

阿奇霉素对麻花肉鸡的亚急性毒性研究

颜文钦¹,徐晓虹¹,胡罗娟²,黄春贵³

(1. 浙江师范大学 化学与生命科学学院,浙江 金华 321004; 2. 中国科学院 上海药物研究所, 上海 210000; 3. 浙江金华白龙桥兽医站,浙江 金华 321000)

摘要: 将 80 只 19 日龄麻花肉鸡随机分为 4 组,每组 2 个重复,分别以 0、50、100、200 mg/L 阿奇霉素水溶液供试验鸡连续自由饮用 14 d,观察其亚急性毒性作用。结果显示,低剂量组(50 mg/L)鸡的生长速度、饲料转化率显著强于其他组($P < 0.05$);高剂量组(200 mg/L)鸡血清丙氨酸氨基转移酶活性和肝脏器系数与对照组(0 mg/L)和低剂量组存在极显著差异($P < 0.01$),肝肿大变黄,质脆,出现坏死灶,胆囊肿大,胆汁充盈,肝细胞排列无序、胞浆空泡化、弥漫性脂肪变性。表明,低剂量阿奇霉素能促进鸡生长,大于 100 mg/L 则对肝、胆产生毒性作用。

关键词: 阿奇霉素;麻花肉鸡;亚急性毒性;病理学

Studies of subacute toxicity of azithromycin in Mahua broilers

YAN Wen-qin¹, XU Xiao-hong¹, HU Luo-juan², HUANG Chun-gui³

(1. College of Chemistry and Life Sciences, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, China;

2. Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 210000, China;

3. Bailongqiao Veterinary Station, Jinhua 321000, China)

Abstract: To investigate subacute toxicity of azithromycin in Mahua broilers, eighty 19-days-old Mahua broilers were divided randomly into four groups and the 4 groups were given 0, 50, 100 and 200 mg/L azithromycin by freely drinking for 14 days, respectively. Growth rate and feed conversion rate in 50 mg/L group were significantly higher than that in the other groups ($P < 0.05$). The activity of alanine transaminase (ALT) and liver coefficient in 200 mg/L group increased significantly compared with that in control group and 50 mg/L group ($P < 0.01$). Livers of chickens in 200 mg/L group became swollen, yellow and fragile and appeared necrotic focus, and Gallbladder was intumescent and filled with gall. Disordered distribution, vacuolar plasms and diffuse fatty degeneration were observed in liver cells in the 200 mg/L group. The results showed that growth rate of broilers was promoted by 50 mg/L azithromycin but inhibited by azithromycin over 100 mg/L.

Key words: azithromycin; Mahua broilers; subacute toxicity; pathology

阿奇霉素(azithromycin)为 15 元环的半合成大环内酯类抗生素^[1],化学结构是在红霉素 A 酯环的 9 位内插一个取代甲基的氮原子^[2],彻底解决了红霉素因酸缩酮化形成 8,9-脱水红霉素-6,9-半缩酮的致命缺点,使阿奇霉素的抗菌性、药代动力学特点明显优于传统大环内酯类药物,尤其对大多数耐红霉素杆菌有良好的抗菌效果^[3]。阿奇霉素在国外已用于家庭宠物和珍稀动物呼吸道疾病的防治^[4],国内则用于防治畜禽急慢性呼吸道疾病。目前,大多

数养殖场还未认识到阿奇霉素的毒副作用,常常加大用药剂量和延长用药时间,导致中毒现象时有发生^[5]。为此,特选麻花肉鸡进行水溶性阿奇霉素的亚急性毒性试验,旨在为确定肉鸡的安全饮水剂量提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试药品与仪器

水溶性阿奇霉素,475 IU,类白色,由浙江省金

收稿日期: 2006-08-14; 修回日期: 2006-10-31

作者简介: 颜文钦(1974-),男,浙江永康人,硕士, Tel: 0579-2283222, E-mail: ywq@zjnu.net, zjnuywq@163.com

华市奥奇生物化学有限公司提供,批号 20060312;丙氨酸氨基转移酶试剂盒(ALT,赖氏法)、天门冬氨酸氨基转移酶试剂盒(AST,赖氏法),均由北京北化康泰临床试剂有限公司生产,批号 20051220。

