

氧氟沙星对霉形体与大肠杆菌 合并感染鸡的药效学研究

刘雅红 冯淇辉 方炳虎 曾振灵 孙永学 黄显会

(华南农业大学,广州 510642)

摘要 以试管两倍稀释法测得氧氟沙星及其对照药物恩诺沙星、洛美沙星和强力霉素对鸡败血霉形体的最小抑菌浓度分别为 0.00625、0.025、0.4 和 0.4mg/L。50、100、200mg/L 氧氟沙星、50mg/L 恩诺沙星、50mg/L 洛美沙星和 100mg/L 强力霉素连续 5d 饮水给药,对人工合并感染败血霉形体和大肠杆菌病鸡的治愈率分别是 93.3%、96.7%、96.7%、100%、96.7% 和 83.3%,感染对照组的死亡率为 53.3%。氧氟沙星及其它对照药的增重效果显著高于感染对照组($P < 0.01$),并能显著地减少气囊损伤率、抗体反应阳性率和病原再分离率。

关键词 氧氟沙星,药效学,鸡败血霉形体,大肠杆菌,鸡

氧氟沙星(Ofloxacin)又名氟喹酸,是属氟喹诺酮类抗菌药。该药除具有氟喹诺酮类药物的抗菌特点外,还以其口服吸收好、抗菌谱广、半衰期长、血药浓度高、组织渗透性强和不良反应小为特点而广泛用于人医临床^[1,2],对治疗呼吸系统,泌尿系统、肠道、皮肤、软组织、骨关节及创伤等部位感染,尤其是肺部感染有较好的疗效与细菌清除率^[3,4]。据报道氧氟沙星对动物多种细菌和霉形体的最小抑菌浓度低于诺氟沙星和恩诺沙星^[5,6]。但该药很少应用于兽医临床,在动物体内的研究报道也比较少^[7]。本研究测定了氧氟沙星对鸡败血霉形体(MG)的最小抑菌浓度,研究该药经饮水治疗雏鸡实验性霉形体和大肠杆菌合并感染的临床疗效,并与恩诺沙星、洛美沙星、强力霉素作比较分析,评价其药效,为该药在家禽疾病防治中的推广应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 药品和试剂

氧氟沙星、恩诺沙星、洛美沙星和强力霉素为国产原料药。氧氟沙星由广东海康兽药厂提供;恩诺沙星由广东惠华动物保健品公司提供;洛美沙星由湖北医药工业研究所提供;强力霉素由江苏常州制药厂生产。试剂均为分析纯。

1.2 动物

石岐杂雏鸡 240 只,公母兼有,华南农业大学鸡场提供,试验前按常规饲养,饲喂不含抗菌药的全价饲料,自由采食及饮水,并进行临床观察。试验时鸡龄为 33 日龄,随机平均分为 8 组,各组试验鸡处理及体重见表 1。

1.3 体外抑菌试验

1.3.1 抗菌药配制:氧氟沙星、恩诺沙星、洛美沙星和强力霉素分别配成 1 280mg/L 原液,使

* 国家自然科学基金资助课题。

** 收稿日期 1997-01-14。

用前作10倍稀释。

表1 各组试验鸡处理及体重

Table 1 The treatment and weight of experiment chickens in various groups

组别 Groups	数量(只) Number	体重*(g) Weight*	处理 Treatment
健康对照 Healthy control	30	230.7±46.4	不感染、不给药 Uninfected, untreated
感染对照 Infective control	30	212.7±27.4	感染、不给药 Infected, untreated
氧氟沙星低剂量 Ofloxacin (low dose)	30	225.7±38.8	感染、50mg/L 饮水 Infected, 50mg/L in drinking water
氧氟沙星中剂量 Ofloxacin (middle dose)	30	225.3±43.8	感染、100mg/L 饮水 Infected, 100mg/L in drinking water
氧氟沙星高剂量 Ofloxacin (high dose)	30	241.9±52.2	感染、200mg/L 饮水 Infected, 200mg/L in drinking water
恩诺沙星对照 Enrofloxacin	30	226.9±33.9	感染、50mg/L 饮水 Infected, 50mg/L in drinking water
洛美沙星对照 Lomefloxacin	30	209.9±39.3	感染、50mg/L 饮水 Infected, 50mg/L in drinking water
强力霉素对照 Doxycycline	30	226.5±42.0	感染、100mg/L 饮水 Infected, 100mg/L in drinking water

