 ATP 依赖性抑制剂所具有的定向捕获作用可能也适用于人类其他 tRNA 合成酶,这一重大发现揭示了常山碱及其衍生物发挥抗疟疾、抗球虫等生物学功效的可能作用机理^[14]。前期药理试

验证实, 纯度为 0.24% 的常山碱提取物按照 0.1 g/kg的剂量饲料拌服给药,对人工感染鸡柔嫩 艾美耳球虫发病的试验鸡只具有良好的治疗效果; 免疫学试验表明,常山碱可显著促进小鼠脾细胞的增殖反应和巨噬细胞的免疫功能; 毒理学试验表明,常山提取物毒性较低, 临床用药安全可靠[15]。

试验结果表明,常山口服液按5.0.15.0和 25.0 mL/L水剂量饮水给药,可以提高试验鸡只的 增重率.对人工感染 E.tenella 的发病试验鸡只具有 良好的治疗效果。但本次试验所有给药组的 ACI 值均低于160.可能与所用虫株的毒力有关。柔嫩 艾美耳球虫广东株自上世纪90年代中期分离得 到,蔡建平研究员课题组长期以此虫株进行鸡球虫 病的研究[16],此虫株毒力较强,每只鸡经口感染 7万个新鲜孢子化卵囊(1个月内).死亡率介于10%~ 20%。通常在药物抗球虫疗效试验设计中,感染对 照组(攻虫不给药)以5~10%的死亡率为最佳,然 而此次试验中,设计的攻虫剂量为 7×10⁴ 个孢子化 卵囊,感染对照组的死亡率达到30%,说明实际攻 虫剂量偏大。尽管此次预试验结果中对照药物和 试验药物的 ACI 值都偏低,但仍可从结果中获得剂 量与抗球虫效果之间的关系,即常山口服液按5.0、 15.0 和 25.0 mL/L 水剂量, 饮水给药, 具有良好的 抗球虫效果。结合临床用药成本,我们确定常山口 服液的最低有效给药剂量为 5.0 mL/L 水。

通过抗球虫疗效观察试验,结果提示,人工感染条件下,常山口服液能有效预防鸡球虫病,较化学药物妥曲珠利具有更好的抗球虫疗效和促生长作用,且作为中药提取物,使用安全范围大,疗效对比试验效果理想,有望成为新型抗球虫药物。

参考文献:

- [1] 李 燕,刘明川,金林红,等.常山化学成分及生物活性研究进展[J].广州化工,2011,39(9):7-9.

 Li Y, Liu M C, Jin L H, et al. Advances on chemical components and bioactivities of dichroa febrifuga lour.[J]. Guangzhou Chemical Industry. 2011,39(9):7-9. (in Chinese)
- [2] Ningthoujam S S, Talukdar A D, Nath D, et al. Chapter 3-Febrifugine and its analogs: studies for their antimalarial and other

- therapeutic properties [J]. Studies in Natural Products Chemistry, 2015.44(1):93-112.
- [3] Huong D T M, Giang V T, Van H T, et al. Synthesis of febrifuginol analogues and evaluation of their biological activities [J]. Tetrahedron Letters. 2014, 55 (52):7226-7228.
- [4] Kikuchi H, Horoiwa S, Kasahara R, et al. Synthesis of febrifugine derivatives and development of an effective and safe tetrahydroquinazoline-type antimalarial [J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2014,76(4):10-19.
- [5] 李蕴玉,李佩国,张艳英,等.鸡球虫耐药性检测研究进展[J]. 中国兽医学报, 2011,31(03):449-452. Li Y Y, Li P G, Zhang Y Y, et al. Progress in detection of drug -resistance of coccidium in chickens[J]. Chinese Journal of Veterinary Science, 2011,31(03):449-452.
- [6] 闫鸿斌,贾万忠,田广孚,等.鸡抗球虫免疫机理研究进展[J]. 中国兽医学报, 2010,30(08):1139-1144. Yan H B, Jia W Z, Tian G F, et al. Research progress on immunological mechanism in chickens against coccidiasis[J]. Chinese Journal of Veterinary Science, 2010,30(08):1139-1144.
- [7] 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.

 Suo X, Li G Q. Coccidia and coccidiasis of domestic fowl [M].