1.2 实验动物及分组

选用本地市场临床健康的 19 日龄麻花肉鸡 80 只,适应 3 d 后进入试验,雌雄各半随机分为 1 个对照组和 3 个试验组,每组 2 个重复,每一重复 10 只,分笼饲养;将阿奇霉素分别按 0、50、100、200 mg/L 溶于水中供试验鸡自由饮用。每日观察鸡精神状态及饮食欲,记录饮水量、采食量。

1.3 饲养管理

试验期间试验鸡自由采食全价颗粒料(未含任何相关药物,由金华市民升科技饲料开发有限公司提供),每日更换饮水。

1.4 阶段生长率与饲料转化率的测定

于 22 和 36 日龄,即用药前、后称量各组鸡的重量和饲料消耗量,用该阶段体重变化与阶段生长率说明受试药物对鸡特定阶段生长发育和生长态势的影响。阶段生长率 = [(试验后体重 - 试验前体重) / 试验后体重] × 100 %。用饲料转化率(料肉比)作为养殖场经济效益的评定指标。

1.5 血清采集及生化指标的测定

试验结束时,将鸡保定后切断右侧颈静脉放血,取中段血 2 mL,待血液凝固后,3 000 r/min 离心 10 min,分离血清^[6],采用赖氏法进行 ALT 和 AST 活性的测定^[7]。

1.6 病理观察及脏器系数的测定

每日观察试验鸡临床体征;取血后迅速分离心脏、肝、肾、脾、腺胃及肌胃,用剪刀小心剔除附着的脂肪和筋膜,用滤纸吸去表面血液和体液后立即称重,计算各脏器的脏器系数(脏器湿重/体重 × 100),

并立即进行病理解剖学观察;取各组脏器用 A-F-A 固定液(950 mL/L 乙醇 90 mL + 甲醛 10 mL + 冰醋酸 1 mL)固定 24 h,脱水透明,石蜡包埋,切成 8 μm 厚的切片,HE 染色,显微镜下观察^[8]。

用 SPSS 生物统计软件分析试验数据,阶段生长率、饲料转化率、血清生化指标和脏器系数采用独立性 χ^2 检验进行差异显著性分析。

2 结果

2.1 阿奇霉素对鸡生长性能的影响

低剂量组连续 14 d 饮用阿奇霉素后,采食量增加,饲料转化率高于对照组 ($P < 0.05$) 和高剂量组 ($P < 0.01$);高剂量组鸡采食量下降,阶段性生长减缓 ($P < 0.01$),料肉比升高 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 阿奇霉素对鸡脏器系数的影响

饮用高剂量阿奇霉素会使试验鸡肝的脏器系数明显升高 ($P < 0.01$),而心脏、脾、肾、腺胃、肌胃等脏器未发现中毒症状,其脏器系数与对照组无显著性差异 ($P > 0.05$);中、低剂量组与对照组无显著性差异。结果见表 2。

2.3 阿奇霉素对鸡血清酶活性的影响

低剂量阿奇霉素对鸡血清酶活性的影响并不明显 ($P > 0.05$),而中、高剂量组的 ALT 活性与对照组存在极显著差异 ($P < 0.01$);但 AST 活性在各组之间的差异并不明显 ($P > 0.05$)。结果见表 3。

2.4 病理变化

2.4.1 眼观变化 低剂量组鸡脏器无明显眼观病变,高剂量组鸡肝表面出现黄色斑点,切面隆起且不平整,肿大、质脆,最严重的 2 只鸡整个肝变黄,表面有条状淤血;中、高剂量组鸡胆囊明显肿大,胆汁充盈,心脏、脾、肾、腔上囊等器官均未见异常变化。中剂量组鸡肝无明显变化。

表 1 阿奇霉素对试验鸡生长性能的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effects of azithromycin on growth indexes of the experimental chickens

