- 过量 15 例临床分析 [J]. 中国肿瘤临床, 2013, 40 (24): 1502-1505.
- [22] Siemianowski L A, Rosenheck J P, Whitman C B. Nalbuphine-induced psychosis treated with naloxone [J]. *Am J Health Syst Pharm*, 2014, 71 (9): 717-721.
- [23] 林华, 谭光林. 纳洛酮抢救急性海洛因中毒 156 例疗效分析 [J]. 西部医学, 2012, 24 (11): 2201-2203.
- [24] Raith K, Hochhaus G. Drugs used in the treatment of opioid tolerance and physical dependence: a review [J]. *Int J Clin Pharmacol Ther*, 2004, 42 (4): 191-203.
- [25] Solhi H, Mostafazadeh B, Vishteh H R, et al. Benefit effect of naloxone in benzodiazepines intoxication: findings of a preliminary study [J]. *Human and Experimental Toxicology*, 2011, 30(7): 535-540.
- [26] Yuan W, Williams B N. Use of naloxone in the treatment of benzodiazepine poisoning [J]. *Human and Experimental Toxicology*, 2012, 31 (4): 406-407.
- [27] 赫伟, 刘庆尧. 纳洛酮治疗抗精神病药物急性中毒临床体会 [J]. 现代医药卫生, 2007, 23 (3): 361-362.
- [28] Ari M, Oktar S, Duru M. Amitriptyline and tianeptine poisoning treated by naloxone [J]. *Human and Experimental Toxicology*, 2010, 29 (9): 793-795.
- [29] 吴作军. 纳洛酮治疗地芬诺酯中毒 80 例临床分析 [J]. 临床医学, 2010, 30 (8): 85-86.
- [30] Calcaterra S, Glanz J, Binswanger I A. National trends in pharmaceutical opioid related overdose deaths compared to other substance related overdose deaths: 1999—2009 [J]. *Drug and alcohol dependence*, 2013, 131 (3): 263-270.
- [31] Tsze D S, Dayan P S. Treatment of guanfacine toxicity with naloxone [J]. *Pediatric Emergency Care*, 2012, 28 (10): 1060-1061.
- [32] 王炳今. 大剂量纳洛酮治疗急性乙醇中毒疗效观察 [J]. 吉林医学, 2012, 33 (17): 3651.
- [33] 罗治平. 急性乙醇中毒患者纳洛酮应用剂量的相关影响因素分析 [J]. 中国临床研究, 2014, 27 (7): 788-790.
- [34] Sinclair J D. Evidence about the use of naltrexone and for different ways of using it in the treatment of alcoholism [J]. *Alcohol and alcoholism*.
- [35] 冯小妹. 纳洛酮在有机磷中毒治疗中的临床效果观察 [J]. 中国当代医药, 2013, 20 (30): 80-81.
- [36] 朱玉林. 血液灌流与大剂量纳洛酮联合治疗阿维菌素中毒 79 例临床观察 [J]. 中国医药指南, 2014, 12 (20): 196-197.
- [37] 袁绍伦, 姜辉, 王涛, 等. 纳洛酮治疗急性氟乙酰胺中毒 9 例 [J]. 人民军医, 2001, 44 (1): 32-33.
- [38] 程志刚, 谢国民, 周贵龙. 纳洛酮抢救急性中毒患者的效果及对患者清醒时间的影响 [J]. 药物流行病学杂志, 2014, 23 (5): 292-294.
- [39] Patterson R A, Parone D A. Use and efficacy of nebulized naloxone in patients with suspected opioid intoxication [J]. *The American Journal of Emergency Medicine*, 2013, 31 (3): 585-588.

