



常山散对感染不同发育阶段球虫雏鸡盲肠机械屏障的影响

郭志廷^{1,2}, 孙焕焕¹, 刘淑宁¹, 李建喜², 张少博², 刘 圆², 罗晓琴², 魏小成¹, 李成义^{1*}

(1. 甘肃中医药大学药学院, 兰州 730000; 2. 中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所, 农业农村部兽用药物创制重点实验室, 甘肃省中兽医技术创新中心, 兰州 730050)

摘要: 旨在研究常山散对感染球虫不同发育阶段雏鸡肠道机械屏障的影响。试验分为6组, 分别为攻虫前1天、攻虫当天, 攻虫后第2、3、4和5天进行给药, 每个试验组包括 I 组(健康对照组)、II 组(感染对照组)和 III 组(常山散推荐剂量组)。给药结束采集各组鸡盲肠制作病理切片, 应用 Image Pro PLUS 6.0 图像软件对肠紧密连接蛋白 Occludin 和 Claudin-1 进行免疫组化分析, 测定肠道杯状细胞和黏蛋白的分泌情况。结果表明: 与 I 组相比, II 组和 III 组 Occludin 蛋白、Claudin-1 蛋白和肠黏蛋白表达量显著降低 ($P < 0.05$), 杯状细胞数显著减少 ($P < 0.05$)。与 II 组相比, 攻虫前1天至攻虫后第3天给药, III 组以上三种蛋白表达量明显升高 ($P < 0.05$), 杯状细胞数增多; 但随着球虫在鸡体内不断发育和给药时间的推迟, 攻虫后第4和5天给药 II 组和 III 组以上3种蛋白表达量很少 ($P > 0.05$), 杯状细胞消失。综上, 常山散可减轻球虫对宿主肠道的破坏, 促进肠道屏障蛋白分泌, 减轻球虫对肠道结构的损害; 且攻虫后越早给药, 对球虫造成的肠道损伤改善效果越好。

关键词: 常山散; 雏鸡; 球虫; 肠道; 机械屏障

中图分类号: S859.795

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2026)01-0526-14

Effect of Radix dichroa Powder on Intestinal Mechanical Barrier of Chicks Infected with Coccidia at Different Developmental Stages

GUO Zhiting^{1,2}, SUN Huanhuan¹, LIU Shuning¹, LI Jianxi², ZHANG Shaobo², LIU Yuan²,

LUO Xiaoqin², WEI Xiaocheng¹, LI Chengyi^{1*}

(1. College of Pharmacy, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou, Gansu Province 730000, China;

2. Key Lab of Veterinary Pharmaceutical Development, Ministry of Agriculture and Rural Affairs & Technology Innovation Center of Traditional Chinese Veterinary, Gansu Province, Lanzhou Institute of Husbandry and Pharmaceutical Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730050, China)

Abstract: The aim of this study was to investigate the effect of Radix dichroa powder (RDP) on intestinal mechanical barrier at different developmental stages of chicks infected with coccidia. The experiment was divided into 6 groups, which were administered on the day before the challenge, the day of the attack, and the 2nd, 3rd, 4th and 5th days after the attack. Each experimental group included Group I (Healthy control group), Group II (Infection control group) and Group III (RDP recommended dose group). At the end of the administration, the chick cecum of each group were

收稿日期: 2025-04-08

基金项目: “十四五”国家重点研发计划项目(2023YFD1800803-4); 国家自然科学基金地区项目(82160730); 石家庄市政府与中国农科院战略合作项目(25010)

作者简介: 郭志廷, 博士生, 主要从事新兽药研发和中药药理学研究, E-mail: guozhiting@caas.cn

* 通信作者: 李成义, 主要从事中药鉴定与品质评价研究, E-mail: gslichengyi@163.com

collected to make pathological sections. The immunohistochemical analysis of intestinal tight junction proteins occludin and claudin-1 were performed by Pro PLUS 6.0 image software, and the secretion of intestinal goblet cells and mucin were determined. The results showed that compared with Group I, the expression levels of occludin protein, claudin-1 protein, and intestinal mucin in Group II and Group III were significantly reduced ($P < 0.05$), and the number of goblet cells was significantly decreased ($P < 0.05$). Compared with Group II, the expression of the above three proteins of Group III were significantly improved ($P < 0.05$), and the number of goblet cells were increased from the day before the challenge to 3 days after the challenge. However, with the continuous development of coccidia in chicks and the delay in administration time, the above three proteins in Group II and Group III were markedly decreased on the 4th and 5th day of challenge ($P > 0.05$), and the goblet cells disappeared. In summary, RDP can reduce the damage of coccidia to the host intestinal tract, improve the secretion of intestinal barrier protein, and reduce the damage of coccidia to the intestinal structure; the earlier the drug is administered after the challenge, the better the improvement of intestinal damage caused by coccidia.

Keywords: Radix dichroa powder; chicks; coccidia; intestine; mechanical barrier

* **Corresponding author:** LI Chengyi, E-mail: gslichengyi@163.com

球虫寄生于鸡肠上皮细胞,使肠上皮细胞崩解和坏死,破坏肠黏膜的完整性,而肠黏膜对于维持健康、预防组织损伤和多种疾病,以及向机体提供营养等方面至关重要^[1]。柔嫩艾美耳球虫是一种严格的宿主和组织特异性寄生虫,寄生在鸡盲肠隐窝上皮细胞中,裂殖生殖时破坏肠黏膜的完整性,导致盲肠上皮细胞变性、坏死和崩解^[2]。紧密连接是肠上皮细胞间的主要连接,其功能是调节肠黏膜屏障的通透性。球虫入侵宿主细胞时,紧密连接蛋白通常是球虫攻击的靶点,导致紧密连接被破坏,肠上皮细胞通透性增加,肠道产生炎症和损伤^[3]。闭合蛋白(claudins)和闭锁蛋白(occludin-1)是主要的肠上皮紧密连接蛋白。研究表明,鸡感染球虫后肠黏膜屏障被破坏,Occludin的mRNA表达水平下降,Claudin-1 mRNA表达水平先下降后上升^[4]。杯状细胞是肠道特化的黏液分泌细胞,主要合成和释放黏蛋白,形成保护性黏液层^[5]。黏蛋白的作用包括:润滑肠壁、阻隔病原体、维持菌群平衡、支持上皮修复及免疫调节^[6]。杯状细胞-黏蛋白系统是肠道屏障的核心组成部分,两者协同维护肠道正常屏障功能。

研究表明,中草药微生态制剂通过刺激肠上皮细胞表达黏蛋白,抑制肠道黏膜的炎症反应等方式改善肠道损伤^[7]。中药复方“香芪汤”可以减少球虫的增殖,抑制感染鸡肠道组织的炎症和氧化应激反应,维持肠道屏障的完整性^[8]。枯草芽孢杆菌复合

微生态制剂可缓解坏死性肠炎所致的鸡回肠黏膜形态结构改变,减轻产气荚膜梭菌对回肠黏膜的刺激,提高机体抗氧化水平,减轻机体炎症反应^[9]。金银花、紫花地丁和连翘均可保护肠道黏膜屏障功能,阻止D-乳酸、二胺氧化酶和内毒素进入血液循环,还可促进有益菌群繁殖,抑制致病菌群生长^[10]。复方青蒿煎剂对雏鸡肠道黏膜免疫无明显效果,但抗炎效果明显,对鸡球虫病具有一定的预防和治疗作用^[11]。

中药具有耐药风险低、安全、副作用小等优势,逐渐成为消费者追求的主流产品,部分中药及其提取物还可提高家禽感染球虫病后机体的恢复能力^[12-14]。中药常山为虎耳草科植物常山(*Dichroa febrifuga* Lour.)的干燥根,主产于四川、甘肃、江西等地,民间用于治疗疟疾^[15]。《神农本草经》中记载常山性寒,味苦辛,有毒,归肺、肝、心经,具有涌吐痰涎、截疟的功效。我国科学家很早就发现常山中主要有效成分为常山碱和异常山碱^[16]。现代研究表明,常山碱及其衍生物具有良好的抗疟疾、抗肿瘤、抗球虫、退热、抗炎以及治疗糖尿病、硬皮病等功效,临床上具有很高的科学研究价值^[17-18]。本试验通过常山散对感染柔嫩艾美耳球虫雏鸡盲肠的Caudin-1、Occludin蛋白免疫组化分析、肠道杯状细胞和黏蛋白分泌的检测,研究对球虫感染雏鸡肠道机械屏障的影响,为常山散科学防治鸡球虫病和药理学研究提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物

1日龄白羽肉鸡,购自酒泉市旺苗禽业养殖场,前期于SPF隔离舱内饲养至12日龄,后转移至严格消杀且无球虫污染的试验动物房,并于14日龄滴鼻接种鸡新城疫-传染性支气管炎二联苗,饲养至16日龄。

