doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2018.11.05

亚甲基水杨酸杆菌肽可溶性粉在靶动物兔的安全性试验

胡　雪[1,2],周婷婷[1,2],顾梦婷[1,2],卜仕金[1,2*]

(1.扬州大学兽医学院,江苏扬州 225009; 2.江苏省动物重要疫病与人兽共患病防控协同创新中心,江苏扬州 225009)

[收稿日期] 2018-06-20　[文献标识码]A　[文章编号]1002-1280 (2018) 11-0025-09　[中图分类号]S859.83

[摘　要]　为评价亚甲基水杨酸杆菌肽可溶性粉对靶动物兔用药的安全性,32 只健康成年新西兰兔随机分为 4 组,每组 8 只(公母各半)。试验采用多剂量水平给药进行靶动物安全性研究,其中受试药物分别设 1 倍推荐剂量组(6 mg/kg/d)、3 倍推荐剂量组(18 mg/kg/d)和 5 倍推荐剂量组(30 mg/kg/d),另设一空白对照组。受试药经混饮给药,连用 21 d。用药期间通过观察一般临床表现、体重和摄食量变化,血液学和血液相关生化指标的检测以及大体和组织病理学检查,确定受试药的靶动物安全性。结果表明,试验期间所有受试动物均存活,对照组和受试药组临床表现均正常,病理剖解主要脏器无明显眼观病理变化。与对照组相比,亚甲基水杨酸杆菌肽可溶性粉按推荐剂量给药对兔的生长性能有正性作用;3 倍和 5 倍剂量组促进作用不明显。在血液生理指标及生化指标方面,各试验组之间无显著性差异。剖检后对主要脏器进行大体和显微病理学检查未见明显病变,个别高剂量组中的兔肝组织出现部分肝细胞肿胀现象。靶动物安全性实验结果表明,亚甲基水杨酸杆菌肽可溶性粉按推荐剂量连续给药 21 d 具有较大的安全性。

[关键词]　亚甲基水杨酸杆菌肽;兔;靶动物;安全性试验

Target Animal Safety Test of BMD Soluble Powder in Rabbits

HU Xue[1,2], ZHOU Ting-ting[1,2], GU Meng-tian[1,2], BU Shi-jin[1,2*]

(1. *Veterinary Medicine College, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu* 225009, *China*;

2. *Jiangsu Co-innovation Center for Prevention and Control of Important Animal Infectious Diseases and Zoonoses, Yangzhou, Jiangsu* 225009, *China*)

Corresponding author: BU Shi-jin, E-mail: pushijin@aliyun.com

Abstract: To evalutate the safety of bacitracin methylene disalicylate (BMD) soluble powder to rabbits, thirty-two healthy adult New Zealand rabbits were randomly divided into 4 groups, 8 in each group (female and male half). The safety of target animals was studied by using multiple dose levels, each group was given BMD soluble powder with water at dosage of 0 ppm, recommended dosage (6 mg · kg^{-1} · d^{-1}), 3 times of recommended dosage (18 mg · kg^{-1} · d^{-1}) and 5 times of recommended dosage (30 mg · kg^{-1} · d^{-1}) for 21 d continuously. During the experiment, clinical observation, weight change observation, general pathology examination, clinical hematologic

作者简介: 胡　雪,硕士,从事兽药药理及毒理学研究。

通讯作者: 卜仕金。E-mail: pushijin@aliyun.com

studies, blood biochemistry examination and histopathological examination were undertaken. The results showed that all the tested animals survived during the test, and the clinical manifestations of the control group and the test drug group were normal. There were no obvious pathological changes in the pathological anatomy of the main organs. Compared with the control group, the recommended dose group had a positive effect on the growth performance of rabbits; the three-fold and five-fold dose groups had no obvious positive effect. There were no significant differences between the experimental groups in blood physiological and biochemical parameters. Gross and microscopic pathological examinations of major organs after necropsy showed no obvious lesions, and some liver cells in some high-dose groups showed hepatocyte swelling. The results of the safety test of the target animals showed that it was safe for rabbits to use BMD soluble powder at the recommended dose for 21 d continuously.

Key words: bacitracin methylene disalicylate (BMD); rabbit; target animal; safety test

杆菌肽是一种由芽孢杆菌分泌产生的多肽类抗生素,具有促进动物生长、提高饲料利用率、抑制动物肠道中有害微生物生长、预防和治疗多种动物肠道疾病等多种作用,同时具有抗菌谱广、无残留、无休药期、不产生耐药性、无毒副作用、安全性好等特点,在国内外动物养殖和饲料生产中均有广泛应用[1-3]。亚甲基水杨酸杆菌肽可溶性粉作为一种新型的肽类添加剂于 2012 年获得我国新兽药注册证书,2013 年获得药物添加剂文号,允许在肉鸡饲料中以 5~40 mg/kg 的剂量进行添加,以达到促进生长、改善饲料报酬的目的[4]。美国 FDA 批准的亚甲基水杨酸杆菌肽适应症包括提高增重率和饲料效率、提高蛋鸡产蛋量、防治鸡坏死性肠炎、治疗火鸡传染性肠炎、预防鹌鹑溃疡性肠炎和预防猪痢疾等[5]。在欧盟该药还被推荐用于治疗由产气荚膜梭菌引起的兔坏死性肠炎,通过混饮或混饲给药,推荐用法用量为 5.7 mg/kg/d,连用 10 d。药效学试验表明,国产亚甲基水杨酸杆菌肽可溶性粉按 6 mg/kg/d 浓度饮水给药,连用 10 d,能有效治疗产气荚膜梭菌引起的兔坏死性肠炎。本次试验通过临床观察、病理学检查和血液学及血液化学指标测定,进行了该药在兔的靶动物安全性试验,以期为其在兔的临床合理用药提供依据。

