

卫生毒理实验方法

湖南医学院卫生学教研组 编

卫生毒理实验方法

湖南医学院卫生学教研组 编

人 民 卫 生 出 版 社

卫生毒理实验方法
湖南医学院卫生学教研组 编

人 民 卫 生 出 版 社 出 版
人 民 卫 生 出 版 社 印 刷 厂 印 刷
新 华 书 店 北 京 发 行 所 发 行

787×1092毫米32开本 9 $\frac{1}{2}$ 印张 204千字
1979年4月第1版第1次印刷
印数：1—26,100

统一书号：14048·3667 定价：0.84元

编写说明

本书从卫生专业实际工作的需要出发，系统地介绍了对化学物质进行毒理实验研究的方法。除叙述了急性实验、亚急性实验及一般慢性实验的设计、作法与结果的分析处理之外，还简要地介绍了经呼吸道、经口、经皮肤染毒的技术，致癌、致畸、致敏及繁殖实验、水生生物毒理实验的方法，概述了常用实验动物管理及被试毒物的准备，讨论了实验结果的实际应用等问题。为了适应工农业飞速发展的需要，还简述了简易毒理实验方法。本书可供卫生防疫、环境保护及化工部门从事毒理工作的人员、医学院校卫生专业教员、学员及其他有关专业人员参考。

目 录

第一章 绪言	1
第一节 卫生毒理实验的任务	2
第二节 卫生毒理实验的内容和研究程序	4
第二章 实验毒物的准备	9
第一节 生产和使用情况的调查研究	9
第二节 常用物理常数的测定	11
一、溶解度	12
二、蒸汽压力	15
三、挥发度	17
四、比重	18
第三章 实验动物	20
第一节 实验动物的选择	20
一、种属选择	20
二、个体选择	22
第二节 实验动物的分组和标记	28
一、实验动物的随机分组	28
二、实验动物的标记	34
第三节 实验动物的管理和饲养	37
一、动物室的卫生要求	37
二、动物的合理捕捉	39
三、常用实验动物的饲养方法	40
第四章 使动物染毒的实验技术	44
第一节 经呼吸道染毒	44
一、气体及蒸汽状态毒物	45
二、粉尘状态毒物	59

第二节 经消化道染毒	73
一、毒物常用剂型	73
二、染毒方法	75
第三节 经皮肤染毒	82
一、动物皮肤的准备	82
二、染毒方法	83
第四节 注射染毒	88
一、腹腔注射染毒	88
二、静脉注射染毒	89
三、皮下、皮内和肌肉注射染毒	93
第五章 急性毒理实验	95
第一节 毒物剂量和生物效应关系的研究	95
一、毒作用上限(致死剂量)的测定	96
二、毒作用下限(阈剂量)的测定	113
第二节 急性中毒症状的观察	118
一、中毒临床过程的观察	118
二、中毒症状的观察	119
三、病理解剖检查及器官功能化验	123
第三节 毒物局部刺激作用的研究	124
一、皮肤敷贴试验	124
二、眼结膜刺激试验	126
第六章 亚急性毒理实验	129
第一节 实验的基本要求	129
一、实验动物	129
二、染毒剂量	130
三、观察指标	130
第二节 蓄积作用和耐受性的判定	133
一、研究蓄积作用的方法	134
二、耐受性的判定方法	140
第三节 致敏作用的判定	141

一、迟发型变态反应实验法·····	143
二、速发型变态反应实验法·····	145
三、光敏作用实验法·····	146
第七章 慢性毒理实验·····	149
第一节 一般慢性实验·····	149
一、实验动物·····	149
二、实验期限·····	150
三、染毒剂量和分组·····	151
四、观察指标·····	153
第二节 致癌实验·····	156
一、实验动物·····	157
二、染毒途径·····	158
三、剂量·····	159
四、观察指标·····	160
五、快速初筛致癌物的实验方法·····	161
第三节 致畸胎实验·····	165
一、实验动物·····	166
二、染毒剂量和染毒时机·····	166
三、观察指标·····	169
第四节 繁殖实验·····	169
一、实验动物·····	170
二、实验方法·····	170
三、观察指标·····	173
第八章 水生动物毒理实验·····	174
第一节 鱼类毒理实验·····	174
一、实验用鱼的选择·····	174
二、实验条件·····	175
三、鱼半数耐受浓度(TLM)的测定·····	176
四、回避反应阈浓度的测定·····	177
第二节 甲壳动物毒理实验·····	183

