

赵莎莎,徐亚亚. 复方磺胺氯吡嗪钠-二甲氧苄啶混悬液对鸡的安全性试验[J]. 江苏农业科学,2014,42(12):262-265.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2014.12.091

复方磺胺氯吡嗪钠-二甲氧苄啶混悬液对鸡的安全性试验

赵莎莎, 徐亚亚

(江苏农牧科技职业学院,江苏泰州 225300)

摘要:选取 40 羽(雌雄各半)健康的 15 日龄扬州黄羽肉鸡,随机分成 4 组,每组 10 羽。试验鸡分别以 0 mg/kg、推荐剂量(300 mg/kg)、3 倍推荐剂量(900 mg/kg)、5 倍推荐剂量(1 500 mg/kg)的磺胺氯吡嗪钠、二甲氧苄啶混悬液连续给药 5 d,给药方式为自由饮水,5 d 后根据各组鸡平均增质量、血液学和血液生化学参数及组织病理学检查结果,评价磺胺氯吡嗪钠、二甲氧苄啶混悬液对鸡的安全性。

关键词:磺胺氯吡嗪钠;二甲氧苄啶混悬液;血液学;血液生化;安全性评价

中图分类号: S859.79⁺6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)12-0262-04

磺胺氯吡嗪属于磺胺类广谱抗菌药,临床主要用于治疗由艾美耳属球虫感染引起的鸡球虫病和特定的细菌性疾病。二甲氧苄啶为兽医专用抗菌增效剂,内服吸收很少,含 DVD 的复方制剂主要用于防治禽、兔球虫病及畜禽肠道感染^[1]。本试验所用的复方磺胺氯吡嗪钠-二甲氧苄啶混悬液临床拟用于治疗由艾美耳属球虫感染引起的鸡球虫病,推荐的给药方案为 1 L 水加入本品 1~2 mL,连用 3~5 d^[2]。笔者参照美国 FDA《新兽药靶动物安全性试验指南》(Guideline No. 33)中禽的毒性研究内容,结合该药物拟推荐的临床使用剂量设计并进行了本次试验,以提供磺胺氯吡嗪钠、二甲氧苄啶混悬液在鸡的组织病理学和临床病理学方面的研究数据,了解该产品对拟用靶动物的安全性。

1 材料与方法

1.1 供试药品

收稿日期:2014-04-14

作者简介:赵莎莎(1979—),女,江苏徐州人,实验师,从事实验室教学工作。E-mail:157568300@qq.com。

用药前最好通过药敏试验筛选敏感药物以保证用药效果,同时也可减少耐药性的产生。李新宇报道了泰州地区大肠杆菌对氧氟沙星、头孢噻吩、头孢噻肟、阿米卡星、磺胺甲基异噁唑、氟苯尼考、安普霉素等药物敏感^[3]。陈志华等认为,14 株鸭大肠杆菌中,78.6% 的菌株对 10 种抗菌药物表现为多重耐药性^[4]。张俊丰等认为,34 株鸡肠道大肠杆菌均为多重耐药菌株,最少可对 5 种药物耐药,最多可对 8 种药物耐药^[5]。本研究中分离的 13 株大肠杆菌也产生多重耐药现象,表明大肠杆菌多重耐药现象已经非常普遍。张俊丰等认为,细菌耐药性监测固然重要,但对细菌耐药机制及耐药性扩散机制进行研究也同样重要^[5]。徐树强等研究发现,即便是同一血清型也存在药敏性差异,这说明耐药性与血清型无关,耐药性的产生主要是由于临床上长期盲目用药所导致的^[6]。陈文静等认为,导致鸭临床发病的大肠杆菌耐药性与血清型、毒力相关基因之间并无相关性^[7]。抗生素耐药性是抗生素应用的

磺胺氯吡嗪钠、二甲氧苄啶混悬液,含量 20.0% + 4.0%,规格为 200 mL,由中牧南京动物药业有限公司提供。

1.2 试验仪器与试剂

1.2.1 仪器及其他 OLYMPUS Au2700 全自动生化分析仪,生物显微镜,离心机;其他器具有血细胞计数板、离心管、载玻片、盖玻片等。

1.2.2 试剂 试验中所用试剂主要有瑞士染液、结晶紫染液、中性红染液等。

1.3 试验动物及饲养地点

1 日龄黄羽肉鸡 100 羽,购自中国家禽研究所孵化场,每天由专人定时喂料不含任何药物的全价日粮(中国家禽研究所提供),自由饮食。育雏及试验期间如需保温则采用油汀或白炽灯保温。

