

四环素类抗生素生态毒性研究进展

张 浩¹, 罗 义¹, 周启星^{1,2}

(1. 南开大学环境科学与工程学院, 环境污染过程与基准教育部重点实验室, 天津 300071; 2. 中国科学院沈阳应用生态研究所 中国科学院陆地生态过程重点实验室, 辽宁 沈阳 110016)

摘 要: 四环素类抗生素是使用最广泛、用量最大的抗生素种类之一, 其在环境中的大量残留带来了潜在的环境风险。本文介绍了四环素类抗生素目前在世界范围内的使用情况以及污染水平; 并围绕微生物、植物、动物和土壤生物的生态毒性对四环素类抗生素的生态毒性进行阐述, 总结了四环素类抗生素在群落、个体、细胞和分子水平上的生态毒性。最后, 分析了目前对四环素类抗生素在土壤中的生态毒性研究相对滞后的原因, 对今后的研究重点进行了展望。

关键词: 四环素类抗生素; 生态毒性; 兽药; 药物与个人护理用品污染物 (PPCPs)

中图分类号: X592 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2043(2008)02-0407-07

Research Advancement of Eco-toxicity of Tetracycline Antibiotics

ZHANG Hao¹, LUO Yi¹, ZHOU Qi-xing^{1,2}

(1. Key Laboratory of Pollution Process and Environmental Criteria at Ministry of Education, College of Environmental Science and Engineering, Nankai University, Tianjin 300071, China; 2. Key Laboratory of Terrestrial Ecological Process, Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China)

Abstract: Tetracycline antibiotics are a kind of antibiotics which has been extensively used in most countries. Its residues in environment bring to a potential hazard. In this review, the application situation and pollution level of tetracycline antibiotics all over the world were introduced, the eco-toxicity of tetracycline antibiotics on microorganisms, plants, animals and soil organisms were discussed respectively combined with the latest research findings and the eco-toxicity at community level, individual level, cellular level and molecular level were summarized. Finally, reasons for the lagging behind in the research on eco-toxicity in soil were analyzed and the future developments in the field of eco-toxicity of tetracycline antibiotics were prospected.

Keywords: tetracycline antibiotics; eco-toxicity; veterinary medicine; pharmaceuticals and personal care products (PPCPs)

抗生素是一类生物(主要是真菌、放线菌或细菌等微生物)在其代谢过程中产生的具有杀灭或抑制他种生物(主要是微生物)作用的化学物质。除从微生物培养液提取外,有些抗生素已能通过人工合成或半合成得到。

抗生素能在不同程度上起到抗菌、杀菌和抑菌作用,其作用机理主要包括:通过抑制细菌细胞壁的形成,

使细菌因丧失细胞壁保护而死亡;影响胞浆膜通透性,使细菌屏障和运输物质功能受到障碍;影响蛋白质合成,使细菌生长受到抑制;影响核酸代谢,使细菌生长分裂受到抑制等等。

四环素类是由链霉菌产生的一类广谱抗生素,在化学结构上都属于多环并四苯羧基酰胺母核的衍生物,可分为天然品和四环素类抗生素,一般通过与核蛋白体的 30S 亚单位结合,阻止氨酰基 tRNA 同核蛋白体结合产生药理作用,起到抑菌、杀菌作用。20 世纪 40 年代末、50 年代初,金霉素、土霉素和四环素相继从链霉菌发酵液中分离得到,这 3 种四环素类抗生素都显示了完全的交叉抗性,有着相似的、广泛的抗菌谱,对革兰氏阳性、革兰氏阴性菌、支原体、立克次

收稿日期:2007-05-09

基金项目: 国家自然科学基金(20777041);天津市城市生态环境修复与污染防治重点实验室开放基金(067X7JJ14000);高等学校科技创新工程重大项目培育资金项目(707011)

作者简介: 张 浩(1983—),男,硕士,主要研究方向为污染生态化学与生态毒理学。E-mail: zhanghao@mail.nankai.edu.cn

通讯联系人: 周启星 E-mail: Zhouqx@nankai.edu.cn

体和衣原体之类的微生物都有活性^[1]。1957年,去甲环素被发现,通过对这些抗生素进行降解研究,人们发现它们具有极为相似的化学结构,有4个环线性相连构成主体骨架,从此“四环素”被看成一类新的抗生素^[2]。

目前,四环素类抗生素中最主要种类包括四环素、土霉素、金霉素等,其他半合成制取种类主要包括甲烯土霉素、强力霉素、二甲胺基四环素等。表1列出了几种主要四环素种类的结构与基本特性。