组别 Groups	试验前体重/g First body weight	试验后体重/g Last body weight	组增重/g Weight gain	饲料消耗量/g Feed wastage	阶段生长率/% Phase growth rate	饲料转化率/% Feed conversion rate
对照组 Control group	160.22 ±18.31	406.57 ±39.90	2 463.5	6 262.2	60.73 ±1.10	2.520
低剂量组 50 mg/L group	165.62 ±23.56	457.80 ±33.03	2 921.8	6 918.8	64.00 ±3.61 ²⁾	2.372 ¹⁾
中剂量组 100 mg/L group	155.39 ±15.50	399.40 ±61.32	2 440.1	6 266.2	60.85 ±3.59	2.621
高剂量组 200 mg/L group	161.66 ±17.63	381.46 ±28.78	2 198.0	6 176.4	58.26 ±3.64 ²⁾	2.777 ¹⁾

1): 与对照组差异显著 ($P < 0.05$); 2): 与对照组差异极显著 ($P < 0.01$)。下表同
1): The difference of data between control group and experimental group is significant ($P < 0.05$); 2): The difference of data between control group and experimental group is very significant ($P < 0.01$). The same as follows

表 2 阿奇霉素对鸡脏器系数的影响($\bar{X} \pm S$, n = 20)

Table 2 Effects of azithromycin on viscera coefficient of chickens

组别 Groups	心脏系数 Heart coefficient	肝系数 Liver coefficient	脾系数 Spleen coefficient	肾系数 Kidney coefficient	腺胃系数 Gland stomach coefficient	肌胃系数 Muscular stomach coefficient
对照组 Control group	0.703 \pm 0.0811	3.167 \pm 0.466	0.164 \pm 0.029	1.066 \pm 0.127	0.800 \pm 0.163	4.691 \pm 0.852
低剂量组 50 mg/L group	0.684 \pm 0.077	2.946 \pm 0.309	0.152 \pm 0.019	1.013 \pm 0.097	0.791 \pm 0.188	4.538 \pm 0.796
中剂量组 100 mg/L group	0.739 \pm 0.082	3.322 \pm 0.404	0.147 \pm 0.026	1.055 \pm 0.104	0.830 \pm 0.139	5.040 \pm 0.900
高剂量组 200 mg/L group	0.730 \pm 0.081	3.970 \pm 0.481 ²⁾	0.171 \pm 0.029	1.130 \pm 0.154	0.807 \pm 0.138	5.047 \pm 0.938

表 3 阿奇霉素对鸡血清酶活性的影响($\bar{X} \pm S$, n = 20)

Table 3 Effects of azithromycin on serum enzymes of poisoned chickens

组别 Groups	ALT/(U · L ⁻¹)	AST/(U · L ⁻¹)
对照组 Control group	7.515 \pm 2.232	191.53 \pm 16.58
低剂量组 50 mg/L group	9.033 \pm 2.738	181.82 \pm 9.32
中剂量组 100 mg/L group	15.690 \pm 3.573 ²⁾	195.55 \pm 18.93
高剂量组 200 mg/L group	20.091 \pm 4.255 ²⁾	199.87 \pm 16.00

2.4.2 组织学变化 组织切片经 HE 染色后,低剂量组与对照组各组织未见明显差异;而中、高剂量组鸡肝出现不同程度的病变,主要表现为肝细胞轻度颗粒变性,肝细胞肿胀,细胞排列无序,坏死肝细胞数量明显增多,胞浆空泡化。高剂量组鸡肝细胞出现大小不等、轮廓鲜明的圆形空泡,严重脂变细胞中脂滴增大,将胞核挤向一侧,发生弥漫性脂肪变性,被膜下肝细胞发生变性坏死(见图 1)。