1.4 试验动物入选和剔除标准

入选的 15 日龄鸡在试验前 1 d 必须经兽医检查确认为临床健康。试验前处于濒死的鸡以及生病或受伤的鸡不得作为试验动物用于本次试验。

1.5 方法

1.5.1 试验分组与给药方案 试验前 1 d 从 100 羽饲养至

结果,禽类养殖中应合理使用抗生素。

参考文献:

[1] 陆承平. 兽医微生物学[M]. 北京:中国农业出版社,2004:217.

[2] 陈博言. 兽医传染病学[M]. 5 版. 北京:中国农业出版社,2006:111-112.

[3] 李新宇. 泰州市部分乡镇鸡大肠杆菌的分离及药敏试验[J]. 中国动物保健,2011,13(6):20-22.

[4] 陈志华,刘富来,缪小群,等. 鸭大肠杆菌的药物敏感性试验[J]. 中国兽药杂志,2004,38(12):23-25.

[5] 张俊丰,黄东璋,陈琳,等. 鸡肠道大肠杆菌的分离鉴定及耐药性分析[J]. 中国畜牧兽医,2013,40(11):179-184.

[6] 徐树强,杨安龙,吴兆林,等. 扬州地区鸡大肠杆菌的分离鉴定与药敏试验[J]. 江苏农业科学,2006(6):330-332.

[7] 陈文静,韩先干,何亮,等. 鸭致病性大肠杆菌的分离鉴定及其生物学特性分析[J]. 中国动物传染病学报,2010,18(2):34-40.

14日龄的雏鸡中选择40羽健康雏鸡,称重后按体质量进行均衡随机分组,共分4组,每组10羽鸡(公母兼有)。试验鸡采用翅号和笼号进行标记识别。

根据该药物拟推荐的临床给药剂量,自15日龄起各组鸡分别按推荐应用水平的倍数,即0、1、3、5倍的最大推荐剂量进行自由饮水给药。试验持续期为药物推荐使用的最长持续时间,共计5d。具体给药方案:对照组0 mg/kg、最大推荐剂量组300 mg/kg、3倍最大推荐剂量组900 mg/kg和5倍最大推荐剂量组1500 mg/kg,连用5d。

1.5.2 安全性试验评价指标

1.5.2.1 临床观察 试验期间每天对试验动物进行细致而周密的观察,描述靶动物对药物有毒剂量产生的反应。具体观察项目取决于药物的已知特性和受试家禽的种类:(1)与药物有关的发病率和死亡率;(2)增重和饲料转化,试验前和试验结束后各测定1次;(3)其他不良反应。

1.5.2.2 大体病理学检查 对试验中死亡的所有鸡都要剖检,对与药物毒性、疾病或其他原因有关的死亡率通过可接受的诊断技术加以确认,并记录死亡日期,对疑似与药物相关的大体损伤进行组织病理学检查。

1.5.2.3 临床病理学检查(血液学和血液生化学检查)^[3-4]

在试验结束时对每组试验鸡颈动脉放血并分别采集血样进行血液生化学检查和血常规检查。检测的参数有:(1)血常规参数。包括红细胞数量、血红蛋白数量、白细胞数量、淋巴细胞数量、嗜中性粒细胞数量、单核细胞数量、嗜酸性粒细胞数量、嗜碱性粒细胞数量、淋巴细胞含量、嗜中性粒细胞含量、单核细胞含量、嗜酸性粒细胞含量、嗜碱性粒细胞含量。(2)血液生化学参数。包括白蛋白含量、总蛋白含量、球蛋白含量、白球比值、直接胆红素含量、总胆红素含量、间接胆红素含

量、谷草转氨酶活性、谷丙转氨酶活性、乳酸脱氢酶活性、碱性磷酸酶活性、葡萄糖含量、尿素氮含量、肌酐含量、钙含量、磷含量、钾含量、钠含量、氯含量。

1.5.2.4 组织病理学检查 试验结束时每组试验鸡进行组织学检查。其中对肝脏、肾脏、脾脏和肺等组织进行常规检查,根据出现的毒性情况决定是否对其他组织进行检查。如果与不给药的对照组相比,来自较高剂量试验组鸡的组织未出现与药物相关的组织病理学变化,则较低浓度剂量组的鸡组织则不必进行组织学检查。

