

饮水中甲萘威短期暴露健康影响研究

王超, 石莹, 张少平, 孔建, 阮鸿洁, 张丽霞, 治洪, 张明, 张宏伟, 李立

中国疾病预防控制中心环境与健康相关产品安全所, 北京 100021

摘要: **目的** 针对饮水中污染物甲萘威的短期暴露健康参考值开展验证工作。 **方法** 选择健康 Wistar 大鼠 126 只, 雌雄各半, 随机分为 7 组, 1 个阴性对照组和 6 个甲萘威受试物组, 以玉米油为阴性对照, 对 Wistar 大鼠给予浓度为 0、5、10、20、40、80、160 mg/(kg·d) 的甲萘威。每周称量大鼠体重, 于染毒后 8、15、29 d 每组分别取 6 只大鼠, 雌雄各半, 检查血生化指标, 解剖后取肝、肾、脾、肺、胸腺、脑进行组织病理学检查。 **结果** 大鼠体重及脏器比指标中, 只有染毒 28 d 后 160 mg/(kg·d) 剂量组肾脏比与阴性对照组相比显著降低, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。大鼠血清酶学指标中, 只有染毒 7 d 后 AST 在 80 mg/(kg·d) 剂量组与阴性对照组相比显著降低, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。大鼠血常规指标中, 染毒 7 d 后, 与阴性对照组相比血红蛋白在 20、40、160 mg/(kg·d) 剂量组显著升高 (均 $P<0.05$); 染毒 14 d 后, 白细胞计数在 5、10、160 mg/(kg·d) 剂量组、平均红细胞血红蛋白含量在 160 mg/(kg·d)、平均血小板体积在 10、160 mg/(kg·d)、平均红细胞血红蛋白浓度在 160 mg/(kg·d)、血小板分布宽度在 5、80 mg/(kg·d) 剂量组, 均与阴性对照组相比显著增加且差异有统计学意义 (均 $P<0.05$)。染毒 28 d 后, 与阴性对照组相比白细胞计数在 20、80 mg/(kg·d)、平均红细胞血红蛋白浓度在 80、160 mg/(kg·d) 剂量组中均显著增加 (均 $P<0.05$)。在乙酰胆碱酯酶活性指标中, 与阴性对照组相比, 染毒 7 d 后, 红细胞乙酰胆碱酯酶活性在 40 mg/(kg·d) 剂量组显著降低; 染毒 14 d 后, 红细胞乙酰胆碱酯酶活性在 80 mg/(kg·d) 剂量组显著升高, 脑组织乙酰胆碱酯酶活性在 160 mg/(kg·d) 剂量组显著降低; 染毒 28 d 后, 脑组织乙酰胆碱酯酶活性从 20 mg/(kg·d) 剂量组开始显著降低, 红细胞乙酰胆碱酯酶活性在 40 mg/(kg·d) 剂量组显著升高, 差异均有统计学意义 (均 $P<0.05$)。组织病理学指标在染毒 7、14、28 d 后各剂量组与阴性对照组相比均未有明显变化 (均 $P>0.05$)。 **结论** 大鼠短期经口摄入甲萘威无可见有害作用水平 (no observed adverse effect level, NOAEL) 为 10 mg/(kg·d), 利用其所推导的甲萘威短期暴露健康风险健康参考值为 1 mg/L, 与美国 EPA 推荐值相同。

关键词: 甲萘威; 短期暴露; 健康参考值

中图分类号: R123 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-3110(2020)11-1290-06 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2020.11.003

Health impact of short-term exposure to carbaryl in drinking water

WANG Chao, SHI Ying, ZHANG Shao-ping, KONG Jian, RUAN Hong-jie, ZHANG Li-xia,

ZHI Hong, ZHANG Ming, ZHANG Hong-wei, LI Li

National Institute of Environment Health and Related Product Safety, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100021, China

Corresponding author: LI Li, E-mail: lili1@nieh.chinacdc.cn

Abstract: **Objective** To validate health-based advisory for short-term exposure to carbaryl in drinking water. **Methods** One hundred and twenty-six healthy Wistar rats, half males and half females, were randomly divided into 7 groups. The rats in the negative control group were fed orally with corn oil, while the rats in the other six groups were administered orally with carbaryl 5, 10, 20, 40, 80 and 160 mg/kg per day. All rats were weighted once a week. After 8, 15 and 29 days of administration, 6 rats in each group, half males and half females, were sacrificed to detect blood biochemical parameters, and liver, kidney, spleen, lung, thymus and brain of each rat were collected for pathological examination. **Results** Among the rats' body weight and visceral body ratios, after 28 days of exposure, only the kidney body ratio of the 60 mg/(kg·d) dosage group decreased compared with the negative control group, with a statistically significant difference ($P<0.05$). Among the serum biochemical indexes, after 7 days of exposure, only aspartate aminotransferase (AST) of the 80 mg/(kg·d) dosage group declined significantly compared with the negative control group ($P<0.05$). Among the indicators of blood routine, after 7 days of exposure, hemoglobin of the 20, 40 and 160 mg/(kg·d) dosage groups increased significantly compared with the negative control group (all $P<0.05$). After 14 days of exposure, the white blood cell count of the 5, 10 and 160 mg/(kg·d) dosage groups, the hemoglobin content of average red blood cell of the 160 mg/(kg·d) dosage group, the average platelet volume of the 10 and 160 mg/(kg·d) dosage groups, the hemoglobin concentration of average red blood cell of the 160 mg/(kg·d) dosage group and platelet distribution width of the 5 and

基金项目: 国家十二五重大专项课题“突发事件供水短期暴露风险与应急管控技术研究”(2015ZX07402002)

