

氟哌酸、环丙氟哌酸、泰妙灵治疗鸡败血霉形体与大肠杆菌合并感染的疗效比较^{*}

陈杖榴 方炳虎 龚建文 袁宗英 徐伟军

(华南农业大学兽医系, 广州, 510642)

摘要 本研究对氟哌酸、环丙氟哌酸、泰妙灵作了体外抑菌试验与人工发病治疗试验。结果表明,环丙氟哌酸对鸡败血霉形体的体外抑菌强度为氟哌酸、泰妙灵的8倍,对鸡大肠杆菌的体外抑菌强度分别为氟哌酸、泰妙灵的4倍、8倍。在人工发病治疗试验中,环丙氟哌酸(1 mg/kg)对鸡败血霉形体与大肠杆菌合并感染的疗效与泰妙灵(20 mg/kg)相当,明显优于氟哌酸(10 mg/kg),显示出广阔的临床推广应用前景。

关键词 氟哌酸;环丙氟哌酸;泰妙灵;大肠杆菌;鸡败血霉形体

中图分类号 S859.79

鸡败血霉形体病亦称鸡慢性呼吸道病(CRD),是由鸡败血霉形体(MG)引起的一种呼吸道接触性慢性传染病。临床上,该病常继发或并发大肠杆菌病,给养禽业带来巨大的损失(林维庆,1988)。过去,治疗CRD常用的药物有泰妙灵、泰乐菌素和红霉素等,其中泰妙灵的疗效较好。近年来,氟喹诺酮类药物之一的氟哌酸在我国兽医临床开始得到广泛应用,据本室试验,其疗效优于红霉素。另据报道,环丙氟哌酸是目前氟喹诺酮类中抗菌活性最强的药物之一,强度约为氟哌酸的5~10倍(Hannan et al, 1989; Prescott et al, 1988; Wolfson et al, 1985)。氟喹诺酮类是人工合成的一类新型抗菌药,具有高效、广谱、低毒,并与现有抗菌药无交叉耐药性等优点,在兽医临床有很高的推广应用价值。为客观评价本类药物防治CRD的作用,本文对氟哌酸、环丙氟哌酸和泰妙灵进行了体外抑菌和人工发病治疗的比较试验,为临床推广应用本类药物提供必要的依据。

1 材料和方法

1.1 体外抑菌试验

1.1.1 抗菌药及其配制 氟哌酸,东北第六制药厂生产,效价99.17%,批号91-01。环丙氟哌酸,上海第二制药厂生产,含量93%,批号9206081。泰妙灵,瑞士产品,含量90.3%。各药均先溶于适宜的溶剂,配制成1280 mg/L的药液,用G₆玻璃滤器负压过滤,放于4℃冰箱保存备用。

1.1.2 菌种 鸡大肠杆菌O₇₈,华南农业大学禽病研究室提供;鸡败血霉形体S₆株(MGS₆),哈尔滨兽医研究所提供。

1.1.3 培养基 营养肉汤、营养琼脂、血平板均按常规方法制作,用于大肠杆菌的培养。

1993-10-07 收稿

*广东省自然科学基金资助课题

霉形体培养基为 FM-4 改良培养基,参考 Frey 等(1968)方法调制。

1.1.4 药物的最小抑菌浓度(MIC)测定

(1) 对大肠杆菌的 MIC 测定

药物对大肠杆菌的 MIC 测定方法采用戴自英(1988)试管两倍稀释法。试验时,每种药物作双样品试验。

(2) 对 MGS₆ 的 MIC 测定

菌液制备:将 MGS₆ 冻干菌接种于液体培养基作二次传代并测定第 2 代菌液的颜色变化单位(ccu/L)(Senterfit,1983)。使用前,把菌液稀释成 2×10^7 ccu/L。

MIC 测定:13 支无菌加塞试管中在第 1 管加入液体培养基 0.9 mL,其余各管加 0.5 mL。取抗菌药原液(1280 mg/L)0.1 mL 于第 1 管,混匀后吸取 0.5 mL 于第 2 管,如此稀释至最后一管,最后吸出的 0.5 mL 作无菌检查,然后每管加入上述稀释好的菌液 0.5 mL,37 °C 培养 3~5 天至颜色变黄。每种药物作双样品测定,以颜色不发生变化的最小浓度判为该药物的 MIC 值。

1.2 人工发病治疗试验

1.2.1 试验动物 本地石岐杂鸡 175 只,30 天龄。采用随机分组法分成 7 组,每组 25 只(见表 1)。饲养 5 天后,对健康对照组以外的 6 组试验鸡作人工发病试验。

