الباب العاشر

السمية الحادة وشبه المزمنة والمزمنة بالاستنشاق

obeikandl.com

obeikandl.com

السمية الحادة وشبه المزمنة والمزمنة بالاستنشاق

(Acute , Sub chronic & Chronic Inbalation Toxicity)

١-معلومات تقديمية (Introduction information) :

حيث تكون المادة المختبرة سواء أكانت مواد كيميائيـــة أو ســموم و ملوثات بيئية في الصورة الغازية أو المتطايرة (Gas or volatile) أو بصـــورة ايروسولات أو جسيمات وهنا يتطلب الأمر الإلمام بطبيعـــة وشـكل وحجـم وتوزيع جزيئاتها أو جسيماتها . ويجب التعريف الكيميائي لها ودرجة نقاوتـها والشوائب المحتوية عليها (Impurities) وصفات الذوبانية وضغطها البخـــاري ونقطتي الإنصهار والغليان كذلك نقطة الوميـض (Flash point) والانفجـار (Explosion) فتعريفها الكيميائي يشير لإحتمال وجـــود نشـاط بيولوجـــي أو توكسيكولوجى لها كما أنه يستخدم في تحليلها والمبنى علـــى العلاقـة بيـن تركيبها الكيميائي والفاعلية .

كذلك فمعرفة صفاتها الطبيعية والكيميائية تمد بـــأهم المعلومـــات عـن اختيار طريقة المعاملة والتخزين وهذه الصفات كافية لدراسة السمية الحـــادة والمزمنة و شبه المزمنة بالاستنشاق .

٢-الغرض والمجال والمعاملة ومحددات الاختبار :

(Purpose , Scope , Exposure & Test limits)

٢-١ - عند قياس وتقيم الخصائص الســـامة لمـادة مستنشـقة Inhalable) substance) كالغازات الملوثة للهواء الجوي أو الايروســـولات أو جزيئـات السموم البيئية المتطايرة فان تقدير السمية الحادة بالاستنشاق Acute inhalation) toxicity) هي الخطوة الأولية و التي تمد بمعلومات عن الأضـــرار الصحيـة نتيجة التعرض لفترة زمنية معينـة وتخـدم كأسـاس للتقيـم والملصقـات (Classification labeling) .

كما أنها الخطوة الأولى لتعين نظام رجيم التجريع(Dossage regimen) الممكن استخدامه عند دراسة تكرار التعرض بالاستنشاق سواء في السمية الشبة مزمنة أو المزمنة المتأثرة بالعوامل الوراثية (Inherent factors) والعوامل الطبقة للمادة المخبرة أو عند دراسة السمية لمعرفة طريقة فعل المادة المختبرة. و يمكن التفرقة في هذه الدراسات (حادة وشبه مزمنة ومزمنة) من حيث الوقت المستغرق للتجريع (Time over which dosing take place) ويكون الهدف هو التعرف على الخصائص الجانبية للمادة المختبرة على أنواع متعددة من الثدييات عقب التعرض والتعرض المتكرر ، فما زالت السمية المزمنة للتأثيرات الأكثر من تكون الأورام الخبيثة (Neoplasia) غامضة وتحت ظروف هذا الاختبار الجامد للسرطانات تحتاج لفترة معاملة طويلة ومتأخرة .

و كذلك يجب وأن يسمح تصميم التجربة بتتبع السمية و أن تتضمن التأثيرات العصبية (Neurological effects) و الفسيولوجية و البيوكيميائية و الهيماتولوجية و الباثولوجية و المورفولوجية .

٢-٢-أساس طريقة الاختبار (Principle of the test method):

في دراسة السمية الحادة بالاستنشاق:

يتم تعريض مجموعات من الحيوانات التربية لوقت محدد وكل منها لعدة تركيزات متدرجة كل منها تعطي لمجموعة من الحيوانات .

ففي دراسة السمية الشبه مزمنة بالاستنشاق :

يتم تعريض مجموعات من الحيوانات الثديية لفترة تسعون يوما للمادة المختبرة في عدة تركيزات متدرجة كل منها تعطى لمجموعة من الحيوانات

أما في دراسة السمية المزمنة بالاستنشاق :

يتم تعريض مجموعات من الحيوانات الثديية يوميا و لمدة سنة للمادة المختبرة في عدة تركيزات متدرجة كل منها تعطى لمجموعة من الحيوانات.

ويتم تدوين الملاحظات يوميا لتتبع أعراض السمية الناجمة عن التأثيرات

العكسية و الغير عكسية وكذلك الموت بالحيوانات المختبرة عقب التعريض حتى دراسة السمية بالاستنشاق المادة تستمر ، ففي دراسة السمية الحادة بالاستنشاق تستمر حتى أربعة و عشرون ساعة عقب المعاملة . أما في السمية المزمنة فيستمر التعريض لمدة تسعون يوما في حين يستمر التعريض بالسمية المزمنة حتى عام على الأقل .

والحيوانات التي تموت خلال فترة الاختبار يتم تشريحها (Necropised) أما التي ما زالت علي قيد الحياة حتى نهاية الاختبار فتذبح وتشرح إذا ما أستدعى الأمر.