(上接第 255 页)

危害风险较高, 合格率低; 危害风险与作业场所的防护措施有较大的关系, 完善防护措施可以明显降低职业性噪声危害。

现有的对港口的调查研究大多数是对作业人员的健康情况调查及工作场所职业危害的全方面调查, 很少针对工作人员的工作岗位的噪声接触现状进行具体的统计分析。本次调查针对集装箱码头的噪声危害作业岗位, 根据噪声特点进行了全面的调查, 使集装箱码头的噪声危害防控更有针对性。如: 堆高机和正面吊驾驶室部分驾驶员工作时打开窗户或窗户损坏的情况下, 会使噪声超标接触。叉车驾驶室基本没有进行封闭, 且操作员距离发动机很近, 大部分超过了 85 dB (A)。维修作业中打磨、切割作业噪声均较高, 有的噪声声压级 ≥ 100 dB (A)。公用工程的现场噪声虽然较高, 但作业人员在公用工程现场停留的时间很短, 且人数不多。针对以上问题, 集装箱码头应做好管理工作, 及时发现并改正出现的问题^[3]。

本次调查表明, 集装箱码头噪声危害较重, 必须采取措施降低噪声危害。首先, 应采用降噪设施, 对产生高噪声的设备, 如空压机、污水处理站泵、焊装机、打磨机等完善隔声降噪设施, 加强设备维护保养、维护润滑。其次, 制定并实施听力保护计划^[9]。

对高噪声工作场所及岗位实施噪声监测、建立噪声警示牌、听力测试与评定、佩戴符合卫生要求的防护耳塞或耳罩等措施。第三, 严格执行接触噪声作业人员的健康监护和健康教育, 对接噪工人进行上岗前、在岗期间及离岗时体检。

参考文献:

- [1] 王开颜. 探讨提高集装箱码头作业效率的因素 [J]. 科技视界, 2014, 26: 140-144.
- [2] 顾阳. 中国仍将引领全球集装箱行业发展 [N]. 经济日报, 2014-04-21.
- [3] 杨森, 孙苑菡, 杜文霞, 等. 某集装箱运输港区职业卫生调查与评价 [J]. 中国卫生工程学, 2013, 12 (4): 267-271.
- [4] 温翠菊, 李小亮, 冯本秀, 等. 珠三角地区集装箱港口职业病调查及关键控制措施分析 [J]. 中国卫生工程学, 2011, 10 (3): 219-221.
- [5] 李丽, 管辉岳, 李宁, 等. 惠州市码头职业病危害调查及防控策略分析 [J]. 河南预防医学杂志, 2014, 25 (4): 341-342.
- [6] 李旭东, 邹剑明, 苏世标, 等. 储运码头职业病危害关键控制点及防控措施分析 [J]. 中国职业医学, 2013, 40 (2): 131-134.
- [7] 盖广波. 2012 年山东、天津、上海储运码头职业卫生现状调查 [J]. 预防医学论坛, 2014, 20 (8): 618-619.
- [8] 陈青松, 李涛, 黄汉林, 等. 受检者依从性对个体噪声暴露检测的影响及质量控制 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2010, 28 (3): 208-210.
- [9] 程晓婷, 张榕, 于宁. 职业噪声损伤防护现状与进展 [J]. 中国医学文摘 (耳鼻咽喉科学), 2014, 29 (5): 301-303.

稻纵卷叶螟颗粒体病毒母药对人胚肺成纤维细胞的毒性

Cytotoxicity of *cnaphalocrocis medinalis* granulosis virus in WI38 cells

谢广云, 王全凯, 王安娜, 刘红梅, 许建宁

(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: 选用常规培养至22代人胚肺成纤维细胞(WI38)进行试验, 分别将200个WI38细胞/瓶的密度接种于30培养瓶内, 设阴性对照组、对照组和染毒组。WI38细胞与稻纵卷叶螟颗粒体病毒母药作用1 h后, 对照组WI38细胞置于37℃、5%CO₂培养箱中培养14 d可见细胞集落的形成; 阴性对照组、对照组、染毒组的细胞集落形成率分别为1.25%、5.15%、0.5%, 染毒组与对照组比较细胞集落形成率显著降低($P < 0.05$)。提示稻纵卷叶螟颗粒体病毒母药对WI38细胞具有细胞毒性作用。