1 材料与方法

1.1 *药品与材料* 亚甲基水杨酸杆菌肽可溶性粉(规格 15%,以杆菌肽计,批号 L110610),由浦城绿康生物科技有限公司提供。贝克曼 Unicel Dxc800 synchron 型全自动生化分析仪、Sysmex XE2100 型全自动血液分析仪、真空采集管、一次性注射器、酒精棉球、记号笔。

1.2 *试验动物及饲养管理* 32 只健康成年新西兰大白兔(公母各半),购自扬州市仪征安立卵生物科技有限公司,平均体重约 1.66 kg,组间差异不超过 9%。受试兔试验时采用耳号标记识别。

1.3 *动物分组与给药* 32 只健康成年新西兰大白兔随机分为 4 组,每组 8 只,雌雄各半。受试药设 3 个剂量组,分别为 1 倍(6 mg/kg/d)、3 倍(18 mg/kg/d)和 5 倍(30 mg/kg/d)推荐剂量组,饮水给药,连续给药 21 d。另设一空白对照组,饲料或饮水中不添加任何药物。

1.4 *饲养管理* 受试兔定时定量喂食压缩颗粒饲料,7 点到 19 点人工采光 12 h,温度在 20~24 ℃之间,空气相对湿度保持在 60%~70%之间,空气流量保持在 960 m^3/h,定期更换垫料以保持试验动物及动物房的清洁卫生。

1.5 *评价指标*

1.5.1 *临床观察* 在试验期间对实验动物进行监控,每天观察 2 次,以发现靶动物对药物有毒剂量产生的反应。主要观察受试动物的精神状况以及日常的采食饮水情况并加以记录。

1.5.2 *增重和摄食情况* 在试验前和第 11 天和第 21 天对各组新西兰白兔空腹进行称量,统计全期采食量,根据试验记录计算各组新西兰白兔的平均日采食量、平均日增重和料重比。

1.5.3　血液学和血清生化学检查　在给药前、给药后第 11 天、第 21 天分别采集耳缘静脉血样 1.5 mL 进行血液学参数和 0.5 mL 进行血液生化学参数的检测。血清生化指标包括白蛋白、总蛋白、球蛋白、直接胆红素、总胆红素、间接胆红素、葡萄糖、尿素氮、肌酐、钙、磷、钾、钠、氯含量,丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)、碱性磷酸酶(AKP)活性[6]。血液学指标包括红细胞数、血红蛋白含量、白细胞数、淋巴细胞数、异嗜性粒细胞数、单核细胞数、嗜酸性粒细胞数、嗜碱性粒细胞数、淋巴细胞百分比、异嗜性粒细胞百分比、单核细胞百分比、嗜酸性粒细胞百分比、嗜碱性粒细胞百分比[7]。

1.5.4　病理学检查　对试验中死亡的兔及时进行病理剖检,进行大体和组织病理学检查。试验结束后 24 h 内对所有存活兔扑杀,进行大体和组织病理学检查。

1.5.5　数据统计分析　用 SPSS 应用软件系统进行数据的显著性检验。采用 t 检验比较试验组与对照组间均增重、料肉比(饲料利用率)、血液学和血液生化学等各项指标的显著性差异。

2　结果与分析

2.1　临床表现　整个试验期间,各组动物均无死亡。对照组、推荐剂量组、3 倍推荐剂量组和 5 倍推荐剂量组中的所有试验动物健康状况良好,精神状态、饮水和采食均正常。

2.2　摄食量与体重变化　摄食量与饮水量:在整个研究期间,受试药物组平均摄食量与对照组相比提升;推荐剂量组和 3 倍剂量组和对照组相比饮水量上升,5 倍剂量组与对照组相比下降,但各剂量组之间无差异性。亚甲基水杨酸杆菌肽可溶性粉试验期间对兔生长性能的影响结果见表 1。各组实验兔初始体重差异不显著($P>0.05$),试验结束后受试药物组体重均显著高于对照组($P<0.05$),推荐剂量组和 3 倍推荐剂量组体重接近,均高于 5 倍推荐剂量组,但各剂量组之间无显著差异($P>0.05$);推荐剂量组($P=0.109>0.05$)、3 倍剂量组($P=0.099>0.05$)和 5 倍剂量组($P=0.494>0.05$)日均增重接近,均高于对照组,但无显著性;与对照组相比,受试药物组料肉比均低于对照组,推荐剂量组($P=0.009<0.01$)有极显著差异,3 倍推荐剂量组($P=0.014<0.05$)有显著差异,而 5 倍剂量组($P=0.328>0.05$)无显著性。表明亚甲基水杨酸杆菌肽可溶性粉饮水给药对兔的生长具有一定促进作用,且推荐剂量组效果最明显。