وتتم المقارنة بين مجاميع المعاملة و الكونترول و الكونترول المستخدم كأداة للمساعدة في حل و إذابة المركب المختبر لتوليد تركيز ملائم في الهواء الجوى .

فالسمية الحادة بالاستنشاق هي التأثيرات العكسية الكلية والناتجة من المادة المختبرة عقب تعرض مفرد ولفترة محدودة لمادة لها قابلية للاستنشاق.

ويكون التركيز القاتل للنصف بالاستنشاق ($Inhalation\ LD_{50}$) هي المشتقة الإحصائية لتركيز المادة المختبرة القاتل لخمسين في المائة من عدد الحيوانات المتعرضة تعرض مفرد ولفترة محددة (Fixed time exposure) بالاستنشاق وتميز ملل / لتر (جزء في المليون)

٣ - وصف طريقة الاختبار(Description of the procedure)

٣-١ - يتم اختبار نوع الحيوان المعامل (Selection of species) حيث يمكن استخدام كثير من الأنواع الثديية بالاختبار وتفضل القوارض (Rodents) كالفئران (Rats) لتقيم السمية الحادة والسمية شبه المزمنة والمزمنة بالاستنشاق إلا انه يفضل في حالة دراسة السمية المزمنة إجرائها على نوعية من القوارض و الغير قوارض مثل الكلاب خاصة الأنواع (Primates)

٣-٢ - ويجب أن تكون الحيوانات أصحاء (Healthy) متماثلة في الحجم عن طريق تماثلها في الوزن تقريبا و الذي يواكب الاختبار حيث لا يسمع و ألا يزيد التفاوت في الوزن عن ± ٢٠ % عن المتوسط العام للحيوانات و الذي يترواح بين ٢٠٠-٣٠٠جم في الفئران .

٣-٣ــ أما من حيث عددها فيجب و أن يكون عددها بكل مجموعة (معاملة) كافي للتقييم الواضح من حيث التأثيرات الناجمة عنها الأعراض وعموما لا تقل كل معاملة عن ٢٠ فأر (١٠ ذكور ــ ١٠ إناث) أما في حالة الكلاب : فتكون المجموعة ثمانية (٤ ذكور ، ٤ إناث) حيث يجب وان تدرس السمية بكل من الجنسين خاصة عند دراسة السمية المزمنة .

٣-٤-يجب وان تكون الإناث المستخدمة بكر (Nuliporus) وغير حاملة (non Pregnant) لذا تفضل الأعمار بين ٦ــ٨ أسابيع.

٣-٥ــ يتم اختبار حيوانات كل مجموعة عشوائيا ثم تعلم المجاميع تبعا لعدد مستوى الجرعات علاوة على الكنترول المطلوب وذلك قبل خمسة أيام من المعاملة .

٣-٦-وقد تم عمل مجموعة أخرى ككنترول تابعة (Satellite group) بنفس العدد ونسبة الجنس و تعامل فقط بأعلى مستوى للتجريع لملاحظة التأثيرات العكسية وثباتها وكذلك التأثيرات المتأخرة حيث يستمر معاملتها لمدة ١٤ــ١٨ يوم ثم توقف المعاملة وتستمر ملاحظتها يوميا حتى نهاية التجربة .

٤-ظروف الإعاشة والتغذية (Housing & Feeding)

٤-١-حيث تعيش الحيوانات معزولة بصفة فردية أو في مجاميع تبعا للجنس تحت ظروف ثابتة من الحرارة (و التي تختلف تبعا للنوع المختبر) والرطوبة النسبية و الإضاءة (نظام إضاءة متعاقب ١٢ ساعة إضاءة يعقبها ١٢ ساعة إظلام) .

٤-٢-أما نظام التغذية فيتم على بيئات صناعية تقليدية تحتوى على جميع الاحتياجات الغذائية للنوع المختبر خالية من الشوائب .

٤-٣-أما بالنسبة لمياه الشرب فليس هناك تقيد على كميتها أو الإمداد بها ويجب عمل تحليل روتيني و فحص دوري لها .

٤-٥ -وتحفظ الحيوانات في حجرة الاستنشاق (Inhalation chamber) وقت التعريض وهى مصممة بحيث تساعد ((Sustain)) على التدفق الديناميكي للهواء (١٢-١٥ تغير هوائي / ساعة) و التأكد من ضان يصور محتوى أكسيجين ١٩% موزع جيدا . وتماثل غرفة الاستنشاق مثيلتها بالكنترول في

كل المعايير عند التعرض للمادة المختبرة ، كذلك يراعى عدم تزاحم الحيوانات المختبرة لتتيح فرصة جيدة للتعرض الأمثل (لذا لا يزيد حجم الحيوانات المخبرة الكلى بالفرق عن ٥ % من حجمها) .

