

GONGYE DULIXUE SHIYANFANGFA

工业毒理学实验方法

上海科学技术出版社

工业毒理学实验方法

工业毒理学实验方法

《工业毒理学实验方法》编写组 编

上海科学技术出版社

(請一個月內归还)

~~5269~~

~~1988-11-14~~

~~991年全月全日~~

1992年2月10日

(上海瑞金二路450号)

印数 1—15,000

书号: 14119·1303 定价: 2.55 元

编写单位

上海第一医学院卫生系
上海市劳动卫生职业病研究所
遵义医学院卫生学教研组
唐山煤矿医学院卫生学教研组
中山医学院卫生学教研组
上海市化工局职业病防治所
包头医学院卫生学教研组
中国人民解放军第二军医大学军队卫生教研室
中国科学院细胞生物学研究所
上海市卫生学校卫生防疫教研组
上海市徐汇区吴泾医院职业病组

编审组成员

(以姓氏笔划为序)

王籴兰	任引津	吴振球
周炯亮	宓哲伟	徐文漪
张庆浩	夏元洵	顾菊康

顾祖维

顾学箕

EU01/01

前 言

为了促使“工业毒理学”更好地适应加速实现农业、工业、国防和科学技术现代化,努力把我国建设成为一个伟大的社会主义强国的需要,我们编写了本书。

本书较系统地介绍了工业毒理学的常用实验技术和研究方法,供工业卫生部门和国防战线的广大毒理专业人员和医疗卫生人员,在探讨工业毒物的危害及其防治对策时的参考。我们希望这些方法和技术的普及推广,将有助于开展群众性的实验研究和现场研究。并且希望,工业毒理研究队伍的不断壮大以及研究工作的广泛深入开展,对于我国职业中毒防治工作将发挥积极的作用。

本书所介绍的研究方法,主要是根据用于动物实验的要求来写的。但是,其中也有相当一部分内容可在深入生产现场进行调查研究或进行防治工作时参考应用。

关于国内外工业毒理学研究方面的新趋向和某些较专门的新方法与技术,或者属于

临床上习用的普通检验项目,本书仅作概要介绍,读者可据此查阅有关专著。

本书系《工业毒理学》一书的续编,故凡涉及该书中已讨论过的问题,本书则加以注明,不再重复叙述。

本书是由一些兄弟单位协作写成的。各个章、节乃至各个实验方法的编写,基本上是根据各个单位的实际经验而分工的。由于我们的经验还很有限,难免会有缺点和错误,希望同志们批评指正。

本书在编写和定稿过程中,得到苏州医学院毒理教研组,上海第一医学院药理教研组、微生物教研组、病理教研组、卫生统计教研组、动物房,上海市机电一局和上海第二纺织医院职业病防治组、上海市高血压研究所、上海生理研究所、上海药物研究所等单位的大力支持,在此一并致谢。

《工业毒理学实验方法》编写组

一九七七年七月

编辑说明

一、本书是《工业毒理学》一书的续编，共分十四章及附录。主要内容分为4个部分：(1)绪论(第1章)；(2)常用毒理学的实验方法和现场调查方法(第2~5章，第7~12章)；(3)毒物特殊作用(致癌、致突变、致畸胎)实验方法的介绍(第6章)；(4)保证良好的毒理实验需建立的条件(第13~14章)。

二、本书采用的化学名词按《英汉化学化工词汇》，医学名词按《医学名词汇编》。一些新名词按目前专业书籍和期刊所沿用的名词。

三、常用单位和部分化学名词用符号表示：

kg 公斤 m 米

g 克 cm 厘米

mg 毫克 mm 毫米

μ 微米

μg 微克 l 升

ng 毫微克 ml 毫升

mg/kg 每公斤物质中某一有毒物的毫克数。用于计算剂量时，指每公斤体重给予某一药物或毒物的毫克数。其余单位类推。

mg/m³ 每立方米空气中有毒物质的毫克数。其余单位类推。

mg(某元素)/kg 每公斤物质中某一有毒物按其所含元素量计算的毫克数。如计算某一有机汞农药在食物中的污染量时，用mg Hg/kg时，即按其所含的汞量，而不按化合物本身的量。其余单位类推。用于计算剂量时，kg代表体重的公斤数。本计算方法也适