作者简介: 王超 (1985-), 女, 助理研究员, 主要从事环境毒理学研究工作。

通信作者: 李立, E-mail: lili1@nieh.chinacdc.cn。

80 mg/(kg·d) dosage groups increased significantly compared with the negative control group, showing statistically significant differences (all $P<0.05$). After 28 days of exposure, the white blood cell count of the 20 and 80 mg/(kg·d) dosage groups and the hemoglobin concentration of average red blood cell of the 80 and 160 mg/(kg·d) dosage groups increased significantly compared with the negative control group (all $P<0.05$). In the index of acetylcholinesterase activity, after 7 days of exposure, the erythrocyte acetylcholinesterase activity of the 40 mg/(kg·d) dosage group decreased significantly compared with the negative control group. After 14 days of exposure, erythrocyte acetylcholinesterase activity of the 80 mg/(kg·d) dosage group increased significantly compared with the negative control group, while the acetylcholinesterase activity in brain tissue of the 160 mg/(kg·d) dosage group decreased significantly. After 28 days of exposure, acetylcholine enzyme activity in brain tissue of the 20 mg/(kg·d) dosage group decreased significantly, while erythrocyte acetylcholinesterase activity of the 40 mg/(kg·d) dosage group increased significantly, with statistically significant differences (all $P<0.05$). After 7, 14, and 28 days of exposure, no significant changes were observed in histopathological indicators of each dosage group compared with the negative control group (all $P>0.05$). **Conclusions** The no observed adverse effect level (NOAEL) of short-term oral intake of carbaryl in the rats is 10 mg/(kg·d), and the health-based advisory for short-term exposure to carbaryl is 1 mg/L, which is the same as the U.S. Environmental Protection Agency (EPA) recommendation.

Key words: carbaryl; short-term exposure; health advisory

甲萘威作为氨基甲酸酯类杀虫剂的代表产品之一,它具有触杀及胃毒作用,并伴有内吸作用,可用于 141 种作物(大多用于水稻、棉花、十字花科蔬菜当中),防治 500 多种害虫^[1-2]。1953 年美国联合碳化公司最先合成甲萘威,1958 年正式推广使用并商品化生产。目前,甲萘威仍在中国生产使用,不过已呈现下降趋势。根据全国 31 个省级植保站预测估计,2016 年氨基甲酸酯类农药的预计需求为 0.46 万吨,比 2015 年减少 10.97%,其中下降幅度较大的品种分别是甲萘威和丁硫克百威^[3]。

我国 22 个地表水体样品中:河流样品 9 个,有 4 个样品未检出,其余样品甲萘威浓度为 11.65 ~ 6 340 $\mu\text{g/L}$;湖泊样品 8 个,有 3 个样品未检出,其余样品的浓度为 0.47 ~ 8 950 $\mu\text{g/L}$;未明确表示地表水体类型的样品 5 个,有 1 个样品未检出,其余样品的浓度为 1.81 ~ 3.36 $\mu\text{g/L}$ 。可见,以上样品检出率均超过 50%,说明环境水体存在此类污染物的污染风险^[3-8]。WHO《饮水水质准则》的前三版没有涉及甲萘威这项指标,第四版中增加了该指标的相关研究资料,如下:甲萘威主要的毒性模式是抑制脑胆碱酯酶活性发挥作用,另外还可导致雄性小鼠血管瘤的非基因毒性致癌物。Hamada^[9]开展了以 CD-1 小鼠为对象的 2 年喂饲实验研究,喂饲剂量为 0、100、1 000、8 000 ppm 的甲萘威,每个剂量组分别有 70 只雌鼠和雄鼠。以血管瘤发病率为观察终点,可得出雄鼠的最小可见损害作用水平(minimum observed adverse effect level, LOAEL)为 100 ppm,即 15 mg/(kg·d)。基于 LOAEL 值和不确定系数 2000(种间变异为 10,种内变异为 10,20 用来反映极个别恶性肿瘤的出现及无法得到 NOAEL 值),JMPR 得出甲萘威的每日容许摄入量(allowable daily intake, ADI)为 0.008 mg/kg^[10]。假定一个 60 kg 的成年人每天饮用 2 L 水,饮用水的摄入配额假设为 20%,从 0.008 mg/kg 的 ADI 值可以确定以健康为基准的准则

值为 0.05 mg/L。不过饮用水中甲萘威的浓度远远低于此值,因此 WHO 认为没有必要提出正式准则值^[10]。

目前,我国及美国尚未出台关于甲萘威的饮水水质标准。美国国家环境保护局(U.S. Environmental Protection Agency, EPA)在 1994 年颁布的饮水标准及健康参考值“Drinking Water Regulations and Health Advisories”《饮水规范及健康参考值》中对甲萘威给出暴露 1 d 和 10 d 的健康参考值为 1 mg/L^[11],后期经几次修订,该值均未变化,2012 版中均沿用了该值^[12]。在 1987 年,EPA 公布的甲萘威的健康参考值文档中,详细阐述了制订 HA(health advisory)值的资料来源及依据、HA 值的计算方法等^[13]。在计算甲萘威的 1 d 暴露健康参考值时,无法找到可利用的数据。因此,采用 10 d 暴露健康参考值(1.0 mg/L)作为 1 d 暴露健康参考值的保守估计值。10 d 暴露健康参考值的计算主要基 Weil 等^[14]开展的甲萘威毒性研究,该研究以 Wistar 大鼠(42 日龄),喂饲剂量为 0、10、50、250、500 mg/(kg·d),给药时间持续 7 d,以血浆、红细胞的胆碱酯酶活性抑制为观察终点,得出 NOAEL 为 10 mg/(kg·d),以此计算 10 d 暴露健康参考值为 1 mg/L。本验证实验的方法与 EPA 确定甲萘威 HA 值所用毒理学实验的方法^[13]基本相同。该研究是将相应剂量的甲萘威粉末加工入大鼠饲料中喂食染毒,这种染毒方式受大鼠饮食吸收率、饲料消耗率的影响较大,本课题需要验证的是饮水中甲萘威的健康参考值,故采用灌胃染毒的方式,这样受试物吸收率高,剂量准确。