* 平均值±标准差 * Mean±SD

1.3.2 培养基:营养琼脂培养基按常规方法制作, MG 培养基参考 Frey (1968) FM-4 培养基调制方法^[8]。

1.3.3 菌种及菌液制备:鸡败血霉形体 MGBG44T 株由中国兽药监察所提供。菌种启用后作2次传代并测定第2代菌液的颜色变化单位(ccu/ml), 使用前稀释成 10^5 ccu/ml。

1.3.4 MIC 测定方法:采用试管两倍稀释法^[9]。

1.4 疾病模型复制

制备 MGBG44T (来源见 1.3.3) 第三代菌液, 生长浊度为 $10^8 \sim 10^9$ ccu/ml; 大肠杆菌 O₇₈ (中国兽药监察所标准菌株), 感染菌液生长浊度为 9×10^8 个菌/ml。除健康组外, 每只鸡左右气囊接种 MG 菌液 0.75ml, 滴鼻约 0.3ml, 同时胸部肌注大肠杆菌液 0.3ml。

1.5 治疗试验

接种后, 立即对各组感染鸡按表 1 混饮给药, 连续 5d, 每天进行观察, 观察期为初次用药后 15d。

1.6 疗效评价指标

1.6.1 死亡率: 凡在试验期间, 鸡只出现败血霉形体和大肠杆菌合并感染的典型症状并死亡, 尸体剖检气囊、心、肺、肝有典型的病变特征, 气囊、肺能分离出霉形体及肝、脾、心分离出大肠杆菌, 判定感染死亡, 根据死亡鸡数计算死亡率。

1.6.2 治愈率: 凡在试验期间, 鸡只经用药后精神状态、食欲、呼吸恢复正常, 不再出现咳嗽、罗音、张口呼吸、流鼻液、拉稀便等临床症状, 均属治愈, 根据治愈鸡数占试验鸡的比例计算治愈率。

1.6.3 有效率:经用药后,试验感染鸡的精神、食欲、呼吸有明显好转,体重较用药前增加者,均判定为有效,据此计算有效率。

1.6.4 增重:根据试验初及试验结束时(初次给药后 15d)的鸡体重,计算每只鸡增重量,据此计算每组试验鸡平均增重和标准差。

1.6.5 血中抗体水平检测:试验结束时,每组抽检 10 只鸡,作全血平板凝集试验,检查血中抗体水平。

1.6.6 病理剖检和病原分离:试验结束时,各试验组随机抽 10 只鸡进行剖检,观察气囊、肺、肝、心等主要器官变化,并对气囊、肺进行 MG 分离培养,对肝、心作大肠杆菌分离培养。

1.6.7 气囊损伤率:在进行病理剖检观察气囊病变时,对气囊的损伤程度作分级记录,病变等级分为:0 级:无病变;1 级:气囊膜混浊;2 级:气囊膜变厚;3 级:一个气囊含有大量奶酪样粘稠渗出物,外观呈念珠状;4 级:多个气囊发现大量渗出物。并对病变等级打分:0 级为 0 分,1 级为 2 分,2 级为 4 分,3 级为 6 分,4 级为 8 分,根据平均每只鸡的分数计算气囊损伤率^[10]。

1.7 数据分析和处理

死亡率、有效率及治愈率用卡方检验,增重采用 t 检验。

2 结果

2.1 体外抑菌试验 测得氧氟沙星、恩诺沙星、洛美沙星和强力霉素对 MGBG44T 的 MIC 分别是 0.00625、0.025、0.4、0.4mg/L。

表 2 药物对鸡败血霉形体—大肠杆菌合并感染疗效

Table 2 Efficacy of medication in control of infection with MG-E coli in chickens