1.2 球虫卵囊

柔嫩艾美耳球虫,由中国农业大学寄生虫病实验室提供。试验开始前,将柔嫩艾美耳球虫卵囊重新进行传代,确保卵囊感染活力。将孢子化率为85%以上的球虫卵囊置于2.5%重铬酸钾溶液4℃保存备用。

1.3 药品和试剂

常山散中试产品(100 g·袋⁻¹,批号2021111501,1 g本品相当于常山原药材10 g;主要有效成分是常山生物碱,含量1.5%),石家庄正道动物药业有限公司生产。常山散主要生产工艺:利用超声波提取技术,从中药常山中提取得到常山浸膏,干燥粉

碎后,加入适量淀粉混匀即得(常山浸膏和淀粉质量比9:1)^[19];鸡新城疫-传染性支气管炎二联活疫苗(LaSota株+H120株),购自乾元浩生物股份有限公司南京生物药厂。HRP山羊抗兔IgG二抗,购自武汉赛维尔生物科技有限公司。PAS染色试剂盒和AB-PAS染色试剂盒购至北京索莱宝科技有限公司。

1.4 试验动物分组与给药

试验开始前连续3 d进行粪检,确认雏鸡没有感染球虫。试验分为6组:攻虫前1天(15日龄)、攻虫当天(16日龄),攻虫后第2天(17日龄)、第3天(18日龄)、第4天(19日龄)和第5天(20日龄)进行给药。每个试验组包括Ⅰ组(健康对照组)、Ⅱ组(感染性对照组)和Ⅲ组(常山散推荐剂量组)。每组10只鸡,共180只,Ⅰ组单独饲养,各试验组开始试验之前均禁食12 h,正常饮水。除Ⅰ组外,其他各组试验鸡于16日龄按照5×10⁴·只⁻¹鸡人工感染柔嫩艾美耳球虫孢子化卵囊。各试验组鸡连续给药4 d,先称重后捕杀,观察盲肠病理变化,采集鸡盲肠制作病理切片。具体分组见表1。

表1 试验鸡分组与处理

Table 1 Grouping and treatment of test chicks

项目 Item	组别 Group	动物数 Animal numbers	子孢子接种量 Subspore inoculum volume	饲料中药物浓度 Drug concentration in feed	给药时间/d Days of administration
攻虫前1天给药 Dosing 1d before attack	Ⅰ	10	—	—	—
	Ⅱ	10	5×10 ⁴ ·只 ⁻¹	—	—
	Ⅲ	10	5×10 ⁴ ·只 ⁻¹	常山散(0.1 g·kg ⁻¹)	连续给药4 d
攻虫当天给药 Dosing on the day of attack	Ⅰ	10	—	—	—
	Ⅱ	10	5×10 ⁴ ·只 ⁻¹	—	—
	Ⅲ	10	5×10 ⁴ ·只 ⁻¹	常山散(0.1 g·kg ⁻¹)	连续给药4 d
攻虫后第2天给药 Dosing on the 2nd day after the attack	Ⅰ	10	—	—	—
	Ⅱ	10	5×10 ⁴ ·只 ⁻¹	—	—
	Ⅲ	10	5×10 ⁴ ·只 ⁻¹	常山散(0.1 g·kg ⁻¹)	连续给药4 d
攻虫后第3天给药 Dosing on the 3d day after the attack	Ⅰ	10	—	—	—
	Ⅱ	10	5×10 ⁴ ·只 ⁻¹	—	—
	Ⅲ	10	5×10 ⁴ ·只 ⁻¹	常山散(0.1 g·kg ⁻¹)	连续给药4 d
攻虫后第4天给药 Dosing on the 4th day after the attack	Ⅰ	10	—	—	—
	Ⅱ	10	5×10 ⁴ ·只 ⁻¹	—	—
	Ⅲ	10	5×10 ⁴ ·只 ⁻¹	常山散(0.1 g·kg ⁻¹)	连续给药4 d
攻虫后第5天给药 Dosing on the 5th day after the attack	Ⅰ	10	—	—	—
	Ⅱ	10	5×10 ⁴ ·只 ⁻¹	—	—
	Ⅲ	10	5×10 ⁴ ·只 ⁻¹	常山散(0.1 g·kg ⁻¹)	连续给药4 d

1.5 测定指标和方法

1.5.1 肠紧密连接蛋白 Occludin 和 Claudin-1 检测 按文献报道方法进行鸡盲肠免疫组化分析^[20]。主要过程:盲肠经福尔马林固定后,石蜡包埋,常规制备石蜡切片,与 Occludin 和 Claudin-1 特异性一抗在 4℃ 孵育过夜,然后用 PBS 冲洗,用 HRP 山羊抗兔 IgG 二抗孵育。PBS 再次洗涤后,用二氨基联苯胺(DAB)处理,复染,光学显微镜下 100 倍放大观察。采用 Image Pro PLUS 6.0 图像分析软件(广州市元奥仪器有限公司)计算 3 个随机选取区域的平均阳性面积,分析免疫组化试验结果。

1.5.2 肠道杯状细胞和黏蛋白检测 盲肠组织样品用 4% 多聚甲醛固定 24 h,梯度乙醇溶液脱水,转入二甲苯,石蜡包埋,切成 5 mm 厚。切片经脱蜡、复水、放置于水中,根据试剂盒说明书进行 PAS 染色和 AB-PAS 染色。光学显微镜下观察黏蛋白和杯状细胞,随机选取三个视野,由

Image Pro PLUS 6.0 图像分析软件(广州市元奥仪器有限公司)测定杯状细胞和分析黏蛋白阳性面积。

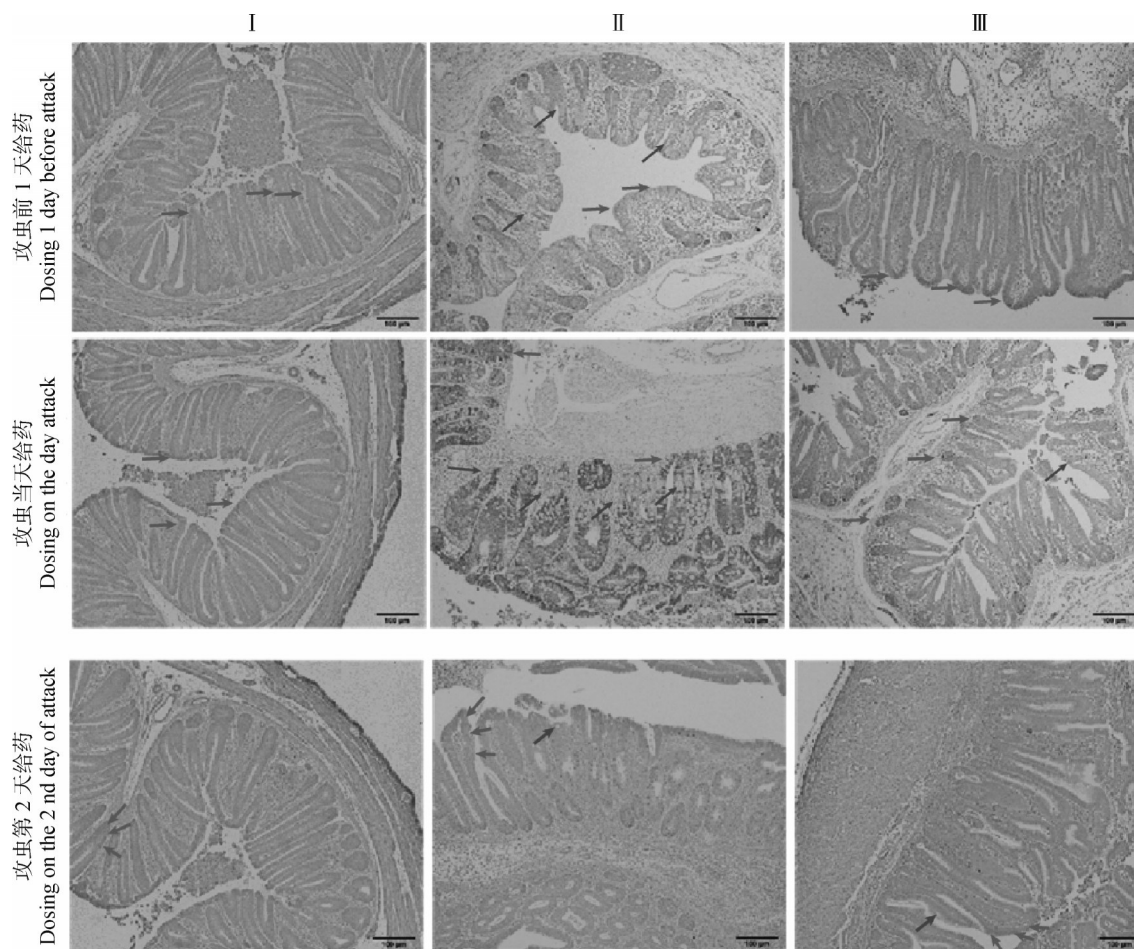
1.6 数据统计与分析

由 Image Pro PLUS 6.0 图像分析软件测量杯状细胞数量,检测免疫组化和黏蛋白阳性密度平均值,试验结果运用 SPSS 26.0 软件进行统计分析,试验数据比较采用单因素方差分析,使用 LSD 法进行多重比较,试验数据以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示。