用于分子的阴离子或某一有机基团。

ppm 在空气中的气态物质按容积计，每一百万分空气中，某一物质的分数。

在固体或液体物内，是按重量计，每一百万分中，某一物质的分数。如mg/kg指一公斤(即一百万毫克)中的毫克数，与用ppm所表示的意义相同。

ppb 按容积计，每十亿分中，某一物质的分数。ppm比ppb大1,000倍。

mg/l 每升溶液中某一物质的毫克数或每升空气中某一物质的毫克数。

M 克分子 N 当量浓度

mM 毫克分子 mN 毫克当量浓度

mEq 毫克当量

LD(LC) 致死量(浓度)

LD₁₀₀(LC₁₀₀) 绝对致死量(浓度)或最大致死量(浓度)

LD₅₀(LC₅₀) 半数致死量(浓度)

MLD(MLC) 最小致死量(浓度)

LD₀(LC₀) 或 MTD(MTC) 最大耐受量(浓度)

ALD(ALC) 粗略致死量(浓度)

TD(TC) 耐受量(浓度)

Lim_{ac} 急性阈作用浓度

Lim_{cn} 慢性阈作用浓度

Ct 浓度与接触时间的乘积

LCt 引起动物死亡的浓度与接触时间的乘积

LCt₅₀ 引起半数动物死亡的浓度与接触时间的乘积

目 录

第一章 绪 论

第一节 工业毒理学实验的概述	1	五、联合毒性	8
第二节 毒理学实验的基本类型	2	六、毒性分级	9
一、剂量、时间和机体反应的关系	2	第四节 影响毒性的因素	11
二、急性、亚急性、慢性实验	3	一、毒物的特性	12
第三节 毒性表示方法	3	二、实验动物	14
一、毒性常用参数	3	三、染毒方式	16
二、毒作用带	5	四、环境因素	18
三、吸入中毒的危险性指标	6	参考文献	19
四、蓄积毒性和耐受性	7		

第二章 实 验 准 备

第一节 动物的准备	20	一、实验动物血液的采集	32
一、选择实验动物	20	二、实验动物尿液的收集	35
二、实验动物编号的标记方法	21	三、实验动物粪便的收集	37
三、实验动物的捕捉及固定	22	四、实验动物呼出气的收集	37
四、实验动物的麻醉	26	五、实验动物其它体液的采集	38
第二节 毒物的准备	27	六、实验动物组织匀浆的制备	38
一、毒物物理常数的测定和估算方法	27	第四节 毒理学实验的预备试验	39
二、剂型及溶剂(或助剂)	29	参考文献	39
第三节 动物生物材料的采集和制备	32		

第三章 染 毒 技 术

第一节 概述	40	一、腹腔注射	42
✓ 一、染毒途径的选择	40	二、肌肉注射	42
二、染毒工作中的自身安全	40	三、静脉注射	43
第二节 经口染毒法	41	四、皮下注射	43
一、灌胃	41	五、皮内注射	44
二、喂饲	42	第四节 吸入染毒法	44
三、经口滴入	42	一、动式吸入染毒法	44
四、经口吞咽	42	二、静式吸入染毒法	50
第三节 注射染毒法	42	三、面罩染毒法	53

四、吸入染尘法	53	二、化学物质经皮进入的研究方法	58
第五节 气管注入法	55	三、化学物质局部作用的研究方法	59
一、经喉插入法	55	第七节 其他	60
二、气管穿刺法	56	一、过敏反应实验	60
三、暴露气管穿刺法	56	二、光敏感反应实验	60
第六节 经皮(粘膜)染毒法	57	参考文献	61
一、动物皮肤的准备	57		

✓第四章 工业毒物的毒性鉴定

✓第一节 急性毒性的测定方法	62	第三节 急性联合毒性的测定	70
一、急性毒性测定的意义和内容	62	一、原理	70
二、半数致死量(或浓度)测定	62	二、方法	70
三、急性毒性的简易测定	66	三、注意事项	72
第二节 毒物蓄积的定量测定方法	66	第四节 急性阈浓度的测定	72
一、物质蓄积的研究方法	66	一、方法	72
二、功能蓄积的研究方法	68	二、操作步骤	72
三、蓄积率的测定方法	69	参考文献	73
四、按蓄积作用带评价蓄积作用的方法	70		