1 抗生素在环境中的污染现状

一般来说,抗生素包括人用和兽用两类。不言而喻,人生病了要服药,特别是近年来随着人们追求健康的意识不断增强,人们对各种疾病的认识也在发生着变化,人们不再象过去生病严重了才去医院看病就医,只要身体稍感不适就去医院看医生,而目前大部分医院对药物的使用仍以抗生素的处方为主,许多根本无须使用抗生素治疗的疾病也在用抗生素,这就造成了医疗系统强加给生病病人抗生素的滥用;另有一些家庭自医的人群,只要是生病就随意到药店擅自购买抗生素服用,虽然我国对药店明文规定抗生素类处方药要有医生处方才能销售,可是各个不同规模的大、中、小药店,均无严格执行此项规定,人们还是可

以随意购买到各种抗生素类药品。因此,这些抗生素类药品已经与人们的日常生活息息相关。

抗生素在畜禽生产中的使用就更加令人担忧,常以高剂量使用治疗各种疾病,以低剂量使用促进畜禽生长和增产,因此其在畜禽生产中的使用量非常大。包括美国在内的一些国家,四环素类抗生素被大量用作生长促进剂投喂给动物。据调查,美国每年生产16 000 t的抗生素,其中70%用作畜禽的生长促进剂^[3];在丹麦1997年消耗抗生素总量为150 t,其中100多t用于畜禽的生长促进剂^[4]。目前,由于畜禽养殖业的需要,全球范围内几乎所有地区都采用抗生素来实现追求产量、提高经济效益的目的,因此兽药抗生素的使用量远远超过人用抗生素,对该问题更应引起重视。研究表明,无论人用或是兽用抗生素进入动物或人体内后,大约70%不能被吸收,而是被以母体化合物的形式直接被排出体外,随动物粪便进入到城市的污水处理系统,而各种污水处理过程对污水中的这些物质不起作用或作用很少,最终被排放到环境中,对环境污染构成潜在威胁。

含有抗生素的畜禽粪便的土地利用是土壤中抗生素类污染物的主要来源。据报道,在畜禽生产中使用的抗生素有30%~90%以母体化合物形式随畜禽粪便排出^[5-7],某些抗生素能以母体化合物形式排出高达

表 1 主要四环素类抗生素的结构、理化性质
Table 1 Structure and physical-chemical characters of main tetracycline antibiotics

名称	金霉素	土霉素	四环素
结构			
形态	黄色结晶粉末	灰黄色结晶状粉末	黄色结晶粉末
熔点/℃	172~174	184~185	170~173
溶解性	微溶于水,其盐酸盐在水中溶解度为13.0 mg·mL ⁻¹ ,微溶于乙醇、甲醇,不溶于乙醚、氯仿	难溶于水,盐酸盐在水中溶解度为500 mg·mL ⁻¹ ,微溶于乙醇	微溶于水,盐酸盐在水中的溶解度为160 mg·mL ⁻¹ 。易溶于稀酸、碱溶液
半衰期/h	679.4, 18, 14	96.25, 72, 60	888.5, 167, 82.5
其他性质	在干燥状态下稳定性好	在空气中稳定。其饱和水溶液 pH6.6	有引湿性,在空气中较稳定

注:溶解度在(28±4)℃测定,半衰期分别在 pH 值 5.5,7,8.5 下测定。

95%^[5,8]。而且抗生素在畜禽生产中的使用量大,相应的畜禽粪便中残留的抗生素量较大,造成了畜禽粪便土地利用后大量的抗生素进入土壤环境。

四环素类抗生素在药品市场中占有重要地位,目前是世界上应用最为广泛的抗生素之一。在肯尼亚每年有 14.6 t 的抗生素用于畜禽生产,其中四环素类抗生素就占 56%^[3];四环素类抗生素也是我国使用最多的药物添加剂^[9],2003 年我国仅土霉素产量就达到了 10 000 t,占世界土霉素生产总量的 65%。如此大量的使用造成四环素类抗生素在环境中的残留,由于四环素类药物一般作为口服用药使用,具有吸收慢的特点,因此在农场以及养鱼场等集约式农业生产中的动物废物即包含活性结构的抗生素成分^[10]。

虽然在进入人或动物体内后,由于氧化、还原、水解以及共轭接合作用,这些药物形态的改变使其理化性质和生态毒性发生变化^[11],但研究显示,随动物体排出以后,代谢物质可能会恢复为其母体化合物^[12]。

