

表 1 大鼠染毒后的肾脏重量、脏器系数 ( $n=8 \bar{x} \pm s$ )

组别	肾脏重量 (g)	肾脏系数 (%)
对照组	8.28 ± 0.34	3.16 ± 0.35
低氟组	11.76 ± 0.45 <sup>▲</sup>	5.06 ± 0.23 <sup>▲</sup>
高氟组	11.87 ± 0.26 <sup>▲</sup>	5.67 ± 0.27 <sup>▲</sup>

注: 与对照组比较, <sup>▲</sup> $P < 0.01$

2.3 不同染氟组大鼠肾脏中 T-AOC、NO含量和 NOS的活力与对照组比较, 低氟组和高氟组大鼠 NO含量、NOS活力和 T-AOC均明显降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。与低氟组比较, 高氟组大鼠肾脏组织中 T-AOC降低 ( $P < 0.05$ ), NO含量增加 ( $P < 0.01$ ), NOS活力没有明显变化 ( $P > 0.05$ )。见表 2

表 2 不同染氟组大鼠肾脏中 T-AOC、NO含量和 NOS活力的情况 ( $n=8 \bar{x} \pm s$ )

组别	NOS(U/mg pP)	NO( $\mu$ mol/g pP)	T-AOC(U/mg pP)
对照组	0.57 ± 0.04	24.26 ± 3.20	2.98 ± 0.28
低氟组	0.43 ± 0.15 <sup>▲</sup>	5.31 ± 1.19 <sup>▲</sup>	2.61 ± 0.04 <sup>▲</sup>
高氟组	0.43 ± 0.04 <sup>▲</sup>	12.01 ± 1.00 <sup>▲#</sup>	2.36 ± 0.06 <sup>▲#</sup>

注: 与对照组相比, <sup>▲</sup> $P < 0.05$  与低氟组相比, <sup>#</sup> $P < 0.05$

### 3 讨论

氟元素的化学性质非常活泼。当机体摄入过量氟后, 可通过对氧的直接攻击干扰氧化代谢过程, 刺激氧自由基的产生;

同时, 它也可以攻击构成抗氧化酶的微量元素, 抑制抗氧化酶的活力, 同样导致氧自由基的增加<sup>[2]</sup>。超氧化物歧化酶(SOD)在参与清除自由基的过程中被过分消耗, 引起膜结构性脂类的多不饱和脂肪酸发生一系列自由基反应, 使膜的脆性增加, 静态  $K^+$ 通透性增加, 从而引起细胞的损伤<sup>[3]</sup>。

近年来的研究表明, 在 NOS的作用下, 以 L-精氨酸为底物生成 NO。NOS可分为结构型(eNOS)和诱导型(iNOS), 后者存在于肝脏、肾脏、胃黏膜以及巨噬细胞中。本研究结果显示, 与对照组相比, 高氟组与低氟组大鼠肾脏组织的匀浆中 NO、NOS均明显降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。表明慢性染氟可能致肾脏 eNOS降低, 削弱 eNOS对肾脏的保护作用, 进而导致肾脏组织的 T-AOC明显低于正常对照组。与低氟组相比, 高氟组大鼠肾脏组织的 T-AOC进一步降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 表明高氟能进一步降低肾脏的抗氧化能力, 其损伤机制还有待进一步研究。

### 参考文献:

- [1] 于燕妮, 王守立, 高勤, 等. SOD诱导剂对慢性氟中毒大鼠骨、肝、肾组织中自由基含量的影响 [J]. 中国公共卫生, 2001, 17(4): 330-331.
- [2] 许晓路, 章子贵, 申秀英, 等. 碘氟联合作用对小鼠肝肾抗氧化能力的影响 [J]. 中国地方病学杂志, 2003, 22(1): 19-21.
- [3] 郭晓英, 陈爱莉, 孙贵范. 氟对大鼠肝脂质氧化应激及超微结构的影响 [J]. 中国医科大学学报, 2005, 34(4): 321-322.