第五章 毒物作用的主要观察指标和方法

第一节 概述	74	三、防御反射测定法(爬杆试验)	92
一、毒性不明的新化学物质	74	四、记忆力测验	93
二、已投入生产,接触工人有一定反应的毒物	74	五、痛觉测定	95
三、为特殊研究目的而选用特定的指标	75	六、屈肌反射时测定	98
第二节 一般指标	75	七、阈下冲动综合能力测定	99
一、动物中毒症状	75	八、睡眠试验	100
二、死亡率及死亡时间	77	九、脑电图检查	102
三、体重及生长曲线	77	参考文献	113
四、食量	79	第四节 内分泌和生殖系统	114
五、体温	79	一、概述	114
六、脉搏	80	二、肾上腺重量测定	115
七、呼吸	82	三、肾上腺内抗坏血酸含量测定	116
八、游泳试验	84	四、肾上腺内胆固醇含量测定	117
九、转轮试验	85	五、嗜酸性白细胞计数	118
十、直线运动恢复时间试验	86	六、尿 17-酮类固醇测定	119
十一、静力紧张试验	86	七、尿 17-羟类固醇测定	121
十二、X线检查方法简介	87	八、基础代谢率测定	122
第三节 神经系统	90	九、血清蛋白结合碘测定	122
一、概述	90	十、阴道粘膜脱落细胞涂片检查	124
二、大鼠食饵运动反射实验	91	十一、繁殖功能的实验方法	125
		第五节 心血管系统	126

一、血压测量方法	126	第八节 肾功能试验	181
二、心电图检查	134	一、肾脏浓缩与稀释试验	181
三、脑血流图检查	147	二、肾小管功能测定(酚红排泄试验)	182
四、毒物对兔在体心脏作用的实验	149	三、肾小球滤过率和肾脏血流量的测定	182
五、毒物对离体蛙心作用的实验	150	四、尿常规的检查	183
六、循环血液总量的测定	150	第九节 免疫功能	185
七、血流速度的测定	151	一、概述	185
八、乙醚循环时间试验	152	二、菌体免疫凝集反应	185
九、毒物对血管的收缩或扩张作用的实验	152	三、补体结合试验	186
参考文献	153	四、与补体作用有关的其它免疫反应	186
第六节 血液系统	154	五、中性白细胞吞噬活性测定(体外法)	188
✓ 一、实验动物血象的特征及正常值	154	六、淋巴细胞转化试验	189
二、嗜碱性点彩红细胞检查	156	参考文献	190
三、变性珠蛋白小体检查	157	第十节 酶的测定	191
✓ 四、动物骨髓采取法及骨髓象特点	157	一、概述	191
五、血液中高铁血红蛋白的测定	161	二、血液胆碱酯酶活力测定	193
六、血液碳氧血红蛋白定量测定 (分光光度法)	162	三、血清乳酸脱氢酶同工酶测定(聚丙烯 酰胺凝胶圆盘电泳法)	196
七、全血中 δ -氨基乙酰丙酸脱水酶活力 (δ -ALAD)的测定	166	四、白细胞碱性磷酸酶活力测定	200
八、尿中 δ -氨基乙酰丙酸(δ -ALA)的测定 (对二甲氨基苯甲醛比色法)	167	五、红细胞 6-磷酸葡萄糖脱氢酶活力测定	203
九、尿中粪卟啉的定量测定	169	六、溶菌酶活力测定	205
参考文献	169	参考文献	206
第七节 肝功能试验	170	第十一节 毒物致敏性的鉴定法	207
一、概述	170	一、毒物致敏性鉴定的一般要求	208
二、血清谷丙转氨酶(SGPT)活力测定 (微量法)	171	二、迟发型变态反应鉴定方法	210
三、磺溴酞钠(BSP)排泄试验	173	三、速发型变态反应鉴定方法	213
四、尿中马尿酸测定	174	四、对接触致敏原工人的观察方法	215
五、血清异柠檬酸脱氢酶测定	175	参考文献	215
六、血清电泳蛋白测定	176	第十二节 其它指标的检查方法	216
七、放射性 ^{131}I 标记的四碘四氯荧光素	179	一、巯基(SH)的测定	216
八、溶酶体(Lysosomes)的观察	179	二、组织代谢率的测定	221
九、肝微粒体酶功能的测定	180	三、细胞组织化学检查	223
参考文献	180	四、活体染色	226
		参考文献	226

