

产品

普境安

研究主题

大鼠急性吸入毒性研究——限度试验

数据要求

U.S. EPA Health Effects Test Guidelines, OPPTS 870.1300 (1998)

作者

Daniel J. Merkel, B.S.

研究完成于

2005 年 3 月 10 日

执行实验室

Product Safety Laboratories

2394 Highway 130

Dayton, New Jersey 08810

实验室研究编号

16449

无数据保密声明

对于本研究中所记载的任何资料，本研究基于其在 FIFRA 10(d)(1)(A)、(B)或(C)范围内的任何信息，均未提出保密要求。

公司：**ARCH ANGEL LLC**

公司代理人：_____

姓名

职称

签名

日期

（备注：此文件为中文翻译文件，签名请参考英文原文件）

良好的实验室实践合规声明

普境安

本研究满足美国联邦法案第 40 篇 160 部分：美国环境保护署(FIFRA)有以下异议：所接收和检测的检测物质浓度的稳定性、特性、身份和验证相关的具体信息是研究发起者的责任（见检测物质部分）

研究执行者：

Daniel J Merkel, B.S.

Product Safety Laboratories

Date

提交者：

签名

日期

委托方：

签名

日期

（备注：此文件为中文翻译文件，签名请参考英文原文件）

质量保证声明

产品安全实验室的质量保证小组评估了这项研究，以遵守 PSL 的标准操作程序、研究协议，以及所有适用的 GLP 标准。最终报告是对工作记录的准确表达，并保存在文件上。下面的摘要提供了在最终报告部分中对质量保证审计所作的陈述的核查。

本研究的质量保证：

质量保证	进程日期	向研究执行者和管理人员 汇报结果的日期
协议审查	1/26/04 ¹ , 2/11/05	1/26/04 , 2/14/05
进程检验： 每 48 小时监测一次进程	12/23/04	2/14/05
原始数据审计	2/11/05	2/14/05
报告草案审查	2/11/05	2/14/05
最终报告审查	3/10/05	3/10/05

Lourse N. Caruso, B.S.
质量保证审计
Product Safety Laboratories

¹ 本研究使用的 PSL 的“通用”协议在这个日期被质量保证小组审查

（备注：此文件为中文翻译文件，签名请参考英文原文件）

目录

无数据保密声明	2
良好的实验室操作规范.....	3
质量保证声明	4
目录	5
大鼠急性经口毒性增强和降低过程研究	6
1. 目的	6
2. 概述	6
3. 材料	7
4. 方法	8
5. 过程	8
6. 试验实施	11
7. 质量保证	11
8. 终版草案的偏差	11
9. 终版报告和记录的保存.....	11
10. 结果	11
11. 结论	12
签名	13
表 1：预实验的准备和生成系统	14
表 2：预暴露试验	15
表 3：预暴露试验概述	16
表 4：重力室浓度	17
表 5：粒径分布	18
表 6：粒径分布概述	19
表 7：独立体重	20
表 8：独立笼侧观察	21
表 9：独立尸体剖检观察	22

大鼠急性吸入毒性研究——限度试验

协议编号：	P330
代理人：	EPA (FIFRA)
研究编号：	16449
委托方：	ARCH ANGEL LLC 636 Hampshire, Suite 208 Quincy, IL 62301
检测物质识别：	普境安 编号#1 批号 63
检测物质描述：	浅粉色粉末
接受日期：	2004 年 11 月 8 日
PSL 参考编号：	041108-3D
研究开始日期：	2004 年 11 月 15 日
检测日期：	2004 年 12 月 21 日-1 月 4 日
笔记编号：	04-94：226-264 页

