

接触对硫磷农药工人监测指标研究

林铮, 黄金祥*, 朱秋鸿

(中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所, 北京 100050)

摘要: 目的 探讨接触有机磷农药(OP)对硫磷工人的监测指标。方法 对某农药厂包装车间进行现场调查,并对56名长期对硫磷接触工人(接触组)和120名无对硫磷接触工人(对照组)进行体格检查及血胆碱酯酶(ChE)、血清对氧磷酶(PON)、β-葡萄糖苷酸酶(β-GD)和羧酸酯酶(CaE)活力测定。结果 (1)对照组红细胞AChE、血清PON、CaE和BChE活力呈正态分布,不同年龄、性别4种酯酶活力差异无统计学意义($P > 0.05$)。(2)接触组红细胞AChE、血清PON、CaE和BChE活力明显低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.001$);血清β-GD活力两组之间的差异无统计学意义($P > 0.05$)。(3)接触组工人红细胞AChE活力低于参考值下限的异常率,为5.4%,而血清CaE、BChE活力异常率分别为37.5%和48.2%,明显高于红细胞AChE活力异常率,差异有统计学意义($P < 0.001$)。血清PON活力异常率为5.4%,与红细胞AChE活力异常率之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 长期职业接触OP工人红细胞AChE、血清BChE、CaE、PON 4种酯酶活力均受到抑制,血清CaE可作为反映OP接触的一个新的生物标志物。

关键词: 有机磷农药; 对硫磷; 胆碱酯酶; 对氧磷酶; β-葡萄糖苷酸酶; 羧酸酯酶

中图分类号: R139.3 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2007)04-0214-04

Study on new surveillance indicators for workers exposed to an organophosphorus insecticide parathion

LIN Zheng, HUANG Jin-xiang*, ZHU Qiu-hong

(National Institute of Occupational Health and Poison Control, Chinese Centre for Disease Control and Prevention, Beijing 100050, China)

Abstract: **Objective** To explore the new surveillance indicators for occupational exposure to an organophosphorus (OP) insecticide "parathion". **Method** The field investigation was conducted in a pesticide-packing workshop of an agricultural chemicals factory in Hubei Province. Physical examination was taken and the activities of acetylcholinesterase (AChE) in erythrocyte and paraoxonase (PON), β-glucuronidase (β-GD), carboxylesterase (CaE) and cholinesterase (ChE) in serum were measured in 56 parathion exposed workers (exposed group) and 120 non-exposed persons (control group). **Result** (1) The erythrocyte AChE activity and the activities of butyrylcholinesterase (BChE), PON, CaE and β-GD in serum showed a normal distribution in control group after checked with the Kolmogorov-Smirnov test, their activities were not related to age and gender. (2) There were significant differences ($P < 0.001$) of erythrocyte AChE activity, serum activities of PON, CaE and BChE compared with control group, but no difference ($P > 0.05$) in serum β-GD activity. (3) The abnormality rates (below the lower limit of activity reference range) were 37.5% and 48.2% for serum CaE and BChE respectively, which were all significantly higher than that of erythrocyte AChE in workers exposed to OP ($P < 0.001$). But there was no significant difference between serum PON activity (5.4%) and erythrocyte AChE activity ($P > 0.05$). **Conclusion** It was found that the activities of erythrocyte AChE, serum BChE, CaE and PON could be obviously inhibited by the exposure to parathion, and CaE might be a new biomarker of exposure to OP "parathion".

Key words: Organophosphorus insecticide; Parathion; Cholinesterase; Paraoxonase; β-glucuronidase; Carboxylesterase

目前在接触有机磷农药(OP)的生物监测中,主要是测定血胆碱酯酶(ChE)的活力。除此之外,接触生物标志物如尿中有机磷的代谢产物烷基磷酸酯、烷基硫代磷酸酯或烷基二硫代磷酸酯测定,因需用气相色谱仪等大型仪器,加上操作比较麻烦,实际应用很少。对于接触OP引起的酯酶活力变化的研

究,国内主要集中于急性OP中毒所致的血液ChE活力改变上,而对β-葡萄糖苷酸酶(β-GD)、羧酸酯酶(CaE)和对氧磷酶(PON)活力及其在长期接触有机磷农药后各酯酶活力变化方面的研究则较少。本研究通过血清β-葡萄糖苷酸酶、羧酸酯酶和对氧磷酶活力的检测和现场应用,探讨这些指标在接触OP监测中的意义,以提高接触OP人群的监测水平。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选择某农药厂接触对硫磷工人56名为接触组

