

## 油桐尺蠖核型多角体 病毒杀虫剂的安全检测

曾云添 汤显春

(中国科学院武汉病毒研究所, 武汉)

甘普祥 沈瑞菊

(湖北省武汉市卫生防疫站, 武汉)

### 提 要

本文报道了油桐尺蠖核型多角体病毒杀虫剂不同剂型和标准样品的细菌学检测, 没有分离、培养到志贺氏菌、沙门氏菌、耶尔森氏菌、炭疽菌、弧菌、大肠杆菌、化脓性球菌等致病细菌。并用不同剂型口服和注射感染小白鼠, 观察了其体表症状及内脏病理变化, 结果表明: 该杀虫剂不引起致突变作用, 对人畜是安全的。

为了安全生产和使用油桐尺蠖核型多角体病毒 (*Buzura suppressaria Nuclear Polyhedrosis Virus, BsNPV*) 杀虫剂, 早在1980年祝庆荃等就对提纯的油桐尺蠖多角体进行了较为全面的试验<sup>[1-3]</sup>, 结果证明: BsNPV是安全的。但在生产中是否污染了对人畜有害的致病菌和毒物, 因此还要对该病毒杀虫剂产品进行安全检测, 参照美国森林局关于病毒杀虫剂的检测标准和美国已注册商标的黄杉毒蛾, 舞毒蛾检测草案<sup>[4]</sup>对我们研制的油桐尺蠖核型多角体病毒杀虫剂进行微生物检测, 并将该产品对小白鼠进行毒性试验, 现将结果报告如下。

### 材料与方法

**(一) 材料** 1.由中国科学院武汉病毒研究所昆虫病毒室提供油桐尺蠖核型多角体病毒杀虫剂: BsNPV-82-HL, BsNPV-82-HP, BsNPV-85-HL和BsNPV\*-标准样品。

2.由武汉市卫生防疫站动物室提供小白鼠, 每克重20—25克。

**(二) 检测项目与方法** 微生物检验按卫生防疫细菌检验方法<sup>[5]</sup>。

1.杂菌总数: 取病毒制剂样品1毫升(克)接种于无菌培养皿中, 另取制剂1毫升

本稿1986年12月5日收到

作 $10^{-1}$ — $10^{-9}$ 稀释，分别取稀释液1毫升注入无菌平皿中，加溶化并冷至45℃的营养琼脂，摇匀，待冷却后放温箱培养24小时，取出作菌落计数。

2.大肠菌群：接种量为1毫升。用无菌吸管吸取制剂1毫升，0.1，0.01，0.001毫升分别接种到4支单倍乳糖发酵管中，经37℃培养18—24小时，若有产酸产气管则接伊红美蓝平板，选取可凝菌株作重复发酵试验，乳糖管不产酸不产气者即为大肠菌群阴性。

3.致病菌检验：取病毒制剂5毫升(克)加无菌水495毫升及化学沉淀剂，充分摇匀，静置1小时，将上清液倒入另一无菌瓶备用，取沉淀直接作下列菌的分离。并按常规法作进一步鉴定。

(1) 志贺氏菌 (*Shigella*)

A. 直接分离：取沉淀0.1毫升直接用平板分离。

B. 增菌培养：1) 取病毒制剂0.5毫升接种10毫升单倍GN增菌液。2) 取病毒稀释液100毫升接100毫升双倍GN增菌液：上述两种培养基置37℃，6—8小时培养后于SS和HE平板分离。

(2) 沙门氏菌 (*Salmonella*)

A. 取病毒制剂0.5毫升接种单倍SFM增菌液中，经37℃，18—24小时培养后SS和HE平板分离。

B. 再取上述制剂稀释液100毫升，倾入双倍SFM增菌液，置37℃，18—24小时培养增菌后，再经SS WS及麦康凯平板分离。

(3) 耶尔森氏菌 (*Yersinia*)：取沉淀0.5毫升直接用麦康凯平板分离，置25℃培养48小时。

(4) 穿通弯曲菌：取沉淀0.1毫升直接用布氏平板分离，经42℃培养48小时。

(5) 弧菌 (*Vibrio*)：A. 取病毒制剂0.5毫升接种10毫升单倍碱胨水；B. 取稀释液100毫升接种二倍碱胨水。上述两种培养液经37℃，12小时增菌后转接大平板分离。

