蚕用盐酸左氧氟沙星溶液的 临床药效和安全性试验

康国平^{1,2}, 王玉华^{1,2*}, 赫荣帆², 王娟²

(1. 江苏科技大学, 江苏镇江 212003; 2. 中国农业科学院蚕业研究所, 江苏镇江 212018)

[收稿日期] 2013-01-25 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280(2013)06-0039-05 [中图分类号] S859.796

[摘要] 对研制的一种新型蚕用抗菌药物——盐酸左氧氟沙星溶液进行了临床药效和安全性试验。盐酸左氧氟沙星溶液主要用于防治家蚕细菌性败血病。临床药效试验结果表明, 用 100 mg/L 盐酸左氧氟沙星药液给感染黑胸败血病菌或卒倒芽孢杆菌的 4 龄起蚕连续添食 3 d, 防治效果与 500 mg/L 盐酸诺氟沙星药液比较无明显差异 (χ^2 检验, $P > 0.05$); 200 mg/L 盐酸左氧氟沙星药液给感染沙雷氏菌的 4 龄起蚕连续添食 3 d, 防治效果明显优于 500 mg/L 盐酸诺氟沙星药液 ($P < 0.05$)。安全性试验结果表明, 分别用 200、600、1000 mg/L 盐酸左氧氟沙星药液给 4 龄、5 龄起蚕添食 3 d, 对家蚕的生长发育、茧质、丝质和卵质均未见明显不良影响 (t 检验, $P > 0.05$), 且不存在明显的剂量-反应关系。盐酸左氧氟沙星溶液对三种病原菌感染引起的家蚕细菌性败血病均有显著的防治效果。

[关键词] 蚕用抗菌药物; 盐酸左氧氟沙星溶液; 临床药效; 安全性

Clinic Pharmacodynamic and Safety Test of Levofloxacin Hydrochloride Solution of Antibacterial Drug for Silkworm Rearing

KANG Guo - Ping^{1,2}, WANG Yu - Hua^{1,2*}, HE Rong - Fan², WANG Juan²

(1. Jiangsu University of Science and Technology, Zhenjiang, Jiangsu 212003, China;

2. Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang, Jiangsu 212018, China)

Abstract: Levofloxacin hydrochloride solution was an antibacterial agent for silkworm rearing, mainly used for controlling silkworm bacterial septicemia. Clinic pharmacodynamic experimental results indicated that the control effect on silkworm septicaemia caused by *Bacillus* sp. or *Bacillus thuringiensis* Var. sotto Ishiwata with continuous administration of 100 mg/L levofloxacin hydrochloride solution for 3 days to newly exuviated silkworm larvae of the 4th instar had no significant difference compared with 500 mg/L sarafloxacin hydrochloride capsules (χ^2 test, $P > 0.05$). The control effect on silkworm septicaemia caused by *Serratia marcescens* Bizio with 200 mg/L levofloxacin hydrochloride solution for 3 days was obviously better than that with 500 mg/L sarafloxacin hydrochloride ($P < 0.05$). Safety test results indicated that administration of 200, 600, and 1000 mg/L levofloxacin hydrochloride solution respectively to the newly exuviated larvae of the 4th and 5th instars for 3 days had no significant effect on

作者简介: 康国平, 硕士研究生, 从事家蚕疾病控制及应用技术研究。

通讯作者: 王玉华。E-mail: Wangyhsri@126.com

silkworm growth and development, and cocoon, silk and egg quality (t -test, $P > 0.05$), and no significant dose-response relationship was observed. These results showed that levofloxacin hydrochloride solution had better control effect on silkworm bacterial septicemia of infected by above mentioned three silkworm pathogenetic bacteria in comparison with the commonly used silkworm drug for bacterial septicemia.