2 结 果

2.1 对肠紧密连接蛋白 Occludin 的影响

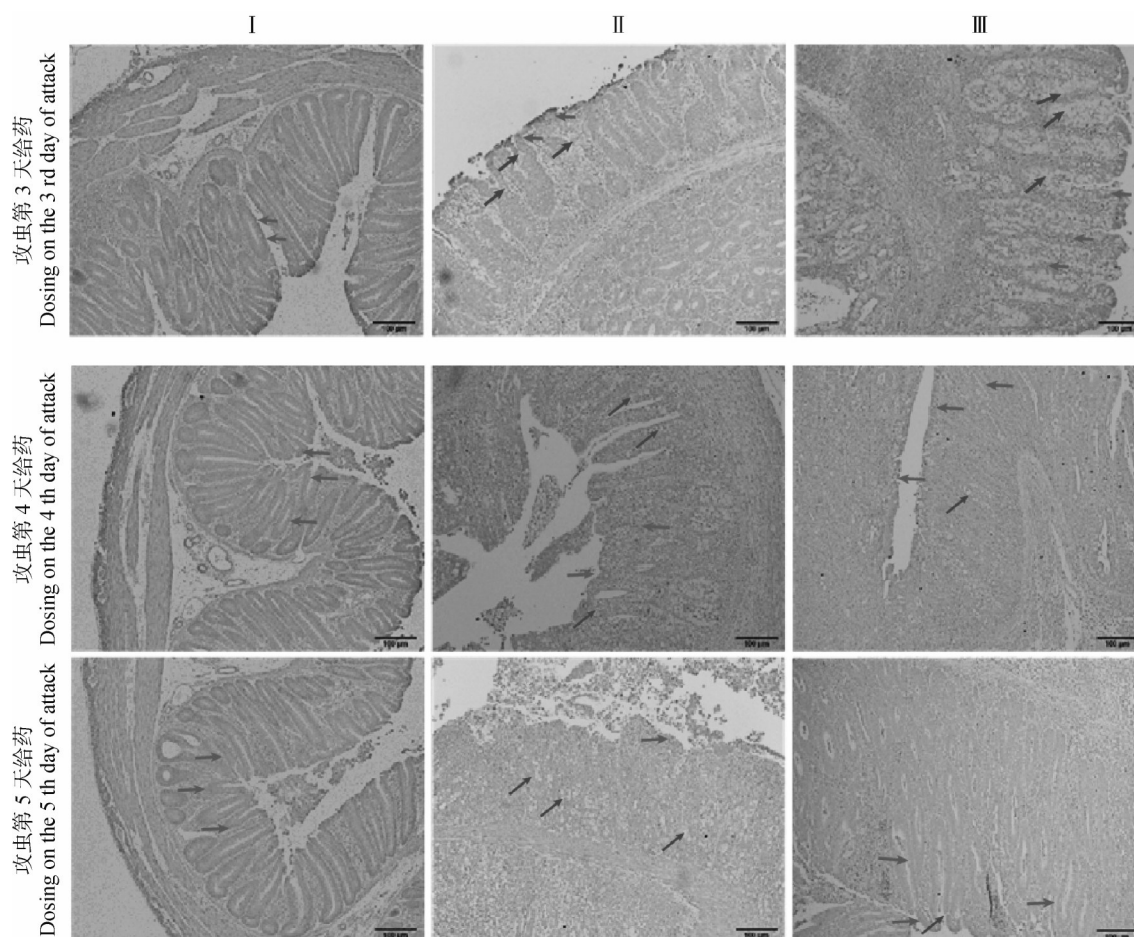
Occludin 蛋白对维持肠道屏障的通透性具有重要意义。免疫组化法能够将 Occludin 蛋白染色为深棕色,如图 1 中红色箭头所示。Occludin 蛋白主要围绕肠黏膜细胞顶端分布。在 I 组的鸡盲肠中, Occludin 蛋白染色分布密集且均匀;而 II 组的鸡盲



(图 1 Fig.1)

(转下页 Carried forward)

(续图1 Continued)



红色箭头指示肠黏膜细胞膜顶端Occludin蛋白部分,蓝色箭头指示无Occludin蛋白部分。标尺=100 μm

The red arrow indicates the Occludin protein at the top of the intestinal mucosal cell membrane, and the blue arrow indicates the absence of Occludin protein. Bar=100 μm

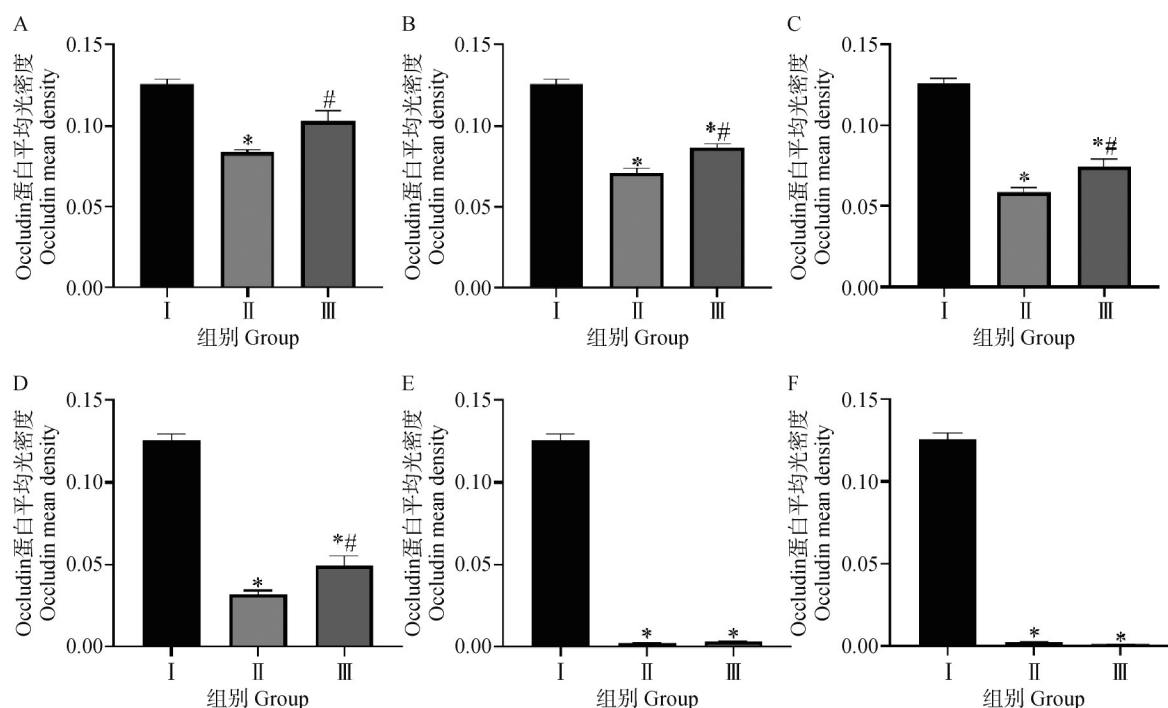
图1 各试验组雏鸡盲肠Occludin蛋白免疫组化图片

Fig. 1 Immunohistochemical images of Occludin protein in the cecum of chicks in each experimental group

肠阳性颗粒染色则因攻虫而明显减少。与Ⅱ组相比,攻虫前1天给药至攻虫后第3天给药的Ⅲ组中,鸡盲肠阳性颗粒染色继续呈现均匀分布的特征;但与Ⅰ组相比,其阳性颗粒染色密度有所下降。随着球虫在宿主体内的不断发育和给药时间的推迟,攻虫后第4和5天给药组中Ⅱ组和Ⅲ组Occludin蛋白表达无显著变化($P>0.05$)。通过对Occludin蛋白染色结果进行定量分析,得到了一致的试验结果,如图2所示。与Ⅰ组相比,Ⅱ组和Ⅲ组Occludin蛋白表达显著下降($P<0.05$)。与Ⅱ组相比,攻虫前1天给药至攻虫后第3天给药显著提升了Occludin蛋白的表达水平($P<0.05$),而攻虫后第4天和第5天给药则无显著改善作用。