1.5.2.5 数据统计分析 用SPSS应用软件系统进行数据的显著性检验。采用 t 检验比较试验组与对照组间平均增质量、料肉比(饲料利用率)、血液学和血液生化学等各项指标的显著性差异^[5]。

2 结果与分析

2.1 一般临床观察

整个试验期间,对照组、推荐剂量组和3倍推荐剂量组中的所有试验动物健康状况良好,饮水和采食均正常。5倍剂量组中有个别鸡在给药3d时出现精神沉郁、采食量下降、羽毛蓬乱等现象;其他各试验组鸡在试验期间未观察到任何临床症状。试验期间各组动物均无死亡。

2.2 增质量与饲料利用率

试验结束时各组平均增质量及饲料利用率结果分别见表1与表2。统计学分析结果(表1)表明,推荐剂量、3倍推荐剂量组鸡平均增质量略有下降,但与对照组平均增质量差异不显著($P>0.05$);5倍推荐剂量组与对照组和其他用剂量组相比,平均增质量显著下降($P<0.05$)。

表1 试验结束时各组鸡的平均增质量($n=20$)

组别	体质量(g)		平均增质量(g)
	试验前(15日龄)	试验后(21日龄)	
对照组(0 mg/kg)	203.90 ± 10.57	387.00 ± 23.48a	183.10 ± 18.38a
推荐剂量组(300 mg/kg)	200.10 ± 10.27	373.30 ± 21.52a	173.20 ± 15.81a
3倍推荐剂量组(900 mg/kg)	193.00 ± 15.36	362.00 ± 27.22b	169.00 ± 16.12a
5倍推荐剂量组(1500 mg/kg)	200.60 ± 16.67	341.50 ± 33.63c	140.9 ± 19.54b

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下表同。

与对照组相比,推荐剂量组和3倍推荐剂量组的料肉比变化不明显,但5倍推荐剂量组料肉比增高,表明磺胺氯吡嗪钠、二甲氧苄啶溶液在使用剂量过高时会降低饲料的利用率,这与其对增质量的影响一致(表2)。

表2 试验结束时各组试验鸡的料肉比

组别	消耗饲料量(g)	增质量(g)	料肉比
对照组(0 mg/kg)	4160.8	1831	2.27
推荐剂量组(300 mg/kg)	3790.9	1732	2.19
3倍推荐剂量组(900 mg/kg)	3565.0	1690	2.11
5倍推荐剂量组(1500 mg/kg)	3546.6	1409	2.52

2.3 血液学参数

由表3可见,随着剂量增加,3倍推荐剂量组和5倍推荐剂量组的一些血液学指标显示出增加或减少的趋势。统计学分析结果表明,推荐剂量组的嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞数

量较对照组有所增加($P<0.05$);3倍推荐剂量组的嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞数量较对照组有所增加($P<0.05$),单核细胞数量有所减少($P<0.05$);5倍推荐剂量组的嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞和单核细胞数量与对照组差异显著($P<0.05$)。

2.4 血液生化学参数

试验结束时血液生化学检测结果分别见表4。

2.5 病理学检查

试验试验结束后分别将每组鸡扑杀,所有剂量组经肉眼观察均未发现任何异常或可疑病变。对5倍推荐剂量组内的所有鸡进行组织病理学切片,检查结果表明,所有鸡的肝、脾、肺和肾均未发现显微病理学变化(图1、图2、图3、图4、图5、图6、图7、图8)。

3 结论与讨论

本试验所采集的数据包括体质量、健康状况、食欲情况以

表3 试验结束时各组试验鸡的血液学指标($n=10$)

