

# 喹乙醇对鸡的毒性及组织药物浓度研究

董漓波 曾振灵 陈杖榴

(华南农业大学兽医系)

**摘要** 本文对鸡内服喹乙醇的毒性及多剂量、中毒剂量的组织浓度进行了研究。用寇氏法测得石岐杂鸡内服喹乙醇的  $LD_{50}$  为 304.9 mg/kg, 在饲料中添加喹乙醇 0.012% 及其以上剂量组, 连续喂饲 22 天后发生中毒死亡。采用定期递增染毒法, 喹乙醇的蓄积系数为 3.24, 属中等蓄积; 以 30 mg/kg 体重剂量每天灌服 2 次, 连用 3 天的多剂量和 120 mg/kg 体重的 1 次中毒剂量给鸡灌服后, 定期宰杀动物, 用高效液相色谱法测定喹乙醇在肝、肾、肌肉、胃、脂肪组织中的残留量, 结果表明多剂量用药后 24 h, 在 5 种组织中的浓度均低于 0.24  $\mu\text{g/g}$ , 说明喹乙醇在鸡体内消除很迅速。在给 1 次中毒剂量后 72 h, 喹乙醇在 5 种组织中的浓度均在 0.16  $\mu\text{g/g}$  以下, 说明增至中毒剂量, 喹乙醇在鸡体内消除较慢, 残留时间较长, 剖检观察及组织切片均出现以出血性为主的病变。

**关键词** 喹乙醇; 鸡; 毒性; 组织浓度; 高效液相色谱法

**中图分类号** S859.8

喹乙醇(OLAQUINDOX)为畜禽饲料添加剂, 具有促进蛋白质同化作用, 可使更多的氮储存, 促进瘦肉生长。此外, 对革兰氏阳性菌及阴性菌均有抗菌作用。经试验喹乙醇对家禽几种致病菌如禽巴氏杆菌、白痢杆菌、变形杆菌及大肠杆菌的 MIC 分别为 4, 8, 16 及 16  $\mu\text{g/mL}$ <sup>[4]</sup>, 故对禽霍乱疗效特别显著。但喹乙醇安全范围小, 不易溶于水, 当用量及用法不当, 极易产生中毒, 给养禽业带来严重损失<sup>[5]</sup>。国外研究喹乙醇对实验动物如小白鼠、大白鼠、兔等的毒性较多, 而对家禽的毒性特别是多剂量及中毒剂量在组织浓度方面未见报道。

本试验的目的是以鸡为受试动物, 测定喹乙醇的内服半数致死量, 在饲料中添加喹乙醇的中毒剂量、蓄积毒性, 并以多剂量、中毒剂量给鸡内服后, 测定其在肝、肾、胃、肌肉及脂肪组织的浓度。以上研究不仅可以进一步认识喹乙醇对鸡的毒性, 而且还可以为养禽业安全应用喹乙醇及食品卫生提供可靠的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试药品及试剂

喹乙醇原粉, 含量 98.47%, 批号 87021, 广东省京南兽药厂生产。标准品, 含量 99.7%, 批号 881, 中国兽药监察所提供。甲醇、乙酸乙酯、磷酸二氢钾、硫酸铵、氢氧化钠均为分析纯, 乙腈为化学纯。

\* 本文为广东省科委自然科学基金资助项目“喹乙醇的抗菌作用及其在家禽的药动学研究”的内容之一。  
1993-03-08 收稿

## 1.2 仪器

高效液相色谱仪为 BECKMAN—334 型(美国 BECKMAN 公司), THZ—84 型台式恒温振荡器(上海跃进医疗器械厂), XW—80 旋涡合器(上海第一医学院仪器厂), 800 型离心沉淀器(上海手术器械厂), JC—3 型超声处理机(通化市超声设备厂)。

## 1.3 试验动物

石岐杂鸡, 购自广东省家禽研究所。

## 1.4 试验方法

1.4.1 内服唑乙醇  $LD_{50}$  的测定 参照寇氏法<sup>[3]</sup>。取育成鸡 50 只, 雌雄各半分为 5 组, 以等比剂量按每公斤体重用 556, 337, 204, 124, 75 mg 唑乙醇, 分别装入胶囊, 给 5 个组的鸡只逐个投服。

1.4.2 在饲料中添加唑乙醇中毒量的测定 取出壳雏鸡观察 3 天后, 随机分为 6 组, 每组 17 只。试验组设 5 组, 分别以每公斤饲料添加唑乙醇 90, 120, 150, 180, 210 mg, 连续饲喂; 对照组喂相同的饲料但不添加唑乙醇。出现第 1 只小鸡中毒死亡的当天, 即停止用药。