2.2 对肠紧密连接蛋白Claudin-1的影响

Claudin-1蛋白反映了肠机械屏障的完整性。免疫组化结果表明,Claudin-1蛋白被染成深棕色阳性颗粒,在Ⅰ组雏鸡盲肠上皮黏膜细胞顶端呈现密集且均匀分布的态势。而在Ⅱ组中,阳性颗粒的密度则明显下降,分布不均匀。与Ⅱ组相比,攻虫前1天给药至攻虫后第3天给药的Ⅲ组中,雏鸡盲肠阳性颗粒密度则明显增多,且在肠上皮中均匀分布。攻虫后第4和5天给药则不能明显改善阳性颗粒的密度(图3)。随后对免疫组化结果进行定量分析,结果表明与Ⅰ组相比,Ⅱ组和Ⅲ组Claudin-1蛋白表达显著下降($P<0.05$)。与Ⅱ组相比,攻虫前1天给药至攻虫后第3天给药显著提升Claudin-1蛋白的表达水平($P<0.05$),而第4和5天给药则无显著改



A~F. 攻虫前1天、攻虫当天、攻虫第2、3、4、5天给药。下同。与健康组相比,*. $P < 0.05$; 与感染组相比,#. $P < 0.05$

A-F. Dosing 1 day, dosing on the day, dosing on the 2nd, 3rd, 4th, 5th day of attack. The same as below. Compared with the healthy group, *. $P < 0.05$; Compared with the infection group, #. $P < 0.05$

图2 各试验组雏鸡盲肠 Occludin 蛋白免疫组化阳性面积平均光密度值

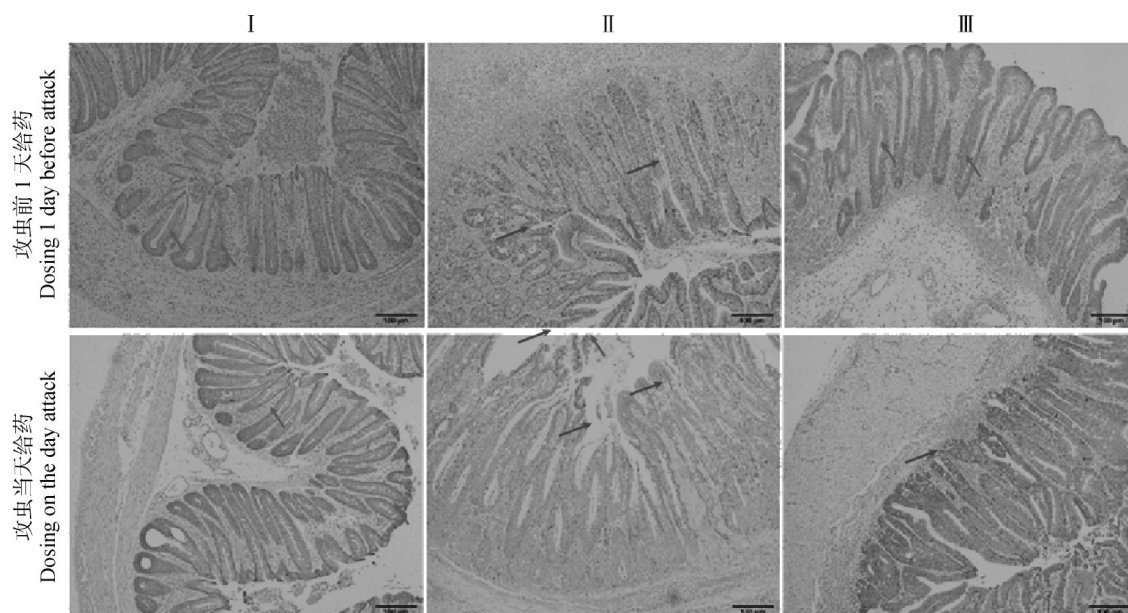
Fig. 2 Mean optical density values of Occludin protein immunohistochemically positive area in the cecum of chicks in each experimental group

善作用(图4)。

2.3 对盲肠黏蛋白的影响

黏蛋白具有润滑肠壁、阻隔病原体和维持菌群

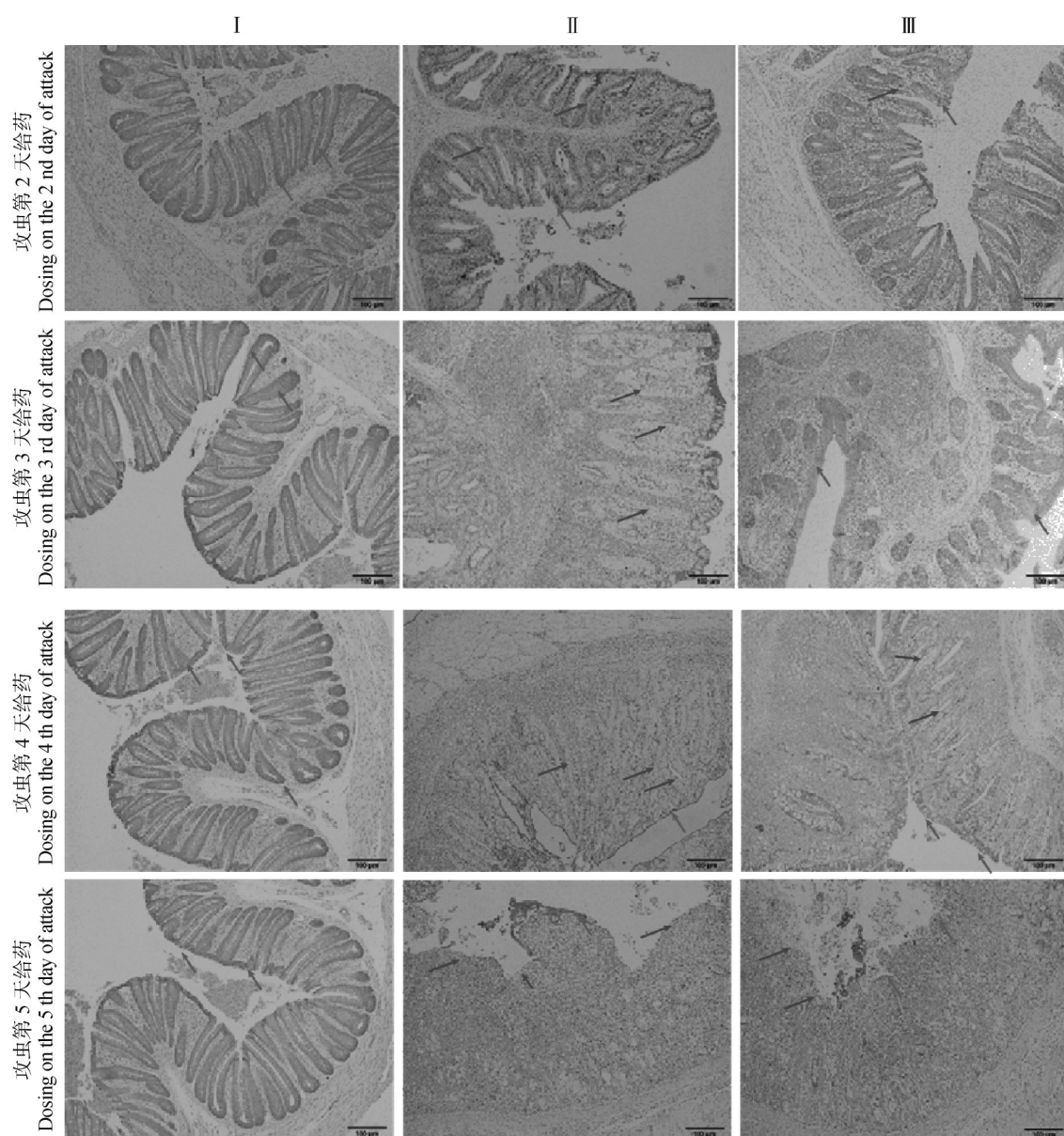
平衡等作用。由图5可知,AB-PAS染色雏鸡盲肠结构中黏蛋白被染成蓝色或蓝紫色阳性颗粒。在I组雏鸡盲肠上皮黏膜中杯状细胞很多,呈线性分



(图3 Fig.3)

(转下页 Carried forward)

(续图3 Continued)



红色箭头指示肠黏膜细胞膜顶端Claudin-1蛋白部分,蓝色箭头指示无Claudin-1蛋白部分。标尺=100 μ m

The red arrow indicates the Claudin-1 protein at the top of the intestinal mucosal cell membrane, and the blue arrow indicates the absence of Claudin-1 protein. Bar=100 μ m