组别	红细胞数量 (万个/ μL)	血红蛋白含量 (g/L)	白细胞数量 (万个/ μL)	淋巴细胞数量 (万个/ μL)	异嗜性粒细胞 数量(万个/ μL)	嗜酸性粒细胞 数量(万个/ μL)	嗜碱性粒细胞 数量(万个/ μL)
对照组	236.10 ± 21.41a	87.40 ± 11.97a	3.300 ± 0.330a	0.893 ± 0.100a	2.280 ± 0.230a	0.055 ± 0.007a	0.019 ± 0.002a
推荐剂量组	237.50 ± 10.60a	83.90 ± 6.72a	3.410 ± 0.524a	0.920 ± 0.148a	2.370 ± 0.362a	0.065 ± 0.012b	0.022 ± 0.003c
3倍推荐剂量组	229.50 ± 22.32a	82.70 ± 8.19a	3.400 ± 0.457a	0.940 ± 0.135a	2.350 ± 0.317a	0.066 ± 0.010c	0.022 ± 0.003c
5倍推荐剂量组	237.30 ± 25.79a	83.20 ± 7.91a	3.300 ± 0.283a	0.840 ± 0.097a	2.300 ± 0.211a	0.072 ± 0.006c	0.021 ± 0.002b

组别	单核细胞数量 (万个/ μL)	淋巴细胞含量 (%)	单核细胞含量 (%)	异嗜性粒细胞 含量(%)	嗜酸性粒细胞 含量(%)	嗜碱性粒细胞 含量(%)
对照组	0.042 ± 0.006b	26.60 ± 1.76a	1.28 ± 0.70b	68.70 ± 3.74a	1.67 ± 0.92a	0.56 ± 0.15a
推荐剂量组	0.039 ± 0.007b	27.18 ± 4.10a	1.13 ± 0.68b	69.60 ± 3.75a	2.00 ± 0.81b	0.64 ± 0.25b
3倍推荐剂量组	0.028 ± 0.004a	27.50 ± 3.62a	0.83 ± 0.49a	69.40 ± 2.07a	1.96 ± 1.05b	0.63 ± 0.39b
5倍推荐剂量组	0.051 ± 0.006c	25.68 ± 1.89a	1.52 ± 0.98c	70.00 ± 2.62a	2.10 ± 0.54c	0.67 ± 0.33c

表4 试验结束时各组试验鸡的血液生化指标($n=10$)

生化指标	总胆红素含量 (g/L)	直接胆红素含量 (g/L)	间接胆红素含量 (g/L)	总蛋白含量 (g/L)	白蛋白含量 (g/L)	球蛋白含量 (g/L)	白球比值
对照组	12.60 ± 3.69a	1.38 ± 0.80a	11.22 ± 3.02a	25.91 ± 4.83a	13.60 ± 1.44a	12.21 ± 3.77a	1.19 ± 0.24a
推荐剂量组	13.00 ± 5.37a	1.50 ± 0.86a	11.50 ± 4.67a	24.48 ± 2.36a	13.62 ± 0.82a	10.86 ± 1.79a	1.30 ± 0.17a
3倍推荐剂量组	12.30 ± 3.30a	1.36 ± 0.80a	10.94 ± 2.66a	24.13 ± 4.10a	13.13 ± 1.43a	11.00 ± 3.03a	1.23 ± 0.20a
5倍推荐剂量组	13.70 ± 3.53a	1.14 ± 0.92a	12.56 ± 2.87a	25.42 ± 2.68a	12.56 ± 2.87a	12.23 ± 1.80a	1.09 ± 0.17a

生化指标	谷丙转氨酶活性 (U/L)	谷草转氨酶活性 (U/L)	碱性磷酸酶活性 (U/L)	乳酸脱氢酶活性 (U/L)	肌酐含量 ($\mu\text{mol/L}$)	尿素氮含量 (mmol/L)
对照组	23.10 ± 12.77a	204.30 ± 8.15a	2 432.00 ± 301.01a	1 389.20 ± 271.72a	26.61 ± 5.61a	1.21 ± 0.26a
推荐剂量组	23.40 ± 9.92a	210.80 ± 31.39a	2 287.50 ± 338.26a	1 027.80 ± 227.98b	22.82 ± 2.57a	1.03 ± 0.22a
3倍推荐剂量组	10.60 ± 8.11c	189.30 ± 19.74b	2 571.80 ± 292.65a	1 229.60 ± 196.77a	23.89 ± 1.28a	1.01 ± 0.18a
5倍推荐剂量组	12.70 ± 9.33b	200.80 ± 15.89a	2 324.00 ± 381.94a	1 258.40 ± 295.36a	24.12 ± 1.72a	1.08 ± 0.23a