Key words: antibacterial drug for silkworm rearing; levofloxacin hydrochloride solution; clinic pharmacodynamic; safety

家蚕细菌性败血病在养蚕生产中时有发生,尤其在夏秋高温多湿季节危害更严重,目前蚕业生产中使用的相类似蚕药抗菌防病作用效果不全面,且防治由沙雷铁氏菌引起的败血病的药物较少,因此研制出更为理想的蚕用抗菌药物用于蚕业生产,实现稳产高产、提高经济效益具有重要意义。本试验研究了盐酸左氧氟沙星对由黑胸败血病菌、卒倒芽孢杆菌和沙雷铁氏菌等代表性病原菌感染引起的家蚕细菌性败血病的防治效果,以及其对家蚕的生长发育、茧质、丝质和种质的安全性,以期为新蚕药的推广应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料 供试药物:盐酸左氧氟沙星溶液,试制批号 100206,由中国农业科学院蚕业研究所附属蚕药厂研制;对照药物:盐酸诺氟沙星溶液(蚕用),生产批号 100207,由中国农业科学院蚕业研究所附属蚕药厂生产。

供试家蚕品种:丝茧育一代杂交种为苏·菊×明·虎,种茧育原种为菁松(中系)、皓月(日系),均由江苏省蚕种管理所提供。供试家蚕常规桑叶育。

供试病原细菌:黑胸败血病菌(*Bacillus* sp., Bs),由广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所提供;苏云金芽孢杆菌卒倒变种(简称卒倒芽孢杆菌,*Bacillus thuringiensis* var. sotto, Bt)及沙雷铁氏菌(俗称灵菌,*Serratia marcescens* Bizio, Sm),由中国农业科学院蚕业研究所病理研究室保存。

1.2 方法

1.2.1 盐酸左氧氟沙星溶液对家蚕细菌性败血病的防治效果试验 取黑胸败血病菌、卒倒芽孢杆菌及沙雷铁氏菌菌种,分别加适量灭菌水及吐温-80将菌苔洗下,在混匀器上混匀制成不同浓度(Bs: 1.9×10^8 、 2.3×10^8 、 1.8×10^8 CFU/mL; Bt: 3.3×10^8 、 2.4×10^8 、 2.7×10^8 CFU/mL; Sm: 1.5×10^8 、 2.1×10^8 、 2.3×10^8 CFU/mL)菌悬液,用灭菌接种

针蘸取菌液给4龄起蚕穿刺感染。将供试药物盐酸左氧氟沙星溶液加水分别配制成质量浓度为50、100、200、400 mg/L的药液。对照药物盐酸诺氟沙星溶液按药品使用说明书加水配制成质量浓度为500 mg/L的药液。用喷雾器将各种药液分别均匀地喷洒在桑叶上(以桑叶正反面湿润为宜),稍晾干后,分别对感染不同病原细菌的4龄起蚕进行添食给药治疗,连续给药3 d,其中第1天24 h内均添食药叶,第2、3天仅6 h添食药叶,其余时间饲喂普通桑叶。感染病原细菌的阳性对照组与未感染病原菌的空白对照组饲喂普通桑叶。试验重复3次,每区供试蚕为100头,25℃饲养至5龄起蚕,调查发病率,治疗效果以治愈率表示:治愈率(%) = 1 - 发病率。

将供试药物各剂量组之间及与对照药物组之间的治愈率用Excel软件进行 χ^2 显著性检验统计分析^[1],确定供试药物的临床药效及实用剂量。

1.2.2 盐酸左氧氟沙星溶液对家蚕的安全性试验

根据临床药效试验结果,将盐酸左氧氟沙星溶液分别加水稀释成质量浓度为200、600、1000 mg/L的药液,将不同浓度药液分别均匀喷洒在桑叶上,分区饲喂4龄起蚕(每区500头)24 h,第2、3天各饲喂药叶6 h,至5龄起蚕再饲喂药叶24 h,第2、3天各饲喂药叶6 h,其余时间饲喂普通桑叶至上蔟结茧。空白对照组一直饲喂普通桑叶。各试验区3个重复,每区每次给桑量相同。调查各试验区家蚕4~5龄经过、4龄眠蚕体质量、熟蚕体质量、虫蛹生命率、结茧率、全茧量、茧层量、茧层率、上车茧率、茧丝长、解舒率、纤度、洁净、发蛾率、良卵数、不良卵率及二日孵化率等性状成绩,用Excel软件 t 检验统计分析各试验区和空白对照组间各项调查成绩的显著性差异^[2],确定供试药物对家蚕的安全性及剂量范围。