表 1　亚甲基水杨酸杆菌肽可溶性粉对兔生长性能的影响($\bar{x}\pm SD$, $n=8$)

检测指标	空白对照组	推荐剂量组 /(6 mg·kg^{-1}·d^{-1})	3 倍推荐剂量组 /(18 mg·kg^{-1}·d^{-1})	5 倍推荐剂量组 /(30 mg·kg^{-1}·d^{-1})
初均重(kg)	1.66±0.068	1.65±0.141	1.68±0.104	1.7±0.090
11 d 重(kg)	2.16±0.136	2.25±0.122	2.25±0.144	2.19±0.105
21 d 重(kg)	2.65±0.101^{a}	2.84±0.149^{b}	2.87±0.217^{b}	2.76±0.062^{b}
均增重(kg/只/天)	0.048±0.006	0.056±0.008	0.057±0.01	0.050±0.006
日均采食量(g/只/天)	189.68±38.24	202.27±54.92	191.52±36.173	190.96±48.46
日均饮水量(mL/只/天)	456.10±98.52	526.52±134.79	464.41±140.74	449.87±151.03
料肉比	4.08±0.418^{a}	3.59±0.37^{b}	3.38±0.503^{b}	3.81±0.423^{ab}

同行数据肩标字母不同表示差异显著($P<0.05$),下同

2.3　血液生理指标及血清生化指标　各组给药前、给药期间和给药后的血液生理指标及血液生化指标测定结果分别见表 2~表 7。统计学数据分析显示:血液生理指标方面,与对照组相比,所有亚甲基水杨酸杆菌肽处理组,注意到白细胞数计数有所下降,但不存在显著性($P>0.05$),且无剂量上的相关性。对照组与药物处理组的红细胞平均体积、平均血红蛋白含量、红细胞分布标准差指标稍偏低于

正常范围,可能与动物个体差异以及动物机体携带的微生物的数量和种类有关,与试验药物无相关性。其他血液生理指标差异不显著。血液生化指标方面,所有亚甲基水杨酸杆菌肽处理组,5 倍剂量组在给药后第 10 天和第 21 天与对照组相比,尿素氮在数值上有差异($P<0.05$),其他血生化指标无显著变化。

表 2　给药前第 0 天亚甲基水杨酸杆菌肽可溶性粉对兔血液生理指标的影响($\bar{x}\pm SD, n=8$)

血液学参数	空白对照组	推荐剂量组 /(6 mg·kg^{-1}·d^{-1})	3 倍推荐剂量组 /(18 mg·kg^{-1}·d^{-1})	5 倍推荐剂量组 /(30 mg·kg^{-1}·d^{-1})
白细胞(×10^9/L)	5.44±0.94	4.41±0.85	5.39±2.44	4.90±1.27
嗜酸性粒细胞(×10^9/L)	0±0	0±0	0.001±0.004	0.001±0.004
嗜中性粒细胞(×10^9/L)	1.22±0.62	1.10±0.41	0.99±0.48	1.11±0.60
嗜碱性粒细胞(×10^9/L)	0.15±0.05	0.12±0.04	0.13±0.05	0.15±0.06
红细胞(×10^{12}/L)	5.77±0.25	5.76±0.39	5.82±0.42	5.82±0.51
血红蛋白(g/L)	120±5.15	119.43±7.59	120.75±9.00	121±8.04
红细胞压积(L/L)	38.68±1.55	38.96±2.11	38.68±3.77	39.39±2.24
红细胞平均体积(fL)	67.06±2.86	67.7±2.35	66.39±3.39	67.83±3.05
平均血红蛋白含量(pg)	20.8±0.81	20.77±0.52	20.75±0.77	20.81±0.69
平均血红蛋白浓度(g/L)	310.2±3.42	306.86±7.67	313.13±16.06	307.29±5.91
红细胞分布宽度(%)	14.9±1.20	14.44±0.34	14.54±1.17	14.39±0.69
红细胞分布标准差(%)	35.6±2.91	34.94±2.25	34.24±3.04	34.69±2.39
血小板(×10^9/L)	283.8±92.60	253.29±53.83	311.88±245.05	318.86±131.99

表 3　给药前第 0 天亚甲基水杨酸杆菌肽可溶性粉对兔血液生化指标的影响($\bar{x}\pm SD, n=8$)

