

西地碘粉的急性毒性研究

李桂明^{1,2}, 林树乾¹, 杨世发¹, 傅剑^{1,2}, 赵增成¹, 黄中利¹, 冯敏燕¹, 逯月², 商晶², 李颖², 宋敏训^{1*}

(1. 山东省农业科学院家禽研究所, 山东济南 250023; 2. 山东昊泰科技药业有限公司, 山东济南 250023)

摘要 [目的]研究西地碘粉对小鼠的经口急性毒性。[方法]选用清洁级 ICR 小鼠 60 只, 采用寇氏法进行急性毒性试验, 观察小鼠西地碘粉急性中毒症状, 并测定西地碘粉经口给药对小鼠的 LD₅₀。[结果]小鼠经口给药后的急性中毒症状主要包括: 给药后 15 min, 高剂量组小鼠出现精神沉郁, 被毛粗乱无光, 并逐渐转入抑制, 反应迟钝、不食、麻痹。0.5~1.0 h 后有小鼠出现呼吸困难, 伴随颈项伸直、食欲废绝; 3 h 后开始出现死亡, 小鼠死亡前出现惊厥、抽搐、震颤等神经症状。急性死亡发生于给药后 3~24 h。中毒死亡后剖检发现中毒症状主要表现为对肝脏的损伤, 其次是肺和心脏。根据各剂量组死亡率, 计算出西地碘粉对小鼠的急性经口 LD₅₀ 为 4 972.75 mg/kg, 其 LD₅₀ 95% 可信限为 4 382.77~5 642.16 mg/kg。[结论]西地碘粉对小鼠的经口 LD₅₀ 介于 501~5 000 mg/kg, 属于低毒性药物。

关键词 西地碘粉; 小鼠; LD₅₀

中图分类号 S851.36 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2017)10-0104-02

Study on the Acute Toxicity of Cydiodine Powder

LI Gui-ming^{1,2}, LIN Shu-qian¹, YANG Shi-fa¹, SONG Min-xun^{1*} et al (1. Poultry Institute, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan, Shandong 250023; 2. Shandong HaoTai Technology Pharmaceutical Co., Ltd., Jinan, Shandong 250023)

Abstract [Objective] To study the oral acute toxicity of cydiodine powder on mice. [Method] 60 clean-level ICR mice were selected to make acute toxicity test by using Korbtor method. The acute toxicity symptoms of cydiodine powder on mice were observed, and its LD₅₀ on mice by oral administration was determined. [Result] The acute toxicity symptoms of cydiodine powder on mice were as follows: after drug administration 15 min, mice in high-dose group had depressed spirit, disordered clothing hair, slow response, paralysis and loss of appetite; After drug administration 0.5-1.0 h, mice had difficult breathing, accompanied by straight neck and loss of appetite; After drug administration 3 h, mice began to die and eclampsia, convulsion, tremor and other neural symptoms appeared before the death of mice. And the acute death occurred after drug administration 3-24 h. It was observed through autopsy that the main manifestation of poisoning symptoms was the damage to liver, followed by the damage to lung and heart. According to the death rate in each dose group, the acute oral LD₅₀ of cydiodine powder on mice was 4 972.75 mg/kg, 95% confidence limit of LD₅₀ was 4 382.77-5 642.16 mg/kg. [Conclusion] The oral LD₅₀ of cydiodine powder on mice was between 501-5 000 mg/kg, belonging to low-toxicity drug.

Key words Cydiodine powder; Mice; LD₅₀

在众多的消毒剂中, 碘制剂因其消毒效果好、毒副作用低、刺激性小、无残留^[1-2]以及无生态毒性等优点而被广泛应用。其中, 聚维酮碘和季铵盐碘目前已在临床上广泛应用^[3]。但是, 有机络合碘制品有效碘释放率较低、环境消毒成本高, 制约了其在兽医临床上的推广应用^[4]。西地碘粉是山东省农业科学院与山东昊泰科技药业有限公司于 2010 年研发的具有超分子结构的消毒剂, 具有有效碘含量高、质量稳定等优点。笔者选用 60 只清洁级 ICR 小鼠, 采用寇氏法进行了西地碘粉的急性毒性研究。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 实验动物。清洁级健康 ICR 小鼠 60 只, 体重 18~22 g, 雌雄各半, 由扬州大学比较医学中心提供, 实验动物生产许可证号为 SCXK(苏)2012-0004, 实验动物使用许可证号为 SYXK(苏)2012-0029。小鼠饲喂经⁶⁰Co 照射的饲料, 自由采食和饮水, 饮用水为符合城市饮用水标准的自来水。试验前在实验动物房环境中适应饲养 3 d, 经口给药前停药 12 h, 不限制饮水。