✓第六章 致癌、致畸、致突变化学物质的检测方法

第一节 概述	227	二、测试系统	230
第二节 化学物质致癌性的检测方法	228	三、结果评判	232
一、长期动物实验的一般原则	228	四、短期初筛	233

第三节 化学物质致突变性的检测方法	238	五、显性致死试验	244
一、致突变的机理	238	第四节 化学物质致畸胎性的检测方法	245
二、染色体畸变的数量和结构的变异	239	一、致畸胎性的机理	245
三、小鼠和大鼠骨髓细胞染色体畸变 检验法	240	二、影响致畸性的因素	245
四、人体染色体畸变检验法	241	三、致畸性的检测方法	248
		参考文献	254

第七章 毒物吸收、分布、转化、排泄及中毒机理的研究方法

第一节 概述	256	第三节 呼吸道滞留率的测定	260
一、研究的目的、意义	256	第四节 毒物在体内分布和转化的 研究方法	261
二、研究的主要内容	256	一、标记物的制备和投与	262
三、研究方法的特点	257	二、测试材料的处理和测量	263
四、研究的工具	258	三、毒物在体内动态的示踪研究	264
第二节 经皮吸收速度的测定	258	四、放射自显影术的应用	265
一、测定皮肤表面放射性标记化合物的 减少量	259	五、毒物在体内转化途径的研究	268
二、测定涂皮的标记化合物在组织或体液 中的放射性	259	第五节 半排出期的测定	269
三、离体兔耳涂布法	259	第六节 中毒机理的研究方法	271
		参考文献	273

第八章 生物材料中毒物及其代谢产物的分析方法

第一节 生物样品的选择	274	第七节 气相色谱法	294
一、血液	274	一、仪器结构	294
二、尿	275	二、气液色谱的使用简介	298
三、呼气	276	三、定性和定量分析方法	299
四、器官与组织	276	四、气相色谱对生物材料中毒物的测定	303
第二节 样品的处理	276	五、毒物的衍生物之制备及其在气相色谱 上的分析	305
一、有机物的破坏	277	第八节 离子选择性电极法	310
二、挥发性被测物质的分离	279	一、测量的原理	310
三、被测物的溶剂提取法	280	二、电极的类型	311
第三节 微量扩散分析法	281	三、电极的基本特性	312
第四节 分光光度法	284	四、离子浓度的测定方法	313
一、中性或微酸性有机化合物	284	五、氟离子选择电极在生物样品测定中的 应用	314
二、碱性有机化合物	284	第九节 尿中重金属的测定法	316
第五节 纸上层析法	287	一、尿中铅的测定	316
一、技术条件的选择	287	二、尿中汞的测定——F732 测汞仪法	317
二、一般技术操作(碱性毒物)	283	三、尿中铊的测定	318
第六节 薄层层析法	289	四、尿中镍的测定	319
一、技术条件的选择	290	五、尿中钼的测定	320
二、一般操作技术	291		

六、尿中砷的测定	321	参考文献	323
----------------	-----	------------	-----

第九章 病理形态学检查

一、动物处死的方法	325	四、病理组织标本的选取和固定	330
二、实验动物解剖组织特点及尸检方法	326	五、动物组织切片的制作方法	331
三、脏器系数和脏器含水量的测定	329	六、动物病理镜检	331

第十章 实验治疗

第一节 几种动物中毒模型制备方法	334	第二节 解毒药物疗效评价方法	341
一、中毒性肝炎模型的制备	334	一、药物的毒性试验和治疗剂量选择	341
二、中毒性肺水肿模型的制备	336	二、评价疗效的依据和指标	341
三、中毒性脑水肿模型的制备	337	三、实验治疗的具体研究项目	344
四、中毒性溶血性贫血模型的制备	338	参考文献	344
五、中毒性白细胞减少症模型的制备	339		