1 材料与仪器

1.1 实验动物 Wistar 大鼠,清洁级,42 日龄,每组 6 只,雌雄各半,共 126 只大鼠。由北京金牧阳实验动物养殖有限责任公司提供,动物许可证号:SCXK(京)2015-0005。

1.2 受试物及剂量设置 甲萘威,纯度 99.8%,试验时以玉米油为溶剂配制成所需浓度,试验当天新鲜配制。在前期预实验的基础上,设置灌胃剂量为 1 个阴性对照组和 6 个甲萘威受试物剂量组,分别为 0、5、10、20、40、80、160 mg/(kg·d)。

1.3 检测仪器与试剂 日立 7180 型生化分析仪,全波长多功能分光光度计;碱性磷酸酶 ALP ELISA 试剂盒(购于上海江莱生物科技有限公司);谷丙转氨酶 ALT、谷草转氨酶 AST、血尿素氮 UREA 大鼠血清生化检测试剂盒(购于中生北控生物科技股份有限公司);乙酰胆碱酯酶检测试剂盒(购于南京建成生物工程研究所)。

1.4 实验方法 模拟 EPA 制订 HA 值所采纳的文献中的实验方法^[12-13],Wistar 大鼠共 126 只,雌雄各半,分为 1 个阴性对照组和 6 个剂量组,每组 18 只。饲养于中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所清洁级动物实验室(SPF 级),室温 22℃~24℃,在光照周期为明 12 h/暗 12 h 的环境中适应性饲养 3 d,之后开始甲萘威经口灌胃染毒实验,期间大鼠自由摄食饮水。受试物组经口灌胃给予不同浓度的甲萘威,阴性对照组灌胃给予等容量的玉米油,每天灌胃 1 次,持续灌胃 7、14、28 d。染毒开始后第 8、15、29 d 各组取 6 只大鼠,雌雄各半,腹主动脉采血分离血清、血浆、红细胞,血清中检测碱性磷酸酶 ALP、谷丙转氨酶 ALT、谷草转氨酶 AST 及血尿素氮 UREA。血浆及红细胞检测乙酰

胆碱酯酶活性。采血前称量体重,采血后解剖取肝、肾、脾、肺、胸腺、脑分别称重,计算脏器体重系数(脏器重/体重×100%)并取肝左中叶、双肾、脾、肺、胸腺、脑固定于中性甲醛溶液中,进行组织病理学检查,检查项目:肝的空泡化病变和肾的肾小管上玻璃样病变。其中,脑组织将左右半球分为两部分,一半固定做组织病理学检查,一半匀浆后检测乙酰胆碱酯酶活性。该实验所有的病理学检查委托汇智泰康生物技术(北京)有限公司测试,并出具相关报告。

1.5 统计学分析 采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析,实验结果以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差法,组间两两比较方差齐性时用 LSD 方法分析,方差不齐时用 Dunnett 方法分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 甲萘威染毒对大鼠体重及脏器比的影响 持续染毒 7、14 d 后,大鼠体重、肝重、肝脏体比、肾重、肾脏体比、脾重、脾脏体比、肺重、肺脏体比、胸腺重、胸腺脏体比、脑重、脑脏体比与阴性对照组相比,均未发生明显变化。持续染毒 28 d 后,160 mg/(kg·d)剂量组肾脏体比与阴性对照组相比显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),其余指标与阴性对照组相比无明显差异。实验结果见表 1。

表 1 甲萘威染毒 7、14、28 d 对大鼠体重及脏器比的影响($\bar{x} \pm s$)