小鼠饲粮的主要营养水平如下: 水分 ≤10%, 粗蛋白 ≥18%, 粗脂肪 ≥4%, 粗纤维 ≥5%, 粗灰分 ≤8%, 钙 1.0%~1.8%, 磷 0.6%~1.2%。

1.1.2 受试药物及溶液配制。受试药物为西地碘粉, 批号为 20150701, 由山东省农业科学院家禽研究所提供。临用前用超纯水配制成所需浓度的溶液。

1.1.3 受试药物的给药方法。给药途径为经口给药, 小鼠给予受试药物用量为 0.02 mL/g。给药前禁饲 12 h, 不限制饮水, 给药后 3 h 饲喂。

1.2 试验方法 采用寇氏(Korbtor)法^[5]进行急性毒性试验。

1.2.1 预试验。每组 4 只小鼠(雌雄各半)进行预试验, 测定 4/4 致死剂量(b)和 0/4 致死剂量(a)。通过预试验测得受试药物对小鼠的 0/4 致死剂量为 3 000 mg/kg, 4/4 致死剂量为 9 000 mg/kg。

1.2.2 正式试验。

1.2.2.1 实验动物的称重、标记、编号和分组。清洁级健康 ICR 小鼠 60 只, 采用完全随机法分为 6 组, 每组 10 只, 雌雄各半, 雄、雌动物分开进行正式试验, 分别对雄、雌小鼠进行编号、标记及称重。

1.2.2.2 受试药物溶液的配制。按“1:K 系列稀释法”等容量配制各剂量组所需的受试药物溶液, 根据设计的试验剂量, 按实验动物给予受试药物的体积要求, 首先确定最大剂量组所需配制的受试药物溶液浓度 C₁(150 mg/mL)以及各

基金项目 农业部公益性行业(农业)科研专项(201303038-10); 济南市明星计划项目(201406024); 山东省农业科学院青年基金项目(2015YQN59); 山东省现代农业产业技术体系项目(SDAIT-13-011-01)。

作者简介 李桂明(1980—), 男, 山东蓬莱人, 助理研究员, 硕士, 从事新兽药研发工作。*通讯作者, 研究员, 博士, 硕士生导师, 从事禽病防治与新兽药研发工作。

收稿日期 2017-01-30

剂量组所需受试药物溶液的体积 m (6 mL)。

受试药物母液应配制的浓度 C 为 150 mg/mL, 配制的体积 M (mL) 按下列公式进行计算:

$$M = \frac{m}{1-K} = 6 / (1 - 1/1.25) = 30.42 \text{ (mL)}$$

式中, K 为各组剂量的比值, $K = 1/r$ 。

根据母液浓度及体积, 计算需称取的受试药物量为 4 562.54 mg。

称取受试药物 562.54 mg, 置于烧杯内, 加入选定的溶剂溶解, 转入容量瓶内, 充分混匀并定容, 即获得浓度 $C = C_1$ 的受试物母液。从受试物母液中取出供最大剂量组给药用的溶液体积 m , 向原溶液中加入同体积的溶剂, 混匀后溶液浓度为 $C_1 \times K$, 正好是次高剂量组所要求的剂量浓度 C_2 ; 从中取出供第 2 组给药用的溶液体积 m , 再加入相同体积的溶剂, 混匀后溶液浓度为 $C_2 \times K$, 正好是第 3 组所要求的剂量浓度 C_3 , 依此类推, 配制出各剂量组所需浓度及体积的受试药物溶液。

1~6 组受试药物的经口给药剂量依次为 3 000.00、3 737.19、4 655.54、5 799.55、7 224.67 和 9 000.00 mg/kg。

1.2.2.3 给药方法。 根据各组小鼠体重, 计算应给予受试药物的体积。按照“1.1.3”方法经口给予受试药物。

1.2.2.4 症状观察。 给药结束后, 每天 2 次观察小鼠的一般状况, 包括体重、精神状态、毛色、自主活动、呼吸、食欲、粪便、口鼻分泌物、中毒症状和死亡情况。对观察期间死亡小鼠进行大体解剖学检查, 并记录全部大体病理变化, 连续观察 14 d。试验结束后将存活小鼠处死, 观察剖检症状。