一、实验动物	183
二、实验方法	183
第九章 简易毒性实验	187
第一节 毒性初筛实验	187
一、经口染毒致死剂量的测定	188
二、经皮肤染毒致死剂量的测定	196
三、饱和蒸汽吸入实验	197
四、皮肤原发刺激作用的测定	198
五、眼粘膜刺激作用的测定	199
第二节 根据急性、亚急性实验资料预测慢性毒性	200
一、根据 7 天实验预测 90 天及 2 年实验毒性	200
二、根据 90 天实验预测 2 年慢性毒性	204
第十章 卫生毒理实验常用观察指标的实验方法	208
第一节 神经系统功能指标	208
一、条件反射实验法	208
二、屈肌反射时实验法	213
三、神经系统的刺激综合作用试验	214
第二节 血液及造血功能指标	216
一、常用血液指标的检验法	216
二、骨髓造血功能的检验法	224
第三节 心血管及呼吸功能指标	227
一、脉搏测量	227
二、血压测量	228
三、毛细血管通透性试验	231
四、呼吸频率测量	232
五、耗氧量的测定	233
第四节 肝功能指标	236
一、解毒功能试验	236
二、排泄功能试验	240
三、血清谷-丙转氨酶 (SGPT) 活性测定	241

四、肝组织活体染色试验·····	245
第五节 肾功能指标·····	245
一、尿液收集方法·····	246
二、酚红排泄试验·····	248
三、水负荷试验·····	249
第六节 胃功能指标·····	250
一、胃分泌功能试验·····	250
二、胃运动功能试验·····	251
第七节 活动能力指标·····	252
一、游泳试验·····	252
二、转棒试验·····	254
三、抖笼排水试验·····	255
四、光电活动监测仪·····	257
五、直线运动恢复时试验·····	258
第八节 免疫学指标·····	259
一、细胞免疫检测法·····	259
二、体液免疫检测法·····	263
第九节 常用生物化学指标·····	268
一、常用的几项酶活性指标·····	268
二、其他生化指标·····	272
第十节 病理解剖学检查·····	275
一、实验动物的处死·····	276
二、实验动物的解剖·····	276
三、组织标本的显微镜检查·····	280
第十一章 卫生毒理实验方法的实际应用 ·····	281
第一节 卫生毒理实验方法的应用范围·····	281
一、化学物质的毒性鉴定·····	281
二、毒物最高容许浓度(或剂量)的制订·····	283
三、毒物在体内代谢过程的研究·····	285
四、中毒机理的探讨·····	285

五、中毒早期诊断指标的探索·····	286
六、中毒的实验治疗·····	287
七、防毒措施建议及效果评价·····	288
第二节 使用动物实验资料应当注意的问题·····	288
编后记·····	293

第一章 绪 言

恩格斯在《自然辩证法》一书中教导我们：“科学的发生和发展一开始就是由生产决定的”^{*}。随着工业、特别是化学工业的发展，各式各样的化工产品渗入到工农业生产的一切部门和人类生活的各个领域。例如，化学农药和化肥使每公顷农作物产量提高一倍；化学药物帮助人们控制了很多传染病及其他一些疾病；人造纤维、塑料、食品调味剂与防腐剂等，使人们的生活条件得到很大改善。总之，化学工业的确为人类作出了很大贡献。但是，事物总是一分为二的，这些化学物质进入外界环境后，也可能对人类的生活和健康产生一些不良影响。为了适应这种需要，逐渐形成了一门与化学物质对人体健康的危害作斗争的科学——毒理学。它研究环境中化学物质对人体的毒作用，阐明这些物质对人体健康影响的基本规律，提出有效的预防和治疗措施。

早期，毒理学是属于药理学、法医学及病理学的范畴，其主要任务是探讨化学物质进入机体后引起的病理变化、毒作用机理、中毒的临床表现和后果，寻找有效的解毒方法和其他治疗方法。随着工业生产的进一步发展，因接触职业性毒物而引起的职业性中毒病例增多，促进了工业毒理学的形成和发展。但在工业毒理学的初期，仍然没有脱离上述毒理学的研究范围，还是以工业毒物的毒作用机理、职业中毒的临床和治疗方法的研究为重点。在帝国主义和社会帝国主义国家里，垄断资产阶级贪婪成性地将榨取工人的血汗，不顾劳

^{*} 恩格斯：《自然辩证法》162页，人民出版社，1971

动人民的死活，科学技术的成果也成为资产阶级追逐高额利润的工具，工业毒理学很少可能解决工人保健的实际问题，更不可能贯彻预防为主的方向。在我们社会主义祖国，劳动人民是国家的主人，党和政府十分关怀工农劳动群众的健康；为了安全生产，对工业毒理学提出了新的要求，即要求它研究的重点不限于阐明中毒的后果，而要更积极地去探索中毒发生、发展的条件，研究各种化学物质在外界环境中的安全界限，提出预防中毒发生的有效措施。因此工业毒理学成为卫生科学的一个组成部分。