染毒天数	剂量[mg/(kg·d)]	体重(g)	染毒后体重(g)	肝重(g)	肝脏体比(%)	肾重(g)	肾脏体比(%)	脾(g)	脾脏体比(%)	肺(g)	肺脏体比(%)	胸腺(g)	胸腺脏体比(%)	脑(g)	脑脏体比(%)
7	0	192.1±20.2	218.0±37.0	8.14±1.45	3.74±0.31	2.14±0.53	0.98±0.16	0.85±0.28	0.38±0.07	2.59±0.39	1.20±0.17	0.51±0.20	0.23±0.07	1.84±0.08	0.86±0.12
	5	191.8±17.1	214.2±32.0	7.79±1.34	3.63±0.17	2.03±0.38	0.95±0.11	0.69±0.25	0.32±0.07	2.67±0.98	1.22±0.32	0.53±0.19	0.24±0.07	1.87±0.07	0.89±0.12
	10	192.2±15.4	218.9±29.1	8.10±1.34	3.69±0.26	1.97±0.38	0.89±0.06	0.76±0.24	0.34±0.07	2.50±0.68	1.13±0.17	0.55±0.16	0.25±0.04	1.88±0.11	0.87±0.09
	20	186.5±12.9	208.5±26.4	7.56±1.14	3.63±0.33	1.84±0.35	0.88±0.08	0.72±0.28	0.34±0.09	2.68±0.31	1.29±0.11	0.46±0.10	0.22±0.03	1.85±0.06	0.90±0.10
	40	194.2±18.3	215.8±32.6	8.09±1.38	3.76±0.54	1.86±0.39	0.86±0.06	0.69±0.28	0.31±0.08	2.45±0.50	1.14±0.18	0.42±0.13	0.19±0.04	1.85±0.10	0.87±0.11
	80	188.8±9.3	203.9±20.1	7.65±0.76	3.75±0.07	1.76±0.35	0.86±0.09	0.66±0.28	0.32±0.05	2.52±0.40	1.24±0.18	0.42±0.09	0.20±0.03	1.80±0.04	0.89±0.08
	160	195.8±10.2	194.7±16.3	7.18±0.53	3.70±0.40	1.69±0.28	0.86±0.07	0.52±0.11	0.26±0.04	2.27±0.50	1.16±0.25	0.35±0.10	0.18±0.05	1.74±0.15	0.90±0.11
	F 值	0.254	0.577	0.541	0.173	0.973	1.488	1.092	1.620	0.371	0.492	1.555	1.843	1.661	0.114
	P 值	0.954	0.746	0.774	0.982	0.458	0.211	0.386	0.171	0.893	0.810	0.190	0.119	0.160	0.994
	14	0	197.3±10.2	255.5±41.4	9.07±1.55	3.55±0.22	2.07±0.34	0.81±0.03	0.74±0.16	2.93±0.63	1.15±0.24	0.49±0.10	0.19±0.03	1.90±0.07	0.76±0.12
14	5	189.3±18.0	244.6±47.8	8.42±2.21	3.41±0.31	1.98±0.52	0.80±0.09	0.76±0.26	0.31±0.06	2.45±0.43	1.03±0.22	0.44±0.14	0.18±0.03	1.88±0.11	0.79±0.12
	10	189.3±8.8	247.6±44.3	8.63±1.77	3.48±0.29	1.97±0.36	0.80±0.02	0.74±0.19	0.30±0.03	2.89±0.72	1.19±0.32	0.49±0.15	0.20±0.04	1.87±0.09	0.77±0.11
	20	197.3±13.3	256.2±52.6	8.81±2.24	3.42±0.34	2.05±0.54	0.79±0.06	0.82±0.33	0.31±0.07	2.93±0.82	1.16±0.25	0.49±0.12	0.19±0.04	1.89±0.10	0.76±0.11
	40	191.1±16.9	241.2±48.0	8.98±1.66	3.75±0.27	2.04±0.49	0.84±0.06	0.71±0.18	0.30±0.04	2.79±0.74	1.16±0.19	0.44±0.16	0.18±0.05	1.92±0.12	0.82±0.13
	80	193.9±9.6	237.8±34.7	8.16±1.55	3.44±0.24	1.93±0.35	0.81±0.04	0.68±0.12	0.29±0.03	2.50±0.52	1.06±0.23	0.46±0.10	0.20±0.03	1.88±0.04	0.80±0.10
	160	190.3±14.2	221.0±44.2	7.23±1.15	3.30±0.18	1.89±0.51	0.85±0.07	0.62±0.19	0.27±0.03	2.11±0.50	0.96±0.15	0.38±0.11	0.17±0.02	1.85±0.08	0.86±0.14
	F 值	0.416	0.428	0.811	1.663	0.130	0.841	0.540	0.434	1.455	0.812	0.650	0.602	0.376	0.536
	P 值	0.864	0.855	0.568	0.159	0.992	0.547	0.774	0.851	0.222	0.568	0.690	0.727	0.889	0.777
	28	0	190.0±19.6	300.2±84.9	10.62±2.82	3.56±0.26	2.41±0.74	0.80±0.03	0.96±0.29	3.32±0.05	2.87±0.51	1.00±0.22	0.48±0.08	2.01±0.13	0.71±0.17
	5	188.4±16.0	290.0±70.2	9.97±2.91	3.41±0.26	2.23±0.66	0.76±0.05	0.76±0.29	0.26±0.04	2.78±0.87	0.96±0.14	0.42±0.16	0.14±0.04	1.87±0.13	0.67±0.13
28	10	187.9±11.8	284.1±72.4	9.18±2.40	3.23±0.14	2.08±0.48	0.74±0.03	0.84±0.17	0.30±0.04	2.48±0.52	0.89±0.16	0.42±0.12	0.15±0.04	1.90±0.11	0.70±0.14
	20	191.8±10.0	299.2±86.4	10.46±3.20	3.48±0.22	2.19±0.66	0.73±0.07 ^a	0.82±0.30	0.28±0.05	2.55±0.49	0.89±0.18	0.42±0.14	0.14±0.01	1.89±0.16	0.67±0.14
	40	185.4±10.1	278.5±70.2	9.33±2.14	3.37±0.16	2.31±0.68	0.82±0.07	0.72±0.10	0.27±0.05	2.42±0.75	0.87±0.16	0.38±0.13	0.14±0.02	1.87±0.08	0.70±0.15
	80	190.1±14.8	275.2±54.4	9.03±1.82	3.29±0.20	2.15±0.49	0.78±0.05	0.76±0.14	0.28±0.02	2.58±0.75	0.93±0.11	0.42±0.12	0.15±0.03	1.88±0.09	0.70±0.11
	160	186.3±11.9	270.1±52.7	9.35±1.49	3.49±0.19	2.12±0.48	0.78±0.06	0.68±0.12	0.26±0.04	2.41±0.98	0.92±0.19	0.42±0.12	0.15±0.045	1.93±0.09	0.74±0.13
	F 值	0.157	0.162	0.401	1.822	0.213	2.416	1.086	1.866	0.492	0.389	0.303	0.606	1.137	0.175
	P 值	0.986	0.985	0.873	0.123	0.970	0.046	0.390	0.115	0.810	0.881	0.931	0.724	0.362	0.982

注:a 与阴性对照组比较, $P < 0.05$ 。

2.2 甲萘威染毒对大鼠血清酶学的影响 持续染毒 7 d 后,取大鼠血清检测谷丙转氨酶 ALT、谷草转氨酶

AST、碱性磷酸酶 ALP 及血尿素氮 UREA。结果显示,AST 在 80 mg/(kg·d) 剂量组与阴性对照组相比显著降低,差异有统计学意义($P<0.05$),其余 ALT、ALP、UREA 与阴性对照组相比并无明显变化;持续染毒 14、28 d 后,ALP、ALT、AST、UREA 活性均未随着甲萘威染毒剂量的增加而变化,见表 2。