1.2.3 数据计算。 采用寇氏法按照以下公式计算 LD_{50} 及其 95% 可信限:

$$LD_{50} = \log^{-1} [X_m - i(\sum p - 0.05)]$$

当不含 0% 和 100% 死亡率时, 按照以下公式计算 LD_{50} :

$$LD_{50} = \log^{-1} [X_m - i(\sum p - \frac{3 - P_m - P_n}{4})]$$

$$S_{s50} = i \sqrt{\frac{\sum pq}{n}}$$

$$LD_{50} \text{ 的 } 95\% \text{ 可信限} = \log^{-1} (\log LD_{50} \pm 1.96 \times S_{s50})$$

式中, i 为组距, 即相邻 2 组剂量对数剂量之差; X_m 为最大剂量对数; P 为各剂量组死亡率 (死亡率均用小数表示); P_m 为最高死亡率; q 为各组剂量存活率, $q = 1 - p$; P_n 为最低死亡率; $\sum p$ 为各剂量组死亡率之和; n 为各组动物数; S_{s50} 为 $\log LD_{50}$ 的标准误。

2 结果与分析

2.1 中毒症状 小鼠经口给药后 30 min, 高剂量组小鼠出现精神沉郁, 被毛粗乱无光, 并逐渐转入抑制, 反应迟钝、不食、麻痹, 紫绀。1.5 h 后有小鼠出现呼吸困难伴随脖颈伸直、食欲废绝, 3 h 后开始出现死亡, 小鼠死亡前出现惊厥、抽搐、震颤等神经症状。急性死亡发生于给药后 3~24 h。中毒死亡后进行剖检, 中毒症状主要表现为对肝脏的损伤, 其次是肺和心脏。肝脏的主要变化包括表面有出血点、淤血、水肿和呈黄褐色等, 肺的主要病理变化为表面淤血水肿等,

心脏的主要病变为心肌颜色变淡。

2.2 急性经口 LD_{50} 急性毒性试验是指 1 d 内对动物单次或多次给药, 连续观察给药后动物产生的毒性反应及死亡情况的试验方法。经口 (注射) 一次性或 24 h 内多次给予受试药物后, 在短时间内观察实验动物所产生的毒性反应, 引起半数致死的剂量称为半数致死剂量, 通常用 LD_{50} 表示。通过试验测得受试药物对小鼠的急性经口 LD_{50} 为 4 972.75 mg/kg, 其 LD_{50} 95% 可信限为 4 382.77~5 642.16 mg/kg。由此可见, 受试药物对小鼠的经口 LD_{50} 介于 501~5 000 mg/kg, 属于低毒。

表 1 受试药物经口急性毒性试验中小鼠死亡率统计

Table 1 The death rate statistics of mice in oral acute toxicity test of test drugs

组别 Group	剂量 Dose mg/kg	动物数 Number of animals//只	死亡动物数 Number of dead animals 只	死亡率 Death rate %
1	3 000.00	10	0	0
2	3 737.19	10	3	30
3	4 655.54	10	5	50
4	5 799.55	10	6	60
5	7 224.67	10	8	80
6	9 000.00	10	10	100

表 2 化学物急性毒性 (LD_{50}) 剂量分级^[6-7]

Table 2 The dose classification of acute toxicity (LD_{50}) of chemicals

序号 No.	级别 Grades	大鼠口服 LD_{50} Oral LD_{50} on rats//mg/kg	相当于人的致死量 Equivalent to a lethal dose on human being//g/人
1	极毒	<1	0.05
2	剧毒	1~50	0.50
3	中等毒	51~500	5.00
4	低毒	501~5 000	50.00
5	实际无毒	5 001~15 000	500.00
6	无毒	>15 000	2 500.00

柳占彪等^[8]对碘伏的毒性进行了研究, 结果小鼠的 LD_{50} 大于 5 000 mg/kg, 属于实际无毒。蓄积系数均大于 5, 为弱蓄积作用。慢性毒性试验的最大无作用剂量为 1 000 mg/kg。根据动物的急毒试验和慢性积蓄性毒理试验结果, 可以看出活性碘的安全性以及潜在的开发价值, 尤其在慢性积蓄毒理试验过程中无机碘和活性碘同样未表现出对肝、肾、睾丸等的直接毒性结果^[9]。碘的使用浓度为 50 mg/L, 按畜禽最小体重 (雏鸡) 50 g 计算, 需灌服 5 L 才能达到 LD_{50} ; 按成年人 50 kg 体重计算, 需口服 24.86 kg 才能达到 LD_{50} , 由此可见其在临床用量中安全无毒。

