

## · 专家论坛 ·



黄兵, 研究员, 硕士生导师, 主要从事球虫生物学与动物寄生虫虫种资源收集利用研究。上海市动物学会副理事长, 中国动物学会原生动物学分会常务理事, 中国畜牧兽医学会兽医寄生虫学分会常务理事, 上海师范大学兼职教授, 上海市闵行区专业技术拔尖人才。获国家科学技术进步三等奖1项(排名第5), 上海市科学技术进步一等奖1项(排名第2), 农业部科学技术进步二等奖1项(排名第5), 上海市科学技术进步三等奖2项(排名第1), 中华农业科技奖三等奖1项(排名第1), 中华医学科技奖三等奖1项(排名第2), 中国农业科学院科学技术成果一等奖1项(排名第1)和二等奖1项(排名第7)。出版专著18部(主编6部、副主编2部、参编10部), 获国家计算机软件著作权登记证书5项, 授权国家发明专利4项(排名第1、2、2、3), 以第1作者或通信作者发表研究论文140余篇(其中SCI论文22篇), 培养毕业研究生39名。

## 畜禽球虫生物学与球虫病防治研究 ——记上海兽医研究所四十年研究回顾

黄兵, 韩红玉, 董辉, 赵其平, 朱顺海

(中国农业科学院上海兽医研究所 农业部动物寄生虫学重点实验室, 上海 200241)

**摘要:** 为全面了解中国农业科学院上海兽医研究所(原中国农业科学院上海家畜寄生虫病研究所、中国农业科学院上海家畜血吸虫病研究所)在畜禽球虫生物学与球虫病防治研究方面取得的进展, 本文从球虫的流行病学调查、虫种分离鉴定、诊断技术、药物防治、抗药性检测、免疫预防、体外培养、分子生物学等方面, 介绍了上海兽医研究所近40年开展的主要工作和取得的研究结果, 并提出了今后的重点研究方向。

**关键词:** 家畜; 家禽; 球虫; 生物学; 防治

中图分类号: S852.723

文献标志码: A

文章编号: 1674-6422(2018)06-0001-14

### STUDIES ON BIOLOGY OF COCCIDIA AND PREVENTION AND CONTROL OF COCCIDIOSIS IN LIVESTOCK AND POULTRY: A REVIEW RESEARCH DURING THE PAST FORTY YEARS AND ACHIEVEMENTS IN SHANGHAI VETERINARY RESEARCH INSTITUTE

HUANG Bing, HAN Hong-yu, DONG Hui, ZHAO Qi-ping, ZHU Shun-hai

(Key Laboratory of Animal Parasitology of Ministry of Agriculture, Shanghai Veterinary Research Institute, CAAS, Shanghai 200241, China)

收稿日期: 2018-02-28

基金项目: 国家重点研发计划(2017YFD0501205)

作者简介: 黄兵, 男, 学士, 研究员, 主要从事球虫生物学与球虫病防治研究; 国家寄生虫种质资源共享平台(平台-TDRC-22)

通信作者: 黄兵, E-mail: hb@shvri.ac.cn

**Abstract:** During the past 40 years, Shanghai Veterinary Research Institute, of Chinese Academy of Agricultural Sciences (the former Shanghai Institute of Shanghai Institute of Livestock Parasitic Diseases, of Chinese Academy of Agricultural Sciences and Shanghai Institute of Livestock Schistosomiasis, of Chinese Academy of Agricultural Sciences) has been taking the leading roles in research projects of coccidia and coccidiosis. This article summarized research progress and achievements in isolation and identification of coccidia species, *in vitro* culture, molecular biology, epidemiological investigation of coccidiosis, development of diagnostic techniques, drug control and inspection of resistance, immune prevention and so on. It also briefly prospected the key research directions for the future studies.

**Key words:** Livestock; poultry; Coccidia; biology; prevention

## 0 前言

球虫 (Coccidia) 隶属于顶复器门 (Apicomplexa Levine, 1970)、孢子虫纲 (Sporozoa Leuckart, 1879)、真球虫目 (Eucoccidiorida Léger and Duboscq, 1910) 的原虫, 广义的球虫范围包括真球虫目中隐球虫亚目 (Adeleorina Léger, 1911) 和艾美耳球虫亚目 (Eimeriorina Léger, 1911) 所含的种类近2000种, 其中艾美耳球虫亚目的种类约1500种, 隶属于10科37属; 狭义的球虫范围主要指艾美耳球虫亚目中艾美耳科 (Eimeriidae Minchin, 1903) 所含的种类, 约有1300多种, 隶属于16属, 其中艾美耳属 (*Eimeria* Schneider, 1875) 的球虫超过1000种<sup>[1]</sup>。据统计, 全世界已在无脊椎动物和脊椎动物发现艾美耳科球虫2599种, 其中在哺乳类1028种、鸟类734种、爬行类456种、两栖类53种、鱼类314种、无脊椎类14种<sup>[2]</sup>。球虫病是危害动物健康的一类重要原虫病, 特别对养禽业的危害巨大, 每年可导致上亿元的经济损失。几十年来我国在球虫与球虫病防治研究方面做了大量工作, 仅从中国知网以“球虫”作为主题检出的各类文献达13 000多条。

中国农业科学院上海兽医研究所 (原: 中国农业科学院上海家畜寄生虫病研究所、中国农业科学院上海家畜血吸虫病研究所) 是我国从事球虫与球虫病防治研究的主要单位之一, 开发的二类新药——地克珠利曾获得国家科技进步三等奖, 研制的抗球虫病DLV三价疫苗是国内首个获得国家新药证书的球虫疫苗, 起草制订了第1个球虫病诊断技术国家标准, 在国内外发表球虫相关研究报告300多篇。回顾过去近40年的工作, 主要在以下几个方面取得重要进展。

## 1 流行病学

球虫在我国畜禽中分布十分广泛, 种类较多。史天卫等<sup>[3]</sup> (1989) 对上海地区鸡球虫种类进行了初步调查, 记录了鸡的6种艾美耳球虫。据文献记载<sup>[4-6]</sup>, 我国的马、骆驼、牛、羊、猪、犬、猫、兔、鸡、鸭、鹅、鸽、鹌鹑等已检出球虫145种 (表1), 其中艾美耳球虫122种, 等孢球虫 (*Isospora* Schneider, 1881) 13种, 泰泽球虫 (*Tyzzeria* Allen, 1936) 6种, 温扬球虫 (*Wenyonella* Hoare, 1933) 4种; 球虫分布达到15个及以上省市自治区的有41种, 包括鸡球虫9种、牛球虫5种、兔球虫11种、羊球虫9种、猪球虫5种、鸭球虫2种 (表2); 还鉴定命名了11个新种, 包括艾美耳球虫10种和等孢球虫1种 (表3)。经调查, 1) 上海鸡场的球虫感染率通常在45%以上, 1/3鸡场感染率达90%~100%; 球虫阳性鸡的感染强度 (每克粪便卵囊数, OPG) 为400~63 800个, 平均OPG为32 114个, 超过50%鸡场的OPG在48 000个以上; 鉴定出6种球虫, 即柔嫩艾美耳球虫 (*E. tenella*)、毒害艾美耳球虫 (*E. necatrix*)、巨型艾美耳球虫 (*E. maxima*)、堆型艾美耳球虫 (*E. acervulina*)、变位艾美耳球虫 (*E. mivati*) 以及缓艾美耳球虫 (*E. mitis*)<sup>[7]</sup>。2) 上海鸭场的球虫感染率为61%, 3月龄以内鸭的感染率为100%; 球虫阳性鸭的OPG为300~112 200, 平均OPG为4 841; 鉴定出10种球虫, 其中艾美耳属6种、温扬属3种、等孢属1种<sup>[8,9]</sup>。3) 上海部分鸽场的球虫感染率为52.8%, 球虫阳性鸽的OPG为300~512 400, 平均OPG为50 159个, 肉鸽的感染率 (55.2%) 和平均OPG (52 110个) 均高于信鸽 (40.9%和37 583个); 鉴定出5种球虫, 即拉氏艾美耳球虫 (*E. labbeana*)、鸽艾美耳球虫 (*E.*

columbae)、原鸽艾美耳球虫(*E. columbarum*)、杜氏艾美耳球虫(*E. duculai*)和卡氏艾美耳球虫(*E. kapotei*)，拉氏艾美耳球虫为肉鸽的优势种，原鸽艾美耳球虫为信鸽的优势种<sup>[5]</sup>。4)上海17个奶牛场(2005年-2006年)的球虫感染率为40.82%(10%~63.64%)，平均OPG为1919个(100~43 500个)，鉴定出6种球虫，分别是牛艾美耳球虫(*E. bovis*)、椭圆艾美耳球虫(*E. ellipsoidallis*)、邱氏艾美耳球虫(*E. zürnii*)、怀俄艾美耳球虫(*E. wyomingensis*)、柱状艾美耳球虫(*E. cylindrica*)和亚球形艾美耳球虫(*E. subspherica*)<sup>[10]</sup>。上海24个奶牛场(2010年~2011年)的球虫感染率为47.12%，平均OPG为3181个，感染率和OPG均随牛月龄的增长而下降，鉴定出10种球虫，除前面提及的6种外，另检出阿拉巴马艾美耳球虫(*E. alabamensis*)、奥博艾美耳球虫(*E. auburnensis*)、巴西利亚艾美耳球虫(*E. brasiliensis*)和皮利他艾美耳球虫(*E. pellita*)<sup>[11]</sup>。全国6个省市自治区(2010年)27个奶牛场435份粪样，除北京1个场9份粪样未检出球虫外，其余5个省市自治区的26个奶牛场全部检出球虫，426份粪样的球虫检出率为50.94%，平均OPG为3158个<sup>[12]</sup>。5)青海省4县324份牦牛粪样(2010年11月~2011年1月)，球虫阳性率为34.9%，平均OPG为251，1岁内犏牛的感染率和OPG均显著高于1岁以上青年牛和成年牛，鉴定出14种球虫，除前面提及的10种外，还检出加拿大艾美耳球虫(*E. canadensis*)、伊利诺斯艾美耳球虫(*E. illinoisensis*)、孟买艾美耳球虫(*E. bombayensis*)和布基隆艾美耳球虫(*E. bukidnonensis*)<sup>[13]</sup>。