收稿日期: 2007-03-28; 修回日期: 2007-06-01
 基金项目: 国家科技部“十五”科技攻关项目(2001BA704B06)
 作者简介: 林铮(1976-),女,实习研究员,从事职业卫生工作。
 *: 通讯作者, jhuangdc@163.com

(男 26 名、女 30 名), 年龄 21 ~ 48 岁, 平均 (34.8 ± 6.1) 岁; 工龄 1 ~ 26 岁, 平均 (6.2 ± 5.7) 年, 工种为包装工。同厂距离生产和包装车间 2 km 外的能源、电化车间及行政科室, 无对硫磷和其他农药接触史, 性别和年龄状况相匹配的工作人员 120 名为对照组 (男 73 名、女 47 名), 年龄 18 ~ 55 岁, 平均 (37.1 ± 7.9) 岁。两组研究对象在性别、年龄方面无统计学差异 ($P > 0.05$), 均排除有肝病及其他慢性疾病和近期中毒史。

1.2 工作场所空气中对硫磷浓度测定

按照 NIOSH 推荐的工作场所空气中有机磷农药浓度测定方法进行空气采样和浓度测定^[1]。在农药的包装流水线两侧均匀布置 10 个采样点, 随机在对照区域选 10 个点采样。采样时间为 8 h, 计算时间加权平均浓度 (PC-TWA)。采样管在采样后使用胶皮塞密封, 并避光保存于 -20 °C 冰箱。每个区域设一个空白样, 采样方法与前述一致, 只是空气流量为 0。记录各采样点在采样时的大气压和温度。

1.3 现场调查

仔细询问职业史、病史、个人史、家族史、自觉症状, 然后进行血常规、肝功能、胸部 X 线、心电图等内科常规检查。空腹取静脉血 5 ml, 其中取约 0.2 ml 血置于装有抗凝剂的 Eppendorf 管内, 用于红细胞 AChE 活力测定。余下血样不加抗凝剂, 分离血清, 分装于 Eppendorf 管内, 于 -20 °C 冰箱中存放, 按照下述的方法进行 ChE、PON、CaE 和 β -GD 活力的测定。

1.4 酯酶活力测定

1.4.1 红细胞 AChE 活力测定 采用北京舜云科技有限公司生产的 SB-YY 便携式生化测定仪和配套试剂测定。

1.4.2 血清胆碱酯酶 (BChE) 活力测定, 按照中生北控生物科技有限公司产的血清 BChE 试剂盒说明书, 采用日立 7060 型全自动生化分析仪进行酯酶活力测定。

1.4.3 血清 PON 活力测定 血清 PON 可以水解底物对氧磷生成黄色的对硝基酚化合物, 生成的对硝基酚量反映血清 PON 活力水平。在 412 nm 波长处测定吸光度值, 根据标准曲线求酯酶活力^[2]。

1.4.4 血清 CaE 活力测定 底物 α -醋酸萘酯在 CaE 催化作用下生成产物 α -萘酚, 反应 30 min 后, 加入抑制剂十二烷基磺酸钠。 α -萘酚与显色剂重氮蓝 B 结合, 呈深蓝色, 以含 1% 丙酮 PBS 调零, 在 600 nm 波长下比色定量^[3]。CaE 活力管与对照管吸光度差值查标准曲线得血清 CaE 活力。

1.4.5 血清 β -GD 活力测定 参照 Nicolle 等^[4]文献, 结合本实验室条件进行改进, 建立 β -GD 活力分光光度测定方法 (见表 1)。底物 PNPG 在 β -GD 催化作用下生成黄色对硝基酚化合物, 在 402 nm 波长处有吸收峰, 生成的对硝基酚量可以反映 β -GD 的活力。 β -GD 活力管吸光度值查标准曲线得血清 β -GD 活力。

表 1 β -GD 活力测定

实验步骤	对照管	β -GD 活力管
测定血清 (ml)	0.20	0.20
80 mmol/L 醋酸醋酸钠缓冲液 pH 4.5 (ml)	0.40	0.20
4.69 mmol/L PNPG 底物液 (ml)	—	37 °C, 温育 5 min 后 0.20
0.5 mol/L 氢氧化钠溶液 (ml)	0.60	37 °C, 温育 30 min 后 0.60