3 结论

小鼠经口给药后的急性中毒症状主要包括: 给药后 15 min, 高剂量组小鼠出现精神沉郁, 被毛粗乱无光, 并逐渐转入抑制, 反应迟钝、不食、麻痹。0.5~1.0 h 后有小鼠出现呼吸困难伴随脖颈伸直、食欲废绝, 3 h 后开始出现死亡, 小鼠

(下转第 112 页)

植物生长,但与菌株 HBU75002 和 HBU03701 相比,产量较低,有些菌株产量甚至低于对照,可能与土壤不均一化以及菌株自身的遗传因素有关。

3.2 接种根瘤菌对不同苜蓿品种生长的影响 苜蓿作为一种荒漠、干旱、贫瘠地的先锋植物,能很好地适应我国西北地区寒冷、干旱和半干旱的恶劣环境。我国西北部地区荒漠化严重,生态环境又极其脆弱。在退耕还林还草工程中,大面积种植豆科灌木和牧草并接种根瘤菌,可以解决大面积人工林、草场“氮缺乏”等问题,改善生态环境,推动该地区畜牧业的发展。该研究表明,接种根瘤菌可以提高植物地上部分干重,与其他学者研究结果一致^[7-8]。

苜蓿品种很多,不同品种适合在不同土壤环境下生长,而在土壤氮素相同的条件下,不同苜蓿品种对相同根瘤菌菌株获得的接种效果差异也较大,对一个品种可以产生优异表现的菌株,对另一品种也许只能起诱导反应作用^[9-17]。马其东等^[18]研究表明,这2种生物之间的交互作用使得根瘤菌与宿主之间需要相匹配,才能使苜蓿获得最佳生长效果。张瑞富等^[19]在内蒙古地区比较了多个紫花苜蓿品种,阿尔冈金在株高和产量等方面都优于其他品种。海涛等^[20]、曹宏等^[21]在哈尔滨进行苜蓿品种比较试验,阿尔冈金产量高于敖汉苜蓿。该研究中,阿尔冈金品种在根瘤结瘤率、地上部分干重方面明显优于敖汉苜蓿。研究表明,不同苜蓿品种适合在特定的土壤环境下生长;同一根瘤菌菌株对不同苜蓿品种产生的接种效果不同^[18]。而该研究由于试验样地小区土壤的不均一化,可能导致2种苜蓿结瘤率的差异不显著。

该研究表明,根瘤菌菌株对苜蓿品种具有一定的匹配性,菌株 HBU03701 较适合于阿尔冈金苜蓿,而菌株 HBU75002 对于2种苜蓿品种的贡献较为均等。该研究前期通过对这2株根瘤菌菌株在山西补播紫花苜蓿的分子标记研究,发现其竞争结瘤能力较强^[22]。该研究进一步说明了其具有较强的结瘤竞争能力。

参考文献

[1] 林国林,马晓明,迟玉成,等. 接种根瘤菌对花生生长及其根际土壤微

生物数量的影响[J]. 山东农业科学,2010(6):63-65.