表 1 我国检出的畜禽球虫种类

Table 1 The Coccidian species of livestock and poultry in China					
宿主	艾美耳属	等孢属	泰泽属	温扬属	合计
Host	<i>Eimeria</i>	<i>Isospora</i>	<i>Tyzzeria</i>	<i>Wenyonella</i>	Total
马	1	0	0	0	1
骆驼	8	0	0	0	8
牛	16	1	0	0	17
羊	27	0	0	0	27
猪	14	2	0	0	16
犬	0	4	0	0	4
猫	0	2	0	0	2
兔	17	1	0	0	18

(续上表)

鸡	9	1	0	0	10
鸭	12	1	4	4	21
鹅	10	1	2	0	13
鸽	5	0	0	0	5
鹌鹑	3	0	0	0	3
合计	122	13	6	4	145

表 2 分布达 15 个省市自治区的 41 种球虫

Table 2 41 species of Coccidia distributed in 15 or more provinces, municipalities and autonomous regions

宿主	球虫种类 / 数量
Host	Species of Coccidia / Numbers
鸡	堆型艾美耳球虫( <i>E. acervulina</i> ) /31 布氏艾美耳球虫( <i>E. brunetti</i> ) /18 哈氏艾美耳球虫( <i>E. hagani</i> ) /24 巨型艾美耳球虫( <i>E. maxima</i> ) /30 和缓艾美耳球虫( <i>E. mitis</i> ) /28 变位艾美耳球虫( <i>E. mivati</i> ) /18 毒害艾美耳球虫( <i>E. necatrix</i> ) /29 早熟艾美耳球虫( <i>E. praecox</i> ) /28 柔嫩艾美耳球虫( <i>E. tenella</i> ) /31
牛	奥博艾美耳球虫( <i>E. auburnensis</i> ) /16 牛艾美耳球虫( <i>E. bovis</i> ) /23 椭圆艾美耳球虫( <i>E. ellipsoidalis</i> ) /17 亚球形艾美耳球虫( <i>E. subspherica</i> ) /16 邱氏艾美耳球虫( <i>E. zürnii</i> ) /23
兔	盲肠艾美耳球虫( <i>E. coecicola</i> ) /25 微小艾美耳球虫( <i>E. exigua</i> ) /22 肠艾美耳球虫( <i>E. intestinalis</i> ) /25 无残艾美耳球虫( <i>E. irresidua</i> ) /27 大型艾美耳球虫( <i>E. magna</i> ) /29 马氏艾美耳球虫( <i>E. matsubayashii</i> ) /15 中型艾美耳球虫( <i>E. media</i> ) /27 新兔艾美耳球虫( <i>E. neoleporis</i> ) /15 穿孔艾美耳球虫( <i>E. perforans</i> ) /29 梨形艾美耳球虫( <i>E. piriformis</i> ) /28 斯氏艾美耳球虫( <i>E. stiedai</i> ) /29
羊	阿沙塔艾美耳球虫( <i>E. ahsata</i> ) /20 阿洛艾美耳球虫( <i>E. arloingi</i> ) /25 山羊艾美耳球虫( <i>E. caprina</i> ) /18 克里氏艾美耳球虫( <i>E. christensenii</i> ) /16 福氏艾美耳球虫( <i>E. faurei</i> ) /20 颗粒艾美耳球虫( <i>E. granulosa</i> ) /19 错综艾美耳球虫( <i>E. intricata</i> ) /15 尼氏艾美耳球虫( <i>E. ninakohlyakimovae</i> ) /21 小型艾美耳球虫( <i>E. parva</i> ) /22
猪	蒂氏艾美耳球虫( <i>E. deblickei</i> ) /24 极细艾美耳球虫( <i>E. perminuta</i> ) /16 粗糙艾美耳球虫( <i>E. scabra</i> ) /21 猪艾美耳球虫( <i>E. suis</i> ) /17 猪等孢球虫( <i>Isospora suis</i> ) /19
鸭	毁灭泰泽球虫( <i>Tyzzeria perniciosa</i> ) /15 菲莱氏温扬球虫( <i>Wenyonella philiplevinei</i> ) /15

表 3 国内新发现的 11 个球虫新种

Table 3 11 new species of Coccidia identified in China

宿主	拉丁文名称	中文名称
Host	Latin name	Chinese name
骆驼	<i>Eimeria jilantaii</i> Wei, Wang, 1984	吉兰泰艾美耳球虫
骆驼	<i>Eimeria wulanensis</i> Wei, Wang, 1984	乌兰艾美耳球虫
黄牛	<i>Eimeria yunnanensis</i> Zuo, Chen, 1984	云南艾美耳球虫



(续上表)

牛	<i>Eimeria kwangsiensis</i> Liao, Xu, Hou, Yang, 1986	广西艾美耳球虫
绵羊	<i>Eimeria guyuanensis</i> Xiao, 1992	固原艾美耳球虫
绵羊	<i>Eimeria oodeus</i> Hu, Yan, 1991	卵状艾美耳球虫
绵羊	<i>Eimeria pachmenia</i> Hu, Yan, 1991	厚膜艾美耳球虫
山羊	<i>Eimeria shunyiensis</i> Wang, Shu, Ling, 1990	顺义艾美耳球虫
猪	<i>Eimeria szechuanensis</i> Wu, Jiang, Hu, 1980	四川艾美耳球虫
猪	<i>Eimeria yanglingensis</i> Zhang, Yu, Feng, Li, 1994	杨陵艾美耳球虫
兔	<i>Isospora gigantmicropyle</i> Lin, Wang, Yu, Fu, 1983	大孔等孢球虫

## 2 虫种分离

球虫的纯种分离是进行球虫形态学、遗传学、分子生物学、体外培养、免疫学以及药物筛选等研究的基础与前提条件,进行球虫纯种分离的常用方法是单卵囊分离。我们采用该方法,先后分离获得了柔嫩艾美耳球虫<sup>[14]</sup>、毒害艾美耳球虫<sup>[15]</sup>、堆型艾美耳球虫<sup>[16]</sup>、变位艾美耳球虫<sup>[17]</sup>、巨型艾美耳球虫<sup>[18]</sup>等5种球虫的纯种,对该5种球虫和布氏艾美耳球虫<sup>[19]</sup>的基本生物学特征和致病性进行了测定。观察了柔嫩艾美耳球虫配子体生殖阶段的超微结构<sup>[20]</sup>,检测了柔嫩艾美耳球虫、毒害艾美耳球虫、变位艾美耳球虫的卵囊排泄期<sup>[21]</sup>和该3种球虫的交叉免疫保护效果<sup>[22]</sup>,规范了鸡球虫的分离、培养、鉴定、保存方法<sup>[23]</sup>。随后,又对实验室保存的6种11株鸡球虫进行了单卵囊纯化,经对单卵囊分离物进行鉴定,发现保存的布氏艾美耳球虫被柔嫩艾美耳球虫污染<sup>[24]</sup>。对实验室确定为纯种的5种12株鸡球虫,进行了线粒体细胞色素C氧化酶I亚基(mtCOI)基因片段序列的克隆和同源性与系统进化分析,结果显示球虫同种不同株间的同源率为100%,异种间为86.1%~98.4%,说明mtCOI基因可成为区分鸡球虫不同种的理想靶基因<sup>[25]</sup>。王鑫等<sup>[26]</sup>(2009)、蔡兰等<sup>[27]</sup>(2011)分别用18S rDNA基因对实验室保存的3种8株、4种15株鸡艾美耳球虫进行系统进化分析,结果球虫不同种间的同源率为96.5%~98.1%和94.6%~99.4%,巨型艾美耳球虫不同株间的同源率

为98.7%~99.3%和96.9%~99.8%,柔嫩艾美耳球虫不同株间的同源率为99.7%~99.9%和99.0%~99.9%,说明18S rDNA基因不仅可以区分不同种,还有可能成为区分同种不同株的理想靶基因。这些研究结果为鸡球虫的分子遗传学鉴定提供了实验基础。

## 3 诊断技术

球虫病的诊断以病原学检查为主,在临床上常结合临床症状和病理剖检。为使球虫病的诊断更加规范和便于操作,在全国动物检疫标准化技术委员会的指导下,我们起草了“动物球虫病诊断技术”国家标准,由国家质量监督检验检疫总局于2002年2月正式发布(GB/T 18647-2002)<sup>[28]</sup>。该标准适用于禽类和兔的球虫病(感染)的诊断,包括病原检查和病理检查两部分,详细叙述了每项检查的操作步骤和判定依据,已在动物进出口检验检疫和现场球虫病的诊断中广泛使用。随着人们对大家畜(特别是奶牛)球虫病的重视,我们在进行奶牛球虫感染情况调查的基础上,对奶牛球虫卵囊的检测方法进行了研究<sup>[29]</sup>,考察了6种卵囊漂浮液分别对4种奶牛粪便量的球虫检测效果,确定饱和盐水为奶牛球虫卵囊检测漂浮液,10 g为合适的粪便取样量,为建立奶牛球虫病诊断技术标准奠定了基础。在逐步规范奶牛球虫病病原检测方法的同时,也开展了奶牛球虫感染PCR诊断方法的研究<sup>[30]</sup>,用提取的奶牛球虫基因组DNA进行PCR扩增,扩增产物经1%琼脂糖凝胶电泳后条带单一而清晰,孢子化卵囊和未孢子化卵囊均能扩增出大小相同的片断,经特异性检测,作为对照样品的安氏隐孢子虫(*Cryptosporidium andersoni*)、刚地弓形虫(*Toxoplasma gondii*)、柔嫩艾美耳球虫(*E. tenella*)基因组DNA均无相同的扩增条带,实验显示其最少卵囊检出量为5000个/mL,临床样品检测显示最少检出量的OPG为2780个,该方法还有待进一步完善。