血液生化参数	空白对照组	推荐剂量组 /(6 mg·kg^{-1}·d^{-1})	3 倍推荐剂量组 /(18 mg·kg^{-1}·d^{-1})	5 倍推荐剂量组 /(30 mg·kg^{-1}·d^{-1})
K^+(mmol/l)	4.47±0.26^a	4.2±0.26^b	4.33±0.31^{ab}	4.38±0.45^{ab}
Na^+(mmol/l)	133.54±1.87^a	135.44±2.27^b	133.13±1.97^{ab}	133.54±2.3^{ab}
Cl^-(mmol/l)	99.38±2.22^a	101.06±3.34^b	98.85±2.39^{ab}	99.73±2.14^{ab}
Ca^+(mmol/l)	3.28±0.26	3.16±0.45	3.22±0.28	3.05±0.21
葡萄糖(mmol/l)	5.96±2.49	7.69±1.2	7.55±0.86	5.95±2.89
总蛋白(g/L)	57.96±7.8^a	53.1±3.8^{ab}	51.34±2.97^b	54.14±2.4^{ab}
白蛋白(g/L)	40.94±8.45^a	36.48±2.37^{ab}	34.9±2.28^b	37.56±1.31^a
球蛋白(g/L)	17.03±5.77	16.63±1.72	16.44±2.29	16.58±1.54
尿素氮(mmol/l)	4.84±1.49	4.26±1.22	4.61±1.12	3.5±2.11
肌酐(umol/l)	55.63±4.21	57.88±5.89	51.38±11.26	41.88±25.45
谷丙转氨酶(U/L)	40.75±6.96	33.5±6.44	38±6.26	37±9.65
谷草转氨酶(U/L)	23.13±10.74	18.75±5.2	28.88±20.53	25.5±13.91
AST/ALT	0.6±0.36	0.57±0.14	0.77±0.55	0.71±0.37
谷氨酰胺转移酶(U/L)	5.25±1.28	5.63±1.41	4.88±1.46	5.13±1.96
碱性磷酸酶(U/L)	136.5±36.72	155.13±27.16	116.38±18.01	104±47.25
总胆固醇(mmol/l)	1.65±0.59	1.72±0.51	1.61±0.36	1.19±0.71
总胆红素(umol/l)	1.33±0.1	1.39±0.16	1.28±0.16	1.29±0.26

表 4　给药后第 10 天亚甲基水杨酸杆菌肽可溶性粉对兔血液生理指标的影响($\bar{x}\pm SD, n=8$)

血液生化参数	空白对照组	推荐剂量组 /(6 mg · kg^{-1} · d^{-1})	3 倍推荐剂量组 /(18 mg · kg^{-1} · d^{-1})	5 倍推荐剂量组 /(30 mg · kg^{-1} · d^{-1})
白细胞(×10^9/L)	12.93±12.34	8±4.253	7.79±0.552	6.42±2.663
嗜酸性粒细胞(×10^9/L)	0±0	0.014±0.038	0.02±0.045	0.014±0.038
嗜中性粒细胞(×10^9/L)	1.32±0.40	1.51±0.49	1.19±0.47	0.95±0.36
嗜碱性粒细胞(×10^9/L)	0.152±0.05	0.124±0.04	0.13±0.05	0.15±0.06
红细胞(×10^{12}/L)	8.12±6.36	5.95±0.36	6.16±0.22	5.99±0.52
血红蛋白(g/L)	118±7.01	122±6.93	121.8±3.77	121±9.56
红细胞压积(L/L)	37.56±1.76	39.09±1.90	38.94±0.99	38.43±2.34
红细胞平均体积(fL)	64.94±3.92	65.83±2.97	63.26±2.03	64.27±2.68
平均血红蛋白含量(pg)	20.45±1.06	20.51±0.39	19.8±0.42	20.21±0.77
平均血红蛋白浓度(g/L)	315.12±9.63	312.14±9.82	312.8±4.55	314.57±9.47
红细胞分布宽度(%)	15.55±1.22	14.43±0.80	14.58±0.38	14.96±0.69
红细胞分布标准差(%)	35.86±3.60	34.14±2.28	33.08±1.48	34.44±2.61
血小板(×10^9/L)	375.38±233.64	317.57±167.12	331.2±63.30	345.43±62.97

表 5　给药后第 10 天亚甲基水杨酸杆菌肽可溶性粉对兔血液生化指标的影响($\bar{x}\pm SD, n=8$)

血液生化参数	空白对照组	推荐剂量组 /(6 mg · kg^{-1} · d^{-1})	3 倍推荐剂量组 /(18 mg · kg^{-1} · d^{-1})	5 倍推荐剂量组 /(30 mg · kg^{-1} · d^{-1})
K^+(mmol/L)	5.26±0.15	5.19±0.17	5.23±0.19	5.14±0.11
Na^+(mmol/L)	137.85±5.2	139.26±2.19	138.5±2.9	139.34±1.23
Cl^-(mmol/L)	91.14±5.4	95.24±2.29	94.41±4.24	96.86±2.39
Ca^+(mmol/L)	3.75±0.2	3.7±0.2	3.73±0.22	3.71±0.12
葡萄糖(mmol/L)	7.07±0.49	7.19±0.38	6.25±2.59	7.6±0.33
总蛋白(g/L)	47.5±3.55	47.1±2.68	47.81±3.74	48.76±3.18
白蛋白(g/L)	19.8±1.49	20.14±1.47	21.08±0.96	20.67±1.69
球蛋白(g/L)	27.69±3.54	27±2.05	26.71±3.64	28.13±2.45
尿素氮(mmol/L)	5.37±0.61^a	5.51±1.14^{ab}	6.48±2.54^{ab}	6.66±1.2^b
肌酐(umol/L)	59.79±3.93	61.01±6.7	60.94±17.01	66.65±11.42
谷丙转氨酶(U/L)	39.25±5.68	31.75±6.69	39.25±9.47	40.5±14.5
谷草转氨酶(U/L)	30.88±22.6	38.88±29.42	52.25±66.17	39.5±23.74
AST/ALT	0.77±0.48	1.19±0.85	1.26±1.36	1.14±0.86
谷氨酰胺转移酶(U/L)	6.75±1.39	5.25±1.58	7.25±2.82	6.38±1.19
碱性磷酸酶(U/L)	130.5±26.18	152.38±30.93	140.13±21.76	136.13±25.19
总胆固醇(mmol/L)	1.38±0.34	1.21±0.54	1.37±0.39	1.37±0.44
总胆红素(umol/L)	2.03±0.36	2.08±0.72	2.06±0.47	2.06±0.39

