

Diclazuril 对鼠的急性和亚急性毒性研究

孙永学 黄显会 陈杖榴 谢俊基 廖金湾

(华南农业大学动物医学系, 广州 510642)

摘要 对昆明种小白鼠口服 Diclazuril 进行了急性毒性试验, 测得小白鼠口服 Diclazuril 的 LD_{50} 大于 10 000 mg/kg。对 SD 系大白鼠进行 Diclazuril 的亚急性毒性试验, 根据体重分别用 10、50、150 mg/(kg·d) 的剂量添加于饲料中通过 60 d 混饲方式给药, 分别于 30 和 60 d 抽检动物。检查内容为: 一般情况观察和饲料利用率, 器官系数和器官含水量, 血液学指标, 血液生化指标, 尿液指标和病理解剖观察及组织学检查。试验结果表明 Diclazuril 对鼠的毒性很低, 在 60 d 的试验期内不随剂量的增大和使用时间的延长出现毒性加大的变化。急性毒性与亚急性毒性试验的结果相一致。

关键词 Diclazuril; 小白鼠; 大白鼠; 急性毒性; 亚急性毒性

中图分类号 S 859.8

鸡、鸭、兔球虫病是一种普遍多发、危害十分严重的原虫病, 目前, 该病主要依靠药物防治, 但如果较长时间使用同一种药物, 球虫容易产生耐药性而变成耐药虫株。因此, 必须不断寻找新的抗球虫药以适应生产的需要。

Diclazuril (商品名为杀球灵、球必清) 是近年来研制的一种新型广谱高效抗球虫药物, 属于苯乙腈类化合物。有试验表明, Diclazuril 对鸡的多种主要球虫 (柔嫩、堆型和巨型艾美耳球虫等) 感染有效 (林辉环等, 1993; Vanparijs, 1990), 同时对鸭球虫病 (蒋金书等, 1990) 和兔肠、肝球虫病 (Vanparijs, 1989) 也有明显的防治效果。临床使用时每吨饲料添加 1 g Diclazuril, 在生产中有广阔的应用前景。本研究对实验动物进行 Diclazuril 的急性和亚急性毒性试验, 以了解其毒性, 为临床应用提供可靠的理论依据。

1 材料与方法

1.1 动物

小白鼠, 昆明种, 体重 18~22 g; 大白鼠, SD 系, 体重为 70~90 g, 均由第一军医大学实验动物中心提供, 饲养观察一周后供试验用。

1.2 药品和试剂

Diclazuril, 华南农业大学实验兽药厂提供, 批号为 960318, 含量为 99.37%。硝酸、对二甲氨基苯甲醛、盐酸、硫酸铜、碳酸钠、柠檬酸钠等均为国产分析纯试剂。

1.3 仪器

显微镜, F-800 半自动血液学分析仪 (日本产); UV-VIS2 型半自动血液生化分析仪 (法国产) 等。

1.4 急性毒性试验方法

小白鼠 60 只, 随机分成 6 组, 每组 10 只, 雌雄各半。Diclazuril 用花生油制成油乳剂, 按

不同剂量(3 000、3 817.5、4 857.8、6 181.5、7 865.8、10 000 mg/kg)一次灌胃内服,连续观察 7 d。

1.5 亚急性毒性试验方法

1.5.1 分组 将大白鼠 80 只,随机分为 4 组,每组 20 只,雌雄各半并分笼饲养。第 1 组为空白对照组,第 2、3、4 组分别为低、中、高剂量的试验组。

1.5.2 给药 将 Diclazuril 按每公斤体重 10、50、150 mg 3 种剂量根据摄食量(约体重的 10%量)折算成饲料中药物的含量分别为 100、500、1 500 mg/kg,均匀混于饲料中制成鼠料,供自由采食,对照组喂不含药物的基础饲料。试验动物均以自来水作饮水。

1.5.3 检查 连续饲喂后,分别于第 30 d、第 60 d 每组随机抽检扑杀 7 只大白鼠(雌雄各为 4 只或 3 只),即每次检查 28 只大白鼠。

1.5.4 检查内容 一般情况观察:每天观察各组大白鼠的一般健康状况、采食、饮水以及是否有异常。试验期间,每 10 d 称体重和饲料各一次,计算平均增重和平均摄食量,求出每组每 10 d 的饲料利用率(日增重/日饲料消耗量 $\times$ 100%)。

器官系数和器官含水量:分别取出肝、肾、肺和脾,求器官系数(器官重量与体重之比);然后置于 110 $^{\circ}$ C 烘箱中烘干至恒重,器官湿重减去干重为器官含水量。