## 4 药物防治

自1939年发现磺胺类药物具有抗球虫效果以来,国内外使用过的抗球虫药物品种已超过30

种, 包括3大类, 属于离子载体类抗球虫药有莫能菌素 (Monensin)、拉沙里菌素 (Lasalocid)、盐霉素 (Salinomycin)、那拉霉素 (Narasin)、马杜霉素 (Maduramycin)、赛杜霉素 (Semduramycin) 和海南霉素 (Hainanmycin) 等及相关制剂, 属于化学合成类抗球虫药主要有磺胺喹噁啉 (Sulfaquinoxaline)、尼卡巴嗪 (Nicarbazin)、呋喃唑酮 (Furazolidone)、球痢灵 (Zoalene)、氨丙啉 (Amprolium)、磺胺氯吡嗪 (Sulfachlorpyrazine)、氯羟吡啶 (Clopidol)、磺胺间二甲氧嘧啶 (Sulfadimethoxine)、癸氧喹酯 (Decoquinate)、氯苯胍 (Robenidine)、氟脲呤 (Arprinocid)、常山酮 (Halofuginone)、妥曲珠利 (Toltrazuril) 和地克珠利 (Diclazuril) 等及相关制剂, 属于中草药类抗球虫药主要有青蒿、驱球净、五草汤、敌球灵和白头翁散等。这些抗球虫药的使用, 为有效控制畜禽球虫病、促进养殖业的发展做出了重大贡献。

上海兽医研究所从事球虫病药物防治研究近40年, 建立了一套完善的抗球虫药物临床试验方法, 先后完成了氯苯胍、蒽环类抗生素80334、尼卡巴嗪、马杜霉素、海南霉素、地克珠利等药物的抗鸡球虫病临床试验。率先开展了国产氯苯胍防治鸡球虫病研究, 进行了氯苯胍对鸡球虫病的笼饲试验与田间试验、对鸡的安全试验、新旧工艺产品的疗效对比试验等, 该项研究获得1980年上海市农业科技成果二等奖<sup>[31,32]</sup>。与上海医药工业研究院合作, 开展了蒽环类抗生素80334防治鸡球虫病研究, 进行了防治柔嫩艾美耳球虫病笼饲试验<sup>[33]</sup>、鸡球虫混合感染试验<sup>[34]</sup>、不同地理株防治试验<sup>[35]</sup>、野外试验<sup>[36]</sup>、对鸡的安全试验<sup>[37]</sup>、在鸡体内残留动态<sup>[38]</sup>、对柔嫩艾美耳球虫作用后裂殖体超微结构观察<sup>[39]</sup>等, 该项研究获得1984年中国农业科学院技术改进三等奖<sup>[40]</sup>。与上海医药工业研究院合作, 开展了尼卡巴嗪防治鸡球虫病研究, 进行了笼饲试验<sup>[41]</sup>、鸡体内残留量测定<sup>[42]</sup>、田间试验与安全试验<sup>[43]</sup>、对鸡球虫免疫力产生影响的观察<sup>[44]</sup>等, 该项研究获得1990年国家医药管理局科技进步三等奖<sup>[45]</sup>。与美国氰胺公司合作, 承担了马杜霉素进口注册的抗鸡球虫病

临床验证工作, 分别完成了笼饲试验<sup>[46]</sup>和田间试验<sup>[47]</sup>。自主研制开发了抗球虫病新药地克珠利, 用原料药或预混剂进行了防治鸡柔嫩艾美耳球虫试验<sup>[48]</sup>、不同剂量的药效试验<sup>[49]</sup>、防治鸡球虫病现场试验<sup>[50]</sup>、防治鸡球虫不同地理株试验<sup>[51]</sup>、防治鸡球虫5个虫种的笼饲试验<sup>[52]</sup>等, 原料药和0.5%预混剂于1997年4月率先获得农业部颁发的新兽药证书[(97)新兽药证字第03号、04号], 该项研究分别获得1998年农业部科技进步二等奖和1999年国家科技进步三等奖<sup>[53]</sup>。同时开发了0.5%地克珠利溶液, 考察了其预防鸡球虫病的效果<sup>[54]</sup>, 于1999年4月获得农业部颁发的新兽药证书[(99)新兽药证字第04号], 该项研究获得2000年中国农业科学院科学技术二等奖<sup>[55]</sup>。与江苏省常州市第二制药厂合作, 开展了海南霉素防治鸡球虫病研究, 进行了该药对5种鸡球虫的药效试验<sup>[56]</sup>、防治鸡球虫病舍饲试验<sup>[57]</sup>、鸡球虫广州分离株的疗效试验<sup>[58]</sup>、鸡球虫病的预防和治疗效果评价<sup>[59]</sup>等, 该产品为我国第一个获得一类新兽药证书的原创性抗球虫药。此外, 还进行了水溶性氨丙啉防治柔嫩艾美耳球虫笼饲试验, 经连续7 d饮水给药, 其抗球虫指数 (anticoccidiosis index, ACI) 达188, 试验组饮水量与健康对照组无显明差异<sup>[60]</sup>; 比较了地克珠利、常山酮、氯羟吡啶、马杜霉素、盐霉素预防柔嫩艾美耳球虫的效果, 其ACI, 地克珠利、常山酮、马杜霉素均在192以上, 氯羟吡啶为168~180, 盐霉素为165~171<sup>[61]</sup>; 进行了地克珠利、拉沙里菌素、莫能菌素防治现场奶牛球虫病研究, 连续用药9 d后奶牛的球虫卵囊减少率分别为78.91%、80.92%、98.82%<sup>[62]</sup>; 开展了地克珠利、磺胺喹恶啉钠、磺胺氯吡嗪钠、托曲珠利、白头翁散等5种药物对肉鸽球虫病的防治试验, 其相对卵囊减少率, 2种磺胺药均在98%以上, 白头翁散为91%~99%, 托曲珠利为88%~93%, 地克珠利为67.4%~79.6%<sup>[63]</sup>。近年还研制与测定了中草药制剂TF-103<sup>[64]</sup>、化学合成药纳川珠利 (Nitromezuril)<sup>[65,66]</sup>与沙咪珠利 (Acetamizuril)<sup>[67]</sup>的抗球虫效果, 有望开发成新的抗球虫药。

## 5 抗药性检测



任何一种抗球虫药的长期或不合理使用,都会导致球虫耐药性的产生。定期检测现场球虫对抗球虫药物的耐受程度,将有助于制订合理的用药方案,有效控制球虫病的发生,减少因球虫病造成的经济损失。检测球虫耐药性的方法有笼饲试验法、鸡胚试验法、细胞培养试验法、聚丙烯酰胺凝胶电泳法、同工酶电泳测定法、PCR测定法等,其中笼饲试验法中又采用卵囊产量、病变记分、增重、最适抗球虫活性百分率、粪便记分比率、抗球虫指数等单项或多项指标进行评定<sup>[68,69]</sup>。孔繁瑶等<sup>[70]</sup>(1994)在检测我国12个省区15株柔嫩艾美耳球虫对5种抗球虫药物的敏感性时,率先采用最适抗球虫活性百分率(percent of optimum anticoccidial activity, POAA)、病变记分减少率(reduction of lesion scores, RLS)、相对卵囊产量(relative oocyst production, ROP)3项指标综合评价所测球虫株对药物的抗药程度,分为敏感(-)、轻度抗药(+)、中度抗药(++)、严重抗药(+++)4个等级。黄兵等<sup>[71]</sup>在对上海一鸡场球虫进行3种抗球虫药物的抗药性检测中,在POAA、RLS、ROP的基础上增加了抗球虫指数(ACI),采用4项指标进行抗药性评价,分为敏感(-)、轻度抗药(+)、中度抗药(++)、严重抗药(+++或++++)4个等级。随后在对上海9个区县10个鸡场的球虫进行6种药物的抗药性检测中<sup>[72]</sup>,继续采用了POAA、RLS、ROP、ACI 4项指标来评判所检测球虫的抗药性,结果达到中度及以上抗药程度的百分比为莫能霉素100%、氯丙啉90%、氯羟吡啶80%、马杜霉素50、氯苯胍10%、地克珠利为0。陈兆国等<sup>[73]</sup>从4项指标各自的特点、评价结果的一致性、其他指标、试验总体结果等4个方面,对采用POAA、RLS、ROP、ACI进行球虫抗药性判定的准确性进行了评价,认为该综合评定球虫抗药性的方法是有效的、可靠的。我们根据现场球虫抗药性的检测结果,对相关鸡场提出了合理使用抗球虫药的方案,在试验基地采取了预防或减少抗药性产生的措施,有效地控制了鸡球虫病的发生,提高了养鸡场的经济效益,该项目获得2003年上海市科技进步三等奖<sup>[74]</sup>。至今,POAA、RLS、ROP、ACI 4项指标已在检测鸡球虫

抗药性中广泛应用,如检测广东<sup>[58,75,76]</sup>、陕西<sup>[77-79]</sup>、安徽<sup>[80-82]</sup>、江苏<sup>[80,83,84]</sup>、甘肃<sup>[85]</sup>、青海<sup>[86]</sup>、河北<sup>[87,88]</sup>、吉林<sup>[89,90]</sup>、广西<sup>[91]</sup>、浙江<sup>[92]</sup>等省地区相关鸡场球虫对抗球虫药物的抗药性,均采用这4项指标进行判定。