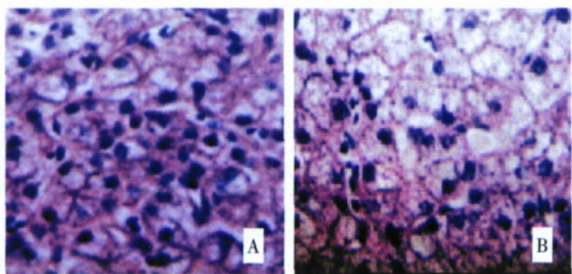


图 1 试验鸡肝组织切片 400 ×

Fig.1 Liver slices of the control group and 200 mg/L group

A:对照组肝组织;B:高剂量组肝组织

A:Liver slice of the control group; B:Liver slice of 200 mg/L group

3 讨论

3.1 阿奇霉素对鸡肝、胆功能的影响

在肝细胞内,ALT 主要分布于细胞浆水溶性部分,AST 则分布于细胞浆水溶性部分和线粒体中。

当肝受到高剂量阿奇霉素毒害时,出现肝细胞损伤或坏死,细胞膜通透性增大,大量的丙氨酸氨基转移酶释放到血液中。因此,血清中丙氨酸氨基转移酶的活性可以反映肝细胞损害和坏死的程度。本试验中,高剂量组鸡的 ALT 活性与对照组和低剂量组均存在极显著差异($P < 0.01$),而 AST 活性却无显著性差异。笔者认为,由于肝内的 ALT 活性超过体内其他脏器内该酶的活性,故 ALT 值比 AST 更能说明肝的损伤程度。由此推测,阿奇霉素致麻花肉鸡中毒的靶器官为肝,这与阿奇霉素主要由肝胆系统代谢和排泄的药代动力学特点相一致^[9]。高剂量组鸡肝表面颜色变黄,出现坏死灶,胆汁淤积,脏器系数和 ALT 指标升高,与大环内酯类的不良反应相一致^[10-14]。笔者认为高剂量阿奇霉素可以引起鸡肝胆功能下降,进而影响生长速度和饲料转化率。因此,对肝胆功能不完善的幼龄仔鸡应小心使用阿奇霉素,以免发生中毒。

3.2 兽医临床无毒剂量的选择

无毒剂量是指对实验动物不能产生危害的药物和化学物质的浓度^[15]。在连续 14 d 给鸡自由饮用 50 mg/L 水溶性阿奇霉素后,各脏器系数、血清生化指标及组织病理学等方面与对照组鸡无显著性差异($P > 0.05$)。提示,该剂量应为无毒剂量,但连续饮用时间不宜过长,应控制在 14 d 以内。同时笔者认为水溶性阿奇霉素在 50 ~ 100 mg/L 应该存在一个临界无毒剂量。中剂量组鸡的脏器系数、饲料转化率与对照组和低剂量组鸡无显著性差异,但其血清指标与对照组鸡存在极显著差异,随着连续用药时间的增加,可能会表现出与高剂量组鸡相似的中毒症状。

阿奇霉素通过阻碍细菌转肽过程来抑制细菌蛋白质的合成,从而达到抑菌作用^[16]。它对酸非常稳定,对胃肠道的不良反应较轻^[15],对肝的毒性低于红霉素和罗红霉素^[17]。因此,合理添加阿奇霉素能有效抑制动物体内有害菌繁殖,达到促进生长、降低

料肉比的功效。从本试验结果可见,阿奇霉素虽然对肝胆系统有一定的毒性,但考虑到其在临床预防上所需药量较低(一般 30 mg/L 就能有效预防呼吸道疾病),因此,该药在兽医临床上应用是相对安全的,但用药时应考虑动物品种、日龄、饲养条件及健康状况等因素。

参考文献(References)