2.3 甲萘威染毒对大鼠血常规的影响 甲萘威持续染毒 7 d 后,检测大鼠血常规指标,血红蛋白在 20、40、160 mg/(kg·d) 剂量组显著升高,且与阴性对照组相比差异有统计学意义($P<0.05$),其余指标与阴性对照组相比均未发生明显变化,见表 3。

甲萘威持续染毒 14 d 后,白细胞计数在 5、10、160 mg/(kg·d) 剂量组;平均红细胞血红蛋白含量在 160 mg/(kg·d) 剂量组;平均血小板体积在 10、160 mg/(kg·d) 剂量组;平均红细胞血红蛋白浓度在 160 mg/(kg·d) 剂量组;血小板分布宽度在 5、80 mg/(kg·d) 剂量组,均与阴性对照组相比显著增加且差异有统计学意义($P<0.05$)。其余各项血常规指标与阴性对照组相比,均未发生明显变化。

甲萘威持续染毒 28 d 后,白细胞计数在 20、80 mg/(kg·d) 剂量组;平均红细胞血红蛋白浓度在 80、160 mg/(kg·d) 剂量组中均与阴性对照组相比显著增加且差异有统计学意义($P<0.05$)。其余各项血常

规指标与阴性对照组相比,均未发生明显变化。

表 2 甲萘威染毒 7、14、28 d 对大鼠血生化的影响($\bar{x}\pm s$)

染毒 天数	剂量 mg/(kg·d)	ALT (IU/L)	AST (IU/L)	ALP (IU/L)	UREA (mmol/L)
7	0	49.00±5.04	92.20±5.54	341.13±107.36	5.64±0.88
	5	49.1±12.66	100.55±15.73	320.17±100.45	6.63±1.42
	10	49.43±10.76	93.35±8.60	263.57±88.22	5.91±1.87
	20	57.92±7.35	97.60±8.79	310.42±82.41	6.92±1.15
	40	48.95±9.85	88.82±13.99	287.02±99.66	5.99±0.64
	80	48.12±7.28	77.63±5.39 ^a	271.77±109.06	8.03±3.28
	160	52.53±15.81	85.75±5.15	225.67±92.89	6.66±1.83
	F 值	0.669	3.625	0.956	1.220
	P 值	0.675	0.007	0.469	0.319
14	0	58.33±12.33	93.83±10.55	282.07±84.12	6.13±0.32
	5	57.97±14.16	90.15±8.85	225.15±71.35	5.77±0.68
	10	67.03±20.47	95.93±12.35	246.00±102.57	6.85±0.67
	20	60.03±14.19	96.28±7.99	222.45±66.05	6.82±0.72
	40	51.83±14.86	88.63±7.98	250.87±53.54	7.74±2.39
	80	51.47±18.45	84.32±9.80	193.55±63.18	6.30±0.88
	160	49.07±6.76	82.17±5.48	248.35±88.37	6.72±0.81
	F 值	1.025	2.118	0.782	1.971
	P 值	0.426	0.078	0.590	0.097
28	0	53.40±6.36	90.70±7.66	230.72±45.86	5.67±0.66
	5	53.37±13.59	91.05±14.74	201.40±66.24	6.72±1.68
	10	61.28±9.65	97.75±21.40	211.98±81.99	7.35±1.50
	20	58.75±16.87	89.42±11.68	220.75±66.65	7.18±0.90
	40	63.35±15.01	84.68±9.01	222.28±71.92	7.51±1.21
	80	71.10±16.75	89.55±10.07	223.92±35.86	7.91±1.48
	160	71.22±20.14	83.03±5.56	207.85±101.92	7.27±1.59
	F 值	1.520	0.884	0.128	1.746
	P 值	0.200	0.517	0.992	0.139

注:a 与阴性对照组比较, $P<0.05$ 。

表 3 甲萘威染毒 7、14、28 d 对大鼠血常规的影响($\bar{x}\pm s$)