此外,还诱导获得了柔嫩艾美耳球虫地克珠利抗药株和马杜拉霉素抗药株<sup>[93]</sup>,构建了2个抗药株与敏感株的差异表达基因消减cDNA文库,发现一些可能与耐药性产生相关的基因(如柔嫩艾美耳球虫半胱氨酸蛋白酶基因)<sup>[94]</sup>,用银染mRNA差异显示技术分析抗药株与敏感株之间的差异表达基因<sup>[96]</sup>,并比较了抗药株与敏感株的18S rDNA基因序列和二级结构差异<sup>[97]</sup>。从消减cDNA文库中克隆和表达了与抗药性相关的基因M20<sup>[97]</sup>。根据M20基因序列设计特异性引物,建立了SYBR Green real-time PCR和TaqMan Probe real-time PCR两种用于检测球虫抗药性的方法,并用SYBR Green real-time PCR法对现场分离的球虫进行抗药性检测<sup>[98]</sup>。用双向电泳技术对2个抗药株与敏感株的第二代裂殖子<sup>[99]</sup>和孢子化卵囊<sup>[100,101]</sup>进行了蛋白质差异分析,用质谱技术分别鉴定了7个(地克珠利抗药株4个、马杜霉素抗药株3个)差异明显的蛋白质斑点,对其结构和功能进行了预测。通过对2个抗药株进行基因重组获得同时具备抗地克珠利和马杜霉素的抗药株重组体<sup>[102]</sup>,对双重抗药株、单重抗药株和敏感株进行了乳酸脱氢酶、磷酸葡萄糖异构酶、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶的同工酶分析<sup>[103]</sup>。这些研究为深入探讨球虫的抗药性机制奠定了基础。

## 6 免疫预防

抗球虫药的广泛使用,对有效控制球虫病的危害,减少养殖业的经济损失发挥了重要作用。由于球虫抗药性的不断产生,导致药物效果不断下降,生产者往往不得不增加药物的使用剂量,致使药物在畜禽体内的残留超标,为动物源性食品安全带来潜在威胁。免疫预防是球虫病防治的发展方向,既可改善球虫的抗药性,又能避免药物残留。上海兽医研究所在上世纪90年代初就开始了球虫病的免疫预防研究,观察了NTG处理球虫诱导雏鸡的保护性免疫<sup>[104]</sup>和腹腔注射短小棒状杆菌诱导雏鸡对球虫的免

疫保护<sup>[105]</sup>, 评估了双重致弱球虫疫苗(DLV虫苗)在实验室和田间的免疫保护效果<sup>[106]</sup>, 报道了6批中试产品在6个省市进行的24批区域试验结果<sup>[107]</sup>, 该疫苗于2000年获得国家新兽药证书[(2000)新兽药证字第37号], 为国内批准的第一个球虫疫苗, 该项研究先后获得1997年上海科学技术进步奖二等奖(鸡球虫病综合免疫预防的研究)<sup>[108]</sup>、2003年上海科学技术进步奖二等奖(鸡球虫混合苗在集约化鸡场的应用)<sup>[109]</sup>、2003年中国农业科学院科学技术成果一等奖(鸡球虫三价混合疫苗(DLV苗)免疫预防研究)<sup>[110]</sup>。后来, 又开展了球虫早熟株的选育工作, 先后成功选育柔嫩艾美耳球虫早熟株<sup>[111]</sup>、堆型艾美耳球虫早熟株<sup>[112]</sup>、巨型艾美耳球虫早熟株<sup>[113]</sup>, 其潜在期分别比母株缩短了23 h、15 h、35 h。进行了3种球虫早熟株对8种抗球虫药的敏感性试验, 巨型艾美耳球虫早熟株对地克珠利、氯苯胍、二硝托胺、癸氧喹酯、尼卡巴嗪、马杜霉素、盐霉素和拉沙里菌素均敏感, 柔嫩艾美耳球虫早熟株对盐霉素轻度敏感、另7种药物敏感, 堆型艾美耳球虫早熟株对盐霉素轻度敏感、对二硝托胺不敏感、另6种药物敏感<sup>[114,115]</sup>。研究了3种球虫早熟株的免疫剂量, 通过免疫保护效果比较, 推荐每羽鸡接种卵囊剂量分别为柔嫩艾美耳球虫早熟株600个、堆型艾美耳球虫早熟株600个、巨型艾美耳球虫早熟株200个<sup>[116-118]</sup>。此外, 还完成了早熟株疫苗的悬浮液、保存条件、保存时间、配制工艺等研究, 已取得的研究结果为开发球虫早熟株疫苗奠定了良好基础。

## 7 体外培养

球虫的体外培养是研究球虫内生发育、入侵机制、药物筛选、虫株致弱等的重要技术平台, 包括鸡胚传代和细胞培养两部分。上海兽医研究所在上世纪80年代初就进行了球虫的鸡胚传代研究, 曾在鸡胚中连续传柔嫩艾美耳球虫120多代, 测其致病性明显减弱, 但回鸡后返强明显。后又开展了鸡肾细胞繁殖球虫研究, 成功在鸡肾细胞培养物中观察到柔嫩艾美耳球虫完整的内生性发育阶段, 从细胞培养物中收集的卵囊经培养孢子化后感染雏鸡获得下一代卵囊<sup>[119]</sup>。为了提高鸡胚培养球虫卵囊的收

获量, 我们又对鸡胚的接种日龄、子孢子接种量、胰岛素和叶酸的添加量等进行了研究, 结果显示, 接种9日龄鸡胚、每胚接种子孢子 $1 \times 10^4$ 个、在子孢子混悬液中加入胰岛素1000 U/mL和叶酸0.05 mg/mL, 在37℃培养箱中培养10 d, 是毒害艾美耳球虫的鸡胚培养适宜体系<sup>[120]</sup>; 接种10日龄鸡胚、每胚接种子孢子 $1 \times 10^4$ 个、在子孢子混悬液中加入胰岛素100 U/mL, 在37℃培养箱中培养8~9 d, 是柔嫩艾美耳球虫的鸡胚培养适宜体系<sup>[121]</sup>。首次将鸡胚成纤维传代细胞(DF-1)应用于球虫培养, 建立了柔嫩艾美耳球虫DF-1细胞培养体系, 通过对细胞铺板量、子孢子接种剂量、培养基中胎牛血清浓度等的摸索, 优化了球虫细胞培养条件, 并建立了流式细胞仪检测子孢子入侵活力的方法, 确定了检测球虫子孢子入侵活力的最佳时间, 比较了球虫子孢子对DF-1、MDBK(牛肾细胞)、Vero(猴肾细胞)、BHK(乳仓鼠肾细胞)、MDCK(犬肾细胞)等5种细胞的入侵活力, 观测了不同浓度的子孢子多抗血清对子孢子入侵DF-1细胞的抑制情况<sup>[122]</sup>。目前, 球虫体外培养技术已在球虫分子生物学领域得到广泛应用。

## 8 分子生物学

随着分子生物学技术的飞速发展, 对球虫的研究已从宏观的普通生物学深入到微观的分子生物学, 上海兽医研究所对球虫的研究也从流行病学调查与防治向核酸与蛋白质扩展。开展了用聚丙烯酰胺凝胶电泳进行球虫同工酶的初步研究<sup>[123]</sup>, 检测了柔嫩艾美耳球虫未孢子化卵囊、孢子化卵囊、孢子囊的乳酸脱氢酶(LDH)、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)、异柠檬酸脱氢酶(IDH)、6-磷酸葡萄糖脱氢酶(6PGD)、磷酸葡萄糖变位酶(PGM)、碱性磷酸酶(ALP)、葡萄糖磷酸异构酶(GPI)的同工酶<sup>[124]</sup>, 研究了柔嫩艾美耳球虫、毒害艾美耳球虫、巨型艾美耳球虫、变位艾美耳球虫、堆型艾美耳球虫的LDH、GPI、G6PD、ALP、6PGD的同工酶<sup>[125]</sup>。利用RT-PCR方法扩增、克隆了柔嫩艾美耳球虫第二代裂殖子表面抗原基因( $\lambda$  MZ5-7)<sup>[126,127]</sup>和热激蛋白(HSP)基因<sup>[128]</sup>, 并在大肠杆菌中得到