血液学指标测定:分别采血液,利用半自动血液学分析仪测定红细胞数(RBC)、白细胞数(WBC)、血红蛋白含量(HGB)、中性粒细胞数(W-SCC)和淋巴细胞数(W-LCC)等指标。

血液生化指标的测定:采血制备血清,利用半自动血液生化分析仪测定谷丙转氨酶(GPT)、谷草转氨酶(GOT)、碱性磷酸酶(ALP)、尿素氮(BUN)、肌酐(Creat)、血总蛋白(Prot)、白蛋白(Albu)和葡萄糖(Gluc)等指标。

尿液指标的测定:采集各组雌、雄大白鼠尿液各一份,测定 pH 值、尿蛋白质(硝酸试法)、尿胆素原(艾氏试剂检验)和尿葡萄糖(斑氏试剂检验)等指标。

病理组织学检查:于给药后第 50 d 每组各任取 1 只大鼠扑杀、解剖,先肉眼观察有无病理变化,再取肝、肾、脾、脑作组织切片,观察其显微组织学变化。

1.5.5 数据处理 用 t 检验比较试验 30、60 d 时试验组与对照组间各指标的差异。

2 结果

2.1 急性毒性试验

小白鼠内服 Diclazuril 后,在 7 d 的观察期间内,饮水和采食均正常。在口服剂量达 10 000 mg/kg 时,仍不出现中毒症状和死亡。

2.2 亚急性毒性试验

2.2.1 一般情况和饲料利用率 各组大白鼠临床观察健康,采食、饮水正常,无死亡现象。试验组与对照组间饲料利用率差异较小,第 1~4 组的饲料利用率分别为 1~10 d:0.262、0.297、0.297、0.288;11~20 d:0.206、0.163、0.188、0.190;21~30 d:0.134、0.102、0.106、0.125;31~40 d:0.162、0.159、0.190、0.144;41~50 d:0.168、0.173、0.177、0.180;51~60 d:0.108、0.112、0.131、0.104。

2.2.2 器官系数和器官含水量 试验组与对照组间大白鼠的肝、肾、肺和脾的器官系数和器官含水量在 30、60 d 时均无显著差异,但脾的器官系数和器官含水量在试验组呈下降变化。

2.2.3 血液学检验 大白鼠的血液学指标的结果见表 1。试验 30 d 时,中剂量和高剂量组

的红细胞数(RBC)比对照组极显著升高($P<0.01$); 血红蛋白(HGB)试验组比对照组高, 中剂量组呈显著升高($P<0.05$), 高剂量组呈极显著升高($P<0.01$); 中性粒细胞数(W—SCC)仅见中剂量组有显著升高($P<0.05$)。试验 60 d 时, 各项目在对照组和试验组间均无显著差异。

2.2.4 血液生化指标的检验 大白鼠的血液生化指标值见表 2。试验 30 d 时, 尿素氮在试验组比对照组显著升高($P<0.05$), 血葡萄糖仅见高剂量组呈显著增高($P<0.05$)。试验 60 d 时, 试验组和对照组间血液生化各指标均无显著变化。

表 1 大白鼠饲喂 Diclazuril 30、60 d 时血液学指标¹⁾($\bar{x}\pm SD, n=7$)

指 标	试验期 / d	组 别			
		对照组	低剂量	中剂量	高剂量
WBC/ $\times 10^9$ 个 $\cdot L^{-1}$	30	19.06 $\pm$ 7.57	21.16 $\pm$ 9.30	21.56 $\pm$ 3.43	15.96 $\pm$ 4.50
	60	17.78 $\pm$ 3.38	16.91 $\pm$ 3.88	16.55 $\pm$ 5.10	21.72 $\pm$ 5.22
RBC/ $\times 10^{12}$ 个 $\cdot L^{-1}$	30	5.60 $\pm$ 1.21	6.47 $\pm$ 1.32	7.42 $\pm$ 0.71 ^{**}	7.68 $\pm$ 0.76 ^{**}
	60	8.54 $\pm$ 2.31	8.02 $\pm$ 0.57	7.29 $\pm$ 1.14	7.24 $\pm$ 1.41
HGB/ $g\cdot L^{-1}$	30	107.57 $\pm$ 16.64	121.29 $\pm$ 17.92	128.57 $\pm$ 9.95 [*]	135.86 $\pm$ 14.45 ^{**}
	60	168.71 $\pm$ 26.34	173.71 $\pm$ 10.27	150.28 $\pm$ 19.11	165.83 $\pm$ 18.33
W—SCC/ $\times 10^9$ 个 $\cdot L^{-1}$	30	11.42 $\pm$ 3.30	13.39 $\pm$ 5.21	15.36 $\pm$ 1.66 [*]	11.14 $\pm$ 3.22
	60	11.25 $\pm$ 2.02	10.30 $\pm$ 3.21	11.92 $\pm$ 4.37	15.00 $\pm$ 5.98
W—LCC/ $\times 10^9$ 个 $\cdot L^{-1}$	30	5.65 $\pm$ 3.10	7.77 $\pm$ 4.39	6.20 $\pm$ 2.26	4.81 $\pm$ 1.36
	60	6.53 $\pm$ 3.26	6.61 $\pm$ 2.37	4.63 $\pm$ 1.13	6.72 $\pm$ 2.20