## 阿维菌素原药的蓄积毒性和致突变性研究

Study on cumulative toxicity and mutagenicity of avermectin

左派欣, 杨卫超, 郭金铭, 李兴琴, 陈淑芬, 洪丽华

ZUO Pai-xin, YANG Wei-chao, GUO Jin-ming, LI Xing-qin, CHEN Shu-fen, HONG Li-hua

(河北省疾病预防控制中心, 河北 石家庄 050021)

**摘要:** 研究新型农药阿维菌素原药的蓄积毒性和致突变性。对 KM小鼠进行蓄积毒性试验、睾丸精母细胞染色体畸变试验和骨髓多染红细胞微核试验, 以及鼠伤寒沙门氏菌回复突变 (Ames) 试验。结果表明: 阿维菌素原药的蓄积毒性为轻度蓄积性; 染色体畸变试验和骨髓微核试验阿维菌素组和阴性对照组差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), Ames试验阿维菌素组的回变菌落数均未超过自发回变菌落数的 2 倍, 未呈现致突变性。

**关键词:** 阿维菌素原药; 蓄积毒性; Ames试验; 染色体; 微核

中图分类号: R595.4 R994.6 文献标识码: B

文章编号: 1002-221X(2010)04-0284-03

阿维菌素 (Avermectin) 是由阿佛罗链霉菌经液体发酵产

生的一组新型农药, 被广泛应用于农牧业中, 具有高效、广谱、害虫不容易产生抗药性等特点, 其制剂种类繁多<sup>[1]</sup>。本文就阿维菌素的蓄积毒性和遗传毒性进行研究。

### 1 材料和方法

#### 1.1 动物

实验动物用 KM小鼠, 由河北省实验动物中心提供 (合格证号: 807133)。体重 18~22 g 40只, 雌雄各半, 用于蓄积毒性试验; 体重 25~30 g 雄性小鼠 25只, 用于小鼠睾丸精母细胞染色体畸变试验; 体重 25~30 g 50只, 雌雄各半, 用于小鼠骨髓多染红细胞微核试验; 经生物学鉴定合格的 TA97、TA98、TA100、TA102菌株。

#### 1.2 受试物

阿维菌素原药为白色粉末, 由河北省某化工企业提供, 纯度 97.9%。

#### 1.3 方法

1.3.1 蓄积毒性试验 前期实验得出阿维菌素原药雌雄小鼠的半数致死剂量 ( $LD_{50}$ ) 分别为 40.3 mg/kg 和 36.9 mg/kg 将体重 18~22 g 的 KM小鼠随机分成雌雄 2组, 每组 20只,

收稿日期: 2009-12-24; 修回日期: 2010-02-09

作者简介: 左派欣 (1970-), 女, 副主任医师, 主要从事化学药品毒性鉴定工作。

以 4 d为一周期, 每日一次不间断经口给药。第 1期每只动物给药剂量为 0.1 LD<sub>50</sub>, 以后各期顺次递增 50%, 即第 2期为 0.15 LD<sub>50</sub>, 第 3期为 0.225 LD<sub>50</sub>, 依此类推, 直至雌雄 2组合计死亡一半 (20只), 或继续给药至累计剂量达 5.0 LD<sub>50</sub>以上 (20 d) 为止。给药期间每期 (4 d) 须按实测动物体重, 计算给药绝对量。停止给药后按公式计算蓄积系数  $K = LD_{50}^{(n)} / LD_{50} (1)$ 。

1.3.2 小鼠睾丸精母细胞染色体畸变试验 将体重 25~30 g 的雄性 KM小鼠随机分成 5组, 每组 5只, 设 3个剂量组 20、10、5 mg/kg及阴性对照组和阳性对照组, 阴性对照组用植物油; 各剂量组及阴性对照组小鼠隔夜禁食, 连续经口给药 5 d。阳性对照组用环磷酸胺的生理盐水稀释液 (50 mg/kg), 连续 5 d腹腔注射给药; 各组均于给药后第 13天将动物处死, 动物处死后 6 h腹腔注射秋水仙素 4 mg/kg, 取双侧睾丸常规制片、染色, 油镜下对每只动物观察 100个初级精母细胞。计数各处理组的 X-Y单价体、常染色单价体及染色体结构畸变, 以二项分布检验进行统计学处理, 检验水准为 0.05。检验各组间睾丸精母细胞染色体畸变率的差异。

