

恩诺沙星对SD系大白鼠的 急性及亚急性毒性研究

董漓波 叶启薇 孙永学 冯淇辉 陈杖榴

(华南农业大学动物医学系, 广州, 510642)

摘要 对Sprague-Dawley(SD)系大白鼠口服恩诺沙星的急性及亚急性毒性研究, 用简化机率单位法测得SD系大白鼠口服恩诺沙星的 LD_{50} 为7 709 mg/kg, 95%可信限为8 233~7 218 mg/kg; LD_{90} 为9 745 mg/kg. 亚急性毒性试验以每天分别用20, 100, 200 mg/kg体重的剂量添加入饮水中, 供三组大白鼠自由饮服, 分别于30, 60 d抽检动物, 检查内容包括食饵效率、器官系数、器官含水量、血液检验、血清谷-丙转氨酶检验、尿液检验及病理剖检观察与组织切片等项, 结果了解到恩诺沙星引起以上各项指标异常变化程度较轻, 而且不会因剂量加大和使用时间延长而出现毒性加剧的变化, 说明恩诺沙星的毒性较低, 与急性毒性试验所得的结果相符。

关键词 恩诺沙星; 大白鼠; 急性毒性; 亚急性毒性

中图分类号 S859.8

恩诺沙星(enrofloxacin)为喹诺酮酸类药物, 此类药物抗菌谱广, 对革兰氏阴性菌和阳性菌均有良好作用, 杀菌力强, 对霉形体及某些耐药菌株都有效; 与其他抗生素无交叉耐药性, 作用迅速, 在组织中分布广, 能透过血脑屏障, 可治疗许多全身性感染的疾病。

本研究的目的是以实验动物SD系大白鼠为受试动物, 开展急性毒性试验, 测定口服恩诺沙星的 LD_{50} 及 LD_{90} ; 进行亚急性毒性试验, 通过30, 60 d观察食饵效率、器官系数、器官含水量、血液检验、血清谷-丙转氨酶检验、尿液检验及病理剖检观察与组织切片等项, 了解恩诺沙星对实验动物的亚急性毒性, 为畜禽临床应用提供可靠的理论依据。

1 材料和方法

1.1 供试药品及试剂

恩诺沙星由广东省海康县兽药厂提供。磺酰水杨酸、联苯胺、二甲氨基苯甲酸、亚硝基铁氰化钠等均为分析纯试剂。

1.2 仪器

显微镜, F-800 半自动血液学分析仪(日本产), ISP-MI 半自动生化仪(荷兰产)等。

1.3 动物

大白鼠, 品种为SD系, 购自中山医科大学实验动物中心。急性毒性试验雄鼠体重为165~180 g, 雌鼠为150~160 g; 亚急性毒性试验雄鼠为90~100 g, 雌鼠为80~90 g。

1.4 方法

1995-12-31 收稿

1.4.1 急性毒性试验的方法 LD_{50} , LD_{90} 的测定均用简化机率单位法。

1.4.2 亚急性毒性试验的方法 将大白鼠分为4组,每组20只,雌雄各半并分笼饲养。1~3组为试验组,按每公斤体重每天20, 100, 200 mg三个剂量添加入饮水中,分别供3个组大白鼠自由饮服。第4组为对照组,不添加药物。

食饵效率:每10 d计算一次动物摄食量与体重增加量之比。

检验项目及时间:以下各项检验均分别于用药后30, 60 d进行,各组取4只大白鼠,雌雄各半。

器官系数:为器官与体重之比。本试验分别取出肝、肾、肺、心、脑、脾等6个脏器,求出器官系数。

器官含水量:为器官湿重减去干重。本试验将取出的脏器分别称重后,置于110℃烘箱中烘干至恒重即为脏器的干重,从而求出各器官含水量。器官系数及含水量数值高者,说明组织出现充血及水肿,数值低者说明组织出现萎缩变化。

血液检验:检验其白细胞数(WBC)、红细胞数(RBC)、血红蛋白含量(HCB)等3项指标。

尿液检验:以组为单位进行pH值、尿中蛋白质(用硝酸试法)、尿中潜血(用改良联苯胺法)、尿中胆素原(用艾氏试剂检验)、尿中葡萄糖(用斑氏试剂检验)等项检验。

血清谷-丙转氨酶检验:采用赖氏法检验。

病理检查:肉眼观察各鼠的器官变化,并取肝、脑、肾作组织切片检查。

2 结果

2.1 大白鼠口服恩诺沙星急性毒性试验结果

表1 恩诺沙星大白鼠口服 LD_{50} 实验记录

组别	动物数/只	剂量/mg·kg ⁻¹	剂量对数	死亡数/只	死亡率/%	机率单位(y)	权重系数	权重(w)
1	10	5 146	3.711	0	0	2.60	0.181	1.81
2	10	5 918	3.772	1	10	3.72	0.343	3.43
3	10	6 805	3.833	2	20	4.16	0.490	4.90
4	10	7 826	3.894	5	50	5.00	0.637	6.37
5	10	9 000	3.954	8	80	5.84	0.490	4.90