生化指标	葡萄糖含量 (mmol/L)	P含量 (mmol/L)	Ca含量 (mmol/L)	K含量 (mmol/L)	Na含量 (mmol/L)	Cl含量 (mmol/L)
对照组	14.28 ± 0.42a	1.98 ± 0.27a	2.82 ± 0.25a	4.67 ± 0.52a	144.07 ± 2.36a	110.48 ± 3.04a
推荐剂量组	14.26 ± 0.57a	1.91 ± 0.27a	2.68 ± 0.15a	5.58 ± 0.99a	144.02 ± 1.75a	112.68 ± 2.10a
3倍推荐剂量组	14.56 ± 0.93a	2.02 ± 0.10a	2.60 ± 0.10b	5.62 ± 0.69b	143.35 ± 2.96a	113.10 ± 2.88a
5倍推荐剂量组	15.04 ± 0.60b	2.16 ± 0.33a	2.84 ± 0.18a	5.29 ± 0.98a	148.01 ± 2.28b	115.82 ± 1.75b

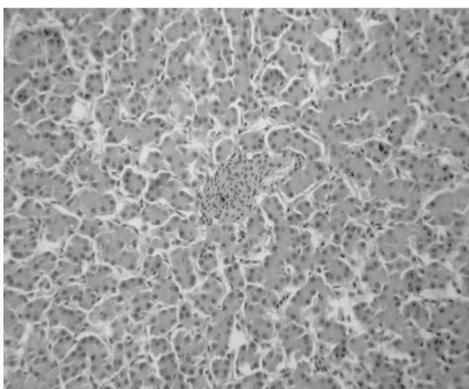


图1 空白对照组肝脏病理切片(40倍×10倍)

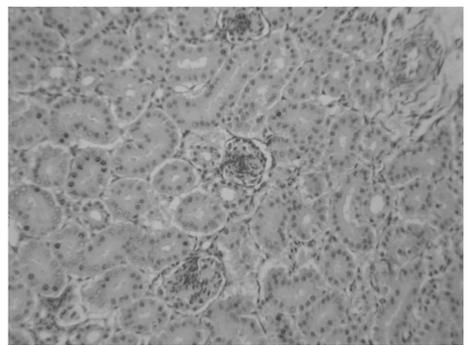


图2 空白对照组肾脏病理切片(40倍×10倍)

及血液学、临床生化等参数。推荐剂量组、3倍推荐剂量组的试验鸡健康状况、食欲情况以及可能的毒性反应与对照组差异不显著,部分血液学参数有不同程度的变化,但在正常范围内;少数血液生化指标与对照组的差异可能和仪器分析有关。与对照组相比,推荐剂量和3倍推荐剂量组的增质量未受显著影响,饲料利用率也未显著改变。

5倍推荐剂量组在用药3 d后个别鸡出现轻度临床不耐受现象,主要表现为精神沉郁、采食量下降、羽毛蓬乱等现象。

但试验结束时这些不良反应明显减少,表现出适应现象,且病理剖检未见相关组织呈现明显病理变化,但部分临床血液学、生化参数指标,如嗜酸性粒细胞数量、嗜碱性粒细胞数量、葡萄糖含量、谷丙转氨酶活性、Na含量和Cl含量等检测指标与未用药对照组之间差异显著($P < 0.05$)。

鉴于本试验在较热的季节进行,试验期间鸡的饮水量增加对药物的不良反应和试验结果可能会有一定的影响。

本试验结果表明,南京中牧动物药业有限公司生产的磺

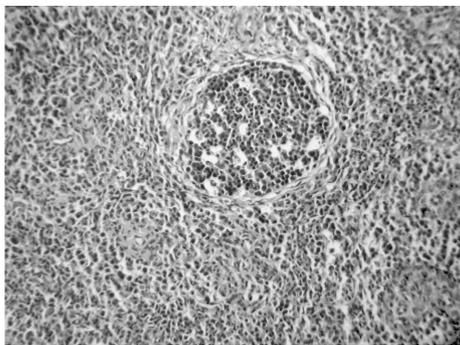


图3 空白对照组脾脏病理切片 (40倍×10倍)

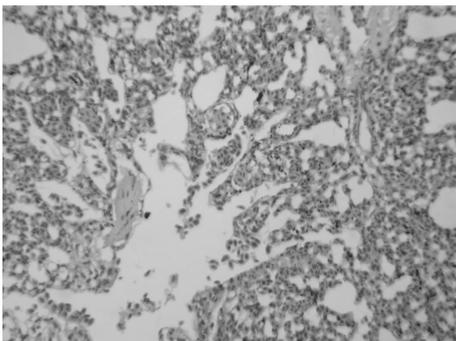


图4 空白对照组肺脏病理切片 (40倍×10倍)