1.3.3 鼠伤寒沙门氏菌回复突变 (Ames) 试验 采用平板掺入法, 分加入与不加 10% S9混合液 (大鼠肝 S9活化系统) 2种。样品剂量组分别设 0.50、0.20、0.10、0.05 mg/皿 4个剂量组, 并做空白对照和二甲亚砜 (DMSO) 溶剂对照各 1组。阳性对照选 9-苄酮 (0.2 μg/皿)、2-氨基苄 (2-AR) (20.0 μg/皿)、叠氮钠 (NaN<sub>3</sub>, 2.5 μg/皿)、丝裂霉素 C (MMC, 1.0 μg/皿)、1,8-二羟基蒽醌 (50.0 μg/皿)。将受试物 0.1 ml和 0.1 ml菌液 (需要活化时加 10% S9混合液 0.5 ml), 加入 2 ml保温在 45℃的顶层琼脂中, 混匀, 迅速倒入底层培养基上, 37℃培养 48 h。计数每皿回变菌落数。每个剂量 3个平行皿, 重复 1次。

1.3.4 小鼠骨髓多染红细胞微核试验 将体重 25~30 g 的 KM小鼠随机分成 5组, 每组雌雄各 5只, 设 3个剂量组分别为 20、10、5 mg/kg。阴性对照组用植物油, 阳性对照组用环磷酸胺 (50 mg/kg)。小鼠连续经口给药 2次, 环磷酸胺腹腔注射给药, 2次间隔 24 h。给药后 30 h取材。断髓处死动物。

表 2 阿维菌素原药对鼠伤寒沙门氏菌的回变结果 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	TA97		TA98		TA100		TA102	
	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
0.20 mg/皿	118.0 ± 14.8	111.0 ± 12.3	31.0 ± 1.0	30.0 ± 1.7	136.0 ± 10.8	125.0 ± 6.3	277.0 ± 14.3	272.0 ± 23.8
0.10 mg/皿	107.0 ± 11.4	106.0 ± 12.5	32.0 ± 2.3	34.0 ± 1.9	125.0 ± 15.3	131.0 ± 7.7	257.0 ± 17.3	243.0 ± 14.9
0.05 mg/皿	122.0 ± 14.0	127.0 ± 18.0	35.0 ± 3.0	33.0 ± 4.0	134.0 ± 15.0	151.0 ± 18.0	287.0 ± 19.0	290.0 ± 18.0
空白对照组	125.0 ± 17.2	116.0 ± 11.4	33.0 ± 2.8	31.0 ± 0.9	132.0 ± 18.6	128.0 ± 15.4	298.0 ± 14.7	284.0 ± 15.3
DMSO对照组	126.0 ± 16.0	133.0 ± 21.0	35.0 ± 4.0	36.0 ± 2.0	138.0 ± 15.0	145.0 ± 20.0	283.0 ± 20.0	296.0 ± 16.0
阳性对照组	2 014.0 ± 105.0 <sup>a</sup>	1 299.9 ± 99.0 <sup>b</sup>	2 217.0 ± 121.0 <sup>a</sup>	1 278.0 ± 125.0 <sup>b</sup>	2 306.0 ± 244.0 <sup>c</sup>	1 850.0 ± 185.0 <sup>b</sup>	1 171.0 ± 117.0 <sup>d</sup>	1 253.0 ± 105.0 <sup>e</sup>

注: <sup>a</sup>为 9-苄酮 (0.2 μg/皿); <sup>b</sup>为 2-AR (20.0 μg/皿); <sup>c</sup>为 NaN<sub>3</sub> (2.5 μg/皿); <sup>d</sup>为 MMC (1.0 μg/皿); <sup>e</sup>为 1,8-二羟基蒽醌 (50.0 μg/皿)。

2.4 小鼠骨髓多染红细胞微核试验

小鼠骨髓多染红细胞微核率阴性对照组与阳性对照组比较, 差异有统计学意义 (P < 0.01); 阿维菌素原药各剂量组与阴性对照组比较差异有统计学意义 (P > 0.05), 且均明显

用止血钳挤出胸骨髓液, 滴在载玻片一端的胎牛血清液中涂片, 甲醇固定, Giemsa染色。油镜下计数每只动物镜检 1 000个嗜多染红细胞 (PCE) 计算微核率; 以二项分布检验进行统计学处理, 检验水准为 0.05。检验各组间微核率的差异。