表达,经检测其重组蛋白具有抗原性,为进一步研究这些基因的生物学功能奠定了基础。应用杂交瘤技术制备了抗柔嫩艾美耳球虫A08蛋白(*EtA08*)和棒状体蛋白(*EtRP*)的单克隆抗体,用单抗对*EtRP*在子孢子中的分布进行分子定位,观测了经单抗处理后对子孢子入侵细胞的影响,分析了*EtA08*基因在球虫不同发育阶段的转录情况,构建了*EtA08*基因的毕赤酵母表达系统<sup>[119-131]</sup>。制备了柔嫩艾美耳球虫乳酸脱氢酶(*EtLDH*)单克隆抗体,用单抗对*EtLDH*在第二代裂殖子中的分布进行了定位<sup>[132]</sup>。针对不同种鸡球虫的保护性抗原基因不同,先后构建了柔嫩艾美耳球虫孢子化卵囊cDNA文库<sup>[133]</sup>、堆型艾美耳球虫孢子化卵囊cDNA文库<sup>[134]</sup>、毒害艾美耳球虫孢子化卵囊cDNA文库<sup>[135]</sup>、巨型艾美耳球虫孢子化卵囊cDNA文库<sup>[136]</sup>,对部分文库进行了抗原基因的筛选<sup>[137]</sup>,经扩增和序列分析,获得堆型艾美耳球虫巨噬细胞移动抑制因子基因<sup>[138]</sup>和堆型艾美耳球虫1个新基因(GenBank登录号:EU590120)<sup>[139]</sup>。为了筛选与鸡球虫入侵和发育相关基因,构建了柔嫩艾美耳球虫孢子发育阶段抑制性消减文库<sup>[140]</sup>,利用抑制性消减杂交技术(SSH)和cDNA微阵列技术,大规模筛选了柔嫩艾美耳球虫孢子化和孢子化卵囊阶段虫体差异表达基因,获得了大量差异表达基因的ESTs序列(Genbank登录号:ES346882~ES346911、ES351351~ES351428和GR935578~GR935588)<sup>[141]</sup>。根据ESTs序列,利用RACE技术扩增全长基因获得了11个含完整开放阅读框的新基因,对一些重要基因功能进行了初步研究,包括*EtSerp*<sup>[142]</sup>,*EtAMA1*<sup>[143]</sup>,*EtCDPK3*<sup>[144]</sup>,*EtPDI*<sup>[145]</sup>,*EtLDH*<sup>[146]</sup>,*EteIF3*<sup>[147]</sup>,*EtCHP559*<sup>[148]</sup>等。部分功能基因在原核表达系统或毕赤酵母表达系统或动物细胞中获得表达,包括新基因ZB7-C11(Genbank登录号:GU553107)<sup>[149]</sup>、*EtSAG*<sup>[150]</sup>、新基因ZL583(Genbank登录号:HQ877408)<sup>[151]</sup>、*EteIF3d*<sup>[152]</sup>、*EtCDPK3*<sup>[153,154]</sup>、*EtRON2*<sup>[155]</sup>、*EtLDH*<sup>[156]</sup>、*EtSIR*<sup>[157]</sup>和*EtSerp*<sup>[158]</sup>等,对获得的部分重组蛋白进行了免疫保护性初步研究。构建了柔嫩艾美耳球虫孢子<sup>[159]</sup>和裂殖子<sup>[160]</sup>酵母双杂交cDNA文库,利用酵母双杂交技术以*EtAMA1*为诱饵在构建的子孢子文库

中筛选到与之相互作用的相关蛋白14个。对其中3个EST序列进行扩增,其基因全长与基因组数据库比对,确定分别为柔嫩艾美耳球虫保守假蛋白(*EtCHP559*)<sup>[161]</sup>、柔嫩艾美耳球虫胱硫醚 $\beta$ 合成酶(*EtCBS*)<sup>[162]</sup>、柔嫩艾美耳球虫丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(*EtSTK*)<sup>[163]</sup>,分别构建了这3个基因的真核重组表达质粒,在DF-1细胞中获得表达。还构建了柔嫩艾美耳球虫钙依赖蛋白激酶4(*EtCDPK4*)酵母双杂交诱饵质粒,经检测没有自激活活性和细胞毒性,能在酵母细胞中表达,为筛选*EtCDPK4*的互作蛋白奠定了基础<sup>[164]</sup>。获得这些与球虫入侵、发育相关的关键分子或基因,对进一步探讨球虫的入侵与内生性发育机制、发现新的抗球虫疫苗候选分子和药物作用靶标等具有重要意义。

## 10 展望

回顾我所几十年从事球虫生物学与球虫病防治研究的历程,老一辈科学家注重科研与生产的结合,以解决养殖业发展中的难点作为科研攻关重点,在鸡球虫病的药物防治和免疫预防研究领域取得了辉煌业绩;中青年一代继承老一辈的优良传统,除继续加强抗球虫新药物和球虫疫苗研究外,在球虫病的流行病学调查、球虫的纯种建立与长期保存、体外培养、抗药性检测、球虫入侵与发育相关基因的功能研究等方面也取得了长足发展。展望未来,任务艰巨,还有许多难题需要青年一代去攻坚克难。1)在球虫病药物防治研究方面,由于新药研制的周期长、投入大,应重点加强现场球虫的耐药性监测,制订合理与合规的药物使用程序,研究消除或延缓球虫耐药性产生的方法,适当研制与开发现有药物的新制剂,延长现有抗球虫药物的生命周期。2)在球虫病免疫预防研究方面,由于我国畜禽球虫种类多、分布广,应重点加强主要畜禽球虫病的多价弱毒活疫苗研究,同时积极筛选具有种、属特征和较好免疫保护效果的抗原,寻找合适的多抗原表达载体,为研制球虫基因工程疫苗奠定基础。3)在球虫的基础研究方面,由于球虫具有较强的宿主特异性、组织特异性和细胞特异性,应重点加强不同球虫的全基因组测序,寻找不同球虫侵



入不同宿主和定位于不同组织与不同细胞的关键分子, 为阐明球虫的入侵与发育机制提供基础。4) 在球虫的体外培养研究方面, 继续寻找或建立能用于体外完成整个球虫生活史的合适细胞株, 为基因编辑技术有效用于球虫研究提供基础。

球虫病仍是目前和未来较长时间里严重危害我国养殖业发展的重要寄生虫病, 上海兽医研究所作为我国球虫与球虫病防治研究领域的国家队, 不论是基础研究还是应用研究, 都应面向世界农业科技前沿, 面向国家重大需求, 面向现代农业建设主战场, 在国家实施乡村振兴战略中, 为提升农业发展质量、促进农村社会稳定、增加农民经济收入做出应有的贡献。

#### 参考文献

- [1] Long P L. The biology of the coccidia[M]. London: Edward Arnold, 1982: 2-9.
- [2] Duszynski D W, Upton S J, Couch L. The coccidia of the world[EB/OL]. <http://biology.unm.edu/coccidia/home.html>. [2013-10-25].
- [3] 史天卫, 张惠英, 韩志华. 上海地区鸡球虫种类的初步调查[J]. 上海畜牧兽医通讯, 1989(1): 23.
- [4] 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): 313-316.
- [5] 董辉, 赵其平, 韩红玉, 等. 上海市鸽球虫感染情况初步调查与种类鉴定[J]. 中国动物传染病学报, 2012, 20(1): 64-68.
- [6] 黄兵. 中国家畜家禽寄生虫名录[M]. 2版. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2014: 10-23, 218-286.
- [7] 黄兵, 赵其平, 陈燕军, 等. 上海地区鸡球虫病情调查与防治对策[J]. 中国兽医寄生虫病, 2002, 10(2): 14-16.
- [8] 姚倩, 韩红玉, 黄兵, 等. 上海地区家鸭球虫种类初步调查[J]. 中国动物传染病学报, 2009, 17(1): 58-60.
- [9] 姚倩, 韩红玉, 黄兵, 等. 上海市郊家鸭球虫感染情况调查研究[J]. 中国家禽, 2009, 31(10): 23-26.
- [10] 赵其平, 韩红玉, 王赞江, 等. 上海地区奶牛场球虫感染现状调查[J]. 畜牧与兽医, 2007, 39(11): 43-46.
- [11] Dong H, Zhao Q P, Han H Y, *et al.* Prevalence of coccidial infection in dairy cattle in Shanghai, China[J]. J Parasitol, 2012, 98(5): 963-966.
- [12] 董辉, 曹希亮, 黄兵, 等. 中国部分地区奶牛球虫病流行病学调查[J]. 中国奶牛, 2012(9): 29-31.
- [13] Dong H, Li C H, Zhao Q P, *et al.* Prevalence of Eimeria infection in yaks on the Qinghai-Tibet plateau of China[J]. J Parasitol, 2012, 98(5): 958-962.
- [14] 黄兵, 赵其平, 吴薛忠, 等. 柔嫩艾美耳球虫纯种的初步确定和致病性研究[J]. 上海畜牧兽医通讯, 1993(5): 18-20.
- [15] 黄兵, 吴薛忠, 史天卫, 等. 毒害艾美耳球虫纯种分离的初步鉴定和致病性研究[J]. 中国兽医寄生虫病, 1993, 1(4): 24-28.
- [16] 黄兵, 史天卫, 赵其平, 等. 堆型艾美耳球虫的分离纯化和致病性试验[J]. 中国兽医科技, 1994, 24(9): 23-24.
- [17] 黄兵, 赵其平, 吴薛忠, 等. 变位艾美耳球虫纯种的初步确定和致病性研究[J]. 中国家禽, 1995(增刊1): 37-41.
- [18] 黄兵, 史天卫, 吴薛忠, 等. 巨型艾美耳球虫纯种鉴定和致病性研究[J]. 中国兽医寄生虫病, 1995, 3(4): 12-14, 8.
- [19] 赵其平, 黄兵, 吴薛忠, 等. 布氏艾美耳球虫某些生物学特性测定[J]. 中国兽医寄生虫病, 1996, 4(4): 19-21.
- [20] 李淦, 张惠英, 韩志华, 等. 脆弱艾美耳球虫配子体生殖阶段的超微结构观察[J]. 上海畜牧兽医通讯, 1985(1): 4-9.
- [21] 黄兵, 赵其平, 何林华, 等. 三种艾美耳球虫感染鸡卵囊排泄期的观察[J]. 中国兽医寄生虫病, 1995, 3(2): 24-25.
- [22] 黄兵, 赵其平, 何林华, 等. 柔嫩艾美耳球虫毒害艾美耳球虫变位艾美耳球虫交叉免疫试验[J]. 中国兽医杂志, 1995, 21(3): 24-25.
- [23] 黄兵, 韩红玉, 董辉, 等. 鸡球虫的分离与保存[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2006, 24(增刊): s82-s84.
- [24] 王鑫, 黄兵, 赵其平, 等. 鸡艾美耳球虫单卵囊分离与种类鉴定[J]. 复旦学报(自然科学版), 2007, 46(6): 930-936.
- [25] 王鑫, 韩红玉, 姜连连, 等. 鸡球虫mt CO I 基因片段序列的克隆与系统学分析[J]. 水生生物学报, 2008, 32(增刊): 74-79.
- [26] 王鑫, 韩红玉, 姜连连, 等. 鸡球虫18S rRNA基因序列的测定与分析[J]. 生物技术通报, 2009(增刊): 305-309.
- [27] 蔡兰, 韩红玉, 黄兵, 等. 鸡艾美耳球虫18S rDNA序列与系统进化分析[J]. 中国动物传染病学报, 2011, 19(4): 55-61.
- [28] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 动物球虫病诊断技术: GB/T 18647-2002[S]. 北京: 中国标准出版社, 2002.
- [29] 赵其平, 姜连连, 韩红玉, 等. 奶牛球虫卵囊检测方法[J]. 中国兽医杂志, 2008, 44(6): 26-27.
- [30] 姜连连, 赵其平, 韩红玉, 等. 奶牛球虫感染PCR诊断方