1.4.3 蓄积性毒性 采用剂量定期递增染毒法<sup>[7]</sup>, 取成鸡 30 只, 雌雄各半, 分为 3 组, 对照 1 组, 试验 2 组。试验组每 4 天换 1 个剂量投药, 1~4 天用  $LD_{50}$  的 0.1, 5~8 天用  $LD_{50}$  的 0.15, 9~12 天用  $LD_{50}$  的 0.22, 13~16 天用  $LD_{50}$  的 0.34, 17~20 天用  $LD_{50}$  的 0.5, 21~24 天用  $LD_{50}$  的 0.75, 25~28 天用  $LD_{50}$  的 1.12。

1.4.4 多剂量给药后组织浓度的试验方法 取成鸡 36 只, 雌雄各半, 体重每只  $1.52 \pm 0.2$  kg, 按 30 mg/kg 体重装入胶囊投服, 每天 2 次, 连用 3 天, 最后 1 次用药后分别于 6, 8, 10, 12, 16, 24 h 各剖杀 6 只, 取肝、肾、肌肉、胃、脂肪等组织各 10 g, 置  $-20^{\circ}\text{C}$  低温水箱保存。

组织样品处理<sup>[2]</sup>。组织解冻后, 取 1 g 加 4 ml, 1 mol/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  溶液, 用超声处理机打成匀浆, 称取 2.5 g 匀浆(相当 0.5 g 组织)加入 1 ml 饱和硫酸铵溶液, 置台式振荡器上以 200 次/min 振 10 min, 再以 4 000 r/min 离心 15 min, 吸出上清液, 加入提取液(乙腈与乙酸乙酯按 3:2 混合)3 ml, 振荡后再离心, 吸出有机相, 余液再重复处理 2 次, 以上操作均在  $37^{\circ}\text{C}$  恒温水浴中进行。将 3 次有机相合并后, 加入 0.2 mol/L NaOH 溶液 1 ml, 经振荡, 静置后吸出有机相于 10 ml 的离心管中, 置  $80\sim 90^{\circ}\text{C}$  砂浴中, 通氮气流将有机相挥发干后, 置  $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱中保存待测。

1.4.5 1 次给予中毒剂量后组织浓度的试验方法 取成鸡 36 只, 雌雄各半, 体重  $1.53 \pm 0.21$  kg, 按 120 mg/kg 体重剂量 1 次内服, 用药后分别于 12, 24, 36, 48, 60, 72 h 各剖杀 6 只, 取肝、肾、肌肉、胃、脂肪组织各 10 g, 置  $-20^{\circ}\text{C}$  低温水箱保存。组织样品处理同多剂量组。

1.4.6 样品中药物浓度的测定 以标准曲线法定量, 在  $0.1\sim 5.12$   $\mu\text{g/g}$  组织的浓度范围内的线性关系良好( $r=0.9981\sim 0.9996$ )。组织提取出的样品, 重新用流动相溶解, 在旋涡混合器上混合 2 min, 吸取 10  $\mu\text{l}$  作高效液相色谱分析。最后从标准曲线中算得药物浓度。

高效液相色谱测定条件:  $\text{C}_{18}$ -ODS 柱(25 cm  $\times$  4.6 mm), 流动相为甲醇—水(15/85, v/v), 流速 1.0 ml/min, 记录仪纸速 2 mm/min, 紫外检测器波长 260 nm。

## 2 结果

### 2.1 喹乙醇内服的半数致死量试验结果

死亡率见表1。

表1 喹乙醇 LD<sub>50</sub>测定时鸡的死亡率

剂量(mg/kg 体重)	动物数(只)	死亡数(只)	死亡率
75	10	0	0
124	10	1	0.1
204	10	1	0.1
337	10	5	0.5
556	10	10	1.0

按寇氏法计算鸡内服喹乙醇的 LD<sub>50</sub>为 304.9 mg/kg, LD<sub>50</sub>的 95%可信限为 373.6~275.1 mg/kg。

### 2.2 喹乙醇在饲料添加剂中,其中毒量的测定结果

其死亡率见表2。

表2 饲料中添加中毒量喹乙醇时鸡的死亡率

组别	动物数(只)	添加量(mg/kg 饲料)	用药后开始死亡天数	死亡数(只)	死亡率(%)
试	1	90		0	0
	2	120	26	2	11.8
验	3	150	24	2	11.8
	4	180	23	3	17.6
	5	210	22	7	41.0
对 照 组	17			0	0