2 结果

2.1 蓄积毒性试验

按实验方法雌鼠各期给药剂量为 4.03、6.04、9.07、13.60、20.40 mg/kg; 雄鼠各期给药剂量为 3.69、5.54、8.30、12.45、18.68 mg/kg。每个剂量给药 4 d。20 d结束, 雌雄小鼠均没有出现死亡。在给药后期, 有个别小鼠出现活动、进食减少。计算蓄积系数  $K \geq 5$ 。根据 GB15670-1995《农药登记毒理学实验方法》评定标准, 阿维菌素原药的蓄积毒性为轻度蓄积性。

2.2 小鼠睾丸精母细胞染色体畸变试验

小鼠睾丸 M<sub>I</sub>期精母细胞染色体畸变数阴性对照组与阳性对照组比较, 差异有统计学意义 (P < 0.01); 阿维菌素原药各剂量组与阴性对照组比较差异均无统计学意义 (P > 0.05), 且均低于阳性对照组 (P < 0.05), 各剂量组间无剂量-反应关系。本实验在所选剂量范围内结果为阴性, 见表 1。

组别	动物数 (只)	观察细胞数 (个)	染色体结构畸变数	X-Y单价体畸变数	常染色单价体畸变数
20 mg/kg组	5	500	1	1	2
10 mg/kg组	5	500	2	2	3
5 mg/kg组	5	500	2	3	2
阴性对照组	5	500	3	1	1
阳性对照组	5	500	23	13	10

2.3 Ames试验

4株实验菌 TA97、TA98、TA100、TA102在 0.05~0.50 mg/皿实验剂量下 (活化或非活化) 均没有引起自发回变数 2倍增加, 0.50 mg/皿剂量组有抑菌作用, 其余剂量组间无剂量-反应关系。本实验在所选剂量范围内结果为阴性, 见表 2。

低于阳性对照组 (P < 0.01), 各剂量组间无剂量-反应关系。本实验在所选剂量范围内结果为阴性, 见表 3。

(下转第 311页)

### 3 讨论

#### 3.1 应用德尔菲法的可行性分析

德尔菲法是上世纪 50 年代美国兰德公司与道格拉斯公司合作开发的通过有控制的反馈收集专家意见的方法, 目前广泛应用于科学技术领域, 我国卫生系统也大量采用该方法对卫生事业发展作预测、评估及决策分析等<sup>[3]</sup>。本次研究拟构建建设项目职业病危害预评价中类比调查的框架体系, 德尔菲法可以综合国内专家的理论知识和实践经验, 以专家集体的意见来形成该体系。同时德尔菲法量性研究和质性研究相结合, 使专家的意见能够以概率等较客观的形式表达出来, 这是其他预测方法无法做到的。

回收率是对专家意见汇总统计的基础, 一般认为 50% 的回收率可以用来分析和报告, 60% 的回收率较为理想<sup>[3]</sup>。本次研究两轮的有效回收率分别为 60%、93.3%, 表明本研究的咨询专家组认可本次调查的意义和重要性, 参与研究的积极性较高。

根据相关报道, 协调系数  $W$  越大, 表示协调程度越好, 一般在 0.5 范围波动。本次研究的协调系数在 0.06~0.22 之间, 尚不能认为专家意见达到了协调一致, 但经  $\chi^2$  检验后, 4 类指标均有统计学意义, 表明可信度较高, 结果可取。专家协调程度低可能与专家之间缺乏交流或专家组中存在一些高度协调组, 但高度协调组之间的意见相互对立, 据文献报道,  $W$  值大小对评估或预测结论没有什么影响<sup>[3]</sup>。

#### 3.2 类比评价指标体系的分析

本次研究筛选形成的指标体系从类比项目的选择依据、职业病危害因素检测、现场调查、健康监护、防护措施、管理措施等六个方面较为全面地涵盖了建设项目职业病危害预

评价中类比法评价时所需要收集的参数, 重点突出, 指标可操作性强。

在应用类比法进行预评价的实践过程中, 类比项目的可比性分析、对类比项目现场调查并进行职业病危害因素检测是类比调查的重点, 本次构建的指标权重也发现这 3 类指标的权重较高, 与实际工作中总结的结果相一致<sup>[4-6]</sup>。从单项指标的权重来看, 权重前三位的分别是职业病危害防护设施的运行情况、职业病防护设施的设置场所、类比项目与拟建项目的生产工艺相同或相似。类比法的最终目的就是要预测拟建项目所采取的职业病危害防护措施的防护效果, 从权重的大小也可以看出类比项目的防护设施情况是评价人员关注的重点。