染毒 天数	剂量 mg/(kg·d)	WBC	RBC	HGB	HCT	MCV 平均	MCH 平均	MCHC 平均	RDW-CV 红细胞	RDW-SD 红细胞	PLT	MPV 平均	PDW 血小板 分布宽度
		白细胞计数 ($\times 10^9/L$)	红细胞计数 ($\times 10^{12}/L$)	血红蛋白 (g/L)	红细胞压积 (%)	红细胞体积 (fL)	血红蛋白含量 (pg)	血红蛋白浓度 (g/L)	分布宽度-CV (%)	分布宽度-SD (fL)	血小板 ($\times 10^9/L$)	血小板体积 (fL)	
7	0	8.20±3.09	6.86±0.70	150.50±12.91	43.80±3.75	63.93±2.43	21.95±0.67	343.33±4.68	12.83±0.92	32.38±2.14	1 183.33±139.10	6.75±0.57	15.45±0.12
	5	7.56±2.35	7.18±0.09	159.17±6.82	46.40±2.67	64.67±3.99	22.15±1.04	343.17±5.49	12.52±0.68	31.87±3.09	1 169.17±108.93	6.77±0.27	15.50±0.24
	10	7.82±2.71	6.89±0.51	151.67±5.43	43.43±1.82	63.22±3.61	22.10±1.31	349.17±6.79	12.85±1.52	32.17±3.91	1 149.50±114.65	6.43±0.26	15.45±0.20
	20	9.00±1.99	7.42±0.71	167.17±13.30 ^a	47.77±3.29	64.48±2.24	22.55±0.53	349.67±4.84	12.95±1.03	33.15±2.37	1 097.17±130.45	6.52±0.29	15.47±0.15
	40	11.35±1.73	7.13±0.60	159.67±10.25 ^a	45.98±3.15	64.55±1.91	22.43±0.87	347.17±4.45	12.67±0.58	32.42±2.01	1 251.00±191.53	7.07±0.15	15.48±0.10
	80	8.93±1.17	7.64±0.73	165.83±10.10	47.47±2.91	62.57±3.07	21.75±0.92	347.50±7.64	13.23±0.71	32.70±2.71	1 183.83±179.00	6.65±0.40	15.48±0.23
	160	10.60±2.72	7.75±1.00	170.17±18.36 ^b	48.78±4.88	63.20±3.25	22.02±0.87	348.50±4.93	13.62±1.21	33.80±3.02	1 182.33±168.24	6.68±0.26	15.37±0.20
	F 值	2.233	1.624	2.470	2.233	0.443	0.548	1.326	0.821	0.321	0.562	2.184	0.340
	P 值	0.063	0.170	0.043	0.063	0.845	0.768	0.272	0.561	0.922	0.758	0.068	0.911
14	0	6.39±2.60	7.61±0.75	162.67±12.41	47.72±3.36	62.88±1.81	21.45±0.58	341.00±7.87	12.27±0.78	30.92±1.88	1 209.00±99.93	6.65±0.23	15.32±0.08
	5	8.89±3.55 ^a	7.56±0.47	160.67±8.36	46.87±2.15	62.12±2.17	21.25±0.41	342.67±9.35	12.38±0.57	30.72±1.75	1 118.00±95.67	6.82±0.17	15.55±0.10 ^a
	10	10.19±1.90 ^b	7.50±0.43	160.00±4.20	46.52±1.34	62.10±2.39	21.33±0.76	343.50±3.73	12.67±0.73	31.88±2.57	1 005.83±388.22	7.12±0.17 ^b	15.53±0.12
	20	11.53±2.88	7.67±0.51	167.17±7.52	47.12±3.38	62.33±2.43	22.13±0.76	355.17±5.71	12.65±0.96	31.78±2.91	1 120.50±331.07	6.48±0.26	15.40±0.17
	40	7.93±1.49	7.41±0.45	164.00±11.98	46.48±3.62	62.70±2.26	22.15±0.85	353.33±3.50	12.73±0.81	32.45±1.91	1 075.50±178.34	6.37±0.47	15.50±0.09
	80	9.01±1.69	7.45±0.62	164.83±12.86	46.37±3.31	62.28±1.79	22.13±0.40	355.17±6.49	12.78±0.83	32.33±2.58	1 132.17±93.95	6.60±0.13	15.50±0.06 ^a
	160	10.20±2.78 ^a	7.19±0.33	161.00±5.76	43.88±1.39	61.10±2.00	22.42±0.71 ^a	367.00±5.83 ^b	13.40±0.92	33.35±3.05	1 177.83±153.83	6.32±0.21 ^a	15.32±0.23
	F 值	2.695	0.436	0.423	1.250	0.432	3.115	12.844	1.211	0.844	0.538	6.957	3.351
	P 值	0.029	0.850	0.859	0.305	0.852	0.015	0.000	0.324	0.545	0.775	0.000	0.010
28	0	8.12±3.16	7.74±0.38	155.67±6.65	45.98±1.78	59.47±1.63	20.10±0.47	338.33±3.93	12.33±0.63	29.05±1.91	1 050.33±132.97	6.52±0.17	15.42±0.18
	5	9.63±3.06	7.80±0.37	156.67±4.84	46.02±1.86	58.70±0.93	19.97±0.49	340.33±5.32	12.97±0.99	30.05±1.86	1 088.83±88.47	6.55±0.27	15.42±0.08
	10	8.22±3.55	7.84±0.64	157.83±8.38	46.13±2.34	59.40±3.29	20.32±1.06	342.00±3.74	12.40±1.12	29.33±3.02	977.83±109.81	6.55±0.26	15.32±0.18
	20	11.68±1.69 ^a	7.69±0.24	160.33±5.28	46.78±2.23	60.87±2.34	20.88±0.60	343.17±10.38	12.40±0.82	30.15±2.64	1 035.17±120.66	6.63±0.35	15.45±0.21
	40	13.65±1.62	7.86±0.49	163.00±7.54	46.72±2.55	59.50±2.56	20.80±1.04	349.50±8.83	13.03±1.07	31.05±2.91	1 150.00±134.71	6.47±0.36	15.27±0.05
	80	11.17±2.35 ^b	7.56±0.39	159.50±10.48	44.60±3.01	59.00±1.56	21.08±0.47	357.17±5.49 ^b	12.85±0.79	30.77±1.74	950.33±137.58	6.43±0.10	15.40±0.00
	160	10.73±2.64	7.72±0.46	160.33±7.63	45.70±2.34	59.27±1.64	20.78±0.66	350.83±1.94 ^b	13.10±0.46	31.07±0.92	1 044.17±35.36	6.45±0.31	15.27±0.14
	F 值	3.280	0.329	0.676	0.587	0.625	2.101	6.945	0.896	0.767	2.050	0.389	1.804
	P 值	0.011	0.917	0.670	0.738	0.709	0.078	0.000	0.509	0.601	0.085	0.881	0.127

注:a 与阴性对照组比较, $P<0.05$ 。b 与阴性对照组比较, $P<0.01$

2.4 甲萘威染毒对大鼠乙酰胆碱酯酶的影响 实验

结果见表 4。甲萘威持续染毒 7 d 后,红细胞中乙酰胆

碱酯酶活性在 40 mg/(kg·d) 剂量组显著降低, 且与阴性对照组相比差异有统计学意义 ($P<0.05$)。血浆、脑组织中乙酰胆碱酯酶活性与阴性对照组相比, 均未发生明显变化。甲萘威持续染毒 14 d 后, 红细胞乙酰胆碱酯酶活性在 80 mg/(kg·d) 剂量组显著升高, 脑组织中乙酰胆碱酯酶活性在 160 mg/(kg·d) 剂量组显著降低, 且与阴性对照组相比差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。血浆乙酰胆碱酯酶活性与阴性对照组相比, 未发生明显变化。甲萘威持续染毒 28 d 后, 脑组织中乙酰胆碱酯酶活性随着染毒剂量的增加而呈下降趋势, 从 20 mg/(kg·d) 剂量组开始差异有统计学意义。红细胞中乙酰胆碱酯酶活性并未随着甲萘威染毒剂量的增加而变化, 但是在 40 mg/(kg·d) 剂量组时, 红细胞乙酰胆碱酯酶活性与阴性对照组相比显著升高。血浆中的乙酰胆碱酯酶活性与阴性对照组相比, 均未发生明显变化。