كذلك المحافظة (maintain) على ضغط خفيف سالب لمنع نقص المادة المختبرة وتسربها (Leakage) في جو المحيط الخارجي ، كما يجب التأكد من ضمان معدل سريان الهواء بدون تذبذبات عظمى في تركيبه وتثبت درجة الحرارة على ٢٢+ ٢ °م والرطوبة على ٣٠-٧٠ % والتأكد من ثبات حجم وتوزيع الجسيمات بالهواء المستنشق (Respirable size)

٥ – ظروف الاختبار وطريقة التعريض (Test Condition & Procedure)

٥-١- يجب وأن تكون مستويات التجريع (Dose level) كافية من حيث عددها و الذي لا يقل عن ثلاثة تركيزات متباعدة ومتدرجة بحيث تدخل في نطاق التأثيرات السامة ليتسنى رسم منحنى الجرعة –الاستجابة .

٥-٢- أما من حيث وقت التعريض للمادة المختبرة سواء أكانت جزيئات لسموم بيئية أو ملوثات بيئية غازية أو سائلة متطايرة أو ايروسولات فيختلف تبعا لنوع السمية المدروسة :

٥-٢-١-ففي حالة دراسة السمية الحادة بالاستنشاق :

يتم التعريض لوقت محدد مرة واحدة .

٥-٢-٢-أما في حالة دراسة السمية شبه المزمنة بالاستنشاق :

يتم التعريض علي النحو التالي : يوميا /٥-٧ يوم / أسبوع / ٩٠ يوم

٥-٢-٣-أما في حالة دراسة السمية المزمنة بالاستنشاق :

يتم التعريض علي النحو التالي : يوميا / ٥-٧ /يوم / أسبوع /سنة

٥-٣-حيث يتم المعاملة بتعريض كل حيوانات المعاملات المختلفة لنظام التعريض و بنفس الطريقة وخلال الفترة المحددة لذلك .

٥ -٤- يراعى وزن الحيوانات قبل التعريض بأربعة ساعات والتأكد من درجة الحرارة (٢٢ +٢ م) ودرجة الرطوبة النسبية ٣٠ -٧٠ % كذلك يثبت معدل تتدفق الهواء خلال فترة التعريض على التركيز الفعلي (Actual concentration) للمادة المختبرة والتأكد من تثبت جهاز أو نظام المولد للجسيمات الايروسولية والتأكد من حجم وتوزيع الجسيمات الناتج بالهواء لضمان ثبات تأثيرها.

٥-٥- تستمر فترة الملاحظة (Duration of Observation) والتي يجب وأن تكون كافية للتقييم الكامل وظهور أعراض السمية خاصة ما إذا كان هناك ميل لتأخر هذه الأعراض أو تأخر الموت وعموما ليست محددة بقوة (Rigidly) وهى :

٥-٥-١-ففي حالة السمية الحادة بالاستنشاق :

تستغرق فترة الملاحظة من عقب التعريض المفرد وحتى ١٤ يوم .

٥-٥-٢-أما في حالة السمية شبه المزمنة بالاستنشاق :

تستغرق فترة الملاحظة من عقب التعريض اليومي وحتى ٩٠ يوم.

٥-٥-٣-بينما في حالة السمية المزمنة بالاستنشاق :

تستغرق فترة الملاحظة من عقب التعريض اليومي وحتى سنة علي الأقل .

٦-الفحص (Examination) :

حيث يتم التسجيل الدوري المنتظم للملاحظات الفردية كما تحدث بالترتيب لكل حيوان بكل معاملة ، كما يتم تسجيل أي ملاحظات أخرى إضافية قد تكون مهمة ليتسنى تقليل الفقد في عدد الحيوانات المدروسة .

٦-١-الفحص السريرى :الكلينيكى (Clinical Examination) :

يجرى يوميا لتسجيل الملاحظات الخاصة و الأعراض ووقت الموت كما تشرح الحيوانات الميتة أو تجمد لحين تشريحها لفحصها مورفولوجيا وتسجيل

التغيرات المرضية والوزن وعزل الحيوانات المحتضرة لذبحها وتشريحها كذلك معدل استهلاك الطعام أسبوعيا والتأكد من ان نقص الحيوانات مصدرة الموت و ليس الافتراس أو التحلل الذاتي أو الهرب .

٦-٢-الفحص المرضي:الباثولوجي (Pathological Examination) :

حيث تفحص أعراض السمية للحيوانات التي تم تشريحها وتسجيل التغيرات المرضية و المورفولوجية والداخلية للأعضاء المستهدفة خاصة بعد ٢٤ ساعة من التعريض.

٦-٣-فحص الدم (Haematological Examination) :

كتقدير الهيماتوكريت و الهيموجلوبين و عدد كرات الدم بأنواعها و قياس جهد ووقت التجلط وعدد الصفائح .

٦-٤-الفحص البيوكيميائي (Biochemical Examination) :

ويجرى على الحيوانات التي ما زالت على قيد الحياة .

٦-٥-الفحص النسيجي (Histological Examination) :

ويجرى على الأعضاء السابق فحصها باثولوجيا لملاحظة التغيرات النسيجية المرضية من خلال قطاعات تصبغ بصبغات خاصة لبيان مناطق الضرر.

٧-البيانات وكتابة التقرير (Data & Reporting) :

حيث تعامل وتقيم النتائج المتحصل عليها و تفسيرها و كتابة التقرير