注: 酶活力单位表示法: pH 4.5, T 37 °C, 反应每进行 30 min 释放 1 μ g 对硝基酚为一个酶活力单位。

1.5 质量控制

随机选择 6 名接触组工人采集 10 ml 血样, 做成多份, 用于待测样品的重复性检验; 设定平行样, 进行预实验; 测定者单盲。

1.6 统计分析方法

Excel 中建立数据库, 用 SPSS 10.0 统计软件处理实验数据。数据表达用均数 ± 标准差。两组间定量资料比较采用 t 检验, 定性资料分析用 χ^2 检验, 变量之间的相关分析用直线相关。

2 结果

2.1 劳动卫生概况

该农药厂对硫磷包装车间的生产流程为农药液体灌装入瓶 → 装盖 → 贴标签 → 包装。现场调查发现包装工作岗位的工人除了戴口罩、穿工作服外, 不能坚持戴手套, 主要原因是该生产线是流水作业, 戴手套操作不十分方便。包装车间工作场所空气中对硫磷浓度为 (0.022 ± 0.012) mg/m³, 明显高于对照组 [(0.002 ± 0.000) mg/m³], 两者差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 但尚未超过国家规定的卫生标准 0.05 mg/m³ (PC-TWA)。

2.2 体检情况

经问诊和内科检查, 未发现两组工人有明显的症状和阳性体征。实验室检查显示胸部 X 线、心电图、血常规、肝功能均正常, HBsAg (-)。

2.3 对照组人群酯酶活力的分布范围

经单样本 K-S 正态性检验, 对照组人群 5 种酯酶活力呈正态分布 ($P > 0.05$), 不同性别、年龄的酯酶活力差异无统计学意义 ($P > 0.05$) (见表 2)。

表2 对照组不同性别和年龄人群酯酶活力测定结果及正常人群酯酶活力95% 参考值范围

指标	性别		年龄(岁)		正常成人酯酶活力 95%参考值范围
	男	女	≤35	>35	
AChE (U/gHb)	18.29±3.31 (n=73)	18.54±3.10 (n=47)	18.08±3.11 (n=52)	18.51±3.18 (n=68)	22.53~35.11
PON (nmol·min ⁻¹ ·ml ⁻¹)	230.17±96.12 (n=73)	219.28±96.69 (n=47)	239.45±105.71 (n=52)	215.55±87.40 (n=68)	37.57~414.25
CaE (nmol·min ⁻¹ ·ml ⁻¹)	3.54±0.89 (n=68)	3.59±0.92 (n=43)	3.44±0.82 (n=49)	3.64±0.94 (n=62)	1.80~5.32
BChE (U/L)	6.641±1.696.04 (n=55)	6.364.64±1.342.61 (n=39)	6.480.12±1.548.76 (n=44)	6.565.31±1.579.01 (n=50)	3.473~9.578
β-GD (μg·min ⁻¹ ·ml ⁻¹)	0.024±0.012 (n=25)	0.024±0.010 (n=43)	0.022±0.010 (n=17)	0.024±0.013 (n=51)	0.005~0.043

2.4 接触组人群酯酶活力分析

2.4.1 两组工人酯酶活力的比较 从表3可见,对硫磷接触组红细胞AChE、血清CaE、PON和BChE活力均明显低于对照组,差异有统计学意义(P<0.001)。血清β-GD活力在两组之间的差异无统计学意义(P>0.05)。

表3 两组酯酶活力比较

指标	对照组	接触组	P值
AChE(U/gHb)	28.82±3.21 (n=120)	25.57±2.42 (n=56)	<0.001
PON(nmol·min ⁻¹ ·ml ⁻¹)	225.91±96.09 (n=120)	109.13±72.87 (n=56)	<0.001
CaE(nmol·min ⁻¹ ·ml ⁻¹)	3.56±0.90 (n=111)	2.24±1.20 (n=56)	<0.001
BChE(U/L)	6.526.34±1.557.42 (n=94)	3.086.93±2.236.10 (n=56)	<0.001
β-GD(μg·min ⁻¹ ·ml ⁻¹)	0.019±0.012 (n=68)	0.021±0.015 (n=40)	>0.05

2.4.2 工龄对酯酶活力的影响 由表4可见,接触组工人酯酶活力与工龄无明显相关性(P>0.05)。

表4 工龄对工人酯酶活力的影响

指标	工龄	
	r	P值
AChE (U/gHb)	0.056	0.684
PON (nmol·min ⁻¹ ·ml ⁻¹)	0.110	0.419
CaE (nmol·min ⁻¹ ·ml ⁻¹)	0.038	0.783
BChE (U/L)	0.104	0.445
β-GD (μg·min ⁻¹ ·ml ⁻¹)	0.253	0.116