$$\Sigma y = 21.32 \quad \Sigma w = 21.41$$

按简化机率单位法计算大白鼠口服恩诺沙星的 LD_{50} 为 7 709 mg/kg。因试验结果最高死亡率为80%,故需校正,校正后的 LD_{50} 为 7 762 mg/kg,95%可信限为 8 233~7 218 mg/kg; LD_{90} 为 9 745 mg/kg。

2.2 大白鼠口服恩诺沙星亚急性毒性试验结果

2.2.1 食饵效率 试验组与对照组的食饵效率均有差异。1至4组平均食饵效率为:1~10 d 分别为 0.407, 0.380, 0.368, 0.520, 11~20 d 分别为 0.347, 0.337, 0.325, 0.424, 21~30 d 分别为 0.200, 0.230, 0.150, 0.220, 31~40 d 分别为 0.230, 0.215, 0.190, 0.240, 41~50 d 分别为 0.430, 0.450, 0.453, 0.460, 51~60 d 分别为 0.216, 0.204, 0.203, 0.220。

2.2.2 器官系数及器官含水量 用药30 d在6个器官中,只有肾、心、脑出现变化,现将试验组与对照组进行比较,以及组间进行比较,其结果如下:肾的器官系数2组(0.0787±0.0007)比4组(0.0062±0.0012)高,含水量2组(1.1175±0.1330)、3组(1.1950±0.2894)

比4组(0.0039 ± 0.0003)高;心脏的器官系数3组(0.0029 ± 0.0005)比4组(0.0039 ± 0.0003)低,含水量3组比4组(0.0044 ± 0.0009)低;脑的含水量1组(1.5625 ± 0.629)、2组(1.6750 ± 0.1190)比4组(1.3250 ± 0.0866)高。

用药60d在6个器官中,只有肝、肺出现变化,肝脏的器官系数2组(0.0393 ± 0.0047)比对照4组(0.0473 ± 0.0035)低;肺的器官系数2组(0.0058 ± 0.0007)比4组(0.0101 ± 0.0012)低,含水量2组(1.0200 ± 0.3818)比对照4组(1.8300 ± 0.0005)低。

以上经统计学 t 检验差异显著。

2.2.3 血液检验(平均值 $\pm$ 标准差) 用药30d大白鼠血液常规检验中,白细胞数1组(6.33 ± 3.78)、2组(5.73 ± 3.02)比4组(12.43 ± 7.87)低,用药60d,红细胞数3组(5.56 ± 1.44)比4组(8.68 ± 1.64)低,以统计学 t 检验差异显著。

2.2.4 血清谷-丙转氨酶检验(平均值 $\pm$ 标准差) 用药60d大白鼠血清谷-丙转氨酶的数据(赖氏单位)4个组分别为 32.75 ± 4.57 , 53.25 ± 9.03 , 37.75 ± 24.76 , 48.00 ± 29.53 。试验1组比对照4组低,经统计学 t 检验差异极显著,其他无显著差异。

2.2.5 尿液检验 用药30d尿液检验项目中,尿胆素原及尿中葡萄糖两项1,2,3组均出现阳性,4组为阴性。其他项目及用药60d各项均无变化。

2.2.6 病理检查 肉眼观察:各项大白鼠各器官均无异常变化。

病理切片观察:用药30,60d取各组1只大白鼠的肝、肾、脑切片观察其病变情况。用药30d1,2,3组的大白鼠肝细胞出现颗粒、脂肪水泡变性,个别坏死;肾出现肾小管细胞、上皮细胞变性及部分组织出血;脑出现脑细胞变性及局部坏死,4组出现个别脑细胞变性。用药60d1,3,4组肝出现颗粒变性、水泡变性,充血,出血等;1,2,4组肾出现肾小管上皮细胞浊肿;1,3组脑出现局部出血及充血。