1. 目的

通过吸入的方式探究大鼠短期暴露普境安可能引起健康危害。

2. 概述

对大鼠进行急性吸入毒性试验，以确定普境安通过吸入途径（只接触鼻子）潜在产生的毒性。在本研究的条件下，雌雄鼠体内重量超过 2.07mg/L 试验物质才会产生毒性。

预实验期间所需的生成程序建立后，将 10 只健康的大鼠（5/性别）暴露于检测环境中 4 个小时。试验物质的室内浓度和粒径分布在暴露期间定期测定。试验观察这些大鼠的死亡率、明显的中毒迹象，以及接下来 14 天的暴露时间内至少每天一次的行为变化。记录暴露前、第 7 天和第 14 天（结束）的体重。在所有动物身上都进行了尸体解剖。

所有的动物都能在检测环境下存活，在为期 14 天的观察期内体重增加。重力室浓度为 2.07mg/L。基于以安得森多级撞击取样器检测粒径分布的图像分析方法，测定质量中值空气动力学直径为 2.8 μm 。

在暴露后整个 14 天的观察期内，所有的动物都表现得积极健康。没有明显的中毒迹象、不良的药理作用，或异常行为。在为期 14 天的观察期结束时，所有动物均未出现明显异常。

3. 材料

A. 检测物质

该检测物质为普境安，编号# 1 批次 63，于 2004 年 11 月 8 日收到，并进一步确认 PSL 参考编号为 041108-3D。检测物质为浅粉色粉末，常温保存。在气溶化之前，检测物质在一个球磨机中打磨 24 小时，然后在一个咖啡磨机中打磨（Kruops，Model 203）。在丹麦保留了对检测物质的合成、制作或衍生方法的记录。

除另有说明外，委托方还提供了以下与检测物质描述有关的信息：

剂量：不提供

pH：3.5（作为 1% w/w 溶液）¹

溶解度：微溶于水

稳定性：检测物质在检测期间应保持稳定。

有效期：不适用

B. 动物

3.B.1 动物数量：10

3.B.2 性别：5 只雄性、5 只雌性。雌性是未生育和怀孕的

3.B.3 物种/品系：大鼠/Sprague-Dawley 衍生而来，白化

3.B.4 年龄/体重：青年（8-9 周）/试验开始时雄性 223-245g 雌性 176-200g

3.B.5 来源：来源于 Ace Animals, Inc., Boyertown, P, 2004 年 12 月 14 日

¹ 由 Product Safety Laboratories（分别由 PSL 研究编号 16446 和 16445 分别用于活性成分和 pH）决定。

4. 方法

A. 管理

4.A.1 饲养环境：这些动物单独居住在悬挂的不锈钢笼子中，其网格地板符合最新的《护理和使用实验室动物 DHEW(NIH)指南》的建议尺寸。在笼子下放置垃圾纸，每周至少更换三次。

4.A.2 动物的房间温度范围：19-23°C

4.A.3 光照周期：12 小时光照/黑夜循环

4.A.4 适应时间：7 天

4.A.5 食物：其它啮齿动物食物 #5012

4.A.6 水：采用自动配水系统对自来水进行过滤

4.A.7 污染物：在食物或水中没有发现任何将会干扰这项研究结果的已知污染物。对食品和分析至少每年进行一次，并且记录保存在 Product Safety Laboratories 的文件中

B. 识别标记

4.B.1 笼子：每个笼子都有一个笼子卡片，上面至少标明了该动物的研究编号、身份和性别。

4.B.2 动物：给每个大鼠的笼子卡片和不锈钢的耳朵标签分配一个数字，上面有和这只大鼠有关的数字。这个数字，加上给动物分配的编号 16449，构成了唯一的标识。

5. 过程

A. 预试验

在开始全吸入试验研究之前，进行预试验是为了尽可能实现生成程序的建立，所需的重力室浓度为（2mg/L），所需的粒径分布（质量中值直径小于或等于 4μm）。在这些试验中，为了实现这些目标，作出以下调整：

气压：	恒量
压缩气流发生器：	恒量
总气流：	恒量
电机装置：	变量
粉尘发生系统：	恒量

刀头： 不变
刀片： 不变
填料压力： 恒量
材料准备： 不变

整个检测过程所用的程序和雾化设备都依据预试验二号的结果。提供的室浓度为 2.03 mg/L，质量中值直径为 2.8 μm 。2 号试验的检测物质（以及完整的检测）首先在球磨机里进行了 24 小时的研磨，然后在雾化之前放入咖啡磨机里。