### 2.3 喹乙醇中毒症状及病理变化

鸡只发生喹乙醇中毒后的症状为精神不振,羽毛松乱,蹲下不动,采食减少,冠发黑,流少量口涎,排稀粪,中毒严重者衰竭死亡。肉眼所见的病理变化为口腔有粘液,嗉囊积水,肠道(特别是十二指肠、盲肠)及扁桃体出现弥漫性出血,有些病鸡胃肠呈出血病变;脾脏水肿,有些出现少量出血点,肝脏稍肿大,边缘有出血点及出血斑,肾脏肿大,质地变脆,淤血或出血,有些出现尿酸盐沉积;心脏心冠脂肪处有少量针头大出血点。组织切片检查:腺胃及肠粘膜上皮局部坏死,淋巴细胞增生,腺胃固有膜小血管淤血,浆膜淤血,脾脏血管充血,淋巴细胞灶性浸润;肝脏中肝小叶淋巴细胞弥漫性浸润,成淋巴细胞、幼质淋巴细胞增多,局部出现细胞核碎裂,肝窦郁血;肾脏呈弥漫性出血,肾小管上皮有颗粒变性;心脏局部心肌变性,局部出血,心肌间轻度淤血。

### 2.4 蓄积性毒性试验结果

用药后16天,试验组死亡10只,即死亡一半,累计剂量为987.9 mg/kg。

$$K(\text{蓄积系数}) = LD_{50}(n) / LD_{50}(1) = 987.9 / 304.9 = 3.24$$

### 2.5 鸡多剂量及中毒剂量给药后组织浓度的测定结果

分别见表3及表4

表3 鸡内服多剂量噻乙醇后的组织浓度( $\mu\text{g/g}$ 组织,平均值 $\pm$ 标准差)

时间(h)	肝	肾	肌肉	胃	脂肪
6	5.48 $\pm$ 1.93	2.33 $\pm$ 0.70	3.26 $\pm$ 1.86	2.41 $\pm$ 1.12	0.63 $\pm$ 0.26
8	4.14 $\pm$ 0.82	1.83 $\pm$ 0.50	2.30 $\pm$ 0.36	1.78 $\pm$ 0.26	0.44 $\pm$ 0.20
10	2.97 $\pm$ 0.40	1.28 $\pm$ 0.34	1.38 $\pm$ 0.41	1.11 $\pm$ 0.21	0.22 $\pm$ 0.06
12	1.86 $\pm$ 0.28	0.86 $\pm$ 0.15	0.76 $\pm$ 0.14	0.66 $\pm$ 0.11	0.15 $\pm$ 0.03
16	1.28 $\pm$ 0.21	0.58 $\pm$ 0.17	0.54 $\pm$ 0.15	0.37 $\pm$ 0.08	0.08 $\pm$ 0.07
24	0.24 $\pm$ 0.15	0.11 $\pm$ 0.05	0.13 $\pm$ 0.08	0.04 $\pm$ 0.07	N·D*

\* N·D—测不出

表4 鸡内服中毒剂量(120 mg/kg)噻乙醇后的组织浓度( $\mu\text{g/g}$ 组织,平均值 $\pm$ 标准差)

时间(h)	肝	肾	肌肉	胃	脂肪
12	2.93 $\pm$ 0.59	1.99 $\pm$ 0.37	1.61 $\pm$ 0.35	1.38 $\pm$ 0.31	0.54 $\pm$ 0.16
24	1.85 $\pm$ 0.37	1.21 $\pm$ 0.17	0.78 $\pm$ 0.19	0.62 $\pm$ 0.16	0.27 $\pm$ 0.09
36	1.01 $\pm$ 0.29	0.73 $\pm$ 0.38	0.41 $\pm$ 0.15	0.32 $\pm$ 0.06	0.13 $\pm$ 0.07
48	0.67 $\pm$ 0.13	0.35 $\pm$ 0.09	0.25 $\pm$ 0.05	0.14 $\pm$ 0.03	0.02 $\pm$ 0.04
60	0.35 $\pm$ 0.11	0.19 $\pm$ 0.03	0.13 $\pm$ 0.03	0.06 $\pm$ 0.06	N·D*
72	0.16 $\pm$ 0.05	0.06 $\pm$ 0.07	N·D	N·D	N·D

\* N·D—测不出

## 3 讨论

3.1 噻乙醇对石岐杂鸡内服的 $LD_{50}$ 为304.9 mg/kg,而实验动物小白鼠、大白鼠、兔内服噻乙醇的 $LD_{50}$ 分别为3316,1704,1000~2000 mg/kg<sup>[6]</sup>。说明本试验噻乙醇对鸡的毒性比实验动物大5~10倍,也说明鸡对噻乙醇是敏感的。

3.2 噻乙醇在饲料中添加(%)0.021,0.018,0.015,0.012,0.009,连续应用22天,其死亡率(%)分别为41.0,17.6,11.8,11.8,0,停药10天后死亡停止。说明噻乙醇在饲料中添加浓度在0.012%以上即会引起石岐杂小鸡中毒死亡,剂量越大,死亡率越高。