1.2.2 感染菌液 菌株同体外抑菌试验。MGS₆ 冻干菌经 3 次传代使菌液生长浊度达 10^{12} ccu/L 即成接种菌液。大肠杆菌保存菌种接种血平板后,次日挑选典型菌落于肉汤中培养并经鸡复壮,再培养检查其生长浊度达 7×10^{11} 个/L,即成接种菌液。

1.2.3 接种 除健康对照组外,试验鸡 35 日龄气囊注射 MGS₆ 接种菌液 1.5 mL。3 天后,再腹腔注射大肠杆菌 O₇₈ 菌液 0.3 mL。

1.2.4 疾病模型指征的测定 判定疾病模型的指征包括临床症状、血中 MG 抗体水平、病理剖检与细菌分离、增重、死亡率等。病理剖检中气囊部位的病变参考 Lam 等(1984)方法分成 4 级。

1.2.5 给药方法 MGS₆ 接种后第 7 天,感染鸡出现典型的临床症状,次日开始投药。给药剂量分别为:氟哌酸 10 mg/kg;环丙氟哌酸分低、中、高剂量组,即 0.5 mg/kg、1 mg/kg、3 mg/kg;泰妙灵 20 mg/kg。均内服胶囊投药,每天 1 次,连续 4 天为一疗程。试验共作两个疗程投药,第 2 疗程于第 1 疗程最后一次给药第 15 天进行。

1.2.6 药效观察 在给药后的试验过程中及试验结束时观察或测定上述疾病指征变化情况,并作综合评价以确定药物疗效。

第 1 疗程、第 2 疗程投药结束后的药效观察时间均为 2 周。

1.2.7 数据分析和处理 用生物统计进行数据的显著性检验。其中平均增重采用 *t* 检验,其他疾病指征均采用卡方(χ^2)检验。

2 结果

2.1 体外抑菌试验结果

氟哌酸、环丙氟哌酸、泰妙灵对 MGS₆ 的 MIC 分别为 0.25, 0.031, 0.25 mg/L;对大肠杆菌 O₇₈ 的 MIC 分别为 0.25, 0.063, 0.50 mg/L。

2.2 人工发病治疗试验

2.2.1 疾病模型指征的测定 接种后第3天, 鸡群普遍精神不振, 食欲减退, 少数鸡有“罗音、咳嗽”等症状。此时, 全部感染鸡再行接种大肠杆菌。1个星期后, 整群感染鸡出现鸡败血霉形体与大肠杆菌合并感染的典型症状。此时作MG抗体检查, 阳性反应率达100%, 均在“++”以上。剖检(每组3只)结果, 感染鸡气囊膜增厚、混浊, 内有大量奶酪样分泌物, 按级别判定均达4级; 心包、肝脏、腹腔等处可见明显的心包炎, 肝周炎, 腹膜炎及腹水。从气囊、肺、气管等器官的组织可分离到MGS₆。从心包囊、肝等器官的组织可分离到大肠杆菌。所有接种鸡增重缓慢, 与健康对照组有极显著差异($P<0.01$)。

健康对照组临床观察正常, 剖检无肉眼可见病变, 也没有分离到相应病原菌。

2.2.2 治疗试验结果 治疗后各项临床指征的结果见表1。

表1 3种药治疗鸡败血霉形体与大肠杆菌合并感染的疗效比较

分组	动物只数		平均增重/kg (18d)		抗体反应 阳性率		死亡率		病理变化 (抽检)		临床症状	
	第1	第2	第1	第2	第1	第2	第1	第2	第1	第2	第1	第2
	疗程	疗程	疗程	疗程	疗程	疗程	疗程	疗程	疗程	疗程	疗程	疗程
健康对照	22	19	0.192±0.060 ^{**b}	0.412±0.134 ^{**b}	0/22	0/19	0/22	0/19	0/3	0/5	0/22	0/19
感染对照	22	18	0.107±0.065 ^{***a}	0.241±0.125 ^{***a}	19/21 ^{***a}	14/15 ^{***a}	1/22	3/18	3/3	3/5 ^{*a}	19/21 ^{***a}	13/15 ^{***a}
氟哌酸 10 mg/kg	22	17	0.120±0.077 ^{***a}	0.230±0.130 ^{***a}	16/20 ^{***a}	12/16 ^{***a}	2/22	1/17	3/3	2/5	16/20 ^{***a}	11/16 ^{***a}
环丙氟哌酸 0.5 mg/kg	22	19	0.039±0.054 ^{***a}	0.271±0.171 ^{***a}	19/22 ^{***a}	10/19 ^{***a}	0/22	0/19	3/3	1/5	18/22 ^{***a}	7/19 ^{*a}
环丙氟哌酸 1 mg/kg	22	19	0.155±0.089 ^{***a}	0.371±0.159 ^{***a}	15/22 ^{***a}	5/19 ^{***a}	0/22	0/19	3/3	0/5 ^{*b}	13/22 ^{***a}	3/19 ^{*b}
环丙氟哌酸 3 mg/kg	22	19	0.137±0.075 ^{*a}	0.280±0.141 ^{*a}	14/22 ^{***a}	6/19 ^{*a}	0/22	0/19	3/3	0/5 ^{*b}	13/22 ^{***a}	4/19 ^{*b}
泰妙灵 20 mg/kg	22	18	0.167±0.086 ^{*b}	0.356±0.170 ^{*b}	16/22 ^{***a}	9/18 ^{***a}	1/22	0/18	3/3	0/5 ^{*b}	12/22 ^{***a}	3/18 ^{*b}