在密集型养鱼场,最终有 70%~80% 药物流入环境之中^[13]。在密集型畜牧养殖场这种现象同样严重。有报道显示:土霉素在绵羊粪便中残留 21%,金霉素在小公牛粪便中残留 17%~75%^[14]。Liguoro 等^[15]以 60 mg·kg⁻¹·d⁻¹ 土霉素的量对 50 头农场喂养的西门塔尔牛进行 5 d 口服实验,此后对其粪肥中土霉素含量进行测定。结果表明,土霉素在粪肥中的半衰期为 30 d,在粪肥熟化 5 个月以后仍然检测到土霉素的残留,含量达到 820 μg·kg⁻¹。

在德国农业土壤和草原土壤的 0~10 cm 土壤表层中分别检测到含有 4 mg·kg⁻¹ 和 0.86 mg·kg⁻¹ 的四环素^[16]。而在荷兰,有研究推测,如果将荷兰在饲料中添加的所有促生长剂分散在 200 万 hm² 的耕地上,那么每平方米的耕地上可能发现 130 mg 抗生素及其代谢物,与之对应的是每千克干土为 0.9 mg。实际上,四环素类抗生素的分布不可能如此均一,因此可以预测,部分地区的局部浓度要高于平均值。即由于抗生素环境浓度预测模型的不成熟,以及抗生素环境分布的变异性,局部地区的浓度真实值可能远大于预测平均值^[17]。

种种迹象表明,无论是医用或兽用抗生素的消耗量在我国可能比世界各国更为严重,随之而导致环境中的抗生素污染问题也显而易见,这类污染物的潜在生态健康风险不容忽视。近年来在我国,四环素类药物的环境残留问题已有研究。研究显示,用动物排泄物施肥的土壤的 0~40 cm 的表层,检测到了土霉素

和金霉素的残留,其浓度分别高达 32.3 mg·kg⁻¹ 和 26.4 mg·kg⁻¹^[18]。

由此可见,四环素类抗生素的污染作为一个全球性普遍存在的问题,这类物质一般均具备高生物活性和持久性,这就决定了其必然具有一定的潜在生态环境风险。尤其是随着集约化现代畜禽养殖业的迅速发展,抗生素类药物构成对环境以及对生态系统和人体健康的威胁日益暴露。虽然,人们对药物及个人防护品污染物(PPCPs)等新型污染物造成的生态环境问题给予了越来越多的关注,而作为 PPCPs 这一大类污染物中的四环素类药物的环境污染方面的研究还相对较少^[3,19-21],尤其是其污染机理及生态毒性的研究还处于研究的起始阶段。因此,对四环素类药物的生态毒理研究非常必要。

2 四环素类药物生态毒理研究及其进展

2.1 对微生物的生态毒性

由于四环素类抗生素主要用来抑制菌类物质的生长发育,因此近年来研究者们对于四环素对细菌、真菌和微藻等的生态毒性做了广泛研究。一般情况下,四环素对原核生物(如蓝藻)的毒性高于单细胞真核生物(如微藻类),单细胞生物对抗生素的敏感度则高于多细胞生物,这也与设计生产四环素类药物的初衷一致。例如,通过对费氏弧菌的长达 24 h 毒性研究表明,四环素的 EC₅₀ 值为 0.025 1 mg·kg⁻¹^[22]。Ferreira 等^[23]同时研究了四环素对扁藻的和卤虫的生长抑制情况,结果表明,扁藻对四环素的敏感度大约为卤虫的 70 倍,这一规律也被许多类似实验所验证^[24-27]。

四环素类药物对微藻的毒性主要体现在抑制微藻蛋白质合成和叶绿体的生成最终造成对微藻生长的抑制。Ferreira 等^[23]依据 OECD 201 准则《藻类生长抑制测试》(OECD, 1984)研究了四环素对扁藻的生长抑制情况。通过 96 h 暴露,在四环素浓度大于 5.3 mg·L⁻¹ 溶液中扁藻的生长抑制显著,NOEC 值为 3.6 mg·L⁻¹,LOEC 值为 5.3 mg·L⁻¹,72 h 及 96 h IC₅₀ 值分别为 13.16 (95%置信区间为:10.24~18.89 mg·L⁻¹)和 11.18 mg·L⁻¹(95%置信区间:8.39~15.84 mg·L⁻¹)。

此外,四环素类药物能够抑制铜绿微囊藻和绿藻的蛋白质合成^[24,25]。强力霉素对绿藻的毒性为 IC₅₀ = 15.2 mg·L⁻¹^[28],土霉素能抑制等鞭金藻叶绿素含量的生成,并且药量越大抑制作用越强;对类胡萝卜素的生成起促进作用,药量越大则类胡萝卜素含量越多。叶绿素含量减少,则藻细胞的光合作用强度下降,

