

新发布化学品毒性试验方法简介

陈相, 蒋伟, 缪文彬*, 王海婷, 朱洪坤, 张晓蓉, 姚丽芳

(上海出入境检验检疫局, 上海 200331)

全球化学物产量从 1930年的仅仅 100万 增加到今天的 4 亿[†]。仅在欧盟注册的化学物就有 10万多种。每年世界化学物产值大约为 1.5万亿美元, 其中 75%的产值来自经济合作与发展组织的成员国, 欧盟和美国化学工业占了世界近 60%的产值。2005年中国化学物产值超过德国成为世界第三大化学物生产国, 许多大型跨国公司都在中国建立化学物生产基地, 包括巴斯夫、陶氏化学、壳牌等。

化学物给现代社会带来了许多好处, 比如在工业、食品生产、医药等领域都发挥了巨大的作用。但是也对人类健康和环境造成了严重的损害。

由于世界大部分化学物生产于 OECD成员国, OECD早在 1971年就开展了环境、健康和安全计划, 要求所有新的化学物都需经过对人类健康和环境的影响及其降解性测试, 对化学物进行安全性评价。为此, 经合组织制定了一套《化学物测试指南》, 并一致同意了 16个《良好试验室操作规范》文件。1981年首次颁布 20项化学物毒性和生态毒性的测试方法, 随后又陆续颁布了 50余项毒性和生态毒性的试验方法。本文主要对 2000年以后该测试指南中增加的毒理学试验方法作一个简要的介绍。

1 皮肤变态反应试验——局部淋巴结法^[1]

本试验方法颁布于 2002年, 根据致敏化学物能诱导接触部位淋巴结淋巴细胞发生增殖反应, 比较受试化学物和对照物质诱导淋巴细胞的增殖情况, 对受试化学物的致敏性进行评估。主要是小鼠尾静脉注入 ³H甲基胸腺嘧啶脱氧核苷或 ¹²⁵I脱氧尿嘧啶核苷放射性同位素, 通过淋巴细胞含有的放射性同位素量检测淋巴细胞增殖的程度。本试验方法可作为化学物致敏性的筛选试验, 初步识别致敏化学物和确定无明显皮肤致敏活性的化学物。受试物出现阳性结果后可采取后续试验如豚鼠试验进行评估。局部淋巴结法最大的优点是减少了动物的使用数量, 而且也不需要豚鼠试验中的最大值反应, 减少了动物的痛苦, 兼顾了动物福利的问题。

2 体外 3T3细胞中性红摄取光毒性试验^[2]

本试验方法颁布于 2004年, 可作为光毒性动物试验的替代方法, 鉴定光照条件化学物是否诱导产生光毒性, 预测化学物对人体和动物的急性光毒性效应。选用小鼠成纤维细胞系 Balb/c3T3细胞, 培养 24 h形成单层细胞后添加不同浓度的化学物培养 1 h 在光照条件无细胞毒性的情况下激发化学

物产生光毒性反应。光毒性可导致细胞膜和溶酶体发生不可逆性改变, 细胞摄取活体染料中性红的量减少, 根据该原理能够有效区分存活、损伤或死亡的细胞。检测中性红的还原量测定细胞的存活率, 比较有光照和无光照条件下获得的浓度反应预测化学物的潜在光毒性。

3 化学物经皮吸收试验^[3,4]

检测化学物经皮吸收和皮肤转运的方法主要有两种: 体内试验和体外试验。OECD于 2004年首次颁布了这两种试验方法的标准。体外试验方法使用非活体皮肤如哺乳动物皮肤检测皮肤吸收放射性标记的化学物情况, 收集不同时间点皮肤另一侧液体分析化学物含量, 或使用有代谢活力的皮肤检测化学物扩散情况和代谢产物分布情况。虽然多数情况下进行体外皮肤吸收试验即可, 但是仍有必要了解化学物体内经皮吸收的情况。体内经皮吸收试验使动物皮肤接触放射性标记的化学物, 暴露结束时处死一组动物, 其余几组动物按照一定的时间间隔处死, 在暴露开始至处死前收集排泄物和呼出的气体分析放射性标记化学物的含量, 收集血以及接触化学物的皮肤组织, 获得动物体内化学物皮肤吸收的数据。