B. 吸入程序

用于检测粒径分布、气流和室浓度的暴露室、气流和设备与预试验所用相同，如下所述。

- 5.B.1 只鼻子吸入室：只鼻子吸入室内部容积约 6.7L（微型只鼻子吸入室，ADG Developments LTD）用于暴露。将动物们单独安置在聚碳酸酯管中，在暴露的过程中，用一个“O”环密封在房间里。基本单位用直径为 0.5 英寸的空气管隔绝空气。
- 5.B.2 空气供应：空气压缩机（JUN-AIR, Model #6-15）为粉尘发生装置每分钟大约提供 30L（Lpm）的空气。用干燥过滤空气的压缩空气箱（WELCO）提供额外的 3.3 Lpm 压缩混合空气，通过在室内空气中制造一个漩涡来帮助均匀分布检测空气。用质量流量计（Omega，Model #FMA 5613）检测压缩气流。监测整个暴露期室内气流，并定期记录。总气流范围从 31.6 到 31.9，平均 31.7 Lpm。根据吸入室的体积，该气流在研究过程中每小时提供约 284 个空气变化。
- 5.B.3 环境条件：暴露期间暴露管温度和相对湿度范围分别为 21-22°C和 41-48% RH。暴露期间室内温度和相对湿度范围分别为 21°C和 32-40% RH。室内检测采用湿度-温度指示器（Taylor，Model # 5502），室内情况采用温度-湿度监测器（Dickson，Model # TH550）。暴露后一小时每 15 分钟记录一次温度和相对湿度值，此后每 30 分钟记录一次。
- 5.B.4 检测物质准备：检测物质在 1.6 加仑聚氨酯铣缸（Abbethane，Paul O'Abbe）用陶瓷研磨介质（0.5" 球）研磨 24 小时。铣削后，让研磨的检测物质通过 $\frac{3}{8}$ " 聚乙烯过滤器进行过滤，接下来放入咖啡机中研磨（Krupps，Model 203）。

- 5.B.5 粉尘生成：检测物质用由变速马达（Dayton, Model #4Z538A）驱动的改良的 Wright 粉尘发生器雾化。该检测物质被装入粉尘容器（Wright, Model DF 183），并使用实验室压力（Carver, Model C）将其压缩至 400 lbs/in²，然后用不锈钢刀头（Model DF 194SS）和刀片（Model DF 191SS）安装。在 30 psi 的情况下，为粉尘生成器提供压缩空气。然后通过粉尘出口装配直接将雾化的粉尘直接送入室内。
- 5.B.6 室内浓度测量：从动物的呼吸区间隔 6 个间隔取出重力样本。使用 25mm 玻璃纤维过滤器（GF/B Whatman）在 1/4 英寸聚乙烯管连接到真空泵（Reliance Electric, Model #G557X）的滤光片夹中收集样本。在收集之前和之后，对滤纸进行称重，以确定收集的重量。这个值除以采样的总空气质量来确定房间的浓度。这些样本在 4 Lpm 的气流中处理 2 分钟。样本气流是用质量流量计测量的（Omega, Model #FMA 5610）。
- 5.B.7 粒径分布：使用 8 段安德森多级撞击取样器测定大气的粒径分布。样本从动物的呼吸带中间隔了两段时间。在采样前后，对滤纸采集阶段进行了称重，以确定各阶段收集的质量。用双周期对数概率坐标轴分别确定了空气质量中值直径和几何标准差。
- 5.B.8 暴露期：动物暴露在检测环境中 4 小时 1 分钟。暴露时间延长超过 4 小时，来使室内达到平衡（T99）。使 90% 和 99% 的室内空气平衡所需时间分别为 0.5 分钟和 1 分钟。在暴露期结束时，停止生成器，并在室内放入清洁的空气 15 分钟。在这段时间结束时，将动物从暴露管中取出。送回笼子之前，去除每只动物皮毛上多余的检测物质。