2 结果

2.1 盐酸左氧氟沙星溶液对家蚕细菌性败血病的防治效果 盐酸左氧氟沙星溶液对家蚕细菌性败血病的防治效果见表 1。经 χ^2 显著性检验统计分析表明, 200、100 mg/L 盐酸左氧氟沙星药液对黑胸败血病菌(Bs)、卒倒芽孢杆菌(Bt)感染引起的家

蚕细菌性败血病的防治效果显著, 与对照药物 500 mg/L 盐酸诺氟沙星药液比较, 无明显差异 ($P > 0.05$); 400、200 mg/L 盐酸左氧氟沙星药液对沙雷铁氏菌(Sm)感染引起的家蚕细菌性败血病的防治效果显著, 明显优于对照药物 500 mg/L 盐酸诺氟沙星药液 ($P < 0.05$)。

表 1 盐酸左氧氟沙星溶液对家蚕细菌性败血病的防治效果

药物名称及质量浓度	黑胸败血病菌		卒倒芽孢杆菌		沙雷铁氏菌	
	发病率	治愈率	发病率	治愈率	发病率	治愈率
400 mg/L 盐酸左氧氟沙星	-	-	-	-	0 ± 0	100 ± 0
200 mg/L 盐酸左氧氟沙星	0 ± 0	100 ± 0	0 ± 0	100 ± 0	0 ± 0	100 ± 0
100 mg/L 盐酸左氧氟沙星	0 ± 0	100 ± 0	0 ± 0	100 ± 0	41 ± 8	59 ± 8
50 mg/L 盐酸左氧氟沙星	7 ± 4	93 ± 4	5 ± 3	95 ± 3	-	-
500 mg/L 盐酸诺氟沙星	0 ± 0	100 ± 0	0 ± 0	100 ± 0	73 ± 10	27 ± 10
阳性对照	100 ± 0	-	100 ± 0	-	100 ± 0	-
空白对照	0 ± 0	-	0 ± 0	-	0 ± 0	-

注: 表中数字为 3 个重复试验值的平均数 ± 标准差, 表 2~表 5 下同。

2.2 盐酸左氧氟沙星溶液对家蚕的安全性评价 自 4 龄起蚕添食 200、600、1000 mg/L 3 种浓度的盐酸左氧氟沙星药液后, 蚕体生长发育的各项性状成绩的调查结果见表 2。经 t 检验统计分析表明, 添食盐酸左氧氟沙星药液的各剂量组 4、5 龄幼虫的

发育经过、蚕体质量、虫蛹生命率等均与空白对照组相比, 无明显差异 [$P_{(双尾概率)} > 0.05$], 且不存在明显的剂量 - 反应关系, 即盐酸左氧氟沙星溶液对试验组家蚕的生长发育未产生明显不良影响。

表 2 家蚕添食盐酸左氧氟沙星药液后的生长发育成绩

家蚕品种	药物质量浓度 / (mg · L ⁻¹)	4 龄经过 / (d : h)	4 龄眠蚕体质量/g	5 龄经过/(d : h)	熟蚕体质量/g	虫蛹生命率 / %
苏·菊 × 明·虎	200	4 : 22	1.028 ± 0.48	7 : 11	3.768 ± 1.23	98.52 ± 0.68
	600	4 : 22	1.041 ± 0.54	7 : 11	3.787 ± 0.68	98.53 ± 1.04
	1000	4 : 22	1.043 ± 0.79	7 : 11	3.760 ± 0.62	98.50 ± 0.74
	空白对照	4 : 22	1.031 ± 0.14	7 : 11	3.758 ± 0.52	98.31 ± 0.40
菁松	200	5 : 07	0.895 ± 0.46	7 : 0	3.520 ± 3.67	98.23 ± 0.96
	600	5 : 07	0.870 ± 0.44	7 : 0	3.617 ± 1.15	98.13 ± 0.59
	1000	5 : 07	0.848 ± 0.68	7 : 0	3.422 ± 1.78	97.70 ± 0.00
	空白对照	5 : 07	0.863 ± 0.59	7 : 0	3.417 ± 1.53	98.47 ± 0.51
皓月	200	5 : 08	0.865 ± 0.66	7 : 0	2.940 ± 2.16	98.67 ± 0.40
	600	5 : 08	0.863 ± 0.45	7 : 0	2.928 ± 3.39	98.03 ± 0.80
	1000	5 : 08	0.868 ± 0.40	7 : 0	2.887 ± 1.27	98.23 ± 0.68
	空白对照	5 : 08	0.873 ± 0.49	7 : 0	2.933 ± 2.36	97.87 ± 0.25