4 体外皮肤腐蚀试验^[5,6]

经典的皮肤腐蚀试验需使用动物, 为避免动物遭受疼痛和伤害, 2004年 OECD颁布了两个评估化学物皮肤腐蚀性的体外试验方法: 经皮电阻法和人皮肤模型法。这两个试验方法可有效识别腐蚀性化学物。OECD建议在进行活体动物试验之前先进行体外皮肤腐蚀试验。经皮电阻法使用取自于 28~30 d的大鼠背侧皮肤组织, 试验用皮肤组织要求经皮电阻大于 10 k Ω 。由于腐蚀性物质破坏角质层的完整性和屏障功能, 表现为皮肤经皮电阻低于一定的值(临界值一般为 5 k Ω)。该试验方法测量皮肤组织与受试物接触 24 h后的电阻评估化学物的腐蚀性。人皮肤模型法使用至少由表皮和角质层构成的立体皮肤模型, 化学物与皮肤组织接触一定时间后用生理盐水小心清洗皮肤表面, 腐蚀性物质通过腐蚀作用透过角质层对角质层下的细胞层产生细胞毒性, 导致细胞存活率下降。该试验应用四唑蓝还原试验(MTT reduction assay)测定细胞存活率评价化学物的腐蚀性。

5 沉积物-水系统摇蚊毒性试验^[7,8]

OECD于 2004年发布了评估化学物持续暴露对栖息于淡水沉积物的双翅目昆虫摇蚊幼虫毒性的试验方法。主要过程是化学物加入试验系统的沉积物或水中, 待试验系统化学物浓度稳定后引入摇蚊一龄幼虫, 使一龄幼虫暴露于一定浓度的化学物, 试验周期根据不同的摇蚊而不同, C. riparius和 C. yoshinatsui一般是 20~28 d 而 C. tentans则为 28~65 d 测定第 10天幼虫存活率和体重情况, 试验结束测定摇蚊成虫

收稿日期: 2009-02-24

作者简介: 陈相(1977-), 男, 硕士, 工程师, 主要从事化学品检测研究。

*: 通讯作者。

数和发育率。应用回归模型估计引起幼虫存活率以及摇蚊成虫数或发育率降低 X% 的受试物浓度, 或采用统计假设检验确定 NOEC/IOEC

6 化学物对土壤微生物氮转化活性影响试验^[9]

本试验方法研究化学物对土壤微生物氮转化过程的不良影响和估计化学物对土壤微生物菌落碳转化能力的影响, 获得化学物对土壤菌群的潜在有害效应的数据, 从而对化学物进行较全面的毒性特征评估。对于农药和非农药化学物采取不同的试验方案。在施用农药的前一天以及施用农药的第 7、14 和 28 天, 用适当的溶剂萃取施用农药的土壤和对照土壤, 比较两组土壤的硝酸盐生成速率。试验需至少进行 28 d。如第 28 天, 施用农药土壤的硝酸盐生成速率相对于对照组差异大于或等于 25%, 试验需延长至最多 100 d。如是非农药化学物, 添加一系列不同浓度的化学物于土壤中, 28 d 后检测土壤的硝酸盐生成量。

鉴于我国毒理检测数据应达到可与 OECD 相互接受和认可, 可试验室测试数据的等级要求, 能被欧盟国家主管当局认可接受, 我国应严格按照国际化学品健康危险检测要求, 采取切实步骤, 加强化学试验物检测能力建设, 建立相应的毒理学检测方法标准, 以便尽早满足国内危险化学品物安全管理及毒理试验室检测化学品的需要。

参考文献:

[1] Organization for Economic Cooperation and Development. Skin Sensitization: Local Lymph Node Assay [R]. Paris: OECD, 2002.

[2] Organization for Economic Cooperation and Development. In Vitro 3 T3 NRU Phototoxicity Test [R]. Paris: OECD, 2004.