(6) 化脓性球菌：A. 取沉淀0.1毫升直接用血平板分离；B. 另取沉淀1毫升接种10毫升却浦曼增菌液，37℃，22±2小时增菌后转接却浦曼平板。

(7) 炭疽杆菌 (*Bacillus anthracis*)：取沉淀10毫升直接用血平板分离。

(8) 厌氧菌：取沉淀1毫升接种庖肉培养基增菌48小时转血平板厌氧培养。

4. 对小白鼠的安全试验

(1) 处理：分四组，每组8只(其中雌雄各两只)。

A. 口服组：取1:100倍的制剂稀释液0.8毫升均匀拌入饵料饲料上，分别让8只小白鼠自然吃食，吃完后再加新饲料，其接种剂量为 $5 \times 10^8$ PIB/公斤体重/日(相当大田使用浓度的250倍)连续喂养24天，接种总剂量为 $120 \times 10^8$ PIB/公斤体重(相当大田使用浓度的6000倍)。

B. 腹腔注射组：将病毒制剂(BsNPV-85-HL)作1:5010倍稀释，每只小白鼠腹腔注射0.3毫升，注射三次(每隔5天注射一次)，每次接种剂量为 $3 \times 10^7$ PIB/公斤体重，总剂量为 $9 \times 10^7$ PIB/公斤体重(相当大田使用浓度的90倍)。

C. 腹腔注射对照组：注射等量无菌生理盐水0.3毫升/次。

D. 口服对照组：正常饲养。

(2) 检测内容：实验开始和结束时分组称小白鼠体重，试验期观察体表病症，有无呼吸困难，抽搐，竖毛，瘫痪，皮肤过敏，脱毛，死亡等现象，食欲是否正常。解剖各组小白鼠观察其内脏（心，肝，肺，肾，肠等）是否有病理变化。

(3) 试验时间24天。

## 结 果

1. 杂菌、大肠菌群及其他致病菌检测结果见表1。

表 1 各种 BsNPV 剂型的微生物检测  
Tab.1 Determination of microbe for various BsNPV preparations

检 测 样 品	细 菌 数 量	致病菌检测结果						
		大 肠 杆 菌	沙 门 氏 菌	志 贺 氏 菌	弧 菌	耶 尔 森 球 菌	化 痰 球 菌	炭 疽 菌
BsNPV-82-HL 乳剂	$24 \times 10^{10}$ /毫升	—	—	—	—	—	—	检出 G+ 鞭毛厌
BsNPV-82-HP 粉剂	$42 \times 10^{10}$ /克	—	—	—	—	—	—	氧菌经动物试验
BsNPV-标准样品	$16 \times 10^{10}$ /毫升	—	—	—	—	—	—	无致病力。
BsNPV-85-HL 乳剂	$4 \times 10^6$ /毫升	—	—	—	—	—	—	—
TM-Bio-control-1	$10^7-10^9$ /毫升	—	—	—	—	—	—	—

结果表明：我们研制的乳剂BsNPV-82-HL，粉剂BsNPV-82-HP，BsNPV- 标准样品和BsNPV-85-HL 乳剂均没有检查出对人畜有毒的致病菌，与美国棉铃虫病毒杀虫剂TM-Bio-control-1检测结果一致。

2. 病毒制剂对小白鼠的安全试验结果：将病毒制剂BsNPV-85-HL乳剂对小白鼠进行口服和注射感染，观察24天，结果如下：

表 2 BsNPV-85-HL 乳剂接种小白鼠后的体重增长情况  
Tab.2 Increase of body weight after inoculations with BsNPV-85-HL to mice

接种途径	接种剂量 PIB/公斤体重	小白鼠		试验 天数	体重增长情况		
		性别	数量 (只)		试验前 克/只	试验后 克/只	平均体重 克/只
口服	$5 \times 10^8$ PIB/公斤/日	雌	4	24	23.2	25.8	
	总量 $120 \times 10^8$ /公斤	雄	4		22.37	29.3	4.73
腹腔 注射	$3 \times 10^7$ PIB/公斤/日	雌	4	24	21.20	25.37	
	总量 $9 \times 10^7$ /公斤	雄	4		24.37	29.37	4.33
注射 对照	注射等量生理盐水	雌	4	24	22	26.5	
		雄	4		20.7		4.5
口服 对照	正常饲养	雌	4	24	21.7	25.6	
		雄	4		22.6	28.8	4.6