组别 Groups	死亡率 Morality(%)	治愈率 Cure rate(%)	有效率 Effective rate(%)	15d 增重*(g) 15d/weight*
健康对照 Healthy control	0			209.1±42.8
感染对照 Infective control	26.7	53.3**	60.0	144.9±74.9
氧氟沙星低剂量 Ofloxacin(low dose)	6.7	93.3	93.3	205.0±36.7
氧氟沙星中剂量 Ofloxacin(middle dose)	3.3	96.7	96.7	204.9±42.8
氧氟沙星高剂量 Ofloxacin(high dose)	0	96.7	100.0	213.2±61.4
恩诺沙星对照 Enrofloxacin	0	100.0	100.0	222.9±36.9
洛美沙星对照 Lomefloxacin	3.3	96.7	96.7	219.3±53.6
强力霉素对照 Doxycycline	3.3	83.3	86.7	188.2±53.6

* 平均值±标准差 Mean±SD; ** 自愈率 Self-cure rate.

2.2 疾病模型复制 接种后第2d,个别鸡表现出临床症状,主要是精神不振,食欲降低,咳嗽,罗音,张口呼吸,流鼻液,拉稀便等,至感染的第3d,整群感染对照组鸡都有不同程度的上述症状表现。接种后第5d,大部分鸡体内有抗体产生,全血平板凝集反应阳性,至第10d,感染对照组阳性率达100%,抗体水平大部分在“H”以上。感染及死亡鸡剖检可见明显的气囊膜增厚、混浊、气囊膜或腔内有黄色干酪样分泌物,部分鸡的肺部有坏死、出血或淤血点;可见腹膜炎,心包炎和肝周炎;脾轻度肿大;气囊内有多量粘稠分泌物,气管膜有程度不同的充血和出血,分离培养时,在气囊、气管、肺部都能分离到霉形体,肝和心可分离到大肠杆菌。

2.3 治疗试验结果 50、100、200mg/L 氧氟沙星、50mg/L 恩诺沙星、50mg/L 洛美沙星和100mg/L 强力霉素饮水给药对霉形体与大肠杆菌合并感染具有显著的疗效,临床症状均比感染对照组有不同程度的减轻,各组鸡的死亡率、治愈率、有效率及增重结果见表2。氧氟沙星及对照药均能极显著地减少气囊损伤率,抗体反应阳性率和病原再分离率,结果见表3。

表3 药物治疗对抗体、病原再分离及气囊损伤的影响(感染后15d)

Table 3 Effects of medication on antibody reaction, isolation of pathogens and lesions in the air-sac(15d after infection)

组别 Groups	检测鸡数 Number of chickens	抗体反应阳 性率 Positive rate of antibody reaction	病原分离 Isolation of pathogen		气囊损伤 Lesions in air-sac	
			MG	E. coli.	平均总损伤 (分/只) Average total lesions	总损伤减少率 (%) Total dimini- shing rate
健康对照 Healthy control	10	0/10	0/5	0/5	0	
感染对照 Infective control	10	10/10	5/5	4/5	7.2	
氧氟沙星低剂量 Ofloxacin(low dose)	10	2/10	1/5	2/5	0.6	91.7
氧氟沙星中剂量 Ofloxacin(middle dose)	10	1/10	0/5	1/5	0.4	94.4
氧氟沙星高剂量 Ofloxacin(high dose)	10	1/10	0/5	0/5	0.2	97.2
恩诺沙星对照 Enrofloxacin	10	2/10	1/5	0/5	0.4	94.4
洛美沙星对照 Lomefloxacin	10	3/10	2/5	1/5	0.6	91.7
强力霉素对照 Doxycycline	10	3/10	2/5	3/5	0.8	80.6

3 讨论

3.1 体外抑菌试验 从结果看,MGBG44T 对氧氟沙星、恩诺沙星高度敏感,对洛美沙星、强

力霉素中度敏感,四种药物对 MGBG44T 的体外抑菌活性以氧氟沙星最强,其 MIC 值比恩诺沙星低 4 倍,比洛美沙星和强力霉素低 64 倍。对鸡败血霉形体的 MIC 氧氟沙星(0.00625 mg/L)低于文献报道的诺氟沙星(0.1~0.25mg/L)^[11,12]和环丙沙星(0.025~0.031mg/L)^[12,5],是目前氟喹诺酮类对鸡败血霉形体体外抗菌活性最强的药物。但本试验与 Hannan^[5]报道的氧氟沙星对 MG 的 MIC(0.1mg/L)的结果差异较大,引起差异的原因较多,如试验方法、培养成分、培养条件及观察结果时间,确定标准等都会影响药物结果的判定,而菌株不同可能是引起差异的最重要因素。