[3] Organization for Economic Cooperation and Development. Skin Absorption: In Vitro Method [R]. Paris: OECD, 2004.

[4] Organization for Economic Cooperation and Development. Skin Absorption: In Vitro Method [R]. Paris: OECD, 2004.

[5] Organization for Economic Cooperation and Development. In Vitro Skin Corrosion: Transcutaneous Electrical Resistance Test (TER) [R]. Paris: OECD, 2004.

[6] Organization for Economic Cooperation and Development. In Vitro Skin Corrosion: Human Skin Model Test [R]. Paris: OECD, 2004.

[7] Organization for Economic Cooperation and Development. Sediment-Water Chironomid Toxicity Using Spiked Sediment [R]. Paris: OECD, 2004.

[8] Organization for Economic Cooperation and Development. Sediment-Water Chironomid Toxicity Using Spiked Water [R]. Paris: OECD, 2004.

[9] Organization for Economic Cooperation and Development. Soil Microorganism Nitrogen Transformation Test [R]. Paris: OECD, 2000.

(上接第 225 页)

表 4 本改扩建项目职业病危害预评价检查表

评价项目与内容	评价项数	评价结论		
		符合	基本符合	有待进一步完善
选址	5	5	0	0
总体布局	6	5	1	0
生产布局及设备布局	4	2	1	1
建筑卫生学	5	3	1	1
防护设施和用品	8	5	1	2
辅助用室	3	1	1	1
职业卫生管理措施	4	2	1	1
应急措施	5	3	1	1

2.5 评价结论

2.5.1 拟建项目位于厂区东北侧, 将原厂房拆除, 对周围环境无危险性。拟建项目工程总平面按功能要求布置, 设备布局 and 空间利用合理, 考虑了防毒、防噪声等职业卫生的规定标准, 整体性较好、运行方便、安全可靠。符合《工业企业设计卫生标准》(GBZ1—2002)、《冷库设计规范》(GB50072—2001)的要求。

2.5.2 本项目使用的化学毒物主要为氨。氨虽属《高毒物品目录》(卫法监发[2003]142号)中所列的高度危害的化学物质, 但本项目中所使用的氨在管道封闭系统运行, 自动化程度高, 正常运行状况下空气中浓度较低。因此, 按照《建设项目职业病危害分类管理办法》(2006年7月卫生部令第49号发布)的规定, 结合检测的空气浓度及接触时间进行

综合评价, 可将本建设项目职业病危害程度分类为一般职业病危害建设项目。

2.5.3 项目单位在初步设计中能根据预评价报告书中识别的职业病危害因素以及所提出的防毒、防噪声、防寒原则, 按国家有关规范和标准进行防护设施的设计, 并与主体工程同时设计、同时施工、同时投入使用, 配备有效的个体防护用品, 建立有效的应急救援体系, 从职业卫生的角度分析, 本改扩建项目是可行的。

3 讨论

拟建项目存在的主要职业病危害因素是化学因素中的毒物氨及物理因素中的噪声、低温等, 其中制冷过程中设备产生的噪声是生产过程中的主要职业病危害因素, 长期在压缩机房、泵房巡视工作的工人会受到不同程度的影响。根据冷库建设的要求, 项目单位在压缩机房内设置了操作工人隔离控制室, 并将产生噪声的冷凝机组设置在屋顶, 冷风机设置在库房的顶部, 大大地减少了噪声对工人的影响。对于噪声的防护, 除了设计时要考虑距离衰减和隔离措施外, 暴露在噪声下的工人还应佩戴个人噪声防护用品。

制冷工在巡视氨泵房、压缩机房, 检修设备, 进行油水分离时接触氨。尽管本建设项目生产过程中主要采用管道封闭运行系统, 在生产运行过程中氨泄露的可能性较小, 但项目单位仍应按国家有关标准要求设计防护设施。此外, 仓储工进入冷藏库中搬运物品接触低温。因此, 特别要加强毒物、噪声、低温工作岗位作业人员的个人防护。