*a 与健康对照组比较差异显著 ($P<0.05$) *b 与感染对照组比较差异显著 ($P<0.05$)

***a 与健康对照组比较差异极显著 ($P<0.01$) ***b 与感染对照组比较差异极显著 ($P<0.01$)

临床症状观察: 第1疗程投药结束后7天内, 泰妙灵治疗组临床症状明显减轻, 大部分鸡鼻液消失, 小部分挤压时仅有少量鼻液。环丙氟哌酸 3 mg/kg, 1 mg/kg 两治疗组鸡的临床症状也明显减轻, 但环丙氟哌酸 0.5 mg/kg 及氟哌酸治疗组症状减轻较差。当时由于天气突然转冷, 刮风下雨, 投药第8天后观察到各组治疗鸡的临床症状有复发并日趋严重的现象, 故在第1疗程给药后15天作第2疗程给药。第2疗程给药后, 泰妙灵及环丙氟哌酸 1 mg/kg, 3 mg/kg 3组临床症状明显缓解, 试验结束时有临床症状表现的鸡占整组试验鸡的百分率与感染对照组相比差异显著($P<0.05$), 也明显低于其他两个用药组。

血清中MG抗体的变化: 第1疗程投药后7天检查, 各治疗组鸡体内抗体水平明显下降, 第2周检查又呈上升趋势。第2疗程投药后7, 14天2次检查, 环丙氟哌酸 1 mg/kg, 3 mg/kg 两组血中抗体水平及抗体反应阳性率均明显低于其他3个用药组。

病变与分离培养: 第1疗程结束后经抽样剖检观察(每组3只), 各治疗组抽检鸡均有程度不同的病变, 均可分离到相应病原菌。第2疗程结束后每组再抽检5只, 发现病变减轻或

消失,其中以泰妙灵及环丙氟哌酸 1 mg/kg, 3 mg/kg 3 组最好,其他两个治疗组相对较差。

增重与死亡率:综合 2 个疗程情况,环丙氟哌酸 1 mg/kg、泰妙灵 20 mg/kg 两个治疗组增重较好,与健康对照组无显著差异。各组死亡率之间相互比较经统计学分析均无显著性差异。

3 讨论

3.1 关于体外抑菌试验

从本试验结果看, MGS₆ 大肠杆菌 O₇₈ 对氟哌酸、环丙氟哌酸、泰妙灵均较敏感。3 种药物相互比较,环丙氟哌酸体外抗菌作用最强,对 MGS₆ 的抗菌强度为氟哌酸、泰妙灵的 8 倍,对大肠杆菌 O₇₈ 分别为上述 2 药的 4 倍、8 倍。本研究这一结果与 Prescott(1988)、Wolfson(1985) 的报道相一致。

Senterfit(1983) 认为,药物对鸡败血霉形体的 MIC 测定结果与接种物浓度有很大关系。由于 10⁷ ccu/L 的浓度与临床上动物体内的霉形体含量接近,因此采用这一浓度不仅试验结果重复性较好,而且较接近临床实际。本试验采用 10⁷ ccu/L 的接种物浓度,并尽量保证培养基、培养温度和观察结果的时间一致,以保证试验结果有较好的重复性和临床意义。

3.2 关于疾病模型的复制

疾病模型的复制成功与否是观察药物疗效的基础。临床上, MG 常与大肠杆菌合并感染,给养禽业造成巨大损失。为成功复制这一合并感染的疾病模型,经多次试验,确定了先气囊接种 MGS₆ 培养物 1.5 mL(10¹² ccu/L), 3 天后当接种鸡出现精神不振、食欲下降时腹腔注射大肠杆菌致死量的 30%, 即 0.3 mL(7 × 10¹¹ 个/L) 的攻毒方案。结果说明,感染鸡临床症状明显,病变典型,并能从有关脏器的病变组织中分离到相应病原体,证明这一方案切实可行。