关键词: 稻纵卷叶螟颗粒体病毒; 人胚肺成纤维细胞(WI38); 细胞毒性

中图分类号: R994

文献标识码: B

文章编号: 1002-221X(2015)04-0273-03

DOI: 10.13631/j.cnki.zgggyx.2015.04.012

稻纵卷叶螟是一种远距离迁飞性水稻害虫, 幼虫在水稻抽穗期取食嫩叶或剑叶, 能够对水稻高产、稳产构成严重威胁^[1,2]。稻纵卷叶螟颗粒体病毒分属杆状病毒科, 是一种双链DNA包涵体病毒, 其对自然环境有较高的抵抗力, 可以通过稻纵卷叶螟幼虫活体增殖大量获得, 经过适当的制剂加工即可生产出稻纵卷叶螟颗粒体病毒杀虫剂, 用于水稻害虫的防治^[3]。

本研究以100亿OB/ml(1 ml染毒样品中有100亿个稻纵卷叶螟颗粒体病毒)稻纵卷叶螟颗粒体病毒母药为研究对象, 人胚肺成纤维细胞(WI38细胞)为试验模型, 采用平板成斑效率试验方法, 初步探讨稻纵卷叶螟颗粒体病毒母药对WI38细胞毒性作用, 为微生物农药安全性评价和职业接触人群的健康评价提供科研数据。

1 材料和方法

1.1 主要试剂与材料

1.1.1 试剂 100亿OB/ml稻纵卷叶螟颗粒体病毒母药, 购于扬州绿源生物化工有限公司。胰蛋白酶(Trypsin 0.25%, Amresco公司)、MEM培养基(Hyclone公司)、胎牛血清(fetal bovine serum, FBS天津川页生化制品公司); Tris-HCl、Na₂EDTA、二甲基亚砷(DMSO)均购自Sigma公司; 姬姆萨染液原液(北京化工厂)等。

1.1.2 仪器 Olympus IX50 荧光倒置显微镜, KODAK

DC290数码相机, CO₂培养箱(REVCO, USA)、超净工作台(天津泰斯特厂)、倒置显微镜(上海永亨光学仪器公司)、普通光学显微镜(Olympus)等。

1.2 细胞来源及形态观察

WI38细胞株, 购于北京协和细胞资源中心, 第22代引进, 为人二倍体细胞系, 源自妊娠3个月的正常胚胎肺细胞。本实验室WI38细胞常规培养, 2~3 d换培养基1次, 5~7 d传代1次, 于含10%胎牛血清的MEM培养液中, 置于5%CO₂的培养箱中贴壁生长。用倒置显微镜观察WI38细胞的增殖情况。

1.3 平板成斑效率试验检测方法

试验设阴性对照组、对照组、染毒组。将WI38细胞按200个/瓶接种于30个培养瓶内, 置37℃、5%CO₂培养箱中培养24 h后弃去培养液, 用PBS洗细胞2次, 各取10瓶/皿依次加入无血清MEM培养液(阴性对照组)、含血清MEM培养液(对照组)和1×10⁶单位稻纵卷叶螟颗粒体病毒母药(染毒组)CO₂培养箱中培养, 三组同步进行; WI38细胞与受检样品作用1 h后, 用PBS洗涤细胞2次, 加入含10%小牛血清的MEM培养液, 置CO₂培养箱中继续培养, 间隔3 d换液1次, 直至对照组细胞集落至少为25个时(7、10、14 d)实验结束。培养结束后, 用甲醇固定10~20 min, Giemsa染色5~10 min, 记录细胞集落形成数, 按以下公式计算集落形成率和相对集落形成率。

集落形成率 = (集落数/接种细胞数) × 100%

相对集落形成率 = (剂量组集落形成率/空白或溶剂对照组集落形成率) × 100%

1.4 数据统计

采用SAS13.0统计软件进行卡方检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞集落形成时间

细胞培养结束后, 用甲醇固定、Giemsa染色、计数细胞集落形成数, 对照组WI38细胞置于37℃、5%CO₂培养箱中培养14 d可见细胞集落的形成, 见图1(封三)。

2.2 细胞集落形成率

阴性对照组、对照组、染毒组的细胞集落形成率分别为1.25%、5.15%、0.5%。染毒组与对照组比较显著降低($P < 0.05$), 见表1。

3 讨论

病毒杀虫剂作为微生物农药的一种, 宿主特异性强, 能在害虫群内传播, 形成流行病。病毒侵入昆虫后核酸在宿主

收稿日期: 2015-03-09; 修回日期: 2015-07-03

作者简介: 谢广云(1966—), 女, 硕士, 主任技师, 研究方向: 毒理学。

通讯作者: 许建宁, 博士, 研究员, 硕士生导师, 研究方向: 毒理学。

表1 100亿 OB/ml 稻纵卷叶螟颗粒体病毒母药平板成斑效率试验结果(集落细胞数)