表 6　给药后第 21 天亚甲基水杨酸杆菌肽可溶性粉对兔血液生理指标的影响($\bar{x}\pm SD$, $n=8$)

血液学参数	空白对照组	推荐剂量组 /(6 mg·kg^{-1}·d^{-1})	3 倍推荐剂量组 /(18 mg·kg^{-1}·d^{-1})	5 倍推荐剂量组 /(30 mg·kg^{-1}·d^{-1})
白细胞(×10^9/L)	7.88±1.08^a	4.61±1.88^b	6.38±1.45^a	6.17±1.56^{ab}
嗜酸性粒细胞(×10^9/L)	0.002±0.00	0.004±0.00	0.002±0.00	0±0
嗜中性粒细胞(×10^9/L)	2.67±0.73	1.67±1.01	2.4±1.00	2.09±0.96
嗜碱性粒细胞(×10^9/L)	0.294±0.30	0.116±0.06	0.17±0.04	0.212±0.12
红细胞(×10^{12}/L)	6.03±0.50	5.34±1.49	5.85±0.34	6.09±0.38
血红蛋白(g/L)	124.2±9.81	110.24±27.20	124.8±6.98	128.4±3.85
红细胞压积(L/L)	39.96±2.41	35.38±8.63	39.56±1.95	41.5±0.76
红细胞平均体积(fL)	66.38±3.00	66.84±3.64	67.72±2.80	68.3±3.89
平均血红蛋白含量(pg)	20.94±0.99	20.8±1.21	21.36±0.90	21.14±1.19
平均血红蛋白浓度(g/L)	315.8±0.99	311.4±5.03	315±5.79	309.4±7.13
红细胞分布宽度(%)	15.86±1.64	15.86±1.46	15.22±1.30	15.78±2.60
红细胞分布标准差(%)	37.24±2.91	37.88±3.50	36.82±1.79	38.4±5.06
血小板(×10^9/L)	200.2±79.51	137.4±67.51	215.8±76.33	117±49.52

表 7　给药后第 21 天亚甲基水杨酸杆菌肽可溶性粉对兔血液生化指标的影响($\bar{x}\pm SD$, $n=8$)

血液生化参数	空白对照组	推荐剂量组 /(6 mg·kg^{-1}·d^{-1})	3 倍推荐剂量组 /(18 mg·kg^{-1}·d^{-1})	5 倍推荐剂量组 /(30 mg·kg^{-1}·d^{-1})
K^+(mmol/L)	4.23±0.11	4.31±0.17	4.21±0.06	4.38±0.22
Na^+(mmol/L)	141.34±1.93	139.47±2.34	139.87±2.93	141.03±1.16
Cl^-(mmol/L)	99.31±2.44	98.96±2.8	99.33±3.61	100.65±2.56
Ca^+(mmol/L)	3.57±0.08	3.62±0.11	3.51±0.41	3.68±0.17
葡萄糖(mmol/L)	6.79±0.25^a	7.75±1.08^a	7.45±0.42^b	7.78±0.73^a
总蛋白(g/L)	57.15±3.66	56.4±3.1	50.2±12.75	56.35±2.5
白蛋白(g/L)	37.15±1.56	37.26±1.93	33.07±6.26	36.85±1.3
球蛋白(g/L)	20±2.48	19.14±1.35	17.13±6.64	19.5±1.56
尿素氮(mmol/L)	5.91±1.54^a	6.31±1.22^{ab}	6.83±1.42^a	5.78±0.57b
肌酐(umol/L)	63.88±6.96	65.57±7.3	67.67±12.34	66.25±4.5
谷丙转氨酶(U/L)	57.5±11.82	51.86±13.67	54±14	62.75±9.46
谷草转氨酶(U/L)	75±67.42	57±42.67	68.67±68.97	30.75±4.72
AST/ALT	1.28±1.02	1.12±0.82	1.17±0.99	0.5±0.08
谷氨酰胺转移酶(U/L)	4±0.76	4±1.14	5.33±4.16	4.75±0.96
碱性磷酸酶(U/L)	114.5±28.5	135.57±28.55	116.67±30.29	120.25±25.38
总胆固醇(mmol/L)	0.97±0.25	1.21±0.35	0.92±0.42	7.78±0.73
总胆红素(umol/L)	1.48±0.17	1.63±0.13	1.33±0.25	1.58±0.05

2.4　眼观和组织病理学检查　试验结束后对各组存活的兔全部处死剖检,均未见明显的眼观病理变化。对 5 倍剂量组和对照组的存活兔进行组织病理学检查,显微检查结果显示,高剂量组中除 1 只兔的肝组织出现部分肝细胞肿胀现象,其他主要脏器均未见明显异常。对照组和 5 倍推荐剂量组中动物的主要脏器剖检病理检查部分结果见图 1~图 12。