表 4 甲萘威染毒 7、14、28 d 对大鼠乙酰胆碱酯酶的影响 ($\bar{x}\pm s$)

染毒天数	剂量 mg/(kg·d)	红细胞(U/ml)	血浆(U/ml)	脑组织(U/ml)
7	0	12.76±2.72	6.60±2.72	0.77±0.39
	5	12.05±2.80	5.86±1.20	0.56±0.11
	10	7.55±3.21	5.82±2.03	0.55±0.03
	20	15.73±2.58	4.79±1.38	0.77±0.17
	40	6.13±3.85 ^a	5.85±2.14	0.84±0.27
	80	11.08±7.75	5.54±1.31	0.88±0.27
	160	13.66±7.64	6.03±2.05	0.90±0.23
	F 值	3.034	0.496	2.127
	P 值	0.020	0.807	0.076
14	0	9.67±2.11	5.12±2.06	0.33±0.09
	5	11.15±2.46	5.98±2.96	0.42±0.17
	10	9.79±3.02	7.16±3.15	0.53±0.12
	20	12.62±2.03	6.23±2.32	0.34±0.22
	40	10.06±4.39	7.03±3.06	0.19±0.06
	80	17.46±3.51 ^b	5.80±2.33	0.18±0.05
	160	9.35±5.08	5.71±1.67	0.13±0.05 ^a
	F 值	3.387	0.488	7.884
	P 值	0.011	0.813	0.000
28	0	13.60±3.32	7.75±4.11	0.43±0.14
	5	14.69±9.01	7.11±3.07	0.29±0.14
	10	10.16±6.75	7.61±3.77	0.21±0.05
	20	19.35±9.28	8.86±3.43	0.13±0.03 ^a
	40	25.40±2.15 ^b	7.19±4.48	0.10±0.03 ^a
	80	15.25±5.11	6.58±2.42	0.10±0.04 ^a
	160	19.15±11.03	7.92±3.18	0.08±0.02 ^a
	F 值	2.630	0.249	16.446
	P 值	0.037	0.956	0.000

注: a 与阴性对照组比较, $P<0.05$ 。b 与阴性对照组比较, $P<0.01$ 。

2.5 甲萘威染毒对大鼠组织病理学的影响 持续染

毒 7、14、28 d 后, 取大鼠肝脏、肾脏、脾脏、肺脏、胸腺、脑组织做组织病理学检查。各组动物肝脏组织结构及肝细胞分化未见异常, 汇管区未见小胆管及结缔组织增生。试验各组其它动物肾脏被膜完整, 皮、髓质境界清楚, 肾小球均匀分布于皮质区, 结构正常; 肾小管内未见坏死; 间质无结缔组织增生、炎细胞浸润。各组动物胸腺皮质、髓质、胸腺小体结构清晰, 各型上皮细胞、胸腺细胞未见异常。肺组织各级支气管粘膜上皮完整, 未见增生、化生改变; 肺泡腔干净、肺泡间隔宽度适当、毛细血管充盈正常; 肺间质未见炎症、纤维增生等病变。在对照组和所有染毒剂量组动物中均观察到脾脏髓外造血, 该病变未见明显剂量相关性, 判定与受试物无关。其它动物脾脏被膜完整, 脾小梁、红髓、白髓、边缘区各部结构正常, 比例适当, 淋巴小结未见萎缩及明显增生。

3 结 论

计算甲萘威的 1 d 暴露健康参考值时, 无法找到可利用的数据。因此, 采用 10 d 暴露健康参考值 (1.0 mg/L) 作为 1 d 暴露健康参考值的保守估计值。在甲萘威饮水暴露 10 d 健康参考值验证实验中, 以 Wistar 大鼠为受试动物, 灌胃给予 0、5、10、20、40、80、160 mg/(kg·d) 的甲萘威, 7 d、14 d、28 d 后取血清样品检测 ALP、ALT、AST、UREA 活性, 分离血浆、红细胞、脑组织检测乙酰胆碱酯酶活性, 同时解剖获取肝脏、肾脏、脾脏、肺脏、胸腺、脑组织, 计算脏体比, 并进行了组织病理学检测。由于本验证实验旨在进行短期暴露效应验证, 因此设计为短期试验 28 d, 作为 10 d 的饮水健康参考值。10 mg/(kg·d) 剂量组的 4 个血清学指标、3 个乙酰胆碱酯酶指标以及病理指标均未有变化。从 20 mg/(kg·d) 开始, 脑组织中乙酰胆碱酯酶活性降低, 与阴性对照组相比差异有统计学意义。因此, 在所测定的指标中, 以脑组织中乙酰胆碱酯酶活性降低作为效应指标, NOAEL=10 mg/(kg·d)。从本次实验所获得的 NOAEL, 得到暴露 10 d 的 HA 值为:

$$\text{Ten-day HA} = \frac{\text{NOAEL} \times \text{BW}}{\text{UF} \times \text{DWI}} = \frac{10 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d}) \times 10 \text{ kg}}{100 \times 1 \text{ L/day}}。$$

本实验的实验方案, 在美国 EPA 所用毒理学实验方法的基础上进行了适当的补充完善, 得到了以下结果: 10 d 的 HA 值为 1 mg/L。10 d 的 HA 值与美国 EPA 相同。