组别	1号瓶	2号瓶	3号瓶	4号瓶	5号瓶	6号瓶	7号瓶	8号瓶	9号瓶	10号瓶	平均集落数	集落形成率(%)
阴性对照组	11	2	1	5	3	3	0	0	0	0	2.5	1.25
对照组	0	3	5	7	6	19	16	5	20	22	10.3	5.15
染毒组	5	3	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0.5

注:每瓶细胞数均为200。

细胞内进行病毒颗粒复制,产生大量的病毒粒子,促使宿主细胞破裂,导致昆虫死亡。同时具有潜伏于虫卵,传播给后代,具有对非靶标生物安全、对人畜无害、不污染环境、专一性强、在自然界中较稳定、害虫不易产生抗药性等优点。缺点是施用效果受外界环境影响较大,宿主范围窄^[4-6]。目前有20多个国家对30多种病毒杀虫剂进行登记、注册、生产应用,国内已有20多种进入大田试验^[4]。我国目前生产的杆菌属颗粒体病毒杀虫剂主要用于农业和林业生产,防治水稻、蔬菜、棉花、茶叶等病虫害^[7-9]。

农业部已于2012年颁布《微生物农药毒理学实验准则》,为我国编制先进、规范的,并能与国际接轨的微生物农药检测方法做出了积极的努力。该《准则》要求病毒类微生物农药需进行细胞培养试验才能登记、注册。因此国内毒理学者急需建立微生物农药相应的细胞毒性评价、感染性评价、细胞转化试验检测方法。

本研究结果显示,未染毒的WI38细胞培养至14d可见细胞集落的形成,100亿OB/ml稻纵卷叶螟颗粒体病毒母药对WI38细胞有毒性作用。WI38细胞株来源于妊娠3个月的正常胚胎肺脏组织,为人胚肺成纤维细胞,呈梭型,具有贴壁及延展的特性。本研究显示WI38细胞进行试验,培养、收获数量相对较少,且细胞出集落时间相对较长。因此WI38细胞是否适用于病毒性微生物农药细胞培养试验中相应细胞的

毒性及感染性评价,还需在今后的工作中进一步验证。

(本研究由中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所工作经费[2012年]资助)

参考文献:

- [1] 龚志敏,刘华荣,王漫波,等.棉铃虫核型多角体病毒等药剂防治稻纵卷叶螟试验[J].广西植保,2011,24(3):22-23.
- [2] 唐博,贤振华.稻纵卷叶螟发生动态及防治技术研究进展[J].广西植保,2008,21(4):24-26.
- [3] 李颖,孙兴鲁,浦冠勤.昆虫杆状病毒杀虫剂的研究进展[J].中国蚕业,2010,31(4):12-14.
- [4] 袁兵兵,张海青,陈静.微生物农药研究进展[J].山东轻工业学院学报,2010,24(1):45-49.
- [5] 戴建青,韩诗畴,杜家纬.小菜蛾化学信息素研究进展及应用概况[J].热带作物学报,2010,31(7):1218-1226.
- [6] 朱玉坤,尹衍才.微生物农药研究进展[J].生物灾害科学,2012,35(4):431-434.
- [7] 徐健,刘琴,殷向东,等.新型生物农药病毒增强Bt的研制与应用效果[J].江苏农业科学,2006,3:72-75.
- [8] 冯振群,程清泉,秦启联.小菜蛾颗粒体病毒杀虫剂研究与应用进展[J].现代农业科技,2009,8:144-146.
- [9] 宋韶杉,杨聪慧,张爱兵.松毛虫的生物防治[J].生物学通报,2014,49(5):1-2.