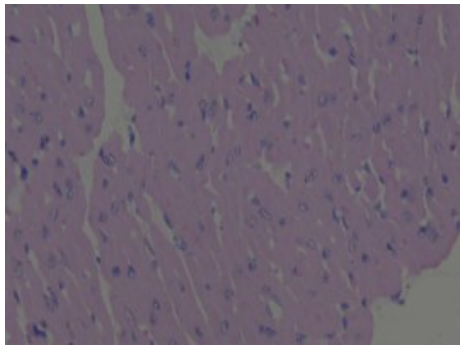

图 1　对照组 心（HE 染色×400）

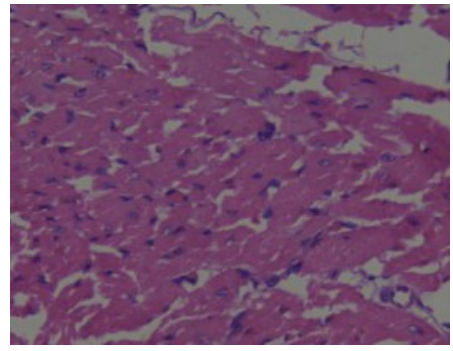

图 2　5 倍剂量组 心（HE 染色×400）

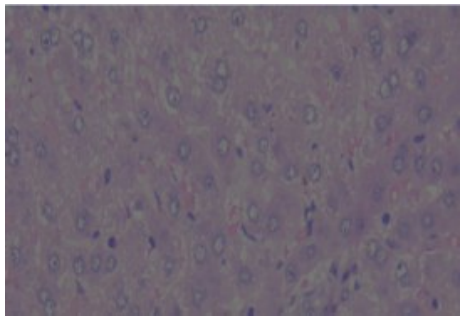

图 3　对照组 肝（HE 染色×400）

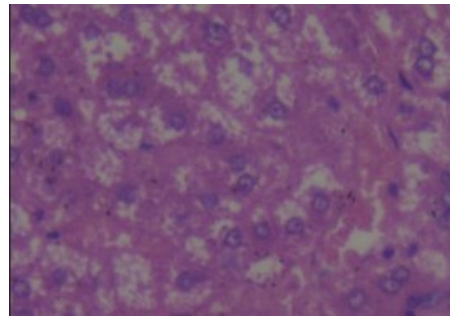

图 4　5 倍剂量组 肝（HE 染色×400）

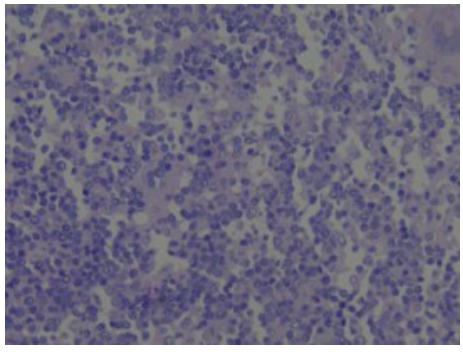

图 5　对照组 脾（HE 染色×400）

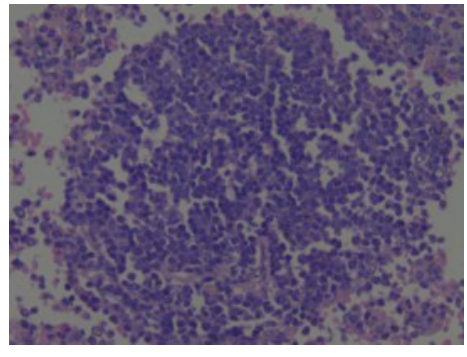

图 6　5 倍剂量组 脾（HE 染色×400）

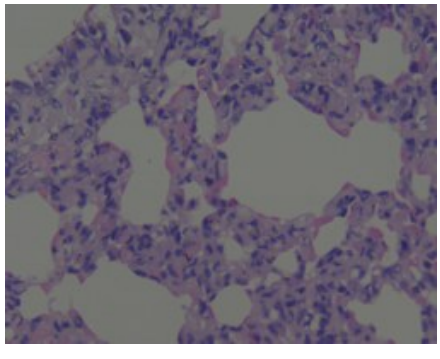

图 7　对照组 肺（HE 染色×400）

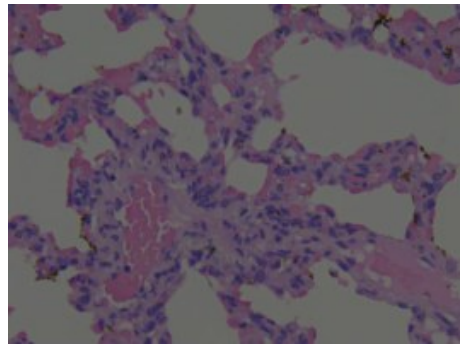

图 8　5 倍剂量组 肺（HE 染色×400）

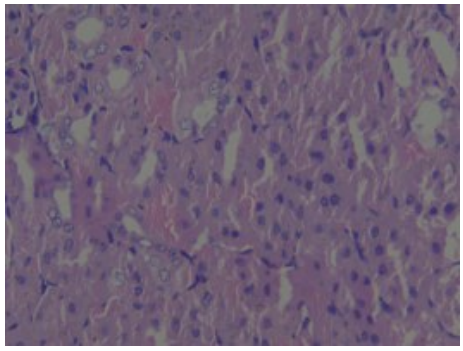

图 9　对照组 肾 (HE 染色 ×400)