动物实验数据发现, 甲萘威在动物体内吸收速率较快, 吸收率较高。给药后不到 10 min 的时间, 在动物的循环系统中就达到最高浓度水平, 且至少有 94% 给

药剂量的甲萘威被吸收^[14-15]。甲萘威没有明确的靶器官,在动物的各器官中均有分布^[14]。甲萘威主要代谢途径为 N-甲基和萘环的羟基化和氨基甲酸酯的水解作用,主要代谢产物为 1-萘酚、4-羟基甲萘威、5-羟基甲萘威、3,4-二羟基甲萘威、5,6-二羟基甲萘威、5-甲氧基-6-羟基甲萘威等。这些代谢产物在体内通过进一步共轭结合,可生成水溶性的葡糖苷酸和硫酸盐类物质。尿液是甲萘威主要的排泄途径,大约有 84.5%~95% 的给药剂量通过尿液排出,其次是粪便排泄,大约 7%~12.5% 的给药剂量通过粪便排出,说明该物质在动物体内的蓄积性较差^[15-16]。

有关甲萘威毒性的毒性资料以动物资料为主,基于目前的动物资料,甲萘威的非致癌效应以慢性毒性为主,生殖发育毒性较弱。其中,甲萘威的急性毒性主要表现为对胆碱酯酶活性的抑制。甲萘威的慢性毒性主要表现为肝、肾的弥漫性肿胀,Carpenter 等^[17]开展的为期 2 年的 CF-N 大鼠喂饲实验研究发现,喂饲剂量为 0、50、100、200、400 ppm 的甲萘威后,喂饲 1 年后高剂量组实验动物的肾单位出现弥漫性肿胀,且差异有统计学意义($P<0.004$),喂饲 2 年后,高剂量组动物的肝细胞索也出现弥漫性肿胀,且差异有统计学意义($P<0.002$),以此为观察终点得出雄性大鼠 NOAEL 值为 $7.9 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$,雌性大鼠 NOAEL 值为 $9.6 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$;与急性慢性毒性相比,甲萘威的生殖发育毒性较弱。学者通过甲萘威对大鼠、兔、小鼠及沙鼠等动物生殖发育毒性的影响研究,得出 NOAEL 值的范围为 $30\sim 500 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ ^[18]。

参考文献

- [1] 孙胜龙,李雪飞,刘歆瑜,等.长春市主要蔬菜中农药残留分析[J].生态环境学报. 2005, 14(2):214-217.
- [2] 刘钧,边貽海,董长波,等.蔬菜中有机磷、氨基甲酸酯、菊酯类农药含量调查研究[J].实用预防医学, 2005, 12(1):164-165.
- [4] 陈曲,郭继香,孙乾耀,等.甲萘威的淡水水生生物水质基准研究[J].环境科学研究, 2016,29(1):84-91.
- [4] Fua LY, Liu XJ, Hu J, et al. Application of dispersive liquid-liquid microextraction for the analysis of triazophos and carbaryl pesticides in water and fruit juice samples[J]. Analytica Chimica Acta, 2009, 632(2):289-295.
- [5] 王超,高海鹏,李婷,等.固相萃取/超高压液相色谱测定水中痕量呋喃丹、甲萘威及阿特拉津[J].分析测试学报, 2012, 12(31):1567-1571.
- [6] 马睿,刘春玲.顺序注射荧光光谱法测定环境水中痕量西维因[J].理化检验(化学分册), 2014, 50(4):421-424.
- [7] 邓春拓,何伦发,郭艳,等.珠三角某市 2015 年出厂水中化学污染物健康风险评价[J].实用预防医学, 2017, 24(4):425-428.
- [8] 曹刚,罗卫红.长沙县 2009—2013 年水厂水源水和出厂水水质检测情况分析[J].实用预防医学, 2015, 22(5):604-606.
- [9] Hamada NN. Oncogenicity study with carbaryl technical in CD-1 mice: unpublished report No. HWA 656-138 [R]. Geneva: WHO, 1993: 259-011.
- [10] World Health Organization. Guidelines for drinking-water quality: fourth edition[R]. Geneva: WHO, 2014, 250-251.
- [11] Office of Water U.S. Environmental Protection Agency. 1994 edition of drinking water regulations and health advisories: EPA 202-260-7571 [R]. USA: EPA, 1994:8.
- [12] Office of Water U.S. Environmental Protection Agency. 2012 edition of the drinking water standards and health advisories: EPA 822-S-12-001 [R]. USA: EPA, 2012:10.
- [13] Office of Drinking Water U.S. Environmental Protection Agency. Carbaryl health advisory: EPA 820K88107 [R]. USA: EPA, 1987: 1-20.
- [14] Falzon M, Fernandez Y, Cambon - Gros C, et al. Influence of experimental hepatic impairment on the toxicokinetics and the anticholinesterase activity of carbaryl in the rat [J]. J Appl Toxicol, 1983, 3(2):87-89.
- [15] Houston JB, Upshall DG, Bridges JW. Pharmacokinetics and metabolism of two carbamate insecticides, carbaryl and landrin, in the rat [J]. Xenobiotica, 1974, 5(10):637-648.
- [16] Comer SW, Staiff DC. Armstrong JF, et al. Exposure of workers to carbaryl [J]. Bull Environ Contam Toxicol, 1975, 13(4):385-391.
- [17] Carpenter CP, Weil CS, Palm PE, et al. Insecticide toxicology, mammalian toxicity of 1-naphthyl-N-methylcarbamate (Sevin insecticide) [J]. J Agric Food Chem, 1961, 9(1):30-39.
- [18] Integrated Risk Information System (IRIS) Chemical Assessment Summary. Carbaryl: CASRN 63-25-2 [R]. Washington, D.C.: U.S. Environmental Protection Agency (National Center for Environmental Assessment), 2002:1-8.

收稿日期:2019-11-06