第十一章 车间空气中有害物质最高容许浓度的制订方法

第一节 概述	346	第四节 统一制订各环境介质中有害 物质最高容许浓度的方法	355
第二节 制订最高容许浓度的常用方法	346	第五节 制订最高容许浓度的其它一 些问题	356
一、寻找慢性阈浓度的实验设计	347	一、毒物联合作用的最高容许浓度制订 方法	356
二、安全系数的选择	349	二、致癌物质最高容许浓度的制订方法	357
第三节 制订最高容许浓度的快速方法	349	三、最高容许生物浓度的制订方法	358
一、根据经验公式加以估算	350	参考文献	359
二、揭示化学结构与生物作用的关系	351		
三、揭示慢性中毒发生的规律尽速找到慢性 阈浓度	353		
四、利用同系物的比较毒性	354		

第十二章 现场调查

第一节 现场调查的目的	360	三、调查毒物进入人体后剂量-反应的 关系	363
第二节 现场调查的一般方法	361	第三节 现场调查举例	365
一、调查接触的化学物质	361	参考文献	376
二、调查毒物致毒的可能性	362		

第十三章 毒理实验设计及常用统计方法

第一节 实验设计方法	377	三、平均致死量法(又名寇氏法)	391
一、确定实验内容和步骤	377	四、序贯法	392
二、动物分组	378	五、粗略半数致死量算法	392
第二节 几种 LD_{50} 的计算方法	379	第三节 常用统计方法简介	393
一、概率单位法(Probit method)	380	一、平均数	393
二、图解法(Litchfield and wilcoxon法)	382	二、标准差(S)	394

三、标准误($S_{\bar{x}}$ 均数标准误)	394	六、实验动物最小需要数的求法	397
四、 t 测验	394	参考文献	398
五、方差分析	395		

第十四章 实验动物的饲养管理

第一节 小鼠的饲养管理	399	第五节 猫的饲养管理	407
第二节 大鼠的饲养管理	400	第六节 狗的饲养管理	407
第三节 豚鼠的饲养管理	402	第七节 猴的饲养管理	409
第四节 兔的饲养管理	404	第八节 饲养人员的个人卫生	411

第一章 绪 论

第一节 工业毒理学实验的概述

随着我国社会主义革命和社会主义建设事业的蓬勃发展,不断有大量的化学物质应用于工农业生产和国防建设,同时在人民群众的吃、穿、用和医药等方面,化学合成物质的应用范围也越来越广。为了保护工农兵和人民群众的健康,需要在解决中毒的防治和防止环境污染等问题方面提供科学依据,以便制订一系列有效措施,故对各种化学物质的毒性、毒作用机理、在体内和外界环境中的转化过程及其规律,都有加以研究的必要。这就给毒理学提出了迫切而艰巨的任务。

毒理学按它的研究目的及所研究的化学物质的特性和用途,可分为工业毒理学、环境毒理学、食品毒理学、药物毒理学、军事毒理学、法医毒理学和放射毒理学等。

工业毒理学是研究工农业生产中所接触的毒物。它的根本任务是为改善生产环境的卫生条件服务,贯彻“预防为主”的方针。诸如选用无毒或低毒物质代替高毒化学物质,制订生产环境的卫生标准和采取各种有效的防护措施等,都需要工业毒理学工作者及时提供科学依据,因此工业毒理学实验的重点应放在对工业毒物的毒性的研究上,即研究毒物的剂量与机体反应之间关系,一般包括量和质两个方面——毒物作用的强度和作用的特点。当然,对于常见的、重要的工业毒物,还必须进行毒作用机理的深入研究,并为中毒的诊断和治疗提供依据。