图3 各试验组雏鸡盲肠 Claudin-1 蛋白免疫组化图片

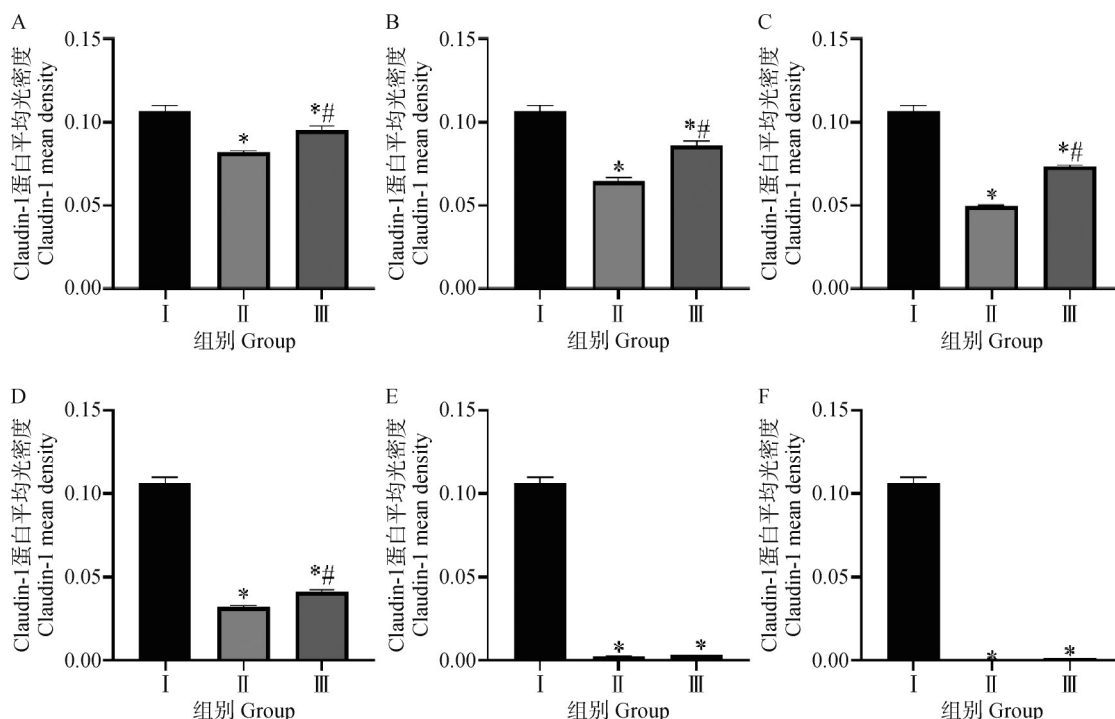
Fig. 3 Immunohistochemical images of Claudin-1 protein in the cecum of chicks in each experimental group

布且染色分布均匀。在Ⅱ组中,阳性染色颗粒的密度明显下降,分布不均匀。由图6可知,与Ⅰ组相比,攻虫前1天给药至攻虫后第5天给药Ⅱ组和Ⅲ组的黏蛋白表达显著降低($P<0.05$)。与Ⅱ组相比,攻虫前1天给药至攻虫后第3天给药Ⅲ组黏蛋白的表达量显著提升($P<0.05$),但随着球虫在宿主体内的不断发育和给药时间的推迟,攻虫后第4和第5天给药Ⅲ组的黏蛋白表达很少且差异不显著

($P>0.05$)。

2.4 对盲肠杯状细胞的影响

杯状细胞主要合成和释放黏蛋白,形成保护性黏液层。由图7可知,PAS染色雏鸡盲肠结构中杯状细胞被染成紫色阳性颗粒。在Ⅰ组雏鸡盲肠上皮黏膜中杯状很多,呈线性分布且染色分布均匀。在Ⅱ组中,阳性染色颗粒的密度明显下降,分布不均匀。由图8可知,与Ⅰ组相比,攻虫前1天给药至



与健康组相比,*. $P < 0.05$; 与感染组相比,#. $P < 0.05$

Compared with the healthy group, *. $P < 0.05$; Compared with the infection group, #. $P < 0.05$

图4 各试验组雏鸡盲肠 Claudin-1 蛋白免疫组化阳性面积平均光密度值

Fig. 4 Mean optical density values of Claudin-1 protein immunohistochemically positive area in the cecum of chicks in each experimental group

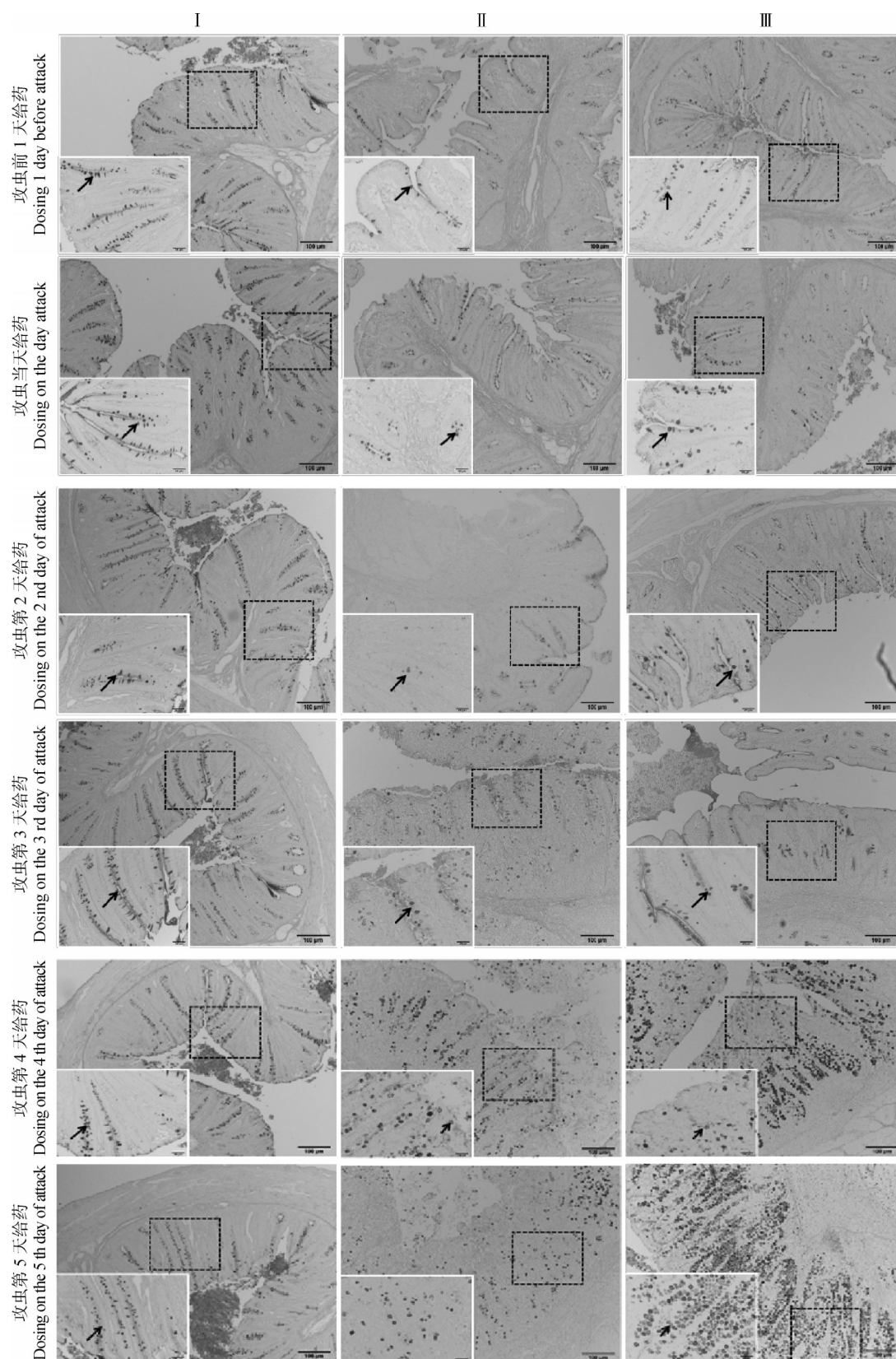
攻虫后第5天给药Ⅱ组和Ⅲ组的杯状细胞显著减少($P < 0.05$)。与Ⅱ组相比,攻虫前1天给药至攻虫后第3天给药Ⅲ组的杯状细胞数量显著升高($P < 0.05$),但随着球虫在宿主体内的不断发育和给药时间的推迟,攻虫后4天和5天给药Ⅲ组的杯状细胞明显减少或消失。

3 讨论

鸡柔嫩艾美耳球虫主要寄生在鸡盲肠,导致肠道形态结构被破坏,肠黏膜损伤,肌层和浆膜等出现不同程度的肿胀^[21-22]。完整的肠道形态结构是肠道发挥消化吸收、屏障功能的基础,也是肠道组织抵御疾病的前提条件^[23]。鸡感染球虫6~7 d后,病理切片观察到盲肠组织形态遭到严重破坏,盲肠上皮细胞内发现大量球虫卵囊^[24]。前期研究结果表明,在感染柔嫩艾美耳球虫不同发育阶段的雏鸡饲料中添加常山散后,在攻虫前1天、攻虫当天(子孢子阶段)和攻虫后第2天(滋养体阶段)进行给药,常山散对球虫生长发育具有显著的抑制能力,抗球虫效果良好。在攻虫后第3、4和5天给药,即裂殖体、