1, 3, 3-三硝基氮杂环丁烷对大鼠亚急性毒性的研究

Study on the subacute toxicity of 1, 3, 3-trinitroazetidine in rats

张盼红, 高俊宏, 刘志永, 王鸿, 卢青, 岳红, 王延琦, 张双宝

(兵器工业卫生研究所, 陕西 西安 710065)

摘要:选取40只SPF级SD大鼠,雌雄各半,参照《化学品毒性鉴定技术规范》(2005版)进行28天1,3,3-三硝基氮杂环丁烷(TNAZ)经口毒性试验。结果88mg/kg剂量染毒组大鼠体重增长缓慢,食物利用率降低;雄性鼠脑、肺、肝、脾、睾丸脏器系数升高,雌性鼠脑、肺、肝脏器系数升高;病理检查脑、肝、肺、肾出现轻微病变。提示TNAZ对SD大鼠的脑、肺、肝、脾、睾丸具有一定的损伤作用。

关键词:1,3,3-三硝基氮杂环丁烷;亚急性毒性

中图分类号:R994.3 **文献标识码:**B

文章编号:1002-221X(2015)04-0274-04

DOI:10.13631/j.cnki.zggyyx.2015.04.013

1,3,3-三硝基氮杂环丁烷(TNAZ)是一种白色晶体,熔点101℃,易溶于丙酮、甲醇、乙醇、乙酸乙酯、四氯甲烷和环己酮,不溶于水、甲苯、乙醚。随着广泛应用,人们开始关注其对职业接触人群的危害,由于国内尚无系统的TNAZ毒性资料,本研究旨在了解TNAZ的毒性及作用机制,为亚慢性毒性研究提供毒理学依据。

1 材料与方法

收稿日期:2015-02-13;修回日期:2015-05-18

作者简介:张盼红(1985—),男,医师,硕士研究生,研究方向:职业毒理学。

1.1 材料

1.1.1 实验动物 健康 SPF 级 SD 大鼠 40 只, 雌雄各半, 体重 (160±15) g, 由西安交通大学实验动物中心提供, 生产许可证号: XK (陕) 2007-001。

1.1.2 受试物 TNAZ (纯度>99%) 由西安近代化学研究所提供。

1.1.3 主要仪器 全自动生化分析仪 (Beckman AU480); 血液分析仪 (Sysmex XT-1800i), 尿液分析仪 (Sysmex UF-500i)。

1.2 方法

1.2.1 试验方法 按照卫生部 2005 版《化学品毒性鉴定技术规范》, 大鼠适应性饲养 1 周后按体重随机分为 4 组, 每组 10 只, 雌雄各半。TNAZ 用 4% 淀粉溶液配制所需质量浓度, 由于受试物 LD₅₀ 为 880 mg/kg, 设 22、44、88 mg/kg 3 个剂量组和 1 个对照组, 染毒剂量分别为 LD₅₀ 的 1/40、1/20、1/10, 对照组给予等体积 4% 淀粉溶液。染毒方法为经口灌胃, 每天 1 次, 连续 28 d。试验期间动物单笼饲养, 自由进食及饮水。

1.2.2 观察指标 每天观察动物的一般情况, 包括外观体征和行为活动、精神、毛色、粪便性状、体重变化及其他中毒症状和死亡情况, 每周称量体重 1 次, 作为调整染毒剂量的依据, 记录进食和剩余食量, 计算食物消耗量。实验结束时行尿常规检查, 包括潜血、白细胞、亚硝酸盐、pH、胆红素、蛋白质、葡萄糖、酮体、尿胆原及尿比重; 血常规检查包括白细胞 (WBC) 计数及分类、血红蛋白 (Hb)、红细胞计数 (RBC)、血小板 (PLT) 等; 血液生化指标包括天门冬氨酸

氨基转移酶 (AST)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、血清白蛋白 (ALB)、总胆固醇 (CHOL)、总胆红素 (TBIL)、肌酐 (CRE)、总蛋白 (TP)、血糖 (GLU)、尿素氮 (BUN) 等; 脏器系数, 包括脑、心、肺、胃、胸腺、肝、肾、脾、肾上腺、睾丸和附睾 (雄性)、子宫和卵巢 (雌性); 并对上述所有脏器进行病理组织学检查。

1.3 统计分析

数据采用 SPSS13.0 统计软件包进行分析。计量资料统计描述采用 $\bar{x} \pm s$, 均数比较用方差分析, 两两比较采用 Dunnett' *t* 检验, 检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 大鼠一般情况