1) * 对照组与试验组比较差异显著($P<0.05$); ** 对照组与试验组比较差异极显著($P<0.01$)

表 2 大白鼠饲喂 Diclazuril 30、60 d 时血液生化指标值¹⁾($\bar{x}\pm SD, n=7$)

指标	试验期 / d	组 别			
		对照组	低剂量	中剂量	高剂量
GOT/ $U\cdot L^{-1}$	30	125.57 $\pm$ 59.10	142.00 $\pm$ 47.08	117.14 $\pm$ 44.02	158.00 $\pm$ 58.56
	60	158.40 $\pm$ 76.35	171.75 $\pm$ 48.20	150.00 $\pm$ 48.08	173.50 $\pm$ 58.69
GPT/ $U\cdot L^{-1}$	30	24.71 $\pm$ 17.90	30.57 $\pm$ 20.31	22.43 $\pm$ 18.55	28.14 $\pm$ 19.02
	60	42.33 $\pm$ 33.52	36.33 $\pm$ 17.13	40.80 $\pm$ 20.07	35.40 $\pm$ 13.79
ALP/ $U\cdot L^{-1}$	30	235.86 $\pm$ 106.27	213.14 $\pm$ 39.14	198.57 $\pm$ 52.91	187.57 $\pm$ 34.93
	60	196.57 $\pm$ 55.43	195.14 $\pm$ 83.11	195.33 $\pm$ 60.63	168.00 $\pm$ 23.63
BUN/ $mmol\cdot L^{-1}$	30	3.77 $\pm$ 0.79	4.64 $\pm$ 0.49 [*]	4.74 $\pm$ 0.70 [*]	4.56 $\pm$ 0.40 [*]
	60	4.92 $\pm$ 0.65	5.12 $\pm$ 1.09	5.55 $\pm$ 0.81	5.72 $\pm$ 0.97
Creat/ $\mu mol\cdot L^{-1}$	30	132.60 $\pm$ 49.23	109.86 $\pm$ 93.72	97.43 $\pm$ 70.75	101.14 $\pm$ 70.81
	60	148.43 $\pm$ 68.15	144.17 $\pm$ 70.64	152.00 $\pm$ 63.51	140.86 $\pm$ 59.54
Gluc/ $mmol\cdot L^{-1}$	30	4.028 $\pm$ 0.72	3.84 $\pm$ 0.96	3.41 $\pm$ 0.52	5.38 $\pm$ 1.09 [*]
	60	5.926 $\pm$ 0.68	5.17 $\pm$ 0.72	5.61 $\pm$ 1.04	5.91 $\pm$ 0.75
Prot/ $g\cdot L^{-1}$	30	84.16 $\pm$ 6.35	76.90 $\pm$ 4.12	86.46 $\pm$ 4.25	80.80 $\pm$ 13.94
	60	90.86 $\pm$ 7.72	92.68 $\pm$ 6.36	87.47 $\pm$ 6.83	96.17 $\pm$ 4.96
Albu/ $g\cdot L^{-1}$	30	43.44 $\pm$ 4.59	40.98 $\pm$ 2.22	43.29 $\pm$ 1.69	40.25 $\pm$ 6.39
	60	47.38 $\pm$ 2.07	46.97 $\pm$ 1.89	45.08 $\pm$ 2.17	47.03 $\pm$ 1.84

1) * 对照组与试验组比较差异显著($P<0.05$)

2.2.5 尿液检验 pH 值在各组间的差异较小, 仅见中剂量组 30 d 时的雄鼠和低剂量组 60 d 时的雌鼠的 pH 值偏低。试验 30、60 d 时, 试验组和对照组大白鼠的尿蛋白质多数表现阳性; 尿胆素原在各组均表现阴性; 尿葡萄糖仅在中剂量组的雄鼠呈阳性, 其它均为阴性。