即新陈代谢强度减弱,细胞的繁殖能力下降^[29]。

2.2 对植物的生态毒性

目前四环素类抗生素对植物的生态毒性的研究主要集中在对实验室模拟条件下水生植物和陆生植物的水培养条件下的毒性研究。多项研究表明,四环素类抗生素可能通过抑制叶绿体合酶的活性,从而对植物生长产生抑制作用,影响植物发芽率和根的生长,这与四环素对微藻的毒性研究结果相似。四环素类药物对植物根的毒性较大,高浓度时显著抑制初生根的生长,这可能与四环素在植物根部的蓄积量有关,在根部蓄积量最多,因此表现出对根生长的抑制作用最为显著。Migliore 等^[30]的研究证实了该机制,研究发现植物的根是抗生素药物的主要积累场所。当土霉素浓度升高时,紫花苜蓿的叶子出现变黄现象,四环素类抗生素对紫花苜蓿的毒性可能是由于四环素与叶绿体合酶结构相似,因此四环素抑制了叶绿体翻译活性及叶绿体合酶的活性^[31,32]。Kong 等^[33]通过一系列溶液培养实验对于紫花苜蓿对土霉素的摄取情况及土霉素对紫花苜蓿发芽及根的生长影响进行了研究。研究表明,当浓度高于 $0.02 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,土霉素对紫花苜蓿的生长有显著的抑制作用。根的生长较发芽对土霉素更为敏感,土霉素对紫花苜蓿发芽及根生长的抑制率分别达 61% 和 85%。

2.3 对动物的生态毒性

四环素类药物对水生动物的生态毒性报道相对较多。四环素类抗生素能够抑制水生动物多种酶的活性,如乙氧基试卤灵-O-去乙基酶、 β -半乳糖苷酶等,并可能造成鱼类较严重的 DNA 损伤。Wollenberger 等^[27]根据水蚤急性毒性试验的标准协议(ISO, 1989b)测定了包括四环素类抗生素在内的 9 种抗生素对水蚤的急性毒性,并根据 48 h 急性毒性试验 EC_{50} 值进行排序。同时,根据水蚤繁殖测试标准过程(OECD, 1996)利用半静态检验估计其对水蚤生殖能力的毒性效应。结果表明,土霉素的 48 h EC_{50} 超过 $1\,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,而四环素的 NOEC 值为 $340 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,在每个浓度均观察到对水蚤生殖能力的影响,其影响较急性毒性水平低一个数量级。Ferreira 等^[23]以硝化纤维过滤的大西洋海水中的卤虫为研究对象,通过 24 h 和 48 h 的卤虫死亡数计算死亡率,利用概率值分析法计算半致死浓度,结果显示,四环素 24 h 和 48 h IC_{50} 分别为 $870.47 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (95%置信区间为: $778.83 \sim 983.66 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 $805.99 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (95%置信区间为: $650.71 \sim 1\,129 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),其 NOEC 和 LOEC 值分别为 $637 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 828

$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

然而上述研究大部分只是针对急性毒性实验的直接结果,可能不能全面的反映四环素类抗生素的毒性。例如,Lunden 等^[34]将用于预防虹鳟疾病的一种二价苗同土霉素一起使用,通过 ELISA 反应检测鱼体内抗体水平;通过化学发光分析测定吞噬细胞活性作为非特异性免疫反应的指针。结果表明土霉素能够明显抑制抗体水平,同时使吞噬细胞活性轻微降低,使淋巴细胞的数量下降,但是鱼体的存活率没有明显影响。曲薏薏等^[35]研究了土霉素对斑马鱼的急性毒性和对鲫鱼肾细胞 DNA 损伤。急性毒性试验表明,土霉素的斑马鱼 96 h LC_{50} 为 $1\,341.764 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。彗星试验结果表明,土霉素能引起较大的 DNA 损伤,与阴性对照相比均有极显著性差异。土霉素在所设的浓度范围,能诱导鲫鱼肾细胞严重的 DNA 损伤,这表明土霉素可能有较强的基因毒性。李兆利等^[36]以鲤鱼为实验对象,得到了土霉素诱导鲤鱼肾细胞 DNA 损伤的相同结果,并发现土霉素对鲤鱼胚胎有致畸效应。这种对生物的免疫毒性和基因毒性可能对生物的影响更加深远。

关于四环素类药物对水生动物的生态毒性的研究进展还体现在研究方法的更新上。近年来,出于对实验成本和伦理压力等方面的考虑,研究者探索了一些替代性研究方法以避免直接使用过多的较大型的脊椎动物(如鱼类等)活体进行急性毒性试验,Sanderson 等^[37]利用定量结构关系以及对比最低预测浓度和最高检测浓度的关系来获得污染物的生态毒性数据,得到一系列抗生素的风险系数(检测浓度和预测毒性的比值)。例如,四环素的风险系数为 6.88×10^{-6} ,土霉素的风险系数为 2.13×10^{-5} 。