毒理学工作一般应在一个化学物质处于实验室合成阶段即开始。首先用动物进行实验,以毒物对动物的毒性,估计对接触者的危

害程度,并初步提出预防措施。随着该化学物质的生产和使用范围的扩大,毒理学的研究内容也应随之而扩大和深入。当它开始投入生产或使用时,应在现场对接触者进行观察,检验防毒措施的效果,同时也可以验证动物实验资料,在预测对人的毒性方面是否可靠。因为动物和人对毒物的反应在质和量方面往往可以不完全相同。例如,动物实验表明乐果经皮毒性属低毒类,是一种较安全的农药。在多年的生产和使用中未见生产性中毒发生,证实了乐果是安全的,也不易经皮进入人体。但是临床观察发现,乐果对人的经口毒性明显高于实验动物,因此人的经口中毒危险性较大。本例还有力地说明,毒理学研究中动物实验与现场观察相结合有着重要意义。

毒理学在近百年来,积累了大量的资料,并已由一般性记述中毒表现的学科而逐步过渡为一门定量的科学。毒理学实验中广泛应用定量的方法和数理统计,因而可透过大量的事实,更深入地去发现毒物与机体相互作用的一些客观规律,如毒性与结构的关系,毒性与理化特性的关系,毒物代谢的规律等等。人们利用这些规律,就可以预示化学物质的毒作用强度和特征。不断总结毒理学资料,引出有关的规律,是毒理学研究工作的重要任务之一。

毒理学实验的方法与一般科学技术的发展及生物学、医学理论研究的进展密切相关。它们的成就可为毒理学实验开拓新的领域,提供更多的快速、有效的方法。现代化学分

析仪器,如气相色谱仪、高压液谱仪,紫外、红外分光光度计,质谱仪和原子吸收光谱仪等的应用,使毒物及其代谢产物的分离和鉴定达到了新的水平。放射性同位素技术对研究毒物的吸收、分布、转化和排出是极为有效和简便的方法。细胞亚显微结构、药物代谢酶(解毒酶)、细胞免疫及生命和遗传本质等理论的研究成就,促使毒理学研究深入到细胞和分子水平。免疫学和酶学的进展对阐明中毒机理,提供了方法和理论基础。

随着化学物质的广泛应用,保护人类环境的重要性愈显重要。化学物质的远期效应和对后代的影响,已逐步受到重视。毒物的致癌、致突变和致畸胎作用,已成为毒理学研究的重要组成部分。研究这些作用的方法也日趋完善。如何快速地确定毒物是否具有这些作用,正如快速测定毒物的毒性和快速制订卫生标准一样,都是急待解决的课题。快速实验方法的摸索,使工业毒理学适应于日

益增长的需要,有着重要意义。

如何正确地解释和应用毒理学实验资料,尤其是将动物实验资料用于估计毒物对人的毒性及作用特点,是一个极为复杂的问题。工业毒理学实验条件尽量模拟人接触毒物的情况,例如对吸入和经皮染毒实验的周密设计,选择合适的实验动物,对接触者的直接观察等,都是解决上述问题的重要途径。但如何更好地解决这一问题,仍是毒理学需要研究的重要课题。

工业毒理学面临的任务愈来愈多,要求愈高。因此要不断地改进和发展毒理学实验方法,从边缘学科中引进新的技术。同时也需要有关学科的工作者共同参与毒理学实验,例如生物化学、生理学、病理学、肿瘤学、遗传学、实验生物学和数学工作者等的参与,就可以较为容易和更有成效地完成这些任务。

第二节 毒理学实验的基本类型

毒理学实验往往根据需解决的问题,进行各种设计,很少按刻板的公式进行工作。这是毒理学实验灵活性的一面,强调这一点,有利于解决一些具体的实际问题。但是,为了便于各实验室间的资料能综合比较,也要求有些毒理学实验的条件趋向于固定。毒理学实验可按研究的基本因素(剂量*、时间和机体反应)之间关系或染毒时间的长短,分成几种基本类型。现分别介绍如下。

一、剂量、时间和机体反应的关系

在其他条件等同的情况下,毒物的剂量和作用时间是影响毒物对机体作用最为重要的两个因素。毒物的剂量不同,毒性反应发生发展的过程也不一样。同一剂量,一次给或多次给,毒性反应也有差异。毒理学实验