裂殖子阶段,常山散对球虫的生长发育抑制能力降低,抗球虫效果较差^[25]。球虫发育史包括孢子生殖、裂殖生殖和配子生殖。裂殖生殖期对鸡群危害最为严重,产生的大量裂殖子重新入侵未感染的肠道上皮细胞,临床上表现为鸡排出血便、消化和吸收功能下降,甚至死亡^[26]。球虫从子孢子入侵到形成卵囊,整个发育史为7 d。一般攻虫后3~4 d,球虫进入裂殖生殖阶段,肠道受到严重破坏,鸡体消化和吸收功能下降,肠内有害物质进入血液,鸡体处于危重状态,此时常山散给药治疗效果较差。

肠道组织作为机体重要的器官,其上皮结构为病原体、毒素和过敏原从管腔向黏膜组织扩散提供了屏障^[27-29]。肠道屏障主要包括机械屏障、免疫屏障、生物屏障和黏膜屏障。位于上皮细胞外膜顶端的多个蛋白组成的紧密连接是构成肠道机械屏障的重要结构,在肠道屏障功能和肠通透性调节中起关键作用^[30]。紧密连接是一种多蛋白复合物,通过调节肠道内的蛋白质来调节肠道通透性。球虫感染破坏肠道紧密连接,降低紧密连接蛋白 Occludin 和 Claudin-1 表达,损害肠机械屏障功能^[4,31]。本试

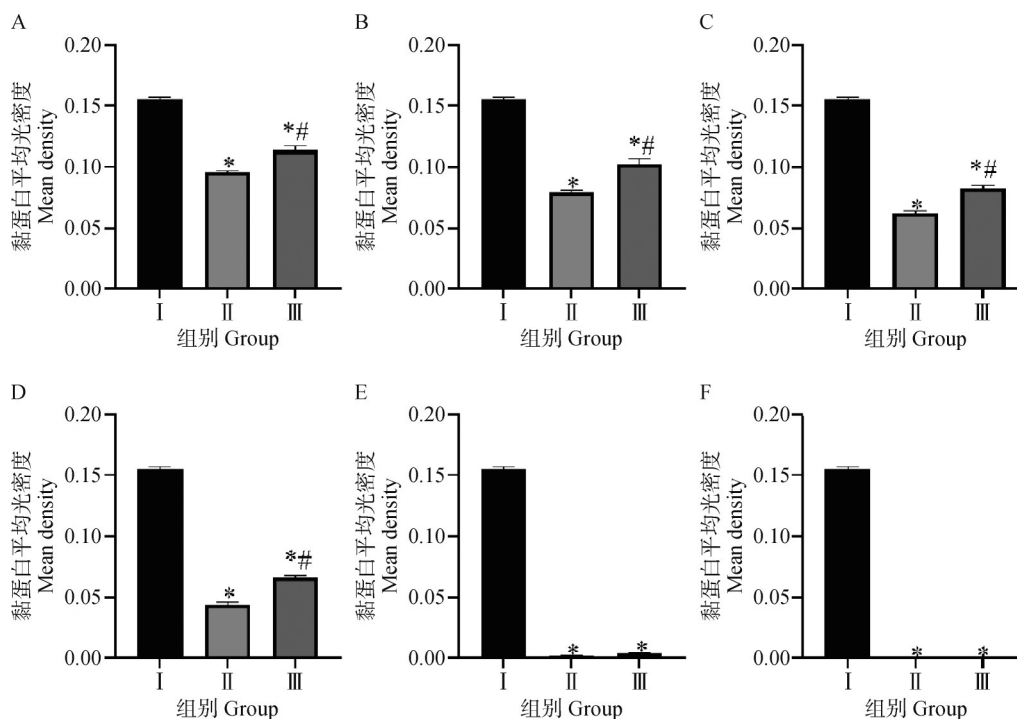


黑色箭头指示黏蛋白。标尺=100 μm

The black arrow indicates mucin. Bar=100 μm

图5 各试验组雏鸡盲肠黏蛋白AB-PAS染色图片

Fig. 5 AB-PAS staining image of cecal mucin in each experimental group



与健康组相比, *. $P < 0.05$; 与感染组相比, #. $P < 0.05$;

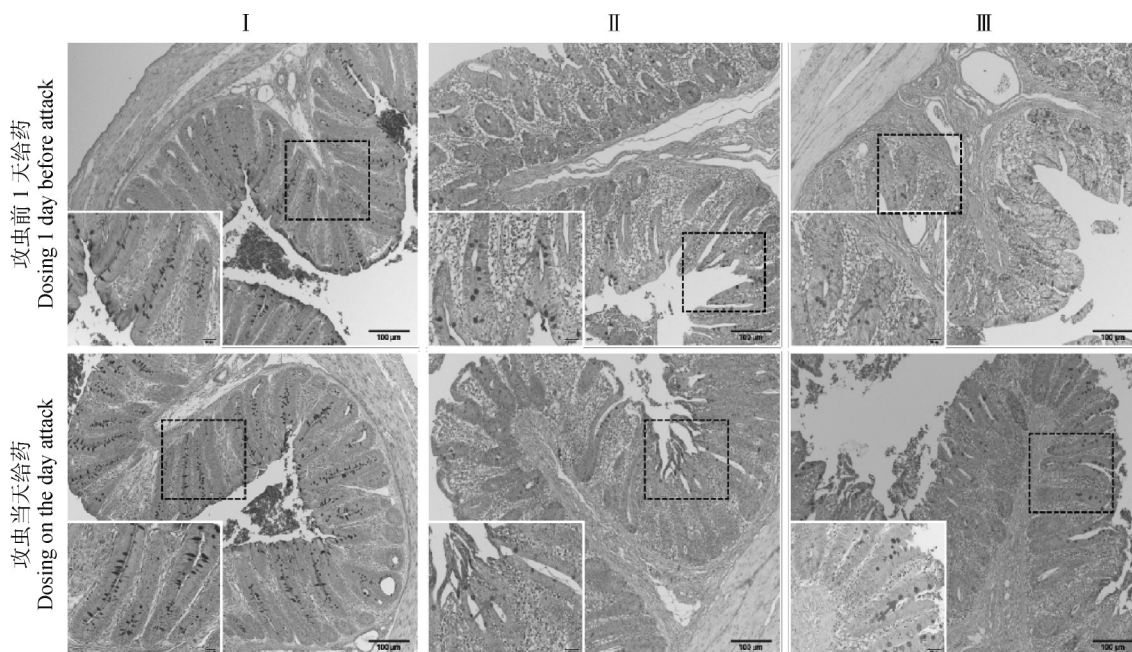
Compared with the healthy group, *. $P < 0.05$; Compared with the infection group, #. $P < 0.05$

图6 各试验组雏鸡盲肠黏蛋白阳性面积平均光密度值

Fig. 6 Mean optical density values of mucin-positive areas in the chick cecum of in each experimental group

验结果表明,与 I 组相比攻虫前 1 天给药至攻虫后第 5 天给药 II 组和 III 组的 Occludin 和 Claudin-1 蛋白表达显著降低 ($P < 0.05$);在球虫发育前期,即攻