体外试验是另一种替代方法^[38]。研究人员发现将酶活性作为毒性端点是一种有效的方法。在体外试验中,将特定的或非特定的酶(如乙氧基试卤灵-O-去乙基酶或 β -半乳糖苷酶等)的活性作为亚致死毒性实验中的指标能够快捷地提供生态毒性估计值^[39,40]。例如,Babin 等^[41]在研究土霉素和四环素对鱼的毒性时,采用 RTG-2 和 RTL-W1 两中鱼细胞系进行试管内毒性测试代替了直接的毒性试验。该试验设置了包括 EROD 活性、 β -半乳糖苷酶活性、中性红法测定的细胞生存能力以及 FRAME KB 蛋白测试法测定的细胞分离度的 4 个毒性端点,在一系列浓度梯度的土霉素和四环素溶液中按上述毒性端点顺序进行测定。实验中观察到四环素和土霉素对酶活性产生抑制,其中,

EROD在四环素中的 EC_{50} 为 $167.63 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, β -半乳糖苷酶在四环素中的 EC_{50} 达到 $84.59 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 土霉素毒性略低于四环素。

在对于四环素类抗生素对陆生较大型动物的毒性研究中发现, 四环素能引起小鼠体重下降、血液生化指标和肝脏镜下病理改变^[42]。高利宏等^[43]利用毒理基因芯片技术研究四环素肝脏毒性效应的分子机制, 构建的小鼠毒理基因芯片和四环素致 BALB/c 小鼠肝毒性动物模型, 观察不同剂量和时相点小鼠肝脏基因表达谱变化, 结果发现四环素能引起小鼠肝细胞基因表达的改变, 涉及包括能量代谢抑制, 蛋白质合成和降解增加, 抗氧化体系受损, 信号转导基因表达改变促进凋亡发生, 以及药物代谢相关酶系基因抑制等多个分子机制。

2.4 对土壤生物的生态毒性

四环素类抗生素以原药和代谢产物的形式经动物的粪尿排出, 通过一定的途径进入土壤, 对土壤生物产生潜在生态毒性, 其对土壤生物的毒性效应受其他较多因素的影响。四环素等对植物生长发育的影响取决于抗生素的类型、剂量、药物与土壤的吸附能力及其在土壤中的稳定性。对微生物的毒性大小除上述因素外, 土壤是否施肥也有较大影响, 具体机理还有待深入研究。

四环素类抗生素的含量增大会导致微生物多样性的下降, 但对不同种类微生物产生的影响大小有差异, 即四环素对微生物产生选择性压力。一般来说, 影响顺序为: 细菌>放线菌>真菌。土壤微生物是土壤生态系统的重要组成部分, 四环素的选择性压力可能造成其生态平衡的失调最终影响土壤的质量与肥力。Thiele-Bruhn^[44]等研究了土霉素对两种不同的土壤表层中的微生物的毒性影响, 利用蒸熏法提取的微生物量和麦角固醇量分别作为土壤中细菌和真菌量的指标, 测定了基础呼吸作用(BR)、脱氢酶活性(DHA)、基质诱导呼吸作用(SIR), 三价铁离子减少量。结果表明, 即使土霉素含量高达 $1\,000 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 时基础呼吸作用和脱氢酶活性也未受到影响。另外, 土霉素对微生物的影响与接触时间有关, 短时间的测定可能会得到不准确的结果。土霉素对微生物的 ED_{10} 与土壤对土霉素的吸附作用相关, 其范围为 $0.003 \sim 7.35 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。土霉素显著降低了土壤中微生物的数量, 导致土壤中真菌/细菌比值升高。即使在实际环境浓度条件下, 土霉素也能对土壤中微生物产生选择性压力。在实验方法上, Thiele-Bruhn^[45]又改进了前人方法, 利用 9 种包

括四环素、金霉素、土霉素在内的抗生素在 6 种土壤表层中对微生物的三价铁还原作用研究抗生素对微生物的抑制作用, 得到的剂量-效应曲线对于预测抗生素对土壤微生物的抑制能起到很好的效果, 值得借鉴参考。