表 3 是自 4 龄起蚕添食 3 种浓度盐酸左氧氟沙星药液后家蚕的茧质成绩。经 t 检验统计分析表明, 添食盐酸左氧氟沙星药液各剂量组与空白对照组间的结茧率、全茧量、茧层量、茧层率等均无明显差异 [$P_{(双尾概率)} > 0.05$], 且不存在明显的剂量 - 反应关系, 即盐酸左氧氟沙星对试验组家蚕上簇

结茧以及蚕茧品质未产生明显不良影响。

表 4 是自 4 龄起蚕添食 3 种浓度盐酸左氧氟沙星药液后的丝质成绩。经 t 检验统计分析表明, 添食盐酸左氧氟沙星药液各剂量组与空白对照组之间的上车茧率、茧丝长、解舒率、纤度、洁净等无明显差异 [$P_{(双尾概率)} > 0.05$], 且不存在明显的剂

量-反应关系,即盐酸左氧氟沙星对试验组家蚕生产茧丝的丝质未产生明显不良影响。

表3 家蚕添食盐酸左氧氟沙星药液后的茧质成绩

家蚕品种	药物质量浓度 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	结茧率/%	全茧量/g	茧层量/g	茧层率/%
苏·菊×明·虎	200	95.87 ± 1.00	1.827 ± 0.03	0.337 ± 0.01	18.43 ± 0.30
	600	96.60 ± 0.44	1.817 ± 0.02	0.340 ± 0.00	18.72 ± 0.16
	1000	95.23 ± 1.52	1.820 ± 0.01	0.333 ± 0.01	18.31 ± 0.24
	空白对照	95.07 ± 0.47	1.830 ± 0.02	0.337 ± 0.01	18.40 ± 0.18
菁松	200	98.23 ± 0.96	1.517 ± 0.02	0.363 ± 0.01	23.91 ± 0.47
	600	98.13 ± 0.59	1.543 ± 0.03	0.363 ± 0.01	23.76 ± 0.39
	1000	97.70 ± 0.00	1.550 ± 0.04	0.377 ± 0.01	24.26 ± 0.25
	空白对照	98.17 ± 0.38	1.520 ± 0.02	0.363 ± 0.01	23.17 ± 0.19
皓月	200	98.77 ± 0.96	1.427 ± 0.02	0.327 ± 0.01	22.90 ± 0.49
	600	97.17 ± 2.92	1.437 ± 0.04	0.330 ± 0.01	22.97 ± 0.14
	1000	98.17 ± 0.57	1.437 ± 0.03	0.330 ± 0.01	22.97 ± 0.28
	空白对照	97.20 ± 0.96	1.413 ± 0.02	0.327 ± 0.01	23.11 ± 0.27