染毒一周后, 88 mg/kg 染毒组部分大鼠毛色暗淡、蓬松, 个别动物染毒后出现短暂肢体扭曲现象。其余剂量组未发现明显异常, 至染毒结束各剂量组均未出现死亡。88 mg/kg 染毒组大鼠体重增长幅度缓慢, 各染毒组食物消耗量随染毒时间延长呈下降趋势, 其中 88 mg/kg 染毒组雄性与对照组比较显著降低 ($P<0.05$)。

2.2 血液学指标

88 mg/kg 染毒组雌性大鼠 AST、ALT、GLU 均下降, 与对照组比较差异有统计学意义 ($P<0.05$, $P<0.01$); 44 mg/kg 染毒组雌性大鼠 TP、ALT 均下降, 雄性大鼠 ALB、TP 均下降, GLU 上升, 与对照组比较差异有统计学意义 ($P<0.05$, $P<0.01$); 22 mg/kg 染毒组雌性大鼠 GLU、ALT 降低, 雄性 ALB、TP 降低显著 ($P<0.05$)。见表 1。

表 1 TNAZ 28 d 经口毒性试验对大鼠血液生化指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)

性 别 (mg/kg)	剂 量 (只)	动物数	ALB (g/L)	TP (g/L)	BUN (mmol/L)	GLU (mmol/L)	TBIL (μmol/L)	CRE (μmol/L)	AST (U/L)	CHOL (mmol/L)	ALT (U/L)
雄	0	5	31.84±1.01	62.20±2.28	6.98±3.90	12.14±0.90	0.40±0.55	7.00±15.65	195.00±90.08	1.63±0.26	89.80±86.10
	22	5	30.18±0.47*	56.80±1.30*	7.80±0.72	11.42±1.19	0.80±0.45	0	167.80±73.98	1.54±0.34	67.40±43.50
	44	5	29.54±0.77*	55.20±1.30*	8.76±0.61	19.24±4.03**	1.00±0.00	1.40±1.14	59.60±14.29	1.80±0.34	37.80±5.54
	88	5	31.62±0.29	63.20±2.59	7.14±0.85	13.20±1.74	1.40±1.14	0	121.80±10.11	1.80±0.34	59.60±14.29
雌	0	5	34.50±1.99	64.00±3.39	5.18±4.75	14.30±4.29	0.60±0.55	0	144.20±36.05	1.83±0.35	48.80±7.33
	22	5	33.28±1.45	62.60±2.97	7.12±0.86	9.62±0.99*	1.00±0.00	0	135.80±11.26	1.70±0.23	35.40±3.65**
	44	5	31.98±2.49	57.80±5.12*	8.72±0.98	16.00±2.73	0.80±0.45	10.20±22.81	116.60±13.16	1.61±0.44	35.20±4.60**
	88	5	33.74±1.26	66.40±1.14	9.00±0.91	9.46±1.08*	1.00±0.00	0	102.20±5.81**	1.96±0.17	34.40±0.55**

注: 与对照组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

2.3 尿常规

22、88 mg/kg 染毒组少数大鼠蛋白 (PRO) 阳性。其余各剂量组大鼠各项指标未见异常变化。

2.4 脏器系数

88 mg/kg 染毒组雌性大鼠脑、肺、肝、肾上腺系数升高, 雄性大鼠脑、肺、肝、脾、肾、肾上腺、睾丸和附睾系数升高, 胸腺系数降低, 与对照组比较差异有统计学意义 ($P<$

0.05)。44 mg/kg 染毒组雌性大鼠肺、肝、肾上腺系数升高, 雄性大鼠肾、肾上腺系数升高 ($P<0.05$)。22 mg/kg 染毒组雌性大鼠脑、肺、肝、肾上腺系数升高, 雄性大鼠脑、肾上腺系数升高 ($P<0.05$)。见表 2。

2.5 病理组织学检查

染毒结束后, 对大鼠的脑、心、肺、胸腺、肝、脾、肾、肾上腺、睾丸、附睾、子宫、卵巢进行病理组织学检查。肉