除对鸡败血霉形体外,还有对滑液囊霉形体(0.1mg/L)、衣阿华霉形体(0.25mg/L)、火鸡霉形体(0.1mg/L)、羊三种霉形体(0.05~0.25mg/L)、牛 5 种霉形体(0.025~1.0mg/L)的 MIC 报道^[5]。也有对多杀性巴氏杆菌、猪副嗜血杆菌及猪 2 型链珠菌的 MIC 的研究报道^[6]。根据本实验结果及文献报道可见氧氟沙星对畜禽多种病原菌的抗菌活性强,具有高效、广谱的特点,预示该药在畜禽疾病防治,尤其是呼吸道疾病防治方面将具有很好的开发前景。

3.2 疾病模型复制 疾病模型复制成功与否是观察药物疗效的基础。单纯感染 MG 的鸡,一般仅呈轻度呼吸道症状或隐性感染,而临床上常见 MG 与大肠杆菌合并感染,使呼吸道病情恶化,给养禽业造成巨大经济损失。本研究经多次试验,确定了接种 MGBG44T 培养物的接种量为每只鸡左右气囊各 0.75ml,滴鼻约 0.3ml,然后立即胸肌注入大肠杆菌液 0.3ml。结果感染鸡临床症状明显、病变典型、并能从有关的脏器的病变组织中分离出相应病原体,证明本试验霉形体与大肠杆菌合并感染的疾病模型复制是成功的。

3.3 临床疗效 治疗试验结果表明,氧氟沙星及其对照药对霉形体与大肠杆菌合并感染具有显著的疗效,经统计分析表明,低、中、高剂量氧氟沙星及其它三种药的死亡率均显著或极显著低于感染对照组($P < 0.05$ 或 0.01),而治愈率极显著高于感染对照组的自愈率($P < 0.01$),低、中、高剂量氧氟沙星组与恩诺沙星组、洛美沙星组之间的死亡率、治愈率和有效率比较均无统计学意义的差异,表明三种药物疗效相当。低、中高剂量氧氟沙星与其它三种对照药的增重效果均显著高于感染对照组($P < 0.05$ 或 0.01)。但与健康对照组比较无统计学意义的差异($P > 0.05$)。

氧氟沙星三个剂量组和其它对照药可显著减少抗体阳性反应率,其中以中、高剂量氧氟沙星疗效最显著;在减少病原分离的数量方面,低、中、高剂量氧氟沙星和恩诺沙星、洛美沙星疗效相当,优于强力霉素;氧氟沙星、恩诺沙星和洛美沙星均可极显著地减少气囊损伤率,其中高剂量氧氟沙星效果最好,低、中、高剂量氧氟沙星与恩诺沙星、洛美沙星之间无统计学意义的差异($P > 0.05$),强力霉素次之。

氧氟沙星对 MG 的体外抗菌活性优于恩诺沙星,但在临床疗效上二者几乎是相同的,原因可能是由于恩诺沙星在家禽体内的代谢是脱去乙基形成环丙沙星^[13],在体内主要是靠环丙沙星起作用,有文献报道氧氟沙星和环丙沙星的疗效相当^[14],另外也可能与此两种药物的体内分布和组织浓度有关。恩诺沙星在肺和肝中较高的药物浓度决定了其对霉形体—大肠杆菌合并感染具有显著的疗效。

从氧氟沙星对鸡败血霉形体具有极强的抗菌活性及其对霉形体与大肠杆菌合并感染具有显著疗效的结果可以看出该药具有很好的推广价值,尤其是用于防治鸡败血霉形体病,建议临床应用时以 50mg/L 饮水,连续 5 日为宜。