表4 家蚕添食盐酸左氧氟沙星药液后的茧丝品质成绩

家蚕品种	药物质量浓度 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	上车茧率/%	茧丝长/m	解舒率/%	纤度/dtex	洁净/分
苏·菊×明·虎	200	97.28 ± 0.42	670.6 ± 105.9	38.89 ± 3.57	2.40 ± 0.08	91.33 ± 2.89
	600	97.74 ± 0.38	734.9 ± 68.8	40.70 ± 2.73	2.42 ± 0.11	91.67 ± 1.15
	1000	97.34 ± 0.20	796.9 ± 52.1	39.69 ± 2.43	2.31 ± 0.03	92.00 ± 1.00
	空白对照	97.36 ± 0.27	735.8 ± 62.9	36.41 ± 2.28	2.36 ± 0.08	91.33 ± 0.58
菁松	200	97.49 ± 0.56	1 264.1 ± 28.6	66.52 ± 2.19	2.22 ± 0.11	93.06 ± 3.37
	600	98.04 ± 0.89	1 275.7 ± 13.5	68.86 ± 7.50	2.22 ± 0.02	93.61 ± 0.96
	1000	98.54 ± 0.03	1 279.3 ± 35.1	65.46 ± 1.97	2.22 ± 0.07	93.89 ± 0.48
	空白对照	98.26 ± 0.43	1 237.8 ± 19.1	69.06 ± 2.52	2.25 ± 0.01	94.17 ± 0.84
皓月	200	98.08 ± 0.44	1 078.0 ± 1.7	71.17 ± 3.56	2.28 ± 0.02	92.78 ± 2.10
	600	98.18 ± 0.34	1 096.2 ± 22.8	69.88 ± 3.26	2.26 ± 0.06	94.44 ± 1.73
	1000	97.81 ± 0.47	1 091.6 ± 3.2	69.12 ± 4.68	2.28 ± 0.02	93.61 ± 1.27
	空白对照	98.36 ± 0.03	1 085.3 ± 27.1	72.62 ± 2.52	2.30 ± 0.05	94.72 ± 0.48

表5是自4龄起蚕添食3种浓度盐酸左氧氟沙星药液后的卵质成绩。经 t 检验统计分析表明,添食盐酸左氧氟沙星药液的各剂量组与空白对照组之间的发蛾率、良卵数、不良卵率及即时浸酸种的二日孵化率等无明显差异[$P_{(双尾概率)} > 0.05$],且

不存在明显的剂量-反应关系,各处理区的即时浸酸种催青收蚁饲养1个龄期,其发育过程相似。表明盐酸左氧氟沙星对试验组家蚕所产卵的卵质未产生明显不良影响。

表5 家蚕添食盐酸左氧氟沙星药液后的卵种质成绩

家蚕品种	药物质量浓度 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	发蛾率/%	单蛾良卵数/粒	不良卵率/%	二日孵化率/%
菁松	200	98.40 ± 0.70	457 ± 7.55	3.30 ± 0.66	94.88 ± 0.85
	600	98.93 ± 0.15	490 ± 52.85	2.23 ± 0.99	95.49 ± 0.57
	1000	98.03 ± 0.72	463 ± 15.04	2.90 ± 0.56	95.92 ± 0.33
	空白对照	98.30 ± 0.78	467 ± 26.35	3.30 ± 0.78	95.05 ± 0.94

续表

家蚕品种	药物质量浓度 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	发蛾率/%	单蛾良卵数/粒	不良卵率/%	二日孵化率/%
皓月	200	95.83 ± 0.90	367 ± 14.74	4.57 ± 0.85	95.58 ± 0.26
	600	95.37 ± 2.70	365 ± 29.55	4.40 ± 2.21	95.20 ± 1.70
	1000	94.37 ± 2.38	335 ± 13.20	4.93 ± 0.40	95.38 ± 0.25
	空白对照	95.70 ± 0.44	344 ± 16.26	4.73 ± 0.61	95.36 ± 0.70

3 讨论

本研究以第4代喹诺酮类抗菌素盐酸左氧氟沙星为主要原料, 研制出一种新的蚕用抗菌药物——盐酸左氧氟沙星溶液, 并且已完成了临床试验研究。第4代喹诺酮类抗菌素在保持第3代喹诺酮抗菌谱广、抗菌活性高、组织渗透性好等特点的基础上, 抗菌谱进一步扩大到衣原体、支原体及细胞内致病菌, 对革兰阳性菌和厌氧菌的活性明显高于第3代喹诺酮抗菌素如诺氟沙星和环丙沙星等, 同时药物的药代动力学及安全性也有了很大改善。盐酸左氧氟沙星通过抑制细菌DNA旋转酶的活性, 阻碍细菌DNA复制而导致细菌死亡, 具有药效稳定、抗菌作用强、抗菌谱广的特点, 对引起家蚕细菌性败血病的多种病原细菌具有抗菌作用^[3-6]。