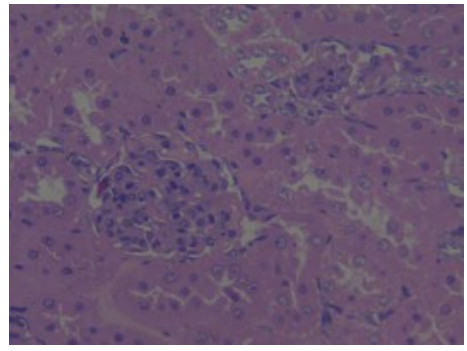

图 10　5 倍剂量组 肾(HE 染色 ×400)

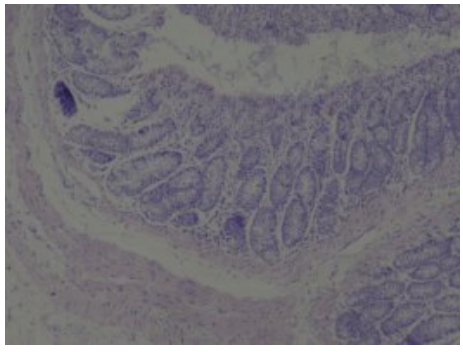

图 11　对照组 胃 (HE 染色 ×100)

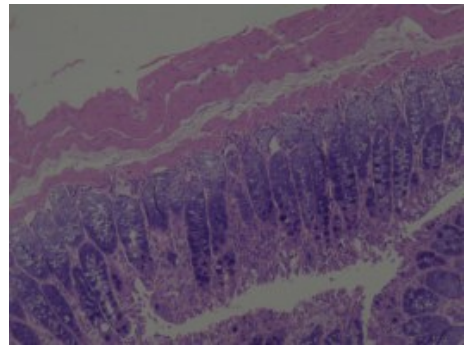

图 12　5 倍剂量组 胃(HE 染色 ×100)

3　讨论与结论

杆菌肽口服进入动物肠道后几乎不被吸收,且95%经过粪便排出体外,极少量被吸收后通过肾小球过滤后排出体外[1,8]。李美同等对猪连续饲喂 3 个月的杆菌肽后,停药当天即检测猪可食性组织中杆菌肽的残留量,但均未检测出杆菌肽残留[9]。FDA 资料显示,饲喂小鸡 1100 mg/kg 亚甲基水杨酸杆菌肽 8 周和产蛋鸡 5 个月,在鸡组织、蛋清和蛋黄中也均未检出杆菌肽残留[10]。因此,杆菌肽不存在药物残留问题,在畜禽生产过程中没有毒副作用,安全性良好[11]。亚甲基水杨酸杆菌肽可溶性粉是国家近年来批准的唯一新药物饲料添加剂,是一种多肽类的抗生素,主要作用于革兰氏阳性菌,具有促进生长作用,同时亦能控制引起动物肠道疾病的病原菌[4]。郝晔等报道表明日粮中添加亚甲基水杨酸杆菌肽对新西兰白兔的生产性能和屠宰性能有促进作用,且以 50~100 mg/kg 的添加剂量效果最佳[12]。对鸭的试验结果显示,在相同饲养条件下,亚甲基水杨酸杆菌肽对番鸭的屠宰性能均无明显影响,但能在一定程度上降低番鸭的死亡率,并提高番鸭的日增重和饲料利用率[13]。本次试验结果表明,受试药物组与对照组动物初始重量无显著差异,但终末增重较对照组存在显著差异($P<0.05$),表明亚甲基水杨酸杆菌肽可溶性粉对兔的生长具有积极促进作用。

细胞肿胀(cell swelling)是指细胞内水分增多,胞体增大,胞浆内出现微细颗粒或大小不等的水泡,多发生于肝细胞、肾小管上皮细胞和心肌细胞,也可见于皮肤和粘膜的被覆上皮细胞,是一种常见的细胞变性。引起细胞肿胀的原因有机械性损伤、缺氧、缺血、电离辐射、中毒、脂肪过氧化、细菌及病毒感染、免疫反应等[14]。本次试验显微结果显示,高剂量组中兔的肝组织出现部分肝细胞肿胀现象,分析可能与脏器采集过程中造成的机械性损伤有关。血液是构成有机体内环境的重要组成部分,内环境的变化可能导致血液组成成分或性质发生特征性的变化,血液的生理生化常值是反映机体健康状况的主要指标,也是疾病诊断和监测的指标之