2.4.3 酯酶活力异常率的比较 对上述4种酯酶活力低于正常参考值下限的异常率进行比较,结果见表5。接触对硫磷工人红细胞AChE活力异常率为5.4%,而血清CaE、BChE活力异常率分别为37.5%和48.2%,后两者异常率明显高于红细胞AChE活力,差异有统计学意义(P<0.001)。血清PON活力异常率与红细胞AChE活力异常率无明显差异(P>0.05)。

表5 接触对硫磷工人4种酯酶活力异常率比较

指标	95%参考 值下限	接触组(n=56)	
		低于下限值例数	异常率(%)
AChE (U/gHb)	22.53	3	5.4
PON (nmol·min ⁻¹ ·ml ⁻¹)	37.57	3	5.4
CaE (nmol·min ⁻¹ ·ml ⁻¹)	1.80	21	37.5**
BChE (U/L)	3.473	27	48.2**

与红细胞AChE比较, **P<0.001

3 讨论

本次某农药厂现场调查中,接触组工作场所空气中对硫磷浓度尚未超过国家规定的卫生标准(0.05mg/m³)。现场调查时发现该生产流水线包装工作岗位的工人,偶尔因包装瓶破裂而通过皮肤接触对硫磷,体检也未见明显异常表现,表明包装工人以接触低剂量对硫磷为主。5种酯酶活力测定结果显示,对硫磷接触组工人除血清β-GD活力与对照组之间差异无统计学意义外,红细胞AChE、血清CaE、PON和BChE活力均明显低于对照组(P<0.001)。现将对硫磷接触对酯酶活力的影响分别讨论如下。

3.1 血清羧酸酯酶

CaE在哺乳动物中主要分布于肝脏和血浆中^[5],其活力中心含有丝氨酸残基,可以与OP如梭曼、沙林等共价结合并受到抑制^[6]。Howard等^[7]大鼠实验也表明,给予甲基对硫磷、对硫磷等6种OP后,血清CaE能先于AChE发生磷酸化,而其活力抑制程度明显高于AChE。但对职业人群接触OP后血清CaE活力变化的研究报道国内外均较少见。本次研究中接触组工人血清CaE活力显著低于对照组(P<0.001),表明CaE活力能被OP明显抑制。56例接触对硫磷工人中,血清CaE活力异常率(37.5%)远高于红细胞AChE(5.4%),其中红细胞AChE活力正常而血清CaE活力低于下限值的有20例,反之仅有2例,两者的差异有统计学意义(P<0.001),提示接

触组工人血清 CaE 活力抑制要比红细胞 AChE 更为敏感,其可能的机制是 CaE 先于靶位点的 AChE 与 OP 结合,其活力的抑制往往早于 AChE^[8]。匡兴亚等对长期接触乐果和甲胺磷工人的调查也发现 CaE 活力受到明显的抑制^[9]。因此, CaE 可间接反映职业接触有机磷工人的接触水平。

3.2 血清胆碱酯酶

血液 ChE 活力测定不仅是急性 OP 中毒诊断和疗效观察的重要参考指标,也是接触 OP 最常用的生物监测和健康监护指标^[10],其主要有两种类型,一是红细胞乙酰胆碱酯酶(AChE),二是血清胆碱酯酶(BChE)。红细胞 AChE 与神经组织 AChE 活力抑制程度在急性 OP 中毒早期相平行,其活力与中毒临床表现相关性好,可作为毒性效应生物标志物。但在低剂量接触水平,红细胞 AChE 往往无明显的抑制,因而不能反映低剂量接触水平^[11]。文献报道^[12]血清 BChE 更易受 OP 抑制,但其活力抑制与红细胞或脑中的 AChE 以及中毒症状或体征关系并不密切,故只能作为接触生物标志物。

本研究结果显示,接触对硫磷工人血清 BChE 活力明显低于对照组($P < 0.001$)。同样,酯酶活力异常率的比较显示,血清 BChE 活力低于正常参考下限值的占 48.2%,是红细胞 AChE 活力低于下限值例数的 9 倍($P < 0.001$),其中红细胞 AChE 活力正常而血清 BChE 活力低于下限值的有 25 例,反之仅有 1 例,表明血清 BChE 活力比红细胞 AChE 敏感。目前对 BChE 的生理意义未完全搞清,推测其对 OP 敏感性高于红细胞 AChE 的原因与血清 CaE 一样,即 BChE 与 OP 的结合早于 AChE,因此其活力的抑制亦早于 AChE。