- 法的建立[J]. 科学研究月刊, 2007(3): 104-106.
- [31] 许绶泰, 史天卫, 杨振中, 等. 鸡球虫病药物防治研究 (二) 氯苯胍对四种艾美耳球虫病疗效的笼饲试验[J]. 家禽, 1980(1): 1-3.
- [32] 许绶泰, 史天卫, 韩志华. 国产氯苯胍防治鸡球虫病[G]//中国农业科学院上海家畜寄生虫病研究所. 科研成果汇编 (1978~1994), 1994: 17.
- [33] 吴薛忠, 史天卫, 韩志华, 等. 萘环类抗生素80334防治鸡柔嫩艾美耳球虫病的笼饲试验研究[J]. 兽医科技杂志, 1984(11): 3-6.
- [34] 张惠英, 史天卫, 韩志华, 等. 萘环类抗生素80334防治鸡艾美耳球虫混合感染的试验研究[J]. 养禽与禽病防治, 1985(6): 61-62.
- [35] 黄兵, 史天卫, 张惠英, 等. 萘环类抗生素80334对鸡柔嫩艾美耳球虫不同地理株的防治试验研究[J]. 养禽与禽病防治, 1985(6): 62-63.
- [36] 韩志华, 史天卫, 张惠英, 等. 萘环类抗生素80334防治鸡球虫病野外试验[J]. 中国农业科学, 1985, 18(3): 76-78.
- [37] 史天卫, 吴薛忠, 韩志华, 等. 萘环类抗生素80334对鸡的安全试验研究[J]. 兽医科技杂志, 1984(12): 12-14.
- [38] 史天卫. 萘环类抗生素80334在鸡体内残留动态[J]. 中国农业科学, 1985, 18(5): 95.
- [39] 李录, 史天卫, 张惠英, 等. 萘环类抗生素80334对柔嫩艾美耳球虫作用后裂殖体阶段超微结构的观察[J]. 中国农业科学, 1986, 19(5): 77-80.
- [40] 史天卫, 张惠英, 韩志华, 等. 萘环类抗生素80334防治鸡球虫病[G]//中国农业科学院上海家畜寄生虫病研究所. 科研成果汇编 (1978~1994), 1994: 20.
- [41] 史天卫, 张惠英, 韩志华, 等. 尼卡巴嗪防治鸡球虫病的笼饲试验[J]. 上海畜牧兽医通讯, 1985(6): 5-6, 4.
- [42] 张秀平, 李广云, 陈根娣, 等. 尼卡巴嗪在鸡体内的残留量测定[J]. 上海畜牧兽医通讯, 1986(2): 1-2.
- [43] 史天卫, 吴薛忠, 韩志华, 等. 尼卡巴嗪(Nicarbazin)防治鸡球虫病田间试验与对鸡的安全试验研究[J]. 中国兽医杂志, 1987, 13(5): 2-4.
- [44] 史天卫, 吴薛忠, 韩志华, 等. 尼卡巴嗪对鸡柔嫩艾美耳球虫病免疫力产生影响的观察[J]. 上海畜牧兽医通讯, 1989(6): 9-10.
- [45] 张秀平, 史天卫, 李广云, 等. 抗球虫药——球虫净(尼卡巴嗪)[G]//中国农业科学院上海家畜寄生虫病研究所. 科研成果汇编 (1978~1994), 1994: 19.
- [46] 黄兵, 史天卫, 吴薛忠, 等. 加福抗鸡柔嫩艾美耳球虫笼饲试验[J]. 中国家禽, 1991(6): 28-30.
- [47] 史天卫, 吴薛忠, 韩志华, 等. 马杜拉霉素防治鸡球虫病田间试验研究[J]. 中国家禽, 1992(1): 31-32.
- [48] 吴薛忠, 史天卫, 黄兵, 等. 新型抗球虫药AC-1防治鸡E. tenella试验[J]. 中国兽医寄生虫病, 1994, 2(1): 44-45, 48.
- [49] 赵其平, 吴薛忠, 陈兆国, 等. 抗球虫新药球佳的药效试验[J]. 中国兽医科技, 1998, 28(5): 27-28.
- [50] 赵其平, 吴薛忠, 叶明忠, 等. 球佳防治鸡球虫病现场试验[J]. 中国兽医寄生虫病, 1998, 6(1): 28-29.
- [51] 赵其平, 吴薛忠, 黄兵, 等. 抗球虫药“球佳”防治鸡艾美耳球虫不同地理株的试验[J]. 上海畜牧兽医通讯, 1998(2): 16-17.
- [52] 赵其平, 黄兵, 陈兆国, 等. 抗球虫药球佳防治鸡艾美耳球虫5个虫种的笼饲试验[J]. 中国兽医杂志, 1999, 25(3): 15-16.
- [53] 史天卫, 孙晓泉, 徐庆梅, 等. 地克珠利(Diclazuril)的研制与开发[G]//中国农业科学院上海家畜寄生虫病研究所. 科研成果与论文摘要汇编 (1994~2003), 2004: 2-3.
- [54] 陈兆国, 赵其平, 徐庆梅, 等. 0.5%地克珠利可溶性粉剂预防鸡球虫病试验[J]. 中国兽药杂志, 2001, 35(4): 16-18.
- [55] 徐庆梅, 张丽芳, 吴薛忠, 等. 地克珠利溶液的研制与开发[G]//中国农业科学院上海家畜寄生虫病研究所. 科研成果与论文摘要汇编 (1994~2003). 2004: 11.
- [56] 吴薛忠, 黄兵, 赵其平, 等. 鸡球素对五种鸡球虫的药效试验[J]. 中国兽医科技, 1994, 24(11): 25-26.
- [57] 黄兵, 赵其平, 吴薛忠, 等. 鸡球素防治鸡球虫病舍饲试验[J]. 中国家禽, 1995(3): 18.
- [58] 黄兵, 赵其平, 韩红玉, 等. 鸡球虫广州虫株对三种药物的抗药性研究[J]. 养禽与禽病防治, 2002(1): 14-17.
- [59] 黄兵, 赵其平, 韩红玉, 等. 海南霉素对鸡球虫病的预防和治疗效果评价[J]. 中国兽医杂志, 2002, 38(10): 6-9.
- [60] 吴薛忠, 史天卫, 韩志华, 等. 水溶性氨丙啉治疗鸡柔嫩艾美耳球虫的笼饲试验[J]. 上海畜牧兽医通讯, 1991(3): 11.
- [61] 黄兵, 吴薛忠, 史天卫, 等. 五种抗球虫药防治鸡E. tenella的疗效对比试验[J]. 中国兽医寄生虫病, 1995, 3(2): 19-23.
- [62] 赵其平, 姜连连, 韩红玉, 等. 三种药物防治奶牛球虫病试验[J]. 中国兽医寄生虫病, 2007, 15(3): 15-17.
- [63] 赵其平, 朱顺海, 韩红玉, 等. 五种抗球虫药对肉鸽球虫病防治研究[J]. 中国家禽, 2012, 34(12): 26-29.
- [64] 费陈忠, 薛飞群, 赵其平. 中草药制剂TF-103抗鸡柔嫩艾美耳球虫病的临床试验[J]. 中兽医医药杂志, 2004(3): 48-50.