2.2.6 病理检查 肉眼观察, 各组大白鼠各脏器均无异常变化。试验 50 d 时, 试验组(低、中、高剂量组)的部分肝细胞呈轻度颗粒变性, 淤血; 肾脏有轻度出血和肾细管变性; 脾脏淤血和/或部分脾小体轻度萎缩; 脑除高剂量组的个别神经细胞轻度变性外, 中和低剂量组的脑组织无明显异常变化。对照组的肝、肾、脾和脑均无异常变化。

3 讨论

3.1 小白鼠在 Diclazuril 口服剂量达 10 000 mg/kg 时, 仍不出现中毒死亡。按毒理学评价标准, 可不测定半数致死量(LD₅₀), 即小白鼠经口 LD₅₀> 10 000 mg/kg。根据外来化学物急性毒性分级, Diclazuril 属于微毒物质。

3.2 亚急性毒性试验中, 试验组与对照组在不同时间间隔(每 10 d)的饲料利用率变化较大, 这可能是由于大白鼠自身的不同生长阶段的生长特点决定的。器官系数和器官含水量增高表明器官充血或水肿, 数据降低表明器官出现萎缩变化, 试验 30、60 d 时, 脾的器官系数和器官含水量呈下降变化, 说明出现轻度萎缩变化, 这与脾的病理组织学变化相一致。试验 30 d 时, 中、高剂量的红细胞数和血红蛋白含量呈显著或极显著升高, Diclazuril 可能对大白鼠的红细胞和血红蛋白有一定的促进作用。血液生化指标中尿素氮在试验组显著升高, 表明大白鼠的肾排泄功能受到一定的损害; 试验 60 d 时, 试验组与对照组的各指标间差异均不显著。本试验表明 Diclazuril 仅在试验前期对大白鼠有一定的影响, 不会随给药时间的延长出现毒性加剧的变化。

3.3 本研究中, 急性毒性和亚急性毒性试验结果相一致, 均表明 Diclazuril 的毒性很小。

致谢 本试验病理切片制作和观察得到孔小明教授帮助, 谨表谢意。

参 考 文 献

- 林辉环, 史美清, 翁亚彪. 1993. 杀球灵抗鸡球虫的药效研究. 华南农业大学学报, 14(3): 55~59
- 蒋金书, 殷佩云, 林昆华等. 1990. 杀球灵、麦杜拉霉素、拉沙洛菌素和那拉菌素对北京鸭球虫病的防治试验. 中国兽医杂志, 16(7): 10~11
- Vanparijs O. 1989. Efficacy of Diclazuril in the control of intestinal coccidiosis in rabbits. Veterinary Parasitology, 34(3): 185~190
- Vanparijs O. 1990. Diclazuril, a new broad-spectrum anticoccidial for chickens. 3. floor-pen trials. Poultry Science, 69(1): 30~40

(下转第 98 页)

Guangzhou market were analysed for hygienic quality by histopathology, histochemistry and ultrastructural routine. Besides bacterial contamination and parasite ovas in liver tissues, twenty-five kinds of lesions were discovered in sixty-eight percent (136/200) of pig livers and seventy-seven percent (77/100) of cattle livers. Besides atrophy and various degeneration of liver cells, edema, cyst, hemorrhage, necrosis and calcification in liver tissues, malignant tumor and pathologic nuclear mitosis in precancer or cancer liver cells were also seen. The research we have done showed that several to more than ten kinds of lesions often occurred in one specimen. The frequency of cirrhosis in these pig and cattle livers was very high. The various lesions described above could influence the nutritional value, hygienic quality, storage and public hygiene of food animal livers.

Key words food animal liver; lesion; histopathology; histochemistry; ultrastructure

(上接第 92 页)

STUDIES ON ACUTE AND SUBACUTE TOXICITIES OF DICLAZURIL IN MICE AND RATS

Sun Yongxue Huang Xianhui Chen Zhangliu Xie Junji Liao Jinwan
(Dept. of Veterinary Medicine, South China Agric. Univ., Guangzhou, 510642)

Abstract

The acute toxicity of Diclazuril by oral administration was studied in Kunming mice. The oral LD₅₀ was over 10 000 mg/kg. Subacute toxicity test in SD rats was carried out by giving medicated feed with three different doses of 10, 50, 100 mg/(kg·d). The rats were killed and examined at 30th and 60th days after drug administration. The examinations included: general clinical observation, feed efficiency, coefficient and moisture content of organs, blood index, blood biochemical index, urine index, necropsy finding and histopathology. At 30th days animals in test groups manifested changes in some blood index (RBC、HGB) and blood biochemical index (BUN、Gluc). There were no significant changes between control and test groups at 60th days. The studies suggested that the toxicity of Diclazuril was low and showed no relationship between severity of the biochemical changes and duration of administration.

Key words Diclazuril; mice; rats; acute toxicity; subacute toxicity