一。血液中参与机体免疫的成分主要有中性粒细胞和淋巴细胞[15],血液中的白细胞总数的多少提示动物的易感性和侵入微生物的毒力等。红细胞计数、血红蛋白浓度、红细胞压积、平均红细胞体积、平均红细胞血红蛋白含量和平均红细胞血红蛋白浓度可用于贫血的诊断[16]。本试验将亚甲基水杨酸杆菌肽可溶性粉以 1 倍、3 倍、5 倍的推荐剂量混饮给药,观察比较给药前后兔的临床症状、血液生理生化参数,结果显示试验兔在整个研究期间,精神状态、食欲、饮水及粪便情况未出现异常,部分血液学、血液生化指标有不同程度的波动,但均在正常参考值范围内。由此表明亚甲基水杨酸杆菌肽可溶性粉按推荐给药方案混饮给药,连用 21 d,对靶动物兔具有很高的安全性。

参考文献:

[1] 周臣飞,李俊辉,季朝金. 杆菌肽类饲料添加剂在畜禽养殖中的应用[J].中国动物保健,2011,(12):8-11.
Zhou C F, Li J H, Ji C J. Application of bacitracin feed additive in livestock and poultry breeding [J]. China Animal Health, 2011,(12):8-11.

[2] 张建刚,邓波波,朱建平. 杆菌肽锌在动物生产中的应用[J].江西饲料,2011,(6):31-33.
Zhang J G, Deng B B, Zhu J P. Application of bacitracin zinc in animal production[J]. Jiangxi Feed,2011,(6):31-33.

[3] 金光耀. 杆菌肽产品在动物饲料中的应用研究进展[J].畜牧与饲料科学,2014,35(5):39-40.
Jin G Y. Advances in the application of bacitracin products in animal feed[J]. Animal Husbandry and Feed Science,2014,35(5):39-40.

[4] 杨汉博,王 峰. 新型肽类添加剂——亚甲基水杨酸杆菌肽[J].饲料工业,2013.34(14):46-48.
Yang H B, Wang F. Novel peptide additive-Bacitracin methylene disalicylate[J]. Feed Industry,2013,34(14):46-48.

[5] 周岩民,王龙昌. 杆菌肽产品在动物饲料中的应用研究进展[J].饲料工业,2012,33(18):1-5.
Zhou Y M, Wang L C. Advances in the application of bacitracin products in animal feed[J]. Feed Industry, 2012,33(18):1-5.

[6] David Kobylka. Safety assessment of animal drugs[J]. Regulatory Toxicology and Pharmacology,1982,2(12):146-152.

[7] 萧惠来. VICH 兽药靶动物安全性研究指导原则概述[J]. 中国兽药杂志,2011,43(12):33-37.
Xiao H L. Overview of VICH Veterinary Drug Target Animal Safety Research Guidelines[J]. Chinese Journal of Veterinary Drug,2011,43(12):33-37.

[8] EMEA. Maximum residue limits[EB/OL].[2002.11.01]. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2009/11/WC500010855.pdf.

[9] 李美同. 饲料添加剂[M]. 北京:北京大学出版社.1991:114-117.
Li M T. Feed additives[M]. Beijing: Peking University Press. 1991:114-117.

[10] FDA. Center of Veterinary Medicine: Freedom of information summary, NADA 046-592, bacitracin methylene disalicylate food and drug administration, Washington D. C. [S].

[11] 陈吉红,庞玉红,郭荣富. 杆菌肽锌在畜禽中的应用及其安全性评价[J].中国饲料,2004,(9):28-33.
Chen J H, Pang Y H, Guo R F. Application of bacitracin zinc in livestock and poultry and its safety evaluation[J]. China Feed, 2004,(9):28-33.

[12] 郝 晔,赵博昊,朱 杰,等. 亚甲基水杨酸杆菌肽对断奶仔兔生长和屠宰性能的影响[J].中国养兔,2016,(6):4-7.
Hao Y, Zhao B H, Zhu J, *et al*. Effect of Bacitracin Methylene Disalicylate on Production Performance and Slaughter Performance of the New Zealand White Rabbit[J]. Chinese Journal of Rabbit Farming, 2016,(6):4-7.

[13] 贺文庆. 亚甲基水杨酸杆菌肽可溶性粉对鸭的促生长、靶动物安全性和残留消除研究[D].扬州:扬州大学,2014.
He W Q.Effect on the growth promotion, target animal safety and residues elimination of BMD premix in ducks[D]. Yangzhou: Yangzhou University,2014.

[14] 赵德明. 兽医病理学[M]. 北京:中国农业大学出版社.2005:75-78.
Zhao D M. Veterinary pathology[M]. Beijing: China Agricultural University Press.2005:75-78.

[15] 孔祥峰,尹富贵,刘合军,等. 早期断奶仔猪生理生化参数和脏器指数的变化[J].中国实验动物学报,2006,(4):298-302.
Kong X F, Yin F G, Liu H J, *et al*. Changes of Physiological and Biochemical Parameters and Viscera Indexes in Early-Weaned Piglets[J]. Acta Laboratorium Animalis Scientia Sinica, 2006,(4):298-302.

[16] 孔祥峰,柏美娟,印遇龙,等. 三元猪和宁乡猪血液学参数比较研究[J].农业现代化研究,2009,30(4):498-504.
Kong X F, Bo M J, Yin Y L, *et al*. Comparative Study on Hematologic Parameters in Three-crossbred Pigs and Ningxiang Pigs[J]. Research of Agricultural Modernization,2009,30(4): 498-504.

(编 辑:侯向辉)