- [65] 费陈忠, 韩春周, 林洋, 等. 抗鸡球虫病的三嗪类新化合物纳川珠利的药效试验[J]. 中国兽药杂志, 2010, 44(7): 11-12, 31.
- [66] Fei C Z, Fan C, Zhao Q P, *et al.* Anticoccidial effects of a novel triazine nitroimezural in broiler chickens[J]. *Vet Parasitol*, 2013, 198(1-2): 39-44.
- [67] Liu L L, Chen Z G, Mi R S, *et al.* Effect of acetamizuril on enolase in second-generation merozoites of *Eimeria tenella*[J]. *Vet Parasitol*, 2016, 215: 88-91.
- [68] 孔繁瑶, 宁长申, 殷佩云. 鸡球虫抗药性现场测定方法综述[J]. 中国兽医学报, 1994, 14(1): 90-94.
- [69] 陈兆国, 黄兵, 史天卫, 等. 球虫抗药性检测方法评述[J]. 中国兽医寄生虫病, 2001, 9(3): 47-51, 55.
- [70] 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, 20(3): 302-308.
- [71] 黄兵, 赵其平, 吴薛忠, 等. 鸡球虫对三种药物的抗药性试验[J]. 华东师范大学学报(自然科学版), 2000: 1-6.
- [72] 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.
- [73] 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.
- [74] 黄兵, 赵其平, 陈燕军, 等. 集约化养鸡球虫抗药性监测技术的推广应用[G]//中国农业科学院上海家畜寄生虫病研究所. 科研成果与论文摘要汇编 (1994 ~ 2003), 2004: 7.
- [75] 赵其平, 韩红玉, 黄兵, 等. 鸡球虫广东清远分离株对七种药物的抗药性试验[J]. 中国兽医寄生虫病, 2003, 11(2): 13-17.
- [76] 陈玉婷, 彭新宇, 袁明贵, 等. 3株柔嫩艾美耳球虫野外分离株的药物敏感性试验研究[J]. 广东农业科学, 2013 (22): 125-128.
- [77] 林青, 于三科, 何小刚, 等. 柔嫩艾美耳球虫 YL 株抗药性研究[J]. 动物医学进展, 2003, 24(6): 103-105.
- [78] 林青, 于三科, 张彦明, 等. 柔嫩艾美耳球虫杨凌株对几种抗球虫药的抗药性研究[J]. 中国农学通报, 2005, 21(3): 45-47, 73.
- [79] 丛湄湄, 王兴叶, 任万欣, 等. 巨型艾美耳球虫杨凌株对三种抗球虫药物的抗药性研究[J]. 动物医学进展, 2012, 33(7): 60-62.
- [80] 顾有方, 郭广富, 陈会良. 5株柔嫩艾美耳球虫对4种抗球虫药的抗药性[J]. 畜牧兽医学报, 2004, 35(6): 727-730.
- [81] 吴金凤, 曾明华, 王凤, 等. 安徽3个地区柔嫩艾美耳球虫对6种药物的抗药性[J]. 中国兽医寄生虫病, 2008, 16(6): 22-25.
- [82] 赵其平, 倪玉明, 李洋, 等. 安徽两个鸡场球虫的抗药性试验[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(21): 11142-11143, 11324.
- [83] 许金俊, 陶建平, 彭金彪, 等. 柔嫩艾美耳球虫扬州分离株对8种抗球虫药的抗药性[J]. 畜牧与兽医, 2008, 40(1): 18-22.
- [84] 高艳风, 毛雪, 陶建平, 等. 柔嫩艾美耳球虫常州株对5种抗球虫药的抗药性分析[J]. 中国畜牧兽医, 2010, 37(11): 146-149.
- [85] 林青, 窦永喜, 闫鸿斌, 等. 柔嫩艾美耳球虫甘肃株抗药性的试验研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2006, 34(4): 5-8.
- [86] 康明, 李英, 董景学. 鸡柔嫩艾美耳球虫西宁株的抗药性研究[J]. 畜牧与兽医, 2009, 41(6): 13-17.
- [87] 张香斋, 李佩国, 李蕴玉, 等. 柔嫩艾美耳球虫秦皇岛和唐山分离株对7种抗球虫药的耐药性[J]. 中国兽医学报, 2009, 29(8): 994-997.
- [88] 蒋禄峰, 常丽云, 张晶, 等. 河北省部分地区柔嫩艾美耳球虫野外分离株耐药性检测[J]. 中国动物保健, 2015, 17(6): 78-81.
- [89] 魏峰, 许越, 殷丽红, 等. 柔嫩艾美耳球虫长春分离株对7种抗球虫药的抗药性研究[J]. 吉林农业大学学报, 2010, 32(3): 345-348.
- [90] 姚新华, 苑淑贤, 任科研, 等. 柔嫩艾美耳球虫长春株的抗药性试验研究[J]. 中国畜禽种业, 2011(11): 149-151.
- [91] 韦园园. 广西部分地区鸡球虫抗药性的研究[D]. 南宁: 广西大学, 2012.
- [92] 蔡兰, 朱顺海, 赵其平, 等. 绍兴市5个鸡场球虫分离株抗药性试验[J]. 浙江农业学报, 2015, 27(4): 532-536.
- [93] 韩红玉, 赵其平, 陈兆国, 等. 柔嫩艾美耳球虫地克珠利抗药株和马杜拉霉素抗药株的实验室诱导[J]. 中国兽医学报, 2004, 24(2): 138-140.
- [94] 韩红玉, 赵其平, 姜连连, 等. 柔嫩艾美耳球虫抗马杜拉霉素、地克珠利虫株特异消减文库的构建[J]. 中国农业科学, 2005, 38(8): 1712-1716.
- [95] 韩红玉, 姜连连, 赵其平, 等. 银染mRNA差异显示法克隆柔嫩艾美耳球虫 (*Eimeria tenella*) 抗药性相关基因[J]. 中国兽医学报, 2006, 26(4): 369-372.
- [96] 蔡兰, 黄兵, 肖明, 等. 柔嫩艾美耳球虫地克珠利和马杜拉霉素抗药株与敏感株孢子化卵囊 18S rDNA 基因的差异[J]. 中国兽医科学, 2006, 36(6): 472-477.
- [97] 程军, 董辉, 郭涛, 等. 柔嫩艾美耳球虫抗药性相关基



- 因M20的克隆及表达[J]. 中国动物传染病学报, 2011, 19(1): 62-67.
- [98] 程军. 柔嫩艾美耳球虫抗药性相关基因M<sub>20</sub>的克隆及检测方法的建立[D]. 上海: 上海师范大学, 2011.
- [99] 刘文江, 黄兵, 欧阳五庆, 等. 柔嫩艾美耳球虫抗药株第二代裂殖子的双向电泳图谱比较[J]. 中国兽医科技, 2004, 34(3): 21-25.
- [100] 姜连连, 黄兵, 韩红玉, 等. 柔嫩艾美耳球虫地克珠利抗药株与敏感株孢子化卵囊的蛋白质差异分析[J]. 生物工程学报, 2005, 21(3): 435-439.
- [101] 姜连连, 黄兵, 韩红玉, 等. 柔嫩艾美耳球虫(*E. tenella*)马杜拉霉素抗药株和敏感株孢子化卵囊的蛋白质差异分析[J]. 中国预防兽医学报, 2006, 28(1): 113-117.
- [102] 郭涛, 董辉, 黄兵, 等. 柔嫩艾美耳球虫地克珠利与马杜拉霉素抗药株的基因重组选育[J]. 中国兽医科学, 2010, 40(4): 337-341.
- [103] 郭涛, 董辉, 黄兵, 等. 柔嫩艾美耳球虫地克珠利与马杜拉霉素耐药株的3种同工酶分析[J]. 上海师范大学学报(自然科学版), 2011, 40(2): 197-201.
- [104] 吴兆敏, 戴一洪, 费陈忠, 等. 鸡球虫病免疫预防研究 I. NTG处理柔嫩艾美耳球虫诱导雏鸡保护性免疫的研究[J]. 中国畜禽传染病, 1991(4): 14-16.
- [105] 吴兆敏, 蒋莉霞, 戴一洪, 等. 鸡球虫病免疫预防研究 II. 短小棒状杆菌苗防治雏鸡柔嫩艾美耳球虫病的研究[J]. 中国畜禽传染病, 1991(5): 19-21.
- [106] 吴兆敏, 戴一洪, 费陈忠, 等. 鸡Eimeria tenella致弱虫苗的实验研究及田间试验[J]. 中国兽医寄生虫病, 1993, 1(4): 1-5.
- [107] 苏华炜, 邹晖, 吴兆敏, 等. 鸡球虫病三价活疫苗中试产品区域试验[J]. 中国兽医寄生虫病, 1996, 4(4): 17-18.
- [108] 吴兆敏, 樊生超, 邹晖, 等. 鸡球虫病综合免疫预防的研究[G]//中国农业科学院上海家畜寄生虫病研究所. 科研成果与论文摘要汇编 (1994~2003), 2004: 3-4.
- [109] 樊生超, 吴兆敏, 姚惠娟, 等. 鸡球虫混合苗在集约化鸡场的应用[G]//中国农业科学院上海家畜寄生虫病研究所. 科研成果与论文摘要汇编 (1994~2003), 2004: 6.
- [110] 吴兆敏, 邹晖, 苏华炜, 等. 鸡球虫三价混合活疫苗(DLV苗)免疫预防研究[G]//中国农业科学院上海家畜寄生虫病研究所. 科研成果与论文摘要汇编 (1994~2003), 2004: 9.
- [111] 韩静芳, 黄兵, 董辉, 等. 柔嫩艾美耳球虫早熟株选育及相关生物学特性[J]. 复旦学报(自然科学版), 2008, 47(3): 380-386.
- [112] 李玉剑, 董辉, 韩静芳, 等. 堆形艾美耳球虫早熟株选育及相关生物学特性研究[J]. 中国动物传染病学报, 2009, 17(3): 55-61.
- [113] 董辉, 郭涛, 赵其平, 等. 巨型艾美耳球虫早熟株选育及相关生物学特性研究[J]. 中国动物传染病学报, 2010, 18(5): 42-48.
- [114] 赵其平, 李婷, 董辉, 等. 巨型艾美耳球虫和柔嫩艾美耳球虫早熟株对8种抗球虫药的敏感试验[J]. 中国动物传染病学报, 2011, 19(5): 57-61.
- [115] 李婷, 赵其平, 董辉, 等. 堆型艾美耳球虫早熟株和母株对8种抗球虫药的敏感试验[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(34): 21028-21030, 21050.
- [116] 赵其平, 李婷, 韩红玉, 等. 柔嫩艾美耳球虫早熟株免疫剂量研究[J]. 中国动物传染病学报, 2012, 20(5): 45-49.
- [117] 舒凡帆, 董辉, 赵其平, 等. 堆型艾美耳球虫早熟株免疫剂量研究[J]. 动物医学进展, 2012, 33(11): 51-55.
- [118] 赵其平, 朱顺海, 韩红玉, 等. 巨型艾美耳球虫早熟株免疫剂量研究[J]. 中国动物传染病学报, 2014, 22(6): 32-37.
- [119] 韩志华, 李少泉, 张惠英, 等. 脆弱艾美耳球虫(*Eimeria tenella*)细胞培养的观察[J]. 畜牧与兽医, 1985(2): 63-64.
- [120] 樊玉娟, 姜连连, 黄兵, 等. 毒害艾美耳球虫鸡胚培养研究[J]. 中国动物传染病学报, 2009, 17(2): 63-67.
- [121] Jiang L L, Zhao Q P, Zhu S H, et al. Establishment of *Eimeria tenella* (local isolate) in chicken embryos[J]. Parasite, 2012, 19(3): 285-289.
- [122] 姜连连, 林矫矫, 韩红玉, 等. 柔嫩艾美耳球虫DF-1细胞培养体系的建立及应用[J]. 中国兽医科学, 2011, 41(6): 551-556.
- [123] 黄兵, 史天卫, 吴薛忠, 等. 用聚丙烯酰胺凝胶电泳进行球虫同工酶的研究[J]. 上海畜牧兽医通讯, 1991(1): 3-4.
- [124] 黄兵, 姚冰, 韩志华, 等. 柔嫩艾美耳球虫孢子发育三种阶段的同工酶研究[J]. 畜牧与兽医, 1992, 24(4): 153-155.
- [125] 黄兵, 赵其平, 陈兆国, 等. 五种鸡球虫卵囊的同工酶研究[J]. 畜牧兽医学报, 1996, 27(4): 355-359.
- [126] 韩红玉. 柔嫩艾美耳球虫第二代裂殖子表面抗原基因( $\lambda$  MZ5-7)的克隆和表达[D]. 北京: 中国农业科学院, 2000.
- [127] 韩红玉, 黄兵. 柔嫩艾美耳球虫第二代裂殖子表面抗原基因( $\lambda$  MZ5-7)的克隆及序列分析[J]. 中国预防兽医学报, 2000, 22(5): 358-360.
- [128] 颜彦, 韩红玉, 黄兵, 等. 柔嫩艾美耳球虫HSP基因的克隆、表达及鉴定[J]. 生物工程学报, 2009, 25(8): 1121-1129.