近 30 年来化学工业的发展日新月异，目前我们生产、生活的各个方面几乎都与各种化学工业产品联系在一起，人们不仅在工农业生产环境中接触到这些物质，在生活环境（空气、食物、饮水、药物、日用品等）也有大量化学物质存在；不仅健康的成年人在工作时间内接触这些物质，而且各种年龄的人、包括老人、小儿以及体弱患病的人等，都可长期地受到这些化学物质的影响。因此，研究环境中化学物质对人体健康的影响及其防治措施，具有普遍的卫生学意义。近年来，在劳动卫生、环境卫生、食品卫生等卫生学科中，已经广泛地采用了毒理学的研究方法。这种以预防为目的的毒理学称之为卫生毒理学。

第一节 卫生毒理实验的任务

卫生毒理学、作为人们与环境中化学物质对人体健康的危害作斗争的一种工具，它在促进社会主义生产（特别是化学工业生产），保障人民健康方面，能起一个前哨侦察兵的作用。卫生毒理学实验研究提供的资料，为化工研制部门合成新的效用高、无毒或低毒的产品提出线索，筛选去除那些毒

性大的危险毒物，使新产品的研制工作少走弯路；同时，根据卫生毒理实验成果，又能及时提出生产和使用过程中的卫生防护办法，拟订外环境中该物质的最高容许浓度等卫生标准，使人民健康得到有效的保护。

卫生毒理学的主要任务是：

研究外界环境中化学物质进入人体的途径、在体内转化、蓄积和排泄的规律、毒作用机理，阐明影响中毒发生、发展的各种条件；

研究化学物质在外界环境中（空气、水、食物、土壤等）的安全界限，据此提出外界环境中最高容许浓度的初步建议；

研究外界环境中化学物质的急性及慢性毒性、中毒的临床表现、诊断方法，有无致癌、致突变、致畸胎及致敏作用等特殊毒性，探索有效的急救及治疗方法；

研究毒物对机体的非特异性作用，阐明毒物对其他常见病、多发病发病率的影响；

研究预防中毒的有效措施。

为了解决上述课题，卫生毒理实验研究方法也有很大的发展。除一般急性、亚急性及慢性毒理实验方法逐渐趋于标准化之外，对化学物质的致畸胎、致突变、致癌以及致敏作用等特殊毒性实验方法已进行了大量的研究，提出了一些可靠而又实用的方法；在卫生毒理实验研究中广泛采用了生理学、生物化学、病理生理学、免疫学以及组织化学等学科的先进技术，毒物代谢及毒作用机理的研究已经深入到分子水平，测定阈剂量或阈下剂量的灵敏度已大大提高；为了适应化学工业飞速发展的迫切需要，新化学物质毒性简便快速初筛的实验方案也积累了一些经验。但是，方法是为实验研究的目的服务的，今后还要不断地改进实验方法，提高卫生毒理

实验的可靠性和速度,以便更好地为社会主义建设事业服务。

第二节 卫生毒理实验的内容和研究程序

随着化学工业的飞速发展,各种新化学物质进入人类生产、生活环境的各个领域,人们接触新化学物质的机会大大增加。新合成的药物、食品添加剂、卫生消毒剂、日用品等,以各种形式作用于人体;工业“三废”和农药对水、空气、土壤、食品的污染,也会直接或间接地影响到人体健康。为了兴利除害、防止新化学物质对人体的有害影响,必须对试制的一切新化学物质进行卫生毒理鉴定,弄清楚它们是否有毒、毒性大小、对人体的作用特点、以及如何有效地防治等。根据其卫生毒理学特征和经济价值,全面分析,才能做出是否可以投产和推广的结论;如果肯定投产和推广时,同时要提出该物质在环境中的最大容许浓度和必须采取的卫生防护措施;以防止环境污染,保障人民身体健康。我们是社会主义制度的国家,国家利益和人民利益是完全一致的,工农业生产的发展是在国家统一计划下进行的,党和政府号召我们要“十分注意和切实做好保护和改善环境的工作”,我们完全可以把对新化学物质的卫生毒理鉴定工作,纳入新产品的科研、试制规划之中,使卫生毒理实验的研究成果,能更直接地为社会主义生产和人民健康服务;使新化学产品的试制能更好地“做到效果高,不污染环境,对人体无害”的要求。

为了使科学研究走在生产建设的前面,卫生毒理实验成果要准确、及时地报告给新产品试制人员。为此,对一种新化学物质的卫生毒理实验研究可以配合新产品的科研、试制计划的进程,分阶段地进行。

一、第一阶段,初步卫生毒理评价。相当于新产品的实

实验室研究阶段。这一阶段的主要任务是：①经过急性毒性的初步筛选，去除那些毒性大的危险毒物，协助生产部门找出工艺价值相同而毒性小的物质；②订出原料、产品和设备的卫生要求，使生产工艺尽量做到符合卫生标准；③提出试制过程中所需要的防护办法。尚可根据物质的理化特性或急性毒性参数估算出工作场所的最高容许浓度。