临床药效和安全性试验结果表明, 100 mg/L 盐酸左氧氟沙星药液对黑胸败血病菌(Bs)、卒倒芽孢杆菌(Bt)感染引起的家蚕细菌性败血病的防治效果显著, 与500 mg/L 盐酸诺氟沙星药液比较无明显差异($P > 0.05$), 但盐酸左氧氟沙星的用药剂量明显低于盐酸诺氟沙星; 200 mg/L 盐酸左氧氟沙星药液对沙雷铁氏菌(Sm)感染引起的家蚕细菌性败血病的防治效果显著, 用药剂量较低, 防治效果均明显优于500 mg/L 盐酸诺氟沙星药液($P < 0.05$)。自4龄起蚕开始, 分别用200、600、1000 mg/L 的盐酸左氧氟沙星药液添食, 对家蚕的生长发育、茧质、丝质和卵质均未产生明显不良影响 [$P_{(双尾概率)} > 0.05$], 且不存在明显的剂量-反应关系。初步认为盐酸左氧氟沙星用于防治家蚕细菌性病害, 具有广谱高效和安全的特点, 可以在养蚕生产中做进一步应用试验。

在蚕业生产上引起家蚕细菌性败血病的病原细菌种类繁多, 如黑胸败血病菌、沙雷铁氏菌、青头败血病菌及粪链球菌, 卒倒菌产生的结晶性毒素被蚕食下会引起蚕中毒而发生卒倒病, 但卒倒菌的菌体或芽孢通过创伤感染引发的家蚕败血病在生产中也较常见。在常用的防治家蚕细菌性败血病的蚕药中, 大多数对芽孢杆菌类引起的败血病防

治效果好, 而对沙雷铁氏菌引起的败血病有实际使用价值的药物较少^[7]。家蚕作为特种经济饲养动物, 同时作为保健食品、医用药材等用途的开发也越来越受到重视, 目前蚕业生产上用于防治家蚕细菌性败血病的蚕用抗菌药物较少, 并且药物防治效果不全面。本试验研制出的新的蚕用抗菌药物“盐酸左氧氟沙星溶液”用于防治养蚕生产中由黑胸败血病菌和卒倒芽孢杆菌以及沙雷铁氏菌引起的家蚕细菌性败血病均有显著效果, 对提高蚕农收益、稳定蚕业生产具有重要意义^[8], 并且在扩大蚕蛹的多用途开发等家蚕的综合利用方面都有作用^[9-11]。

参考文献:

- [1] 陈启光. 医学统计学[M]. 南京: 东南大学出版社, 2002: 90-97.
- [2] 张力. Excel在畜牧统计t检验中的应用实例[J]. 福建畜牧兽医, 2007, 29(1): 9-10.
- [3] 苏志德, 周海燕. 喹诺酮类药物的研究进展[J]. 实用医技杂志, 2003, 10(3): 208-209.
- [4] 康国平, 赫荣帆, 王玉华, 等. 抗菌药物亚迪蚕安宁在蚕体内的药物代谢动力学特征分析[J]. 蚕业科学, 2011, 37(2): 347-351.
- [5] 高绘菊, 苏振霞, 窦学娥, 等. 盐酸诺氟沙星在健康及细菌感染家蚕中的药代动力学研究[J]. 蚕业科学, 2008, 34(2): 280-283.
- [6] 黄可威, 王玉华. 蚕病防治基础知识及技术问答[M]. 北京: 金盾出版社, 2010: 41-42.
- [7] 王玉华, 赫荣帆, 康国平, 等. 盐酸沙拉沙星胶囊对家蚕细菌性败血病的防治研究[J]. 蚕业科学, 2010, 36(6): 977-983.
- [8] 熊菲. 饲用抗菌药物的使用现状及面临的问题[J]. 中国兽药杂志, 2012, 46(1): 42-43.
- [9] 吴大洋, 李晓琴, 汪涛, 等. 蚕蛹壳聚糖复合水凝胶的抗菌性能及对创伤的愈合作用[J]. 蚕业科学, 2012, 38(1): 135-139.
- [10] 马林林, 杜英武, 强西怀, 等. 蚕蛹油萃取剂的筛选及提取工艺条件优化[J]. 蚕业科学, 2012, 38(6): 1142-1146.
- [11] Pritcharda E M, Szybalab C, Boison D, et al. Silk fibroin encapsulated powder reservoirs for sustained release of adenosine[J]. Journal of Controlled Release, 2010, 144(2): 159-167.

(责任编辑: 侯向辉)