- [1] 史颖,姚国伟,马敏. 9-脱氧-9a-氮杂-9a-同型红霉素的合成[J]. 精细化工, 2004, 21(7): 546-549.
SHI Ying, YAO Guo-wei, MA Min. Synthesis of 9-deoxy-9a-aza-9a-homoerythromycin A[J]. *Fine Chemicals*, 2004, 21(7): 546-549. (in Chinese)
- [2] 方阅,寿佳慧,张渊. 氮环内酯类抗生素——阿奇霉素[J]. 首都医药, 1999, 6(8): 24-25.
FANG Yue, SHOU Jia-hui, ZHANG Yuan. A semi-synthetic macrolide antibiotic——azithromycin [J]. *Capital Medicine*, 1999, 6(8): 24-25. (in Chinese)
- [3] SORIANO F, FEMANDEZ-ROBLAS R, CALVO R, et al. *In vitro* activities susceptibilities of aerobic and facultative non-spore-forming Gram-positive bacilli to HMR3647 and 14 other antimicrobial[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1998, 42(5): 1028.
- [4] 虞红,李英伦,何敏,等. 兽药新宠——阿奇霉素[J]. 兽药与饲料添加剂, 2005, 10(2): 16-18.
YU Hong, LI Ying-lun, HE Min, et al. Veterinary drugs——azithromycin[J]. *Veterinary Pharmaceuticals & Feed Additives*, 2005, 10(2): 16-18. (in Chinese)
- [5] 颜文钦,徐晓虹. 从生产流程角度控制猪场环境污染[J]. 畜禽业, 2005(10): 18-20.
YAN Wen-qin, XU Xiao-hong. Environmental pollution and countermeasures in mariculture in hoggeries[J]. *Livestock and Poultry Industry*, 2005(10): 18-20. (in Chinese)
- [6] 沈建忠,钱传范,江海洋,等. 马杜霉素在鸡组织中残留消除及临床毒性的研究[J]. 畜牧兽医学报, 2000, 31(5): 458-463.
SHEN Jian-zhong, QIAN Chuan-fan, JIANG Hai-yang, et al. Study on residue elimination and clinical toxicity of maduramycin in chicken tissues[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2000, 31(5): 458-463. (in Chinese)
- [7] 叶应妩,王毓三. 全国临床检验操作规程[M]. 2版. 南京:东南大学出版社, 1997.
YE Ying-wu, WANG Yu-san. *Operating Regulation of Clinical Laboratory Tests in China*[M]. 2nd ed. Nanjing: Southeast University Press, 1997. (in Chinese)
- [8] 刘世新. 实用生物组织学技术[M]. 北京:科学出版社, 2004.
- LIU Shi-xin. *A Efficient Technology of Osteoinduction*[M]. Beijing: Science Press, 2004. (in Chinese)
- [9] 宋凤江. 阿奇霉素的药动力学特点及临床应用[J]. 中国医药卫生, 2005, 6(8): 92-93.
SONG Feng-jiang. Pharmacokinetics and clinical application of azithromycin[J]. *Chinese Medicine Hygiene*, 2005, 6(8): 92-93. (in Chinese)
- [10] 王金星,王保刚,于刚. 长期外用红霉素致药物性肝损害1例[J]. 健康大视野:医学分册, 2005, 13(10): 11.
WANG Jin-xing, WANG Bao-gang, YU Gang. 1 liver injury patient due to long time use of erythromycin[J]. *Health Horizon: Medical Science*, 2005, 13(10): 11. (in Chinese)
- [11] 许国华,王伟丰,顾国林. 肉仔鸡红霉素中毒的诊治[J]. 上海畜牧兽医通讯, 2004(1): 50.
XU Guo-hua, WANG Wei-feng, GU Guo-lin. The diagnosis and treatment of erythromycin poisoning in chickens[J]. *Shanghai Journal of Animal Husbandry and Veterinary*, 2004(1): 50. (in Chinese)
- [12] 李亚海. 静滴阿奇霉素致肝损害1例[J]. 中国现代应用药学, 2005, 22(5): 392.
LI Ya-hai. 1 liver injury patient due to erythromycin injection[J]. *The Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy*, 2005, 22(5): 392. (in Chinese)
- [13] 张寓云. 阿奇霉素的药理和临床应用[J]. 汕头大学医学院学报, 1998, 11(1): 95-96.
ZHANG Yu-yun. Pharmacology and clinical application of azithromycin[J]. *Journal of Shantou University Medical College*, 1998, 11(1): 95-96. (in Chinese)
- [14] 余自成,邓伟吾. 大环内酯类抗生素的正确选用[J]. 世界临床药物, 1998, 19(3): 162.
YU Zi-cheng, DENG Wei-wu. The correct selection of macrolide antibiotic[J]. *World Clinical Drugs*, 1998, 19(3): 162. (in Chinese)
- [15] 李美同,郭女林. 动物食用组织中药物和化学物质的残留[J]. 中国饲料, 1992(3): 36-37.
LI Mei-tong, GUO Nü-lin. Medicine and chemical constituents residue in skin and muscle of animals[J]. *China Feed*, 1992(3): 36-37. (in Chinese)
- [16] XIE Xiao-bin. Effect of azithromycin plus rifampin versus amoxicillin alone on eradication and inflammation in the chronic course of chlamydia pneumoniae pneumonitis in mice[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2000, 4(6): 1761-1764.
- [17] PIERO P. Adverse effect of macrolide antibacterials[J]. *Drug Safety*, 1998, 19(5): 340-345.

(责任编辑 胡弘博)