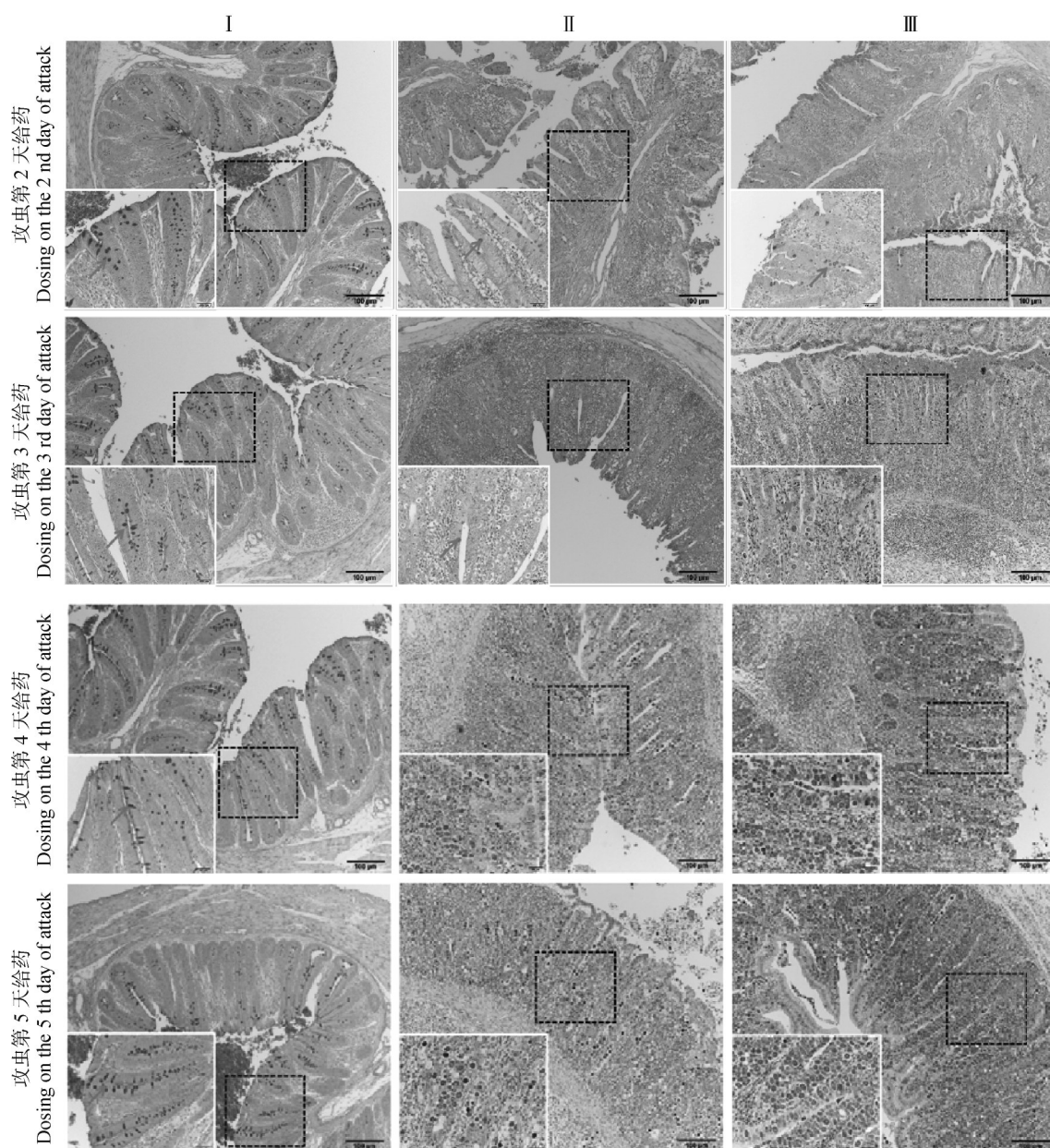
虫前 1 天、攻虫当天和攻虫后第 2 天进行给药,与 II 组相比,III 组的 Occludin 和 Claudin-1 的蛋白表达显著提升 ($P < 0.05$),但随着球虫在体内的不断发育,



(图7 Fig.7)

(转下页 Carried forward)

(续图7 Continued)



红色箭头指示杯状细胞。标尺=100 μm

Red arrows indicates goblet cells. Bar=100 μm

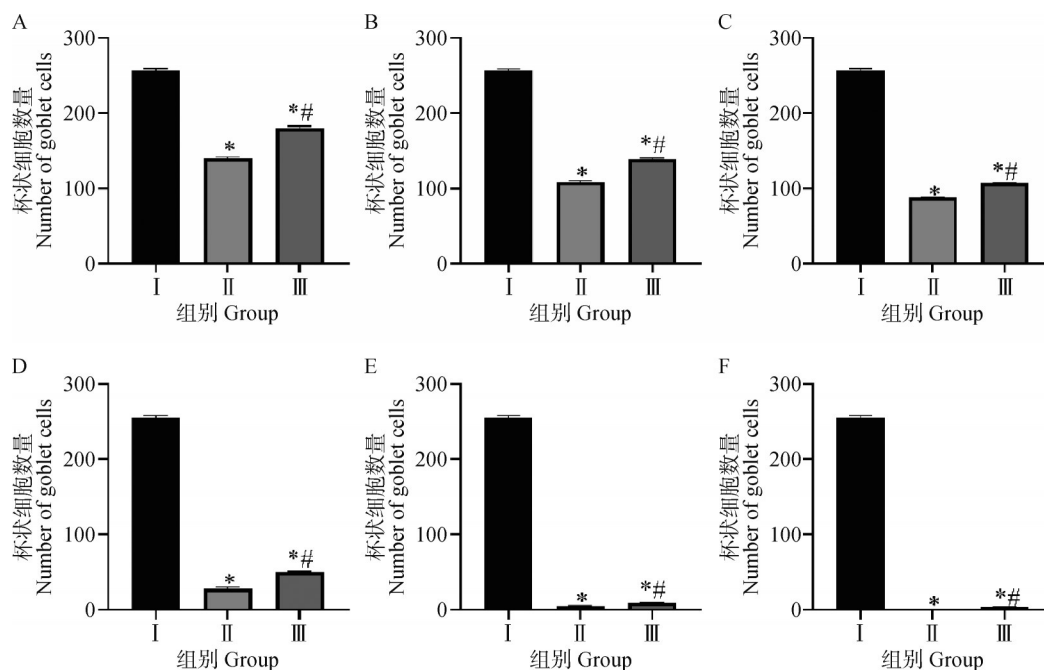
图7 各试验组雏鸡盲肠杯状细胞PAS染色图片

Fig. 7 PAS staining images of chick cecal goblet cells in each experimental group

在球虫发育的后期,即攻虫后第3、4和5天给药,此时由于球虫对肠道的损伤已经较为严重,故药物对球虫的作用效果较差,蛋白表达明显降低。

在哺乳动物中,盲肠在消化中的作用可以忽略不计;然而在禽类中,盲肠是饲料发酵的重要场所,和禽类健康生长密切相关,盲肠组织的形态和结构可反映禽类消化和吸收等生理功能。杯状细胞分布于肠上皮细胞中,来源于肠隐窝的多能干细胞,

参与促进肠上皮细胞的发育和吸收。同时杯状细胞是遍布整个黏膜上皮特化的分泌细胞,通过分泌蛋白质、黏蛋白等多种因子在维持组织稳态方面发挥重要作用。黏蛋白是一种高分子量的糖蛋白,迄今为止,已鉴定出20多个黏蛋白基因。杯状细胞分泌的糖蛋白可以冲洗外来致病因子,防止有害物质接触肠上皮细胞。本试验研究中,柔嫩艾美尔球虫繁殖破坏了盲肠的结构形态,导致大量的杯状细胞



与健康组相比, *. $P < 0.05$; 与感染组相比, #. $P < 0.05$

Compared with the healthy group, *. $P < 0.05$; Compared with the infection group, #. $P < 0.05$

图8 各试验组雏鸡盲肠杯状细胞数量

Fig. 8 Number of goblet cells in the chick cecum in each experimental group

丢失和黏蛋白分泌减少,这些现象影响肠黏膜的正常免疫反应。结果表明,与Ⅱ组相比攻虫前1天给药至攻虫后第3天给药Ⅲ组的杯状细胞数和黏蛋白表达显著升高($P < 0.05$),但随着球虫的不断发育和给药时间的推迟,攻虫后第4天和第5天给药Ⅲ组杯状细胞数和黏蛋白表达明显减少或消失。另外,常山散能够提高感染球虫雏鸡血液中IgG、IgM和IgA的抗体水平,提高机体的体液免疫应答,促进鸡免疫器官的生长发育,增强感染雏鸡的免疫力,从而抑制球虫的发育繁殖,提高抗球虫效果^[25]。综上所述,常山散可减轻球虫对宿主肠道的破坏,改善肠道的消化吸收功能,促进肠道屏障蛋白分泌,提高鸡体免疫力,从而发挥抗球虫作用。

4 结 论

本研究结果表明,对感染柔嫩艾美耳球虫不同发育阶段的雏鸡在饲料中添加常山散后,在攻虫前1天、攻虫当天和攻虫后第2天进行给药,常山散可促进球虫感染雏鸡肠道组织损伤的修复,保护肠道组织结构的完整性,减少机械屏障紧密连接蛋白、黏蛋白和肠道杯状细胞的损失,具有良好的抗球虫效果。在攻虫后第3、4和5天给药,此时球虫处于

后期发育繁殖阶段,肠组织结构遭到严重破坏,肠紧密连接蛋白表达显著降低,杯状细胞和黏蛋白基本消失,常山散对肠道组织损伤修复作用减弱,对球虫感染雏鸡的治疗效果较差。

参考文献(References):

- [1] 段晓颖,邢慧资,桑 锋,等. 中药对肠黏膜屏障的作用机制研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(16): 2106-2111.
DUAN X Y, XING H Z, SANG F, et al. Research progress on the mechanism of traditional Chinese medicine on intestinal mucosal barrier [J]. *Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy*, 2019, 36(16): 2106-2111. (in Chinese)
- [2] HUANG G, TANG X, BI F, et al. *Eimeria tenella* infection perturbs the chicken gut microbiota from the onset of oocyst shedding[J]. *Vet Parasitol*, 2018, 258: 30-37.
- [3] 王小芬,田二杰,翁胜杰,等. 细胞紧密连接与鸡肠道疾病的互作关系[J]. 中国家禽, 2024, 46(2): 87-95.
WANG X F, TIAN E J, WENG S J, et al. Interactions between cell tight junctions and chicken intestinal diseases[J]. *China Poultry*, 2024, 46(2): 87-95. (in Chinese)