3 讨论

3.1 恩诺沙星给大白鼠口服的 LD_{50} 为7709 mg/kg,95%可信限为8233~7218 mg/kg, LD_{90} 为9745 mg/kg。根据联合国世界卫生组织推荐外来化合物急性毒性分级,大白鼠一次口服 LD_{50} 在5000 mg/kg以上为微毒(徐厚恩等,1991)。由此可见,恩诺沙星对大白鼠的毒性极低。

3.2 亚急性毒性试验所用恩诺沙星每天的剂量,试验1,2,3组分别为20 mg/kg,100 mg/kg,200 mg/kg。所进行的食饵效率试验,其结果为用药后20d对照组比试验组高,说明服药后20d大白鼠有不适应的反应,而后40d已逐渐适应。器官系数及器官含水量30d测定时,见试验2,3组大白鼠的肾有水肿变化,3组大白鼠心脏有萎缩变化,1,2组大白鼠的脑有水肿变化;60d测定2组大白鼠的肝及肺有萎缩变化。说明恩诺沙星对肾、心、脑、肝、肺等组织的代谢有影响。血液常规检验(红血球、白血球计数、血红蛋白含量)及血清谷-丙转氨酶检验,试验组与对照组有差异,但其数值都在大白鼠的正常值范围内(James,1984)。尿液检验30d的结果发现试验组的尿胆素原及尿中葡萄糖为阳性,60d的检查结果全部正常,说明用药前期对尿液成分有影响。病理检查项目中肉眼观察无异常变化,而病理切片发现试验组大白鼠的肝、肾、脑组织在30d出现局部病变,而60d试验组与对照组的肝、肾、脑组织均出现局部病变,说明组织的病变不一定为应用药物而引起。

由以上所进行的食饵效率、器官系数及器官含水量、血液常规、血清谷-丙转氨酶、尿液检验、病理检查等项亚急性毒性研究结果,可见恩诺沙星不会随着剂量加大而出现毒性加剧

的变化,在用药时间上,连续用药30,60 d,也不出现用药时间长毒性加剧的变化,而且各项检验出现的异常变化程度较轻,从而说明恩诺沙星毒性较低,这与急性毒性试验所得的结果是相符的。

3.3 国外关于恩诺沙星毒性的研究报道很少。在禽类方面,Rulof(1990)报道以0.02%,0.04%,0.08%的恩诺沙星给18只鸽子连续饮水给药8个月,其受精率、产蛋量及羽毛状态均无不良反应,但0.08%时雄鸽腿关节受损害,雌鸽的子代出现生长减慢,胚胎死亡率增加以及其它损害,似乎表明药物在高剂量时对动物软骨组织生长有不良影响。因此可以认为前人报道与本试验结果相一致,均表明恩诺沙星毒性作用很小。

致谢 本试验切片观察得到陈玉汉教授、宋延华老师帮助,切片制作由陈元音老师完成,试验得到蒋佩莲同志协助,在此一并表示谢意。

参 考 文 献

- 徐厚恩,张 铨.1991.卫生毒理学基础.北京:北京医科大学,中国协和医科大学联合出版社,65~66
- James G F, Bennett J C, Franklin M L. 1984. Laboratory Animal Medicine. New York: American College of Laboratory, 40~41
- Rulof R. 1990. Effect of Baytril(enrofloxacin) on the fertility of breeding pigeons and on the growth of two generations offspring. Giessen, Germany: Deutsche Veterinarmedizinische Gesellschaft, 104~113

STUDIES ON ACUTE AND SUBACUTE TOXICITIES OF ENROFLOXACIN IN RATS

Dong Libo Ye Qiwei Sun Yongxue Feng Qihui* Chen Zhangliu

(Dept. of Veterinary Medicine, South China Agr. Univ., Guangzhou, 510642)

Abstract

The acute and subacute toxicities of enrofloxacin by oral administration were studied in Sprague-Dawley (SD) rats. The acute oral LD_{50} and LD_{90} of enrofloxacin were 7 709 mg/kg and 9 745 mg/kg as determined by simplified probability unit method in SD rats respectively. The 95% confidence limit was 8 223~7 218 mg/kg. The subacute toxicity test was carried out by administration in drinking water at different doses of 20, 100, 200 mg/(kg·day) in rats. The rats were killed and examined for feed efficiency, coefficient of organs, moisture content of organs, whole blood, serum glutamicpyruvic transaminase, urine, necropsy finding and histopathology at 30 and 60 days after drug administration. Most of animals manifested only slight pathological changes, and which showed no relationship between severity of the changes and increasing doses. The results suggested that subacute toxicity of enrofloxacin was low, and it was consistent with that for acute toxicity test.

Key words enrofloxacin; white rat; acute toxicity; subacute toxicity

*Fung Ki-Fai