中往往将上述三个因素(剂量、时间和机体反应)固定一个,然后研究另外两个因素间的关系。这样可将毒理学实验分为三种类型。

1. 确定剂量与毒性反应的关系 这类实验最常见,其中毒物作用时间和观察时间是固定的,例如测定 LD_{50} 、 LC_{50} 和急性阈浓度等实验。

2. 确定毒物作用时间与反应的关系 这类实验一般用于研究毒性反应决定于浓度与时间乘积的一些毒物,如光气等。用公式表示,即 $W = c \cdot t$

式中: W ——毒性反应强度;

c ——毒物浓度; t ——毒物作用时间。

上述公式实际仅对于某些毒物在中等浓

* 吸入染毒的剂量是以吸入空气中含有毒物的浓度来估计的。为了避免繁琐,有些地方只提剂量,省略浓度。

度情况下才适用。但是,这类实验对于统一制订不同接触时间的最高容许浓度,或以短时间实验推算较长时间实验结果等,都是极有价值的。

3. 确定剂量与某反应发生时间的关系

研究毒物蓄积作用的实验属这种类型。固定观察的反应,如动物的死亡或出现某种指标的改变,然后每天给予几分之几的 LD_{50} (或 ED_{50}),直至某观察反应的出现。当然,这里作用时间在某种意义上是间断的,而当剂量低到一定程度,既定的观察反应可能不出现。

二、急性、亚急性、慢性实验

毒理学实验按染毒时间长短可分为急性、亚急性和慢性实验。在这种分类中,对不同实验的期限,特别是亚急性和慢性实验的期限,均无明确的规定。实验期限往往随研究的毒物性质和任务而不同,而且工业毒理学与其它毒理学等实验有显著区别。如它的实验期限一般比食品毒理学要短。因为工人接触工业毒物的时间总共不会超过寿命的 $1/3$,而每个人对食物的需要是终身的。

1. 急性实验 指一次染毒的实验。在吸入和经皮染毒时,一般都应规定染毒时间,

而在经口、腹腔注射等途径染毒时,只规定对反应的观察期限。在测定上呼吸道刺激阈时,一般动物只暴露 1 分钟至数十分钟;测定 LC_{50} 时暴露 2 小时或 4 小时;在确定一次最大耐受浓度时,暴露时间可延长至 6 小时以上,但一般不超过 8 小时。急性实验主要用来确定毒性上限,即致死剂量或浓度;了解毒物对皮肤、粘膜和眼有无刺激作用;复制急性中毒模型,观察急性中毒表现和经过等。

2. 亚急性实验 指多次重复染毒,染毒期限一般在 1~4 周。一次的染毒剂量应不引起实验动物死亡,但可致明显的中毒。亚急性实验主要用于测定蓄积毒性,寻找中毒诊断指标,研究毒物的代谢、探讨中毒机理和观察致敏作用等。由于它介于急性或慢性实验之间,实验期限比较适中,所以目前研究慢性毒作用的一些快速实验方法也往往设计成亚急性实验。

3. 慢性实验 指多次反复染毒持续 2~6 个月或更长时间甚至动物的整个生命期的实验。主要用来测定毒性的下限,如慢性阈作用剂量和无反应剂量,为制订卫生标准提供科学依据。此外,还有研究毒物的某些特殊作用,如致癌、致突变和影响生殖能力等的实验。

第三节 毒性表示方法

一、毒性常用参数

毒理学实验首先要揭示某化学物质的毒性大小及对接触者潜在的危险程度等,即毒物在环境中多高的浓度或多少量进入体内可致中毒。为了对上述问题作出可靠的结论,毒物的毒性必须用统一的指标或参数表示,而且它们在量的概念上必须具备同一性和等效性,实验的方法亦应力求统一。表示毒性的常用参数有如下几种:

1. LD_0 (LC_0)——最大耐受剂量 (浓度),表示在某实验总体的一组受试动物中,不引起死亡的最大剂量 (浓度)。

2. LD (LC) 和 ALD (ALC)——致死剂量 (浓度) 和大致致死剂量 (浓度),乃笼统地表示可引起受试动物死亡的剂量 (浓度)。

3. MLD (MLC)——最小致死剂量 (浓度),表示在某实验总体的一组受试动物中,仅引起个别动物死亡的剂量 (浓度),而当剂量低一档时就不再引起动物死亡。

4. LD_{50} (LC_{50})——半数致死剂量 (浓

度),表示在某实验总体的受试动物中,引起半数死亡的剂量(浓度)。

5. LD_{100} (LC_{100})——绝对致死量(浓度),表示在某实验总体中引起一组受试动物全部死亡的最小剂量(浓度)。

6. 阈浓度——引起机体发生某些反应的最小浓度,例如引起上呼吸道刺激、条件反射改变、出现麻醉作用和某些生化或病理形态改变的阈浓度等。一次染毒所得的阈浓度称为急性阈浓度(Lim_{ac}),长期多次反复染毒所得的阈浓度称为慢性阈浓度(Lim_{ch})。

7. 无反应浓度(EC_0)——不引起机体发生所观察的反應的最大浓度。它的高一档浓度就是阈浓度。

目前急性毒性通常用 LD_{50} (或 LC_{50}) 来

表示。 LD_{50} 数值愈大,毒性愈小;反之则毒性愈大。由于 LD_{50} 是根据实验资料,经数理统计求得,具有较高的精确性和较小的抽样误差(指与其他毒性参数相比,而不是指 LD_{50} 本身),并可以计算出一定概率的可信限范围。 LD_{50} 值的重现性较 LD_0 和 LD_{100} 等为好。从剂量-反应的曲线,可见到在 LD_{50} 附近曲线比较陡,表明剂量与反应的关系比较灵敏,而在 LD_0 和 LD_{100} 附近,剂量与反应的关系就不那么灵敏。我们用雌性小鼠在严格控制等同的条件下,一天内重复 5 次测定了苯腈腹腔注射的急性毒性,观察 1 周,用机率单位法分别计算每次实验的 LD_{50} 、 LD_{95} 及 LD_5 。结果表明各次实验的 LD_{50} ,其变动比 LD_5 及 LD_{95} 为小(见表 1-1)^[2]。

表 1-1 5 次测定苯腈 LD_{50} 的毒性参数

毒性参数	实 验 次 别					参 数 变 异 情 况			
	1	2	3	4	5	$\bar{x}$	s	S_x	C.V.(%)
LD_{95}	710	560	800	720	700	698	86.7	38.8	12.4
LD_{50}	380	365	460	390	440	407	40.9	18.3	10.0
LD_5	205	240	270	215	280	242	32.9	14.5	13.6

注:剂量单位均以 mg/kg 表示

LD_{100} (或 LD_{95}) 和 LD_0 (或 LD_5) 往往随受试动物个体差异的影响较大。一组动物中只要存在 1~2 只特别敏感的动物,则 LD_0 就要被压低,若有 1~2 只特别不敏感的动物,则 LD_{100} 就会偏高。因此随着每组动物数增加,组内存在这两种动物的可能性增加,则 LD_0 和 LD_{100} 将随之而变动,而对 LD_{50} 的影响较小,因为它是反映某实验总体动物的中等敏感性,所以相对地比较稳定。

在毒理学实验中确定致死或非致死剂量比较容易,而欲确定有或无作用的剂量,即阈作用剂量就比较困难,以致有人怀疑阈剂量是否存在。这主要因为观察反应的指标愈来愈灵敏,原使用钝感指标看不到的反应可因改用敏感指标而表现出来,“无反应水平”只具有相对意义;其次关于致敏作用目前尚难

以确定阈值。事实上,生理学和药理学积累了大量事实说明阈值是客观存在的,如神经刺激公认存在阈值;眼、鼻、舌的感觉阈是明显的;麻醉剂只有达到一定浓度才能发生作用等等。因此,的确不存在抽象的阈剂量,只有具体的,引起某种反应,即某种观察指标改变的阈剂量。随着观察指标变得敏感,阈剂量将不断降低,但这决不能作为否定阈值存在的根据。不过另一方面也说明“阈剂量”“阈浓度”概念的同-性或等效性,较有关“致死量”的概念差得多。同一毒物由于观察指标的不同,所测得的阈值可能差别较大(见表 11-1)。此外,目前测定阈值的通用方法(详见第十一章第二节)不能提供阈值的可信限范围,不能估计误差,缺乏概率的概念,所以阈值的可比性较差,因此用到阈剂量作为毒性