指标体系构建完成后, 将选择不同行业, 采用类比法进行预评价, 并以完成控制效果评价的建设项目对指标体系进行验证和完善, 验证结果另行报道。

#### 参考文献:

- [1] GBZ/T196—2007 建设项目职业病危害预评价技术导则 [S].
- [2] 杨杰, 汪庆庆. 建设项目职业病危害预评价方法应用及研究进展 [J]. 中国卫生工程学, 2009, 18 (6): 369-372
- [3] 曾光. 现代流行病学方法与应用 [M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1994: 250-270
- [4] 李新鸾. 建设项目职业病危害预评价的质量控制 [J]. 职业与健康, 2007, 7 (9): 26-27
- [5] 邹立海. 建设项目职业病危害预评价常见问题分析 [J]. 中国职业医学, 2007, 34 (4): 314-315
- [6] 沈月华, 杜洪凤, 徐涛, 等. 建设项目职业病危害预评价工作存在的问题探讨 [J]. 职业卫生与伤病, 2008, 23 (3): 161-163

(上接第 285 页)

表 3 阿维菌素原药对小鼠骨髓多染红细胞微核试验结果

组别	动物数 (只)	受检 PCE数	含微核 PCE数	微核细胞率 [ $(\bar{x} \pm s, \%)$ ]
20 mg/k组	10	10 000	16	1.60 ± 0.69
10 mg/k组	10	10 000	17	1.70 ± 1.34
5 mg/k组	10	10 000	23	2.30 ± 0.92
阴性对照组 (植物油)	10	10 000	17	1.70 ± 0.95
阳性对照组 (环磷酸胺)	10	10 000	159	15.90 ± 3.57

### 3 讨论

阿维菌素原药的蓄积毒性为轻度蓄积性。阿维菌素是  $\gamma$ -氨基丁酸 (GABA) 的激动剂, 可以导致由 GABA 介导的中枢神经及神经肌肉间传导受阻。最近研究发现, 在小鼠的血脑屏障中有一种  $\beta$  糖蛋白起着运输泵的作用, 它可以阻止阿维菌素在小鼠中枢神经系统中的蓄积<sup>[2]</sup>。由此可以减轻动物的中毒症状, 从而减少死亡, 这可能是导致阿维菌素原药在小鼠体内轻度蓄积的原因之一。

本研究利用 3 项致突变试验从体内、体外 2 个层次探讨阿维菌素是否存在遗传毒性。在实验剂量条件下, 阿维菌素原药的小鼠骨髓多染红细胞微核试验、睾丸精母细胞染色体畸变试验以及 Ames 试验均为阴性结果, 未显示致突变性, 与

文献<sup>[3]</sup>报道一致。阿维菌素原药对小鼠无明显的胚胎毒作用和母体毒性作用<sup>[4]</sup>。大小鼠的 2 年致癌实验结果表明, 该类药物不具潜在致癌性<sup>[2]</sup>。

但是, 阿维菌素类的安全性仍然是被关注的问题。首先, 阿维菌素原药急性经口毒性为高毒, 使用时应控制安全使用量。其次, 阿维菌素存在一定环境毒性。阿维菌素作为农药使用, 可能滞留在环境中; 作为抗寄生虫药物在动物代谢时大部分以原形形式通过胆汁、粪便排泄出体外, 进入环境后能残留较长时间<sup>[5]</sup>。因此, 阿维菌素使用过程中既要注意其急性毒性作用, 也要避免其对环境及下游产物的污染。

#### 参考文献:

- [1] 王玉荣. 国内阿维菌素的生产与消费 [J]. 化工科技市场, 2005, 28 (6): 20-23
- [2] 扈洪波, 朱蓓蓓. 阿维菌素类药物的毒理学研究进展 [J]. 动物科学与动物医学, 2000, 17 (3): 51-52
- [3] 王宇新, 任锐, 李国强, 等. 阿维菌素致突变作用实验研究 [J]. 中国公共卫生, 2006, 22 (8): 997
- [4] 王静, 张静, 姜文玲. 阿维菌素原药对小鼠致畸性的研究 [J]. 癌变·畸变·突变, 2003, 15 (4): 242-243
- [5] 郝勇斐, 汪明, 潘保良. 阿维菌素类环境毒理学研究进展 [J]. 中国兽医杂志, 2008, 44 (11): 56-58