- [2] 刘杰,王赞文,李颖,等. 利用土壤筛选紫花苜蓿高效共生根瘤菌的初步研究[J]. 草业科学,2005,22(2):21-25.
- [3] 曾昭海,隋新华,胡跃高,等. 紫花苜蓿-根瘤菌高效共生体筛选及田间作用效果[J]. 草业学报,2004,13(5):95-100.
- [4] 陈丹明,曾昭海,隋新华,等. 紫花苜蓿高效共生根瘤菌的筛选[J]. 草业科学,2002,19(6):27-31.
- [5] 丁勇,牛建明,杨持. 北方草地退化沙化趋势、成因与可持续发展研究:以内蒙古多伦县为例[J]. 内蒙古大学学报(自然科学版),2006,37(5):580-586.
- [6] 陈文新,汪恩涛,陈文峰. 根瘤菌-豆科植物共生多样性与地理环境的关系[J]. 中国农业科学,2004,37(1):81-86.
- [7] 宁国赞,刘惠琴,马晓彤. 豆科根瘤菌及其应用技术[M]. 郑州:中原农民出版社,1998.
- [8] 喻文虎,杨鹏翼,贾德荣. 红豆草、紫花苜蓿根瘤菌接种研究[J]. 草业科学,1995,12(3):22-25.
- [9] PERRET X, STAEHELIN C, BROUGHTON W J. Molecular basis of symbiotic promiscuity[J]. Microbiol Mol Biol Rev,2000,64(1):180-201.
- [10] 刘晓云,郭振国,李乔仙,等. 南苜蓿高效共生根瘤菌土壤的筛选[J]. 生态学报,2011,31(14):4034-4041.
- [11] 李友国,周俊初. 影响根瘤菌共生固氮效率的主要因素及遗传改造[J]. 微生物学通报,2002,29(6):86-89.
- [12] BECKER M, DIEKMANN K H, LADHA J K, et al. Effect of NPK on growth and nitrogen fixation of *Sesbania rostrata* as a green manure for lowland rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Plant and soil,1991,132(1):149-158.
- [13] 王立刚,刘克礼,高聚林,等. 大豆对磷素吸收规律的研究[J]. 大豆科学,2007,26(1):30-35.
- [14] 于景丽,张小平,李登煜,等. celB 基因标记法研究酸性土花生接种及施钼效果[J]. 植物营养与肥料学报,2006,12(2):250-253.
- [15] 刘莉,周俊初,陈华癸. 不同化合态氮浓度对大豆根瘤菌结瘤和固氮作用的影响[J]. 中国农业科学,1998,31(4):87-89.
- [16] 左元梅,刘永秀,张福锁. NO⁻³ 态氮对花生结瘤与固氮作用的影响[J]. 生态学报,2003,23(4):758-764.
- [17] 程凤娟,曹桂芹,王秀荣,等. 华南酸性低磷土壤中大豆根瘤菌高效体系的发现及应用[J]. 科学通报,2008,53(23):2903-2910.
- [18] 马其东,刘自学,洪绶曾,等. 不同根系发育能力的苜蓿品种接种根瘤菌的效果[J]. 草业科学,1999,8(4):36-45.
- [19] 张瑞富,杨恒山,包宝君,等. 8个紫花苜蓿品种多年草产量比较[J]. 作物杂志,2010(3):78-81.
- [20] 海涛,于辉. 不同紫花苜蓿品种产量及品质的比较[J]. 黑龙江畜牧兽医,2009(5):65-66.
- [21] 曹宏,章会玲,盖琮辉,等. 22个紫花苜蓿品种的引种试验和生产性能综合评价[J]. 草业学报,2011,20(6):219-229.
- [22] 肖猛,刘晓云,刘桂霞,等. BOX-PCR 分子标记对补播紫花苜蓿共生根瘤菌田间竞争结瘤能力的研究[J]. 华北农学报,2011,26(1):187-190.

(上接第105页)

死亡前出现惊厥、抽搐、震颤等神经症状。急性死亡发生于给药后3~24h。中毒死亡后剖检发现,中毒症状主要表现为对肝脏的损伤,其次是肺和心脏。根据各剂量组死亡率,计算出西地碘粉对小鼠的急性经口 LD₅₀ 为4 972.75 mg/kg,其 LD₅₀ 95%可信限为4 382.77~5 642.16 mg/kg。

参考文献

- [1] 田美湛,安志民,季明,等. 兽医消毒和兽用消毒剂在养殖业中应用[J]. 畜牧兽医科技信息,2013(12):9.
- [2] 周德刚. 兽用消毒剂研究进展[J]. 兽医导刊,2014(5):42-44.
- [3] PRESTERL E, SUCHOMEL M, EDER M, et al. Effects of alcohols, povidone-iodine and hydrogen peroxide on biofilms of *Staphylococcus epidermi-*

dis [J]. J of Antimicrob Chemother,2007,60(2):417-420.

- [4] MAENTHAISONG R, CHAIYAKUNAPRUK N, THAMLIKITKUL V. Cost-effectiveness analysis of chlorhexidine gluconate compared with povidone-iodine solution for catheter-site care in Siriraj Hospital, Thailand [J]. J of the Med Assoc of Thai,2006,89(S5):94-101.
- [5] 中华人民共和国卫生部. 急性毒性试验:GB 15193.3—2003[S]. 北京:中国标准出版社,2004.
- [6] 沈建忠. 动物毒理学[M]. 2版. 北京:中国农业出版社,2011.
- [7] 中华人民共和国农业部. 兽药急性毒性试验(LD50测定)指导原则[S]. 北京:中华人民共和国农业部,2009.
- [8] 柳占彪,胡巧玲. 碘伏毒理研究综述[J]. 中国兽药杂志,2007,41(7):45-48.
- [9] 顾军,孙萍,庄桂东. 海带生物有机碘的慢性积蓄性毒理评价研究[J]. 食品研究与开发,2003,24(4):48-49.