3.3 鸡发生噻乙醇中毒后,其症状以流涎、冠发黑、排稀粪为主要特征,病理变化以肠道出血性炎症、肾出血为主要变化,病理组织学检查以肝、肾出血性病变为重。以上症状与鸡瘟、出败等传染性疾病相似,故需鉴别诊断结合病史调查,才能确诊。

3.4 噻乙醇在鸡体内的蓄积系数为3.24。根据蓄积系数的评价标准为中等蓄积,这一结果

与大鼠进行唑乙醇亚慢性毒性试验的结果一致<sup>[1]</sup>。

临床应用唑乙醇不能随意加大剂量,特别是作为饲料添加剂长期喂饲,应严格控制,否则易发生中毒。

3.5 唑乙醇单剂量给药(30 mg/kg)后,在鸡的肌肉、肝、肾、脾、肺中的浓度较低,24 h后降至0.2 μg/g以下<sup>[2]</sup>。而本试验多剂量给药(30 mg/kg),每天2次,连用3天后,检测肝、肾、肌肉、胃、脂肪组织,给药24 h后的唑乙醇浓度分别为 $0.24 \pm 0.15$ , $0.11 \pm 0.05$ , $0.13 \pm 0.08$ , $0.04 \pm 0.07$ 、0.04以下。说明以30 mg/kg体重的单剂量或多剂量唑乙醇给药,其24 h的组织浓度相接近,在鸡体内消除迅速。

3.6 唑乙醇中毒剂量120 mg/kg体重给药,分别于给药后12,24,36,48,60,72 h测定肝、肾、肌肉、胃、脂肪组织药物浓度,在给药后72 h的浓度分别为 $0.16 \pm 0.5$ , $0.06 \pm 0.07$ 、0.06以下,0.06以下,0.06以下。说明剂量增高,在鸡组织中残留时间延长,特别是在肝、肾组织的残留与唑乙醇具有中等蓄积作用有关,并易造成组织明显的病理变化。可以认为饲料中添加唑乙醇的量过大,会引起鸡的中毒。

致谢 本论文是在冯淇辉教授的悉心指导下完成的,组织病理切片观察得到陈玉汉教授指导,叶启薇实验师及蒋佩莲等同志参加部分工作,特此表示衷心感谢。

#### 参 考 文 献

- 1 王树槐,徐士新,向德林,等. 唑乙醇亚慢性毒性试验. 中国兽药杂志,1991,25(4):13~14
- 2 朱柱振,陈杖榴,冯淇辉,等. 唑乙醇在鸡体内的药动学和组织浓度研究. 畜牧兽医学报,1993,24(3):259~263
- 3 徐叔云主编. 药理实验方法学. 北京:人民卫生出版社,1982.440~410
- 4 董海波,叶启薇,曾振灵,等. 唑乙醇对禽致病菌的敏感性试验. 中国兽医科技,1991,2(10):33~34
- 5 董海波. 鸡群发生唑乙醇中毒的调查. 动物毒物学,1988.3(1):6~7
- 6 德国拜耳勒弗库森兽药部. 倍育诺技术简报,1978,1:29~30
- 7 湖南医学院卫生学教研组. 卫生毒理实验方法,北京:人民卫生出版社,1979.130~140

STUDIES ON THE TOXICITY AND TISSUE CONCENTRATION OF  
OLAQUINDOX IN CHICKENS

Dong Libo Zeng Zengling Chen Zhangliu

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

**Abstract** The toxicity and tissue concentration of olaquindox in chickens were investigated after multiple oral doses (30 mg/kg, twice daily for 3 days) and single oral dose (120 mg/kg). The  $LD_{50}$  value of olaquindox in chickens detected by Karbe's method was 304.9 mg/kg body weight. The toxicity of olaquindox in chickens appeared when used in the concentration of 0.012% in feed fed for 22 days and some of the animals died. Assessed by accumulative toxicity test, the accumulative coefficient of olaquindox in chickens was 3.24 which was a value. The olaquindox concentrations in liver, kidney, muscle, gizzard and fat of chickens were determined by high performance liquid chromatography (HPLC) after administration of multiple oral doses and single oral dose. The concentrations of the drug in the above tissues were below 0.04  $\mu\text{g/g}$  at 24 h after multiple oral doses, and below 0.16  $\mu\text{g/g}$  at 72 h after single oral dose. The former figure indicated that olaquindox was eliminated very rapidly in chickens, while the latter one showed that the drug was eliminated slower and persisted longer in the tissues as the dosage approach toxic levels. The post-mortem and histological findings of chickens which died of olaquindox poisoning were chiefly severe haemorrhage in heart, liver, spleen and kidney.

**Key words** Olaquindox; Toxicity; Tissue concentration; HPLC; Chicken