表2结果表明：各试验组在开始和结束试验时分别称其体重，试验后体重明显增加，

表3 BsNPV-85-HL 乳剂对小白鼠的毒性试验  
Tab.3 Test of toxicity on mice with BsNPV

接种途径	接种剂量 PIB/公斤体重	小白鼠 性 别		试 验 天 数	外 表 症 状	解剖后 内脏观察
		数 量 (只)	只			
口服	5×10 <sup>8</sup> PIB/公斤/日 总剂量=120×10 <sup>8</sup> /公斤	雌 雄	4 4	24	无异常 无异常	无异常
腹腔注射	3×10 <sup>7</sup> PIB/公斤/次 总剂量=3×10 <sup>7</sup> PIB	雄 雌	4 4	24	第18天有一只鼠两处脱毛，其他正常	无异常
注射对照	注射等量生理盐水	雌 雄	4 4	24	无异常 结束时突然死去了三只白鼠	无异常
口服对照	正常饲养	雌 雄	4 4	24	无异常 无异常	无异常

且口服与腹腔注射组与对照组平均每只鼠增加体重无明显差异：口服组每鼠平均增重4.73克，比口服对照组的4.6克多0.13克，腹腔注射组平均每鼠体重增加4.33克，比注射对照组4.5克少0.17克，这纯属误差范围之内。

表3的结果说明各试验组体表病症观察都没有异常病理变化，食欲正常，试验后各组小白鼠取4只（雌雄各两只）进行解剖观察内脏，也未发现实质性病理变化。

注射对照组于24天后有3只雄鼠突然死去，分析其原因可能是高温闷死之故，因试验期间连续高温，动物饲养房空调已坏，这组的罐子旁没有洞通风。

## 讨 论

微生物检测和动物毒性试验结果都证明油桐尺蠖核型多角体病毒杀虫剂不含对人畜有害的致病菌和毒性。乳剂BsNPV-85-HL对小白鼠无毒性和致病性，说明我们所加的辅助剂是安全的。祝庆荃等用姐妹染色单体互换及染色体畸变分析法，测定了油桐尺蠖核型多角体病毒对人类的安全性证明；BsNPV不引起染色体数目的变化和结构的改变<sup>[6]</sup>，徐友梅等还运用Ames试验检测了该杀虫剂的致突性<sup>[7]</sup>，结果表明，本病毒杀虫剂（乳剂BsNPV-82-HL）和粉剂（BsNPV-82-HP）不引起致突作用，对人体潜在性危害的可能性甚微，这就再一次证明该杀虫剂对人畜是安全的。

## 参 考 文 献

- [1]祝庆荃, 1982, 中国茶叶, (4) : 30—32。
- [2]汤显春, 1986, 中国茶叶, (3) : 32。
- [3]谢天恩, 1984, 微生物学通报 (1) : 2—3。
- [4]M. Shapiro, 1982, In *Microbial and Viral pesticides*, Ed. Kurstak, E. M. Marcel Dekker, Inc. New York and Basel, P. 483—484。
- [5]何晓青等, 1975, 江西省卫生防疫站。
- [6]祝庆荃等, 1985, 农业环境保护, (5) : 14。
- [7]徐友梅等, 1985, 环境科学, (4)

# DETECTION ON THE SAFETY OF INSECTICIDE OF BUZURA SUPPRESSARIA NUCLEAR POLYHEDROSIS VIRUS

Zeng Yun-tian Tang Xian-chun

(Wuhan Institute of Virology, Academia Sinica, Wuhan)

Gan Pu-xiang Shen Rui-ju

(Wuhan Public Health and Anti-Epidemic Station, Wuhan)

The present paper describes the bacteriology detection of the different preparations and standard samples of the insecticide of *Buzura suppressaria* nuclear polyhedrosis virus. Pathogenic bacteria, such as *Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia*, *Bacillus*, *Vibrio*, *Escherichia coli* and *Micrococcus* were cultured without isolation. Mice infected by different preparations via oral cavity and injection revealed symptoms on the epithelial surface and the pathologic changes in the viscera. The results show that the insecticide does not cause mutation and is safety for man and domestic animals.