 Beijing: China Agricultural University Press. 1998:158-167.
- [8] Johnson J and Reid W M. Anticoccidial Drugs: Lesin Scoring Techniques in Battery and Floorpen Experiments with Chickens [J]. Experimental Parasitology, 1970,28(1):30-36.
- [9] Morehouse N F and Baron R R. Coccidiosis; evaluation of coccidiostats by mortality, weight gains, and fecal score [J]. Experimental Parasitology, 1970,28(1):25-29.
- [10] 角田清.鸡球虫病学[M].上海:上海科学技术出版社,1986: 87-91. Jiao T Q. Coccidiasis in chicken [M].Shanghai: Shanghai Science and Technology Press. 1986:87-91.
- [11] 黄 兵,董 辉,沈 杰,等.中国家畜家禽球虫种类概述[J].中国预防兽医学报, 2004,26(4):313-315.

 Huang B, Dong H, Sheng J, et al. An overview on the species of coccidium in domestic livestock and poultry in China[J]. Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine, 2004, 26(4):313-315.
- [12] 操继跃. 抗球虫药物研究进展与应用技术[J]. 中国家禽, 2009,31(14):1-4.

 Cao J Y. Research progress and application of anti-coccidiasis drug[J]. China Poultry. 2009,31(14):1-4.
- [13] Kirandeep K, Meenakshi J, Tarandeep K, et al. Antimalarials from nature [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2009, 17 (9):3229-3256.

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2018.06.09

包膜丁酸钠与癸氧喹酯联合应用抗鸡球虫作用研究

崔 怡1,2,刘 莎1,2,黄 杰1,2,李金贵1,2*

(1.扬州大学兽医学院,扬州 225009;2.江苏省动物重要疫病与人畜共患病防控协同创新中心,扬州 225009) 「收稿日期] 2017-11-08 「文献标识码]A 「文章编号]1002-1280 (2018) 06-0051-07 「中图分类号]\$859.79

[摘 要] 为研究包膜丁酸钠和癸氧喹酯联合用药抗鸡球虫的疗效。以柔嫩艾美耳球虫(E.tenel-la)口服接种建立雏鸡球虫感染模型,分为空白组,感染对照组,包膜丁酸钠(CSB,750 mg/kg)组,癸氧喹酯(DQ,40 mg/kg)组和联合用药组。在接种前1d至接种后6d拌料投喂CSB、DQ单用或联合用药,通过临床症状、粪便卵囊计数、盲肠病变记分以及盲肠组织病理观察来评价药物的抗球虫作用。结果表明:感染对照组和CSB处理组在感染后第5~6天均出现了大量血便,但CSB组推迟并减少了卵囊排出,DQ单用以及与CSB联合用药都明显推迟并减少了血便,盲肠病变记分也相应减轻,且联合用药组未见卵囊排出。盲肠组织HE染色结果与临床症状一致,联合用药组防治效果最佳。这表明单用CSB虽不能预防球虫病的发生,但与DQ合用时有一定的增效作用。

「关键词] 鸡:球虫:包膜丁酸钠:癸氧喹酯

Anticoccidial Effect of Coated Sodium Butyrate Combined with Decoquinate in Chickens

CUI Yi^{1,2}, LIU Sha^{1,2}, HUANG Jie^{1,2}, LI Jin-gui^{1,2}*

(1. College of Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China;

2. J iangsu Co-innovation Center for Prevention and Control of Important Animal Infectious Diseases and Zoonoses, Yangzhou 225009, China)
Corresponding author: Li Jingui, E-mail: jgli@yzu.edu.cn

基金项目: 江苏省高等优势学科建设工程资助项目;国家自然科学基金资助项目(31272548,31672595)

作者简介: 崔怡,硕士生,主要从事中药在兽医临床上的应用研究。

通讯作者: 李金贵。E-mail: jgli@ yzu.edu.cn

- [14] Zhou H H, Sun L T, Yang X L, et al. ATP-Directed capture of bioactive herbal-based medicine on human tRNA synthetase[J]. Nature, 2013,494(7435):121-124.
- [15] 郭志廷,梁剑平,韦旭斌.常山、常山碱及其衍生物防治球虫病的研究进展[J].中国兽医学报,2015,35(08):1382-1385.

 Guo Z T, Liang J P, Wei X B. Research progress of dichroa febrifuga lour., febrifugine and its derivatives in the prevention and control of coccidiosis[J]. Chinese Journal of Veterinary Science, 2015,35(08):1382-1385.
- [16] 李安兴,谢明权,蔡建平,等.广东省肉鸡柔嫩艾美耳球虫(E. tenella)抗药性调查[J].中山大学学报(自然科学版),2000,39(6A):138-144.
 - Li A X, Xie M Q, Cai J P, et al. A survey of drug-resistance of isolates of *Eimeria tenella* in chichens from fields in Guangdong province [J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni, 2000,39(6A):138-144.

(编辑:陈希)