Boleas 等^[46]在土霉素浓度分别为 0.01 、 1 和 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 就添加粪肥与不添加粪肥两种条件下研究了多物种-土壤体系中土霉素对土壤生物的影响。在各实验条件下, 7 h 和 21 h 时土霉素均未造成赤子爱胜蚓的死亡, 虽然零星观察到小麦、油菜或豌豆种子发芽率下降现象, 但并未观察到显著的剂量-效应关系。在土霉素含量分别为 100 和 $1\,000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 土壤微生物呼吸率(按每 100 mg 干土壤每小时生成的二氧化碳量计算)抑制分别为 $16\% \sim 25\%$ 和 $28\% \sim 38\%$, 可以观察到土霉素对土壤微生物酶活性的显著影响(主要为磷酸酯酶和脱氢酶), 但是早期观察到的对微生物的影响会随着系统中粪肥的添加而逐渐恢复, 而在添加粪肥系统中可观察到土霉素对植物的生长抑制, 在不添加粪肥的系统中却观察不到。这一结果说明了在多物种-土壤体系中粪肥能够极大的改变土霉素的生态毒性效应。

土霉素对土壤中较大型动物蚯蚓、跳虫和线虫的毒性试验结果表明, 土霉素对土壤动物的毒性很低, 产生显著毒性的最小浓度为 $3\,000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, EC_{10} 为 $134 \sim 5\,000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, EC_{50} 大于 $5\,000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[47]。

3 结论与展望

四环素类抗生素是抗生素中使用最广泛的种类之一, 作为近年来日益受到关注的潜在环境生态危险源, 其生态毒性的研究日益增多, 如何评价及预测四环素类抗生素的环境风险得到越来越多的关注。虽然从目前的研究数据来看, 实验中得到的毒性效应常常是在大大高于实际环境浓度的情况下得到的, 而实际环境条件下四环素的生态毒性较小, 但是应该考虑到, 其大量的进入环境且难生物降解, 而且其对生物的潜在影响尤其是对微生物群落的影响常常是难以通过短期的实验观察到的, 该影响具长期性甚至生物群落整个生长期的终生性。

虽然四环素在环境中的归趋以及生物有效性极大地影响其生态毒性, 但是, 由于目前人们对其毒性的认识相对于其被广泛使用程度仍然非常有限, 因此, 通过经典的毒性实验获得大量的生态毒性数据在现阶段仍然十分必要。与此同时, 一些替代性实验方

法的探索也取得了很好的效果,尤其是大型脊椎动物的毒性测定方法的改进,采用离体的细胞和组织培养既降低了科研成本和试验周期,同时也缓解了由于对大量脊椎动物染毒带来的生态伦理压力,这将积极促进毒理研究的深入开展。

目前,四环素类抗生素在水体中的生态毒性研究方法体系已经日趋成熟,在实验方法、毒性指标的选取等方面已有较完善的标准,研究报道也较多。相比之下,四环素类抗生素在土壤中的生态毒性研究报道较少,且报道中所有实验方法差异很大,很难归纳比较,规律性不强。周启星等^[48]在分析土壤生态毒理学相对滞后的原因时认为,土壤组分的复杂性和土壤环境的多样性以及生态条件或因子的多变性使土壤生态毒理学缺少规律可循,结果往往随时间变异很大;研究成本往往较高,限制了对进入土壤的有毒物质生态毒理过程及其分子机理的深入研究;土壤生态系统所包含的物种繁多,不同陆生物种之间对环境毒物的响应差异显著是主要原因。作为一类典型的土壤有机污染物,四环素类抗生素土壤生态毒性研究中遇到的困难和相对滞后的原因基本与之符合。

目前对四环素类抗生素生态毒性的研究的不足在于,进行的研究主要集中在对个体水平和细胞水平,从分子水平进行研究的较少。另外,由于重金属、营养盐等环境因素都可能影响四环素类抗生素的生态毒性,有研究表明培养液的差异可能导致测定结果的较大差异,二价和三价的金属离子可能与抗生素发生螯合作用从而使测得的 IC_{50} 值偏高^[23],而这些因素在研究中还较少被考虑在内。尤其是四环素类与其他环境污染物之间的联合毒性效应研究尚很少见,这也是今后研究四环素类抗生素的生态毒性需要关注的一个重点研究领域。

参考文献:

- [1] Robert K, Bloackwood, Gales Ferry, et al. 4-Hydroxy-4-dedimethylamino-tetra-cyclines. US. Patent 4066694.1978.
- [2] Dax S L. Antibacterial chemotherapeutic Agents. Chapman&Hall, London. 1997.
- [3] Sarmah A K, Meyer M T, Boxall A B. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment [J]. *Chemosphere*, 2006, 65: 725-759.
- [4] Jensen L B, Baloda S, Boye M, et al. Antimicrobial resistance among *Pseudomonas* spp. and the *Bacillus cereus* group isolated from Danish agricultural soil [J]. *Environment International*, 2001, 26: 581-587.
- [5] Elmund G K, Morrison S M, Grant D W, et al. Role of excreted chlortetracycline in modifying the decomposition process in feedlot waste[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1971, 6 (2): 129-135.
- [6] Feinman S E, Matheson J C. Draft environmental impact statement: Sub-therapeutic antibacterial agents in animal feeds [M]. Washington, DC: Food and Drug Administration, 1978. 372.
- [7] Alcock R E, Sweetman A, Jones K C. Assessment of organic contaminant fate in waste water treatment plants. I: Selected compounds and physicochemical properties [J]. *Chemosphere*, 1999, 38(10): 2247-2262.
- [8] Beconi-Barker M G, Hornish R E, Vidmar T J, et al. Ceftiofur hydrochloride: plasma and tissue distribution in swine following intramuscular administration at various doses [J]. *Journal of Veterinary Pharmacology & Therapeutics*, 1996, 19(3): 192-199.
- [9] 安清聪, 张 曦, 陈克麟. 动物组织中四环素类抗生素残留的 ELISA 检测研究—土霉素抗体的制备[J]. *畜牧与兽医*, 2004, 36(9): 8-10.
- [10] Migliore L, Brambilla G, Casoria P, et al. Effects of sulphadimethoxine on barley in Laboratory terrestrial models [J]. *Agricultural Ecosystems and Environment*, 1996, 60: 121-128.
- [11] Gibson G, Skett P. Introduction to drug metabolism. Chapman& Hall, London. 1986.
- [12] Berger K, Petersen B, Buening-Pfaue H. Persistence of drugs occurring in liquid manure in the food chain (in German) [J]. *Archiv fuer Lebensmittelhygiene*, 1986, 37 (4): 99-102.
- [13] Hektoen H, Berge J A, Samuelson O, et al. Resistance of antibacterial agents in marine sediments [J]. *Aquaculture*, 1995, 133: 175-184.
- [14] Montforts M H, Kalf D F, P L van Vlaardingen, et al. The exposure assessment for veterinary medicinal products [J]. *The Science of the Total Environment*, 1999, 225:119-133.
- [15] M De Liguoro, Cibin V, Capolongo F, et al. Use of oxytetracycline and tylosin in intensive calf farming, evaluation of transfer to manure and soil [J]. *Chemosphere*, 2003, 52: 203-212.
- [16] Hamscher G, Sczesny S, Höper H, et al. Determination of persistent Tetracycline residues in soil fertilized with Liquid manure by high-performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Analytical Chemistry*, 2002, 74 (7): 1509-1518.
- [17] Angel J Bague, John Jensen, Paul Henning Krogh. Effects of the antibiotics oxytetracycline and tylosin on soil fauna [J]. *Chemosphere*, 2000, 47: 751-757.
- [18] 何家香. 原料乳中抗生素残留的现状与对策[J]. *当代畜禽养殖业*, 2003, 8: 53-54.
- [19] Batt A L, Bruce I B, Aga D S. Evaluating the vulnerability of surface waters to antibiotic contamination from varying wastewater treatment plant discharges [J]. *Environmental Pollution*, 2006, 142 (2): 295-302.
- [20] 张劲强, 董元华, 安 琼, 等. 兽药抗生素在土壤环境中的行为[J]. *土壤*, 2005, 37 (4): 353-361.
- [21] 王 冉, 刘铁铮, 沈建忠. 抗生素在环境中的转归及其生态毒性[J]. *生态学报*, 2006, 26 (1): 265-270.
- [22] Backhaus T, Grimme L H. The toxicity of antibiotic agents to the luminescent bacterium *Vibrio fischeri* [J]. *Chemosphere*, 1999, 38 (14): 3291-3301.
- [23] Ferreira C S, Nunes B A, Henriques-Almeida J M, et al. Acute toxicity