C. 动物的选择

在暴露的那一天或之前，检查大鼠的健康状况和体重。选择 10 只健康大鼠（5 只雄鼠和 5 只雌鼠）进行检测。

D. 体重

记录检测物质暴露前（初始）、第 7 天和第 14 天（结束）动物个体体重。

E. 观察笼内动物的状态

暴露期间至少每 30 分钟观察一次这些试验动物的死亡率、中毒的明显迹象，以及暴露前的行为变化，从暴露室取出后，每天至少观察一次，持续 14 天。观察内容包括

对皮肤和皮毛、眼睛和粘膜、呼吸、循环、自主和中枢神经系统、躯体运动和行为模式的评价。特别注意观察颤抖、抽搐、唾液分泌、腹泻和昏迷。

F. 尸体剖检

在 14 天的观察期结束时，所有的大鼠都通过吸入二氧化碳进行了安乐死。对所有动物都进行了剖检。检查胸腔和腹腔的组织和器官。

6. 试验实施

这项研究是在 725 Cranbury Road, East Brunswick, New Jersey 08816 的 Product Safety Laboratories 进行的。这项研究的主要技术人员是 Jacek Ochalski 兽医学博士。这项研究是遵守 GLP 的以下规定：

- 40 CFR 160：美国 EPA GLP 标准：农药项目（FIFRA）

并按照：

- 美国环保署健康影响测试指南，OPPTS 870.1100（1998）

7. 质量保证

最终报告经审核，与原始数据记录一致，符合协议、产品安全实验室标准操作程序和适当良好实验室的实践标准。在研究期间进行的检查和审核的日期，以及对研究主任和设施管理的检查和审计结果的报告日期，记载于质量保证声明中。

8. 终版草案的偏差

无偏差

9. 终版报告和记录的保存

签署的最终报告原件将被转发给委托方。本已签署的报告副本，连同议定书和在产品安全实验室生成的所有原始数据保存在产品安全实验室档案中。产品安全实验室将维持这些记录至少 5 年。在此之后，委托方将有机会获得该记录，或者将收取由产品安全实验室继续收费存档。

10. 结论

所有的预暴露试验的细节呈现在表 1 到 3 中。在表 4 到 6 中给出了暴露检测信息的总结。在表 7 和 9 中分别给出独立体重、笼外和实体剖检观察。

在为期 14 天的观察期间，所有动物都在测试环境中存活下来，体重都有所增加。重力浓度和标定室内浓度分别为 2.07mg/L 和 15.31mg/L。基于以安得森多级撞击取样器检测粒径分布的图像分析方法，测定质量中值直径为 2.8 μm 。所有动物在暴露后的 14 天观察期内都表现积极和健康。没有明显的毒性，不良的药理作用，或异常行为。在为期 14 天的观察期结束时，所有动物均未出现严重异常。

11. 结论

在本研究的条件下，单次暴露急性吸入普境安后，雄性和雌性大鼠体内毒性半数致死量含量大于 2.07mg/L。

签名

普境安

我们，以下署名人，声明本报告中所记载的方法、结果和数据忠实地反映了在研究过程中所用进程和原始数据。

Daniel J Merkel, B.S.
研究主任
Product Safety Laboratories

日期

Gary Wnorowski, B.A., M.B.A
主管
Product Safety Laboratories

日期

（备注：此文件为中文翻译文件，签名请参考英文原文件）

表 1：先期试验系统的准备和生成

1. 粉尘生成器 : Wright (改良)
2. 驱动电动机 : Dayton, Model #4Z538A
3. 空气供给 : 空气压缩 (JUN-AIR, Modle #6-15)
干燥过滤压缩空气 (WELCO)
4. 粉尘容器 : Model DF 183
5. 刀头/片 : 不锈钢刀头 , Model DF 194SS
不锈钢刀片 , Model DF 191SS
6. 室 : 6.7L (只鼻子吸入室 ,
ADG Developments LTD)
7. 稀释气流测定 : 质量流量计 (Omega, Model #FMA 5613)
8. 研磨装置 : 1.6 加仑的尿素线铣削罐
(Abbethane, , Paul O'Abbe)
Krupps 咖啡研磨机 , Model 203
9. 实验室压力器 : Carver, Model C