- [129]平宪卿. 柔嫩艾美耳球虫A08与棒状体蛋白的单抗制备及酵母表达系统构建[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2010.
- [130]平宪卿, 韩红玉, 姜连连, 等. 一种柔嫩艾美耳球虫棒状体蛋白单抗的制备及初步应用[J]. 中国动物传染病学报, 2010, 18(2): 47-51.
- [131]平宪卿, 韩红玉, 黄兵, 等. 柔嫩艾美耳球虫A08基因的片段表达分析与毕赤酵母表达系统构建[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2011, 33(6): 19-24.
- [132]李莎, 梁思婷, 赵其平, 等. 柔嫩艾美耳球虫乳酸脱氢酶单克隆抗体的制备及其在蛋白定位中的应用[J]. 中国动物传染病学报, 2015, 23(2): 47-52.
- [133]韩红玉, 黄兵, 赵其平. 柔嫩艾美耳球虫孢子化卵囊cDNA文库的构建[J]. 生物工程学报, 2001, 17(6): 669-672.
- [134]闫晓菲, 韩红玉, 岳城, 等. 堆形艾美耳球虫孢子化卵囊cDNA文库的构建及鉴定[J]. 复旦学报(自然科学版), 2007, 46(6): 937-940, 946.
- [135]卞庆松, 韩红玉, 赵其平, 等. 毒害艾美球虫孢子化卵囊cDNA文库的构建[J]. 中国兽医科学, 2008, 38(3): 196-199.
- [136]张建哲, 韩红玉, 姜连连, 等. 巨型艾美耳球虫孢子化卵囊cDNA文库的构建[J]. 生物技术通报, 2008(2): 195-198.
- [137]闫晓菲, 韩红玉, 黄兵, 等. 鸡堆型艾美耳球虫孢子化卵囊cDNA文库的免疫学筛选[J]. 安徽农业科学, 2014, 42(14): 4363-4364, 4454.
- [138]闫晓菲, 韩红玉, 黄兵, 等. 堆形艾美耳球虫巨噬细胞移动抑制因子的克隆和表达[J]. 中国预防兽医学报, 2008, 30(11): 856-860.
- [139]闫晓菲, 黄兵, 韩红玉, 等. 鸡堆型艾美耳球虫新基因的克隆与生物信息学分析[J]. 中国畜牧兽医, 2014, 41(7): 49-53.
- [140]韩红玉, 林矫矫, 赵其平, 等. 柔嫩艾美耳球虫孢子发育阶段虫体抑制性消减文库的构建[J]. 生物工程学报, 2007, 23(6): 1005-1010.
- [141]Han H Y, Lin J J, Zhao Q P, *et al.* Identification of differentially expressed genes in early stages of *Eimeria tenella* by suppression subtractive hybridization and cDNA microarray[J]. J Parasitol, 2010, 96(1): 95-102.
- [142]Jiang L L, Lin J J, Han H Y, *et al.* Identification and partial characterization of a serine protease inhibitor (serpin) of *Eimeria tenella*[J]. Parasitol Res, 2012, 110(2): 865-874.
- [143]Jiang L L, Lin J J, Han H Y, *et al.* Identification and characterization of *Eimeria tenella* apical membrane antigen-1 (AMA1)[J]. PLoS One, 2012, 7(7): e41115.
- [144]Han H Y, Zhu S H, Jiang L L, *et al.* Molecular characterization and analysis of a novel calcium-dependent protein kinase from *Eimeria tenella*[J]. Parasitology, 2013, 140(6): 746-755.
- [145]Han H Y, Dong H, Zhu S H, *et al.* Molecular characterization and analysis of a novel protein disulfide isomerase-like protein of *Eimeria tenella*[J]. PLoS One, 2014, 9(6): e99914.
- [146]Dong H, Wang Y G, Zhao Q P, *et al.* Molecular cloning and characterization of lactate dehydrogenase gene from *Eimeria tenella*[J]. Parasitol Res, 2014, 113(8): 2915-2923.
- [147]Han H Y, Kong C L, Dong H, *et al.* Molecular characterization and functional analysis of subunit 7 of eukaryotic initiation factor 3 from *Eimeria tenella*[J]. Exp Parasitol, 2015, 154: 118-126.
- [148]Zhai Q, Huang B, Dong H, *et al.* Molecular characterization and immune protection of a new conserved hypothetical protein of *Eimeria tenella*[J]. PLoS One, 2016, 11(6): e0157678.
- [149]李洋, 韩红玉, 董辉, 等. 柔嫩艾美耳球虫孢子高表达新基因的克隆、表达及分析[J]. 中国预防兽医学报, 2010, 32(5): 370-374.
- [150]马卫娇, 韩红玉, 姜连连, 等. 柔嫩艾美耳球虫表面抗原(EtSAG)基因的分离及鉴定[J]. 中国动物传染病学报, 2010, 18(6): 43-48.
- [151]姜连连, 林矫矫, 韩红玉, 等. 柔嫩艾美耳球虫新基因的生物信息学分析与克隆表达[J]. 生物技术通报, 2011(5): 108-113.
- [152]孔春林, 韩红玉, 姜连连, 等. 柔嫩艾美耳球虫真核起始因子3d基因的酵母表达分析[J]. 中国动物传染病学报, 2012, 20(2): 47-52.
- [153]孔春林, 韩红玉, 李洋, 等. 柔嫩艾美耳球虫钙依赖蛋白激酶3基因在毕赤酵母中的表达及分析[J]. 生物技术通报, 2012(4): 108-112.
- [154]王晔, 韩红玉, 董辉, 等. 柔嫩艾美耳球虫钙依赖蛋白激酶3在293T细胞中的表达研究[J]. 中国动物传染病学报, 2013, 21(6): 33-38.
- [155]王晔, 姜连连, 韩红玉, 等. 柔嫩艾美耳球虫棒状体颈部蛋白2基因真核表达载体的构建及在293T细胞中表达[J]. 中国动物传染病学报, 2012, 20(5): 39-44.

- [156]王艳歌, 董辉, 韩红玉, 等. 柔嫩艾美耳球虫乳酸脱氢酶真核表达质粒的构建与鉴定[J]. 中国动物传染病学报, 2014, 22(2): 65-71.
- [157]杨斯涵, 赵其平, 韩红玉, 等. 柔嫩艾美耳球虫沉默信息调节因子2真核表达质粒的构建及在细胞中的表达[J]. 中国动物传染病学报, 2015, 23(2): 53-59.
- [158]王晔, 韩红玉, 董辉, 等. 柔嫩艾美耳球虫Serpín基因在293T细胞中的表达[J]. 复旦学报(自然科学版), 2015, 54(2): 252-256.
- [159]薛璞. 柔嫩艾美耳球虫子孢子酵母双杂交cDNA文库的构建及EtAMA1相互作用蛋白的初步筛选[D]. 上海: 上海师范大学, 2013.
- [160]Xue P, Han H Y, Jin Y M, *et al.* Construction of a yeast two-hybrid cDNA library from second-generation merozoites of *Eimeria tenella*[J]. African Journal of Microbiol Res, 2013, 7(12): 1035-1040.
- [161]翟颀, 黄兵, 董辉, 等. 柔嫩艾美耳球虫保守蛋白CHP559基因克隆与真核表达[J]. 生物技术通报, 2015, 31(7): 161-168.
- [162]李聪, 董辉, 朱顺海, 等. 柔嫩艾美耳球虫胱硫醚 $\beta$ 合成酶基因克隆及在真核细胞中的表达[J]. 中国动物传染病学报, 2016, 24(2): 53-61.
- [163]朱雪龙, 黄兵, 韩红玉, 等. 柔嫩艾美耳球虫丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶真核表达质粒的构建及其在DF-1细胞中的表达[J]. 中国动物传染病学报, 2016, 24(3): 48-54.
- [164]王自文, 董辉, 赵其平, 等. 柔嫩艾美耳球虫钙依赖蛋白激酶4酵母双杂交诱饵质粒的构建与检测[J]. 中国动物传染病学报, 2016, 24(1): 62-69.