- of oxytetracycline and florfenicol to the microalgae *Tetraselmis chuii* and to the crustacean *Artemia parthenogenetica* [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2007, doi: 10.1016.
- [24] Lützhøft H -C H. Algal toxicity of antibacterial agents applied in Danish fish farm [J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 1999, 36: 1-6.
- [25] Halling-Sørensen B. Algal toxicity of antibacterial agents used in intensive farming [J]. *Chemosphere*, 2000, 40: 731-739.
- [26] Migliore L, Civitareale C, Brambilla G, et al. Toxicity of several important agricultural antibiotics to *Artemia* [J]. *Water Research*, 1997, 31: 1801-1806.
- [27] Wollenberger L, Halling-Sørensen B, Kusk KO. Acute and chronic toxicity of veterinary antibiotics to *Daphnia magna* [J]. *Chemosphere*, 2000, 40: 723-730.
- [28] Fernández C, Alonso C, Babín MM, et al. Ecotoxicological assessment of doxycycline in aged pig manure using multispecies soil systems [J]. *Science of the Total Environment*, 2004, 323 (1-3): 63-69.
- [29] 赵素芬, 曹日波. 土霉素、氯霉素对湛江等鞭金藻细胞增殖和光合色素含量的影响 [J]. 湛江海洋大学学报, 2004, 24 (3): 19-13.
- [30] Migliore L, Cozzolino S, Fiori M. Phytotoxicity to and uptake of enrofloxacin in crop plants [J]. *Chemosphere*, 2003, 40: 741-750.
- [31] Bradel B G, Preil W, Jeske H. Remission of the free-branching pattern of *Euphorbia pulcherrima* by tetracycline treatment [J]. *Journal of Phytopathology*, 2000, 148: 587-590.
- [32] Kasai K, Kanno T, Endo Y, et al. Guanosine tetra and pentaphosphate synthase activity in chloroplasts of a higher plant: association with 70S ribosomes and inhibition by tetracycline [J]. *Nucleic Acids Research*, 2004, 32: 5732-5741.
- [33] Kong W D, Zhu Y G, Liang Y C, et al. Uptake of oxytetracycline and its phytotoxicity to alfalfa (*Medicago sativa* L.) [J]. *Environmental Pollution*, 2007, 147: 187-193.
- [34] Lunden T, Miettinen S, Lonnstrom G, et al. Influence of oxytetracycline and oxolinic acid on the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 1998, 8: 217-230.
- [35] 曲薏薏, 孙立伟, 陈均金, 等. 兽药添加剂阿散酸和土霉素的毒理学研究 [J]. 农业环境科学学报, 2004, 23 (2): 240-242.
- [36] 李兆利, 陈海刚, 徐 韵, 等. 3 种兽药及饲料添加剂对鱼类的毒理效应 [J]. 生态与农村环境学报, 2006, 22 (1): 84-86.
- [37] Sanderson H, Johnson D J, Wilson C J, et al. Probabilistic hazard assessment of environmentally occurring pharmaceuticals toxicity to fish, daphnids and algae by ECOSAR screening [J]. *Toxicology letters*, 2003, 144 (3): 383-395.
- [38] Hasspieler B M, Haffner G D, Adeli K. In vitro toxicological methods for environmental health testing [J]. *Reviews on environmental health*, 1996, 11 (4): 213-227.
- [39] Araujo C, Marques S, Carrondo M, et al. In vitro response of the brown bullhead catfish (BB) and rainbow trout (RTG-2) cell lines to benzo[a]pyrene [J]. *The Science of the total environment*, 2000, 247 (2-3): 127-135.
- [40] Pablos M V, Boleas S, Tarazona J V. Use of Mfu-galactoside enzymatic activity as ecotoxicological endpoint on rainbow trout red blood cells [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1998, 61 (6): 786-792.
- [41] Babin M, Boleas S, Tarazona J V. In vitro toxicity of antimicrobials on RTG-2 and RTL-W1 fish cell lines [J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2005, 20: 125-134.
- [42] 敖 林, 曹 佳, 黄明辉, 等. 佛波酯对 BALB/c 3T3 细胞转化早期基因表达的影响 [J]. 中华预防医学杂志, 2005, 39 (2): 99-102.
- [43] 高利宏, 敖 林, 胡 冉, 等. 四环素致 BALB/c 小鼠肝脏毒性的基因表达谱研究 [J]. 第三军医大学学报, 2006, 28 (6): 494-498.
- [44] Thiele-Bruhn S, Beckl I C. Effects of sulfonamide and tetracycline antibiotics on soil microbial activity and microbial biomass [J]. *Chemosphere*, 2005, 59: 457-465.
- [45] Thiele-Bruhn S. Microbial inhibition by pharmaceutical antibiotics in different soils-dose-response determined with the Iron(III) reduction test [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2005, 24 (4): 869-876.
- [46] Sara Boleas, Carmen Alonso, Javier Pro, et al. Toxicity of the antimicrobial oxytetracycline to soil organisms in a multi-species-soil system (MS-3) and influence of manure co-addition [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2005, 122: 233-241.
- [47] 马 驿, 陈杖榴. 兽药对生态环境影响的研究进展 [J]. 中国兽医科技, 2005, 35 (9): 746-751.
- [48] 周启星, 王美娥. 土壤生态毒理学研究进展与展望 [J]. 生态毒理学报, 2006, 1 (1): 1-11.