3.3 血清对氧磷酶

职业接触 OP 对 PON 活力影响的研究报道比较少。本研究中接触对硫磷工人血清 PON 活力明显低于对照组,其活力的降低可能与对硫磷代谢活化成高活性的中间体对氧磷有关^[13]。但不同酯酶活力异常率的比较结果显示,接触组工人血清 PON 活力低于参考下限值的比例远少于血清 BChE 和 CaE,提示血清 PON 活力虽然能受到抑制,但作为接触 OP 后的监测指标不如血清 BChE 和 CaE 敏感。

3.4 血清 β -葡萄糖苷酸酶

β -GD 是动物急性染毒实验研究发现的一个对 OP 较为敏感的新生物标志物^[14]。Hernandez 等^[15]报道长期接触低剂量 OP 和氨基甲酸酯农药工人血浆 β -GD 活力与非接触组之间的差异无统计学意义,而同组高接触剂量喷洒工人的血浆 β -GD 活力明显高于低接触

剂量工人。本研究结果显示,接触组工人血清 β -GD 活力与对照组之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。提示血清 β -GD 活力可能主要用作短间接接触较高剂量 OP 的监测指标,而对于长期接触低剂量 OP 工人则不敏感。

本次调查工人接触的 OP 品种单一,对酯酶活力变化的研究仅限于接触对硫磷的职业人群。今后应在本研究的基础上,探讨接触其他 OP 对这几种酯酶活力变化的影响,同时观察急性 OP 中毒病人上述酯酶活力的变化,以进一步明确各酯酶学指标在 OP 职业接触和中毒病人中的意义。

参考文献:

- [1] Schlecht, P C, O'Connor P F. Organophosphorus Pesticides: Method 5600, Issue 1. NIOSH Manual of Analytical Methods (NMAM) 4th Edition [M]. DHHS (NIOSH) Publication, 1994.
- [2] 周志俊, 邬红梅, 胡云平, 等. 血清对氧磷酶活力测定方法研究 [J]. 中国公共卫生, 2000, 16 (4): 303-304.
- [3] 郑捷, 孙运光, 郑光, 等. 人血清羧酸酯酶活力测定方法的建立 [J]. 环境与职业医学, 2004, 21 (2): 127-130.
- [4] Cobben N A, Drent M, De Vries J, et al. Serum of β -glucuronidase activity in a population of ex-coalminers [J]. Clin Biochem, 1999, 32 (8): 659-664.
- [5] Heyman E. Carboxylesterases and Amidases. In: Jakoby W B (ed); Enzymatic Basis of Detoxification [M]. New York: Academic Press, 1980: 291-323.
- [6] 刘志平, 许小珊. 羧酸酯酶在梭曼及其他有机磷酸酯中毒中的作用 [J]. 国外医学军事医学分册, 1988, 5 (26): 263-266.
- [7] 郑捷, 周志俊, 张雪梅, 等. 慢性有机磷农药接触对羧基酯酶活力的影响 [J]. 工业卫生与职业病, 2005, 31 (2): 68-71.
- [8] Chambers H, Brown B, Chambers J E. Noncatalytic detoxication of six organophosphorus compounds by rat liver homogenates [J]. Pest Biochem Physiol, 1990, 36: 308-315.
- [9] 匡兴亚, 周志俊, 马欣新, 等. 有机磷农药工人酯酶活力特征及基因多态对酶活力的影响 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2006, 24 (6): 333-336.
- [10] WHO Task Group. Biological Monitoring of Chemical Exposure in the Workplace [Z]. Geneva: WHO, 1996, 252-262.
- [11] 孙运光, 周志俊, 顾祖维. 有机磷农药生物标志物的研究进展 [J]. 劳动医学, 2000, 17 (1): 58-60.
- [12] 陈佳, 周志俊, 顾祖维. 乙酰胆碱酯酶研究进展对更新有机磷毒作用机理的认识 [J]. 劳动医学, 2001, 18 (1): 55-57.
- [13] Aviram M, Rosenblat M, Billecke S, et al. Human serum paraoxonase (PON1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants [J]. Free Radical Med, 1999, 26: 892-904.
- [14] Satoh T, Hosokawa M. Mammalian carboxylesterases: From molecules to functions [J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 1998, 39: 257-288.
- [15] Hernandez A, Gomez MA, Pera G, et al. Effect of long-term exposure to pesticides on plasma esterases from plastic greenhouse workers [J]. J Toxicol Environ Health A, 2004, 67 (14): 1095-1108.