3.3 氟哌酸、环丙氟哌酸、泰妙灵治疗 CRD 合并大肠杆菌感染的疗效比较

人工发病治疗试验的效果说明,泰妙灵 20 mg/kg 及环丙氟哌酸 1 mg/kg、3 mg/kg 能有效地缓解感染鸡的临床症状;增重方面以环丙氟哌酸 1 mg/kg、泰妙灵 20 mg/kg 两组最好;病变消除方面则以环丙氟哌酸 1 mg/kg、泰妙灵 20 mg/kg 较好;体内抗体水平的下降以环丙氟哌酸 1 mg/kg、3 mg/kg 最快、阴性率最低。总之,环丙氟哌酸、泰妙灵是治疗鸡败血霉形体与大肠杆菌合并感染的较理想药物。特别是环丙氟哌酸以 1 mg/kg 的剂量即能取得与泰妙灵 20 mg/kg 相当的治疗效果,并且明显优于氟哌酸 10 mg/kg,显示出很高的临床应用价值。

本试验初步证明,环丙氟哌酸、泰妙灵体外抑菌试验结果与临床治疗的疗效相符。氟哌酸体外抑菌试验中, MGS₆ 大肠杆菌均对其高度敏感,但本次试验中临床治疗效果较差,可能主要与本次试验的给药剂量、次数、疗程有关。

本试验中环丙氟哌酸、泰妙灵的给药方案可供临床参考。应该指出,本次人工发病的病程发展较缓慢、病鸡死亡率不高。对于临床上一些重症感染,病鸡死亡率较高时,两药的临床给药方案应作适当调整,如可增加剂量或每天给药 2 次。

致谢 本文承蒙冯淇辉教授审阅,谨致谢意!

参 考 文 献

- 林维庆.1988.鸡传染性呼吸道病的防治.养禽与禽病防治.6:2~4
- 戴自英,刘裕昆,汪复,等.1985.临床抗菌药理学.北京:人民卫生出版社.6~28
- Frey M L, Hanson R P, Anderson D P, et al. 1968. A medium for the isolation of avian mycoplasma. Am J Vet Res, 29(1):2163~2171
- Hannan P C T, Hanlon P J O, Rogers N H.1989.In vitro evaluation of various quinolone antibacterial agents against veterinary mycoplasmas and pocrine respiratory bacterial pathogens. Res Vet Sci, 46: 202~211
- Lam K M, Babish J G. 1984. Resistance of chickens immunized against Mgcoplasma gallisepticum is mediated by bursal dependant lymphoid cells. Vet Microbiology, 9:509~514
- Prescott J F, Baggot J D. 1988. Antimicrobial Therapy in Vet Med. Boston: Blackwell Scientific Publications, 221~228
- Senterfit L B. 1983. Methods in mycoplasmology: II. New York: Academic Press, 398~401
- Wolfson J S, Hooper D C. 1985. The flouroquinolones: Structure, mechanisms of action and resistance, and spectra of activity in vitro. Antimicrob Agents Chemother, 28: 518~586

EFFICACY COMPARISON OF NORFLOXACIN, CIPROFLOXACIN AND TIAMULIN IN EXPERIMENTAL THERAPY AGAINST MYCOPLASMA GALLISEPTICUM AND E. COLI INFECTIONS IN CHICKENS

Chen Zhangliu Fang Binghu Gong Jianwen Yuan Zongying Xu Weijun
(Dept. of Veterinary Medicine, South China Agr. Univ., Guangzhou, 510642)

Abstract

The studies included the determination of minimal inhibitory concentrations (MICs) of norfloxacin, ciprofloxacin and tiamulin against MG and E. coli and therapeutic trials with these three drugs following oral administration. In vitro inhibitory tests showed that the MICs of norfloxacin, ciprofloxacin and tiamulin were 0.25, 0.031, 0.25 mg/L for MG S₆ and 0.25, 0.063, 0.50 mg/L for E. coli O₇₈, respectively. In the treatment of chickens infected with MG S₆ and E. coli O₇₈, ciprofloxacin (1 mg/kg), tiamulin (20 mg/kg) were more effective than norfloxacin (10 mg/kg).

Key words norfloxacin; ciprofloxacin; tiamulin; mycoplasma gallisepticum; E. coli; chicken