表 2 : 预暴露试验

试验 编号	压缩空 气气压 (psi)	压缩空气 量 (Lpm)	压缩混合 空气 (Lpm)	空气 总量 (Lpm)	粉尘 生成 电机 装置	室浓度 (mg/L)	粒径 样本
1 ¹	30	28.4	3.3	31.7	4.0	3.91	没有
1 ¹	30	28.3	3.3	31.6	3.50	2.03	有

¹ 在球磨机里研磨 24 小时，然后放入咖啡机中研磨后再使用检测物质。

表 3：预暴露试验概述¹

试验编号	室浓度 (mg/L)	质量中值直径 (μm) ²
2 ³	2.03	2.8

¹ 请参考表 1 和表 2，了解每个试验生成系统应用的细节。

² 这个数字是依据用安德森多级撞击取样器测量粒径分布的图形分析来评估的。

³ 在球磨机里研磨 24 小时，然后放入咖啡机中研磨后再使用检测物质。

表 4：重力室浓度

样本编号	样本时间 (小时)	采集质量 (mg)	样本气流 (Lpm)	采集时间 (分钟)	室浓度 (mg/L)
1	0.5	16.1	4	2	2.01
2	1	16.3	4	2	2.04
3	2	16.9	4	2	2.11
4	2.5	16.3	4	2	2.04
5	3.5	16.8	4	2	2.10
6	4	17.1	4	2	2.14
平均±标准误差					2.07±0.05

表 5 : 粒径分布

阶段	有效截断直径 (μm)	%总捕获粒子 (体重)	累积 (%) ¹
样本 1			
0	9.0	5.6	94.4
1	5.8	9.3	85.0
2	4.7	7.2	77.8
3	3.3	14.3	63.6
4	2.1	27.6	36.0
5	1.1	25.9	10.0
6	0.7	7.2	2.8
7	0.4	2.3	0.5
F	0.0	0.5	0.0
样本 2			
0	9.0	4.9	95.1
1	5.8	10.3	84.8
2	4.7	8.4	76.4
3	3.3	14.6	61.9
4	2.1	26.8	35.1
5	1.1	25.3	9.9
6	0.7	7.3	2.6
7	0.4	2.6	0.0
F	0.0	0.0	0.0

¹ 小于相应有效截断直径颗粒的百分比。

表 6 : 粒径分布概述

样本编号	样本时间 (小时)	采集时间 (分钟)	质量中值直径 (μm)	几何标准差
1	1.5	2	2.7	2.08
2	3	2	2.8	2.00

表 7 : 独立体重

动物编号	性别	体重 (g)		
		吸入	第 7 天	第 14 天
9615	M	227	294	356
9616	M	230	294	361
9617	M	245	310	365
9618	M	223	287	346
9619	M	238	261	328
9620	F	200	232	258
9621	F	176	211	235
9622	F	192	227	252
9623	F	192	215	231
9624	F	183	209	240

表 8 : 独立笼侧观察

<u>动物</u> <u>编号</u>	<u>发现</u>	<u>试验</u> <u>天数</u>
<u>雄性</u>		
9615-9619	活跃、健康	CR ¹ -14
<u>雌性</u>		
9620-9624	活跃、健康	CR-14

¹ CR——从暴露试管中移除

表 9：独立尸体剖检观察

动物
编号

组织

发现

雄性

9615-9619

所有组织/器官

总体无异常

雌性

9620-9624

所有组织/器官

总体无异常