这一阶段的工作内容包括：

(一) 根据新化学物质的结构和理化特性，查阅有关资料，预测该物质的毒理特性，为进一步毒性鉴定和新产品试制部门改进设计，准备必要的数据。

(二) 初步卫生毒理鉴定实验。主要是急性毒性实验，可以在大致 1~3 个月的时间内完成这些工作。主要包括：测定一次染毒的经口 LD_{50} 、吸入 LC_{50} ，观察急性中毒的主要症状和毒作用特点，经皮染毒实验以判定能否经皮肤进入、有无局部刺激作用，初步测定急性阈浓度(或剂量)等。用病理形态学方法观察急性中毒的病理变化。

二、第二阶段，常规卫生毒理学鉴定。相当于新产品的中型试制阶段，主要是亚急性毒理实验，内容包括：在反复多次染毒条件下测定毒物的毒性、毒作用特点及中毒症状，判定毒物有无蓄积作用和致敏作用，较细致地观察亚急性中毒引起的病理生理和病理解剖学变化，精确地测定急性毒作用阈浓度(或剂量)，如整体作用阈($Lim_{整体}$)、特殊作用阈($Lim_{特殊}$ ，如胆碱酯酶活性下降阈等)以及反射阈($Lim_{反射}$)、刺激阈($Lim_{刺激}$)等。

通过第二阶段的实验，可以对该毒物提出较全面的卫生毒理学评价意见。不仅能对该物质的急性毒性大小做出结论，而且可以根据蓄积作用的大小提出慢性毒性的危险性，

根据整体阈和特殊作用阈的比值（即所谓特殊作用带 $\frac{\text{Lim}_{\text{特殊}}}{\text{Lim}_{\text{整体}}}$ ），估计该物质的某些特殊作用；对反复染毒下毒作用特点及中毒的表现有更深入地了解，从而能提出生产中必须采取的有效防护措施，并为定期体格检查提出具体的要求和内容。

三、第三阶段，全面卫生毒理学研究。相当于新产品交工厂正式投产及初步应用阶段。主要是慢性毒理实验，深入地研究毒物低浓度（或剂量）、长期作用下的毒作用特点，慢性中毒的表现和病理变化，求出慢性作用阈浓度（或剂量），并应根据需要进一步开展专门实验，以判定有无致畸胎、致癌以及致突变作用，对繁殖能力及对子代的影响等。一般需要6个月~2年的时间才能完成。这些工作应当在技术、设备条件较好的单位进行。根据这一阶段的研究成果，可以进一步提出该物质在生产场所空气、食物、饮水、大气中的最高容许浓度的建议，提出卫生监测的方法，拟定中毒的诊断、急救的措施，以及定期体格检查的具体内容和时间，并对就业禁忌症提出意见。

四、第四阶段，现场调查研究和流行病学分析。相当于新产品在工农业生产和日常生活中广泛应用的阶段。这时，除深入研究毒物的代谢、毒作用机理、实验治疗方法等问题以外，必须对生产和生活中接触该物质的人群进行定期的体格检查，研究这些人群中的患病率，观察对人体健康有无影响，进行流行病学分析。根据这些研究结果，进一步修订最高容许浓度的建议，提出全面的卫生防护措施，包括诊断、急救和治疗、个体防护和其他预防中毒的办法。

现将四个阶段的主要工作内容和实验结果的具体应用列

表如下 (表 1-1)。

表 1-1 各阶段卫生毒理实验内容和实际应用

		第一阶段 初步卫生 毒理评价	第二阶段 常规卫生 毒理鉴定	第三阶段 全面卫生 毒理实验 研究	第四阶段 现场调查 研究和流 行病学分析
		动物实验 (急性)	动物实验 (亚急性)	动物实验 (慢性)	动物实验 (慢性)
实 验 内 容	毒 性 参 数	经口 LD ₅₀	+	+	
		吸入 LC ₅₀	(+)	+	
		经皮 LD ₅₀ $K = \frac{LD_{50 \text{ 皮}}}{LD_{50 \text{ 口}}}$	(+)	(+)	
		中毒的症状观察及 病理形态变化	+	+	
		皮肤粘膜刺激实验	+	+	
		急性毒作用阈测定	(+)	+	
		蓄积作用实验		+	
	发 病 学 研 究	致敏作用实验	(+)	(+)	
		慢性毒作用阈		+	
		致突变实验		(+)	
		致畸胎实验		(+)	
		致癌实验		(+)	
		对生殖的作用		(+)	
		毒物代谢的研究		+	+
		对酶活性的影响		(+)	(+)
		对其他器官和系统的 影响			+