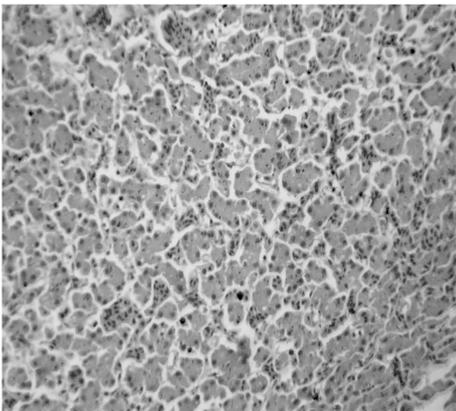


图5 5倍推荐剂量组肝脏病理切片 (40倍×10倍)

胺氯吡嗪钠、二甲氧苄啶混悬液至少以 3 倍最大推荐剂量对鸡连续给药 5 d,并未观察到对鸡有毒性作用和死亡现象发生,鸡精神状态良好,食欲和粪便正常。说明磺胺氯吡嗪钠、二甲氧苄啶混悬液至少以 3 倍最大推荐剂量对靶动物鸡连续饮水给药 5 d 是安全的。

综合本次试验结果,建议在使用磺胺氯吡嗪钠、二甲氧苄啶混悬液饮水给药时,连续用药不得超过 5 d,炎热季节可适当降低混饮药物的浓度。

参考文献:

[1]李湘鸣. SPSS 软件应用指导:常用医学生物统计[M]. 南京:东南大学出版社,2000.

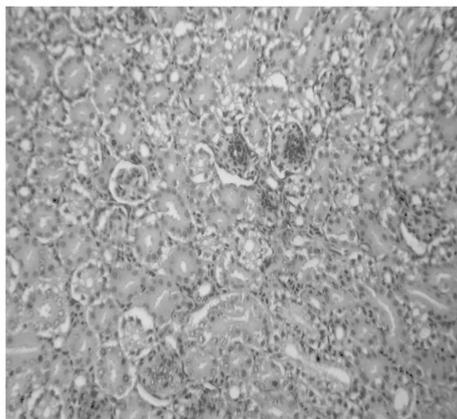


图6 5倍推荐剂量组肾脏病理切片 (40倍×10倍)

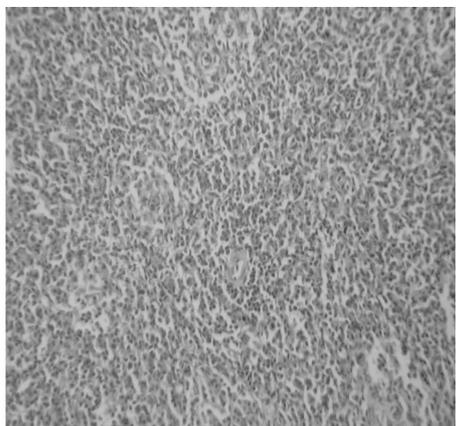


图7 5倍推荐剂量组脾脏病理切片 (40倍×10倍)

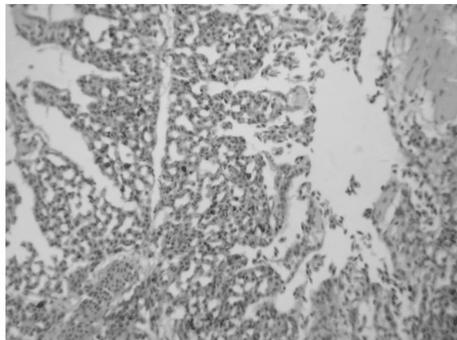


图8 5倍推荐剂量组肺脏病理切片 (40倍×10倍)

[2]王俊东,刘宗平. 兽医临床诊断学[M]. 北京:中国农业出版社,2004.

[3]王捍东. 兽医临床诊断学实习指导[M]. 扬州:扬州大学农学院,1998.

[4]陈杖榴. 兽医药理学[M]. 北京:中国农业出版社,2002: 237-238.

[5]中华人民共和国兽药典委员会. 兽药使用指南:化学药品卷[M]. 北京:中国农业出版社,2006:146-147.