参 考 文 献

- 1 Van Handuyt H W, Megerman. The importance of the quinolones in antibacterial therapy. *J Antimicrob Chemother*, 1990, 20(Suppl D): 1~6
- 2 Monk J P, Campoli-Richards D M. Ofloxacin Drug, 1987, 33: 346
- 3 Moohous E C, Clarke P C. Efficacy of ofloxacin in the treatment of lower respiratory tract infections in general practice. *Ibid*, 1988, 22(Supple): 135~138
- 4 Keller R, Beekwts T. Use of ofloxacin in open fractures and in the treatment of post-traumatic osteomyelitis. *J Antimicrob Chemother*, 1988, 22(SupplC): 159~166
- 5 Hannan P C T, O'hanlon P T, Rogers N H, et al. *In vitro* evaluation of various quinolone antibacterial agents against veterinary mycoplasmas and porcine respiratory bacterial pathogens. *Res Vet Sci*, 1989, 46(2): 202~166
- 6 Pijpers A, Van Klengeren B, Schoevers E J, et al. *In vitro* activity of five tetracyclines and some other antimicrobial agents against four porcine respiratory tract pathogens. *J Vet Pharmacol Therap*, 1989, 12(2): 267~276
- 7 曾振灵, 刘雅红, 孙永学, 等. 氧氟沙星对实验性鸡大肠杆菌病的药效研究. *中国兽医学报*, 1996, 16(5): 470~473
- 8 Frey M L, Hanson R P. A medium for the isolation of Avian Mycoplasmas. *Am J Vet Res*, 1968, 29(11): 2163~2171
- 9 戴自英. 临床抗菌药理学. 北京: 人民卫生出版社, 1985, 6~22
- 10 Lam K M. Resistance of chickens immunized against *M. gallisepticum* is mediated by bursal dependent lymphoid cells. *Vet Microbiology*, 1984, 9: 509~514
- 11 翁碧芬. 联合应用抗菌药物治疗鸡败血霉形体病的研究. 华南农业大学硕士研究生论文, 1991, 5~7, 42~49
- 12 陈杖榴, 方炳虎. 氟喹诺酮类新药及吡哌酸对鸡常见病原菌的体外抑菌试验. *中国兽医杂志*, 1994, 20(5): 15~16
- 13 Scheer M. Concentrations of active ingredient in the serum and tissues after oral and parenteral administration of Baytril. *Vet Med Rev*, 1987, 2: 104~108
- 14 王晓峰. 环丙沙星与氧氟沙星注射液治疗细菌性感染的疗效观察. *中国抗生素杂志*, 1995, 20(2): 118~122

**PHARMACODYNAMIC STUDIES OF OFLOXACIN IN
CHICKENS INFECTED WITH MG AND E. COLI**

Liu Yahong, Feng Qihui, Fang Binghu,
Zeng Zhenling, Sun Yongxue, Huang Xiānhui
(*South China Agricultural University, Guangzhou 510642*)

Abstract

Minimal inhibitory concentrations (MICs) of ofloxacin, enrofloxacin, lomefloxacin and doxycycline against *Mycoplasma gallisepticum* (MG) were determined by two-fold dilution

method *in Vitro*. MICs of ofloxacin, enrofloxacin, lomefloxacin and doxycycline were 0.00625, 0.025, 0.4, 0.4 mg/L, respectively. The disease model was performed in 240 33-day-old chickens by inoculating MG into the air-sac and *E. coli* into the breast muscle. All the therapeutic groups of chickens were medicated for 5 successive days via drinking water with ofloxacin (50, 100 and 200 mg/L), enrofloxacin (50mg/L), lomefloxacin (50mg/L) and doxycycline (100mg/L), respectively, the other group was unmedicated as infected control. The curative rates of 50, 100 and 200mg/L ofloxacin for infected chickens were 93.3%, 96.7% and 96.7%, respectively. The mortality of infected control group was 26.7%. Ofloxacin exhibited high efficacy in controlling the infection, which was equivalent or superior to enrofloxacin, also superior to lomefloxacin and doxycycline in the curative rates, effective rates and weigh gain, in reducing mortality and frequency of MG reisolation, as well as in preventing seroconversion and air-sac lesions in surviving birds.

Key words Ofloxacin, Pharmacodynamics, *Mycoplasma gallisepticum*, *E. coli*, Chickens