- [4] PHAM H, MATSUBAYASHI M, TSUJI N, et al. Relationship between *Eimeria tenella* associated-early clinical signs and molecular changes in the intestinal barrier function[J]. *Vet Immunol Immunop*, 2021, 240: 110321.
- [5] ZHOU X, WANG L, WANG Z, et al. Impacts of *Eimeria* coinfection on growth performance, intestinal health and immune responses of broiler chickens[J]. *Vet Parasitol*, 2023, 322: 110019.
- [6] 朱佳源, 肖嫩群, 谭周进. 中药对肠道黏膜损伤的研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2021, 29(9): 449-454.
- ZHU J Y, XIAO N Q, TAN Z J. Research progress on intestinal mucosal injury induced by traditional Chinese medicine[J]. *World Chinese Journal of Digestology*, 2021, 29(9): 449-454. (in Chinese)
- [7] 雷振宇, 康超, 张江, 等. 中草药微生态制剂对鸡柔嫩艾美耳球虫防控效果的研究[J]. 中国家禽, 2019, 41(19): 59-63.
- LEI Z Y, KANG C, ZHANG J, et al. Preventive effect of Chinese herbal medicine and microecological preparation on *Eimeria tenella* in chicken[J]. *China Poultry*, 2019, 41(19): 59-63. (in Chinese)
- [8] 田伟, 陈建辉, 陈慧敏, 等. 中药组方预防多重耐药鸡柔嫩艾美耳球虫感染的效果探究[J]. 中国家禽, 2024, 46(10): 73-80.
- TIAN W, CHEN J H, CHEN H M, et al. Preventive effect of a self-made herbal formula on infection of *Eimeria tenella* with multidrug resistance in chickens[J]. *China Poultry*, 2024, 46(10): 73-80. (in Chinese)
- [9] 郑梦琳, 朱阳华, 赵慧玲, 等. 枯草芽孢杆菌复合微生态制剂对鸡坏死性肠炎回肠黏膜损伤的预防作用[J]. 中国兽医学报, 2022, 42(10): 2036-2041.
- ZHENG M L, ZHU Y H, ZHAO H L, et al. Preventive effect of *Bacillus subtilis* microecological preparation on ileal mucosal injury in chickens with necrotic enteritis[J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2022, 42(10): 2036-2041. (in Chinese)
- [10] 梁小瑞, 王丹阳, 乔彦杰, 等. 三味清热类中药水提物对肉仔鸡肠道菌群和黏膜屏障功能的影响[J]. 中国畜牧兽医, 2020, 47(7): 2043-2054.
- LIANG X R, WANG D Y, QIAO Y J, et al. Effects of water extract of three Qingre Chinese Medicine on intestinal flora and mucosal barrier function of broilers[J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2020, 47(7): 2043-2054. (in Chinese)
- [11] 艾莉雯, 刘金松, 孙梦晴, 等. 基于免疫和抗炎作用探究复方青蒿煎剂防治鸡球虫病研究[J]. 中兽医医药杂志, 2021, 40(4): 5-11.
- AI L W, LIU J S, SUN M Q, et al. Study of compound *Artemisiae Annuae Herba* decoction for the control of avian coccidiosis based on immune and anti-inflammatory effects[J]. *Journal of Traditional Chinese Veterinary*, 2021, 40(4): 5-11. (in Chinese)
- [12] ABDEL-HACK M E, EL-SAADONY M T, SHAFI M E, et al. Antimicrobial and antioxidant properties of chitosan and its derivatives and their applications: A review[J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 164: 2726-2744.
- [13] DU P, YANG J, XIANG W, et al. Traditional Chinese medicine formulation *ChangQing* compound has significant therapeutic effects on chickens infected with *Eimeria tenella*[J]. *Vet Parasitol*, 2024, 331: 110293.
- [14] GIANNENAS I, FLOROU-PANERI P, PAPAZHARIADOU M, et al. Effect of dietary supplementation with *oregano* essential oil on performance of broilers after experimental infection with *Eimeria tenella*[J]. *Arch Tierernahr*, 2003, 57(2): 99-106.
- [15] 马丽娜, 胡晓祯, 郑长辉, 等. 基于“因毒为能”思想的有毒中药常山毒效转化知识图谱可视化分析[J]. 中国药物警戒, 2024, 21(1): 25-32.
- MA L N, HU X Z, ZHENG C H, et al. Visual analysis of knowledge map of toxic Chinese medicine *Changshan* toxicity-effect transformation based the thought of “yin du weineng”[J]. *Chinese Journal of Pharmacovigilance*, 2024, 21(1): 25-32. (in Chinese)
- [16] JANG C S, FU F Y, WANG C Y, et al. *Ch'angshan*, a Chinese antimalarial herb[J]. *Science*, 1946, 103(2663): 59.
- [17] TANG D, CHEN X H, YU Y D, et al. Synthesis and evaluation of febrifugine derivatives as anticoccidial agents[J]. *Arch Pharm (Weinheim)*, 2024, 357(4): e2300540.
- [18] 孙颖, 赵旭, 夏新华, 等. 常山和常山碱的药理作用及减毒研究进展[J]. 中国现代中药, 2022, 24(12): 2514-2521.
- SUN Y, ZHAO X, XIA X H, et al. Pharmacological effects and attenuating toxicity of *Dichroa Radix* and febrifugine: a review[J]. *Modern Chinese Medicine*, 2022, 24(12): 2514-2521. (in Chinese)
- [19] 郭志廷, 梁剑平, 罗晓琴, 等. 一种常山碱的提取工艺: 201210015939. 6[P]. 2014-08-13.
- GUO Z T, LIANG J P, LUO X Q, et al. An extraction

- process of dichroine: 201210015939. 6 [P]. 2014-08-13. (in Chinese)
- [20] ZHOU B H, JIA L S, WEI S S, et al. Effects of *Eimeria tenella* infection on the barrier damage and microbiota diversity of chicken cecum [J]. *Poult Sci*. 2020,99(3):1297-1305.
- [21] QAID M M, AL-MUFARREJ S I, AZZAM M M, et al. Dietary cinnamon bark affects growth performance, carcass characteristics, and breast meat quality in broiler infected with *Eimeria tenella* oocysts [J]. *Animals (Basel)*, 2022, 12(2):166.
- [22] 顾华兵, 刘向萍, 朱 静, 等. 鸡球虫入侵机理、免疫应答及防控研究进展[J]. 中国家禽, 2022, 44(3): 90-98.
- GU H B, LIU X P, ZHU J, et al. Research progress on invasion mechanism, immune response and prevention and control of chicken coccidiosis [J]. *China Poultry*, 2022, 44(3):90-98. (in Chinese)
- [23] AN J, LIU Y, WANG Y, et al. The role of intestinal mucosal barrier in autoimmune disease: a potential target [J]. *Front Immunol*, 2022, doi: 10.3389/fimmu. 2022. 871713.
- [24] QASEM M A A, DKHIL M A, AL-SHAEBI E M, et al. *Rumex nervosus* leaf extracts enhance the regulation of goblet cells and the inflammatory response during infection of chickens with *Eimeria tenella* [J]. *J King Saud Univ Sci*, 2020, 32(3):1818-1823.
- [25] 王 贺, 郭志廷, 李建喜, 等. 常山散对雏鸡感染柔嫩艾美耳球虫不同发育阶段的防治效果[J]. 畜牧兽医学报, 2024, 55(3):1278-1289.
- WANG H, GUO Z T, LI J X, et al. Effect of *Radix Dichroa* powder on the control of *Eimeria tenella* infection in chick at different developmental stages [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2024, 55(3): 1278-1289. (in Chinese)
- [26] ZHOU B H, DING H Y, YANG J Y, et al. Diclazuril-induced expression of CDK-related kinase 2 in the second-generation merozoites of *Eimeria tenella* [J]. *Mol Biochem Parasitol*, 2023, 255:111575.
- [27] SONG J, XIAO K, KE Y L, et al. Effect of a probiotic mixture on intestinal microflora, morphology, and barrier integrity of broilers subjected to heat stress [J]. *Poult Sci*, 2014, 93(3):581-588.
- [28] SUZUKI T. Regulation of the intestinal barrier by nutrients: the role of tight junctions [J]. *Anim Sci J*, 2020, 91(1):e13357.
- [29] PETERSON L W, ARTIS D. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis [J]. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14(3): 141-153.
- [30] FUSCO A, SAVIO V, CIMINI D, et al. *In vitro* evaluation of the most active probiotic strains able to improve the intestinal barrier functions and to prevent inflammatory diseases of the gastrointestinal system [J]. *Biomedicine*, 2023, 11(3):865.
- [31] WALCHER D L, DE SOUSA N F G C, ROCHA L S, et al. Larvicide activity of *Lactobacillus* spp. and *Saccharomyces boulardii* supernatants onto *Toxocara canis* [J]. *J Parasitol*, 2023, 109(1):15-19.
- (编辑 白永平)