

· 流行病学研究 ·

江苏省生物医学实验室科研人员暴露调查分析

张燕¹, 黄剑², 刘红¹, 唐梅¹, 张芙蓉³, 吴菁³, 沈宁⁴, 薛斌^{3,5*}

¹南京医科大学附属逸夫医院医学工程部, 江苏 南京 211112; ²中国药科大学生命科学与技术学院, 江苏 南京 211198; ³南京医科大学附属逸夫医院中心实验室, 江苏 南京 211112; ⁴瑞测精准医学检测(上海)有限公司, 上海 200120; ⁵南京医科大学附属逸夫医院检验科, 江苏 南京 211112

[摘要] 目的: 检测江苏省生物医学实验室科研人员体内环境污染物残留状况, 为实验室生物安全制度的制定提供依据。方法: 在江苏省南京、苏州、盐城、淮安4个地区高校内分别选取100例生物医学实验室科研人员和100例非科研人员为研究对象, 采用问卷调查了解不同人群接触环境污染物的现状, 并进一步收集研究对象的晨尿样本, 其中科研人员和非科研人员分别收集到了95例和94例样本。采用 β -葡萄糖醛酸苷酶水解法和高效液相色谱-串联质谱法检测尿液中邻苯二甲酸盐[di(2-ethylhexyl) phthalate, DEHP]、双酚A和苯并芘的含量。结果: 江苏省内生物医学实验室科研人员尿液中DEHP、双酚A、苯并芘的残留量[(1 359.0 \pm 251.0) μ g/g、(284.4 \pm 134.0) μ g/g、(109.0 \pm 43.2)ng/g]显著高于对照组人员[(489.7 \pm 103.1) μ g/g、(177.3 \pm 86.4) μ g/g、(80.2 \pm 31.5)ng/g, $P < 0.001$]。其中苯并芘在南京和苏州地区实验室人员体内含量较高[(132.4 \pm 37.1)ng/g、(139.3 \pm 32.8)ng/g], DEHP在各地区实验室人员体内没有明显差异, 而盐城地区实验室人员体内的双酚A含量最高[(386.1 \pm 202.1) μ g/g]。结论: 江苏省各地区生物医学实验室科研人员体内积累的环境污染物普遍高于非实验室人员, 这可能与日常实验室工作相关, 因此实验室科研人员更应注重防护。

[关键词] 生物医学实验室; 科研人员; 环境污染物; 尿液

[中图分类号] R135.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2024)01-065-07

doi: 10.7655/NYDXBNS0N230404

Investigation on exposure of scientific researchers in biomedical laboratories of Jiangsu Province

ZHANG Yan¹, HUANG Jian², LIU Hong¹, TANG Mei¹, ZHANG Furong³, WU Jing³, SHEN Ning⁴, XUE Bin^{1,3*}

¹Department of Medical Engineering, Sir Run Run Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 211112; ²School of Life Sciences and Technology, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198; ³Department of Core Laboratory, Sir Run Run Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 211112; ⁴China Exposomics Institute (CEI) Precision Medicine Co. Ltd, Shanghai 200120; ⁵Department of Clinical Laboratory, Sir Run Run Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 211112, China

[Abstract] **Objective:** To detect the residual levels of environmental pollutants in the bodies of biomedical laboratory researchers in Jiangsu Province and provide a basis for the establishment of laboratory biosafety regulations. **Methods:** A total of 100 biomedical laboratory researchers and 100 non-researchers were selected as subjects from universities in four regions of Jiangsu Province: Nanjing, Huai'an, Yancheng, and Suzhou. A questionnaire survey was conducted to understand the current exposure to environmental pollutants among different groups. Morning urine samples were collected from the participants, with 95 samples from researchers and 94 samples from non-researchers. The urinary levels of di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP), bisphenol A (BPA), and benzo[a]pyrene were measured using β -glucuronidase hydrolysis and high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). **Results:** The levels of DEHP, BPA, and benzo[a]pyrene in the urine of biomedical laboratory researchers in Jiangsu Province

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(32271187, 32071142); 江苏省科学技术协会调研课题(JSKXKT2020013); 江苏高校“青蓝工程”中青年学术带头人(KY520R202025); 南京市江宁区科技惠民计划项目(2023003S)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: xuebin@njmu.edu

[(1 359.0±251.0) μg/g, (284.4±134.0) μg/g, (109.0±43.2) ng/g] were significantly higher than those in the control group's urine [(489.7±103.1) μg/g, (177.3±86.4) μg/g, (80.2±31.5) ng/g, $P < 0.001$]. Benzo[a]pyrene levels were higher in the urine of laboratory researchers in Nanjing and Suzhou [(132.4±37.1) ng/g, (139.3±32.8) ng/g], while DEHP showed no significant differences among laboratory researchers in different regions. However, the levels of BPA in laboratory researchers from Yancheng were the highest [(386.1 ± 202.1) μg/g]. **Conclusion:** Biomedical laboratory researchers in various regions of Jiangsu Province have higher accumulations of environmental pollutants in their bodies compared to non-laboratory personnel. This could be associated with their daily laboratory work, emphasizing the need for laboratory researchers to pay more attention to protecting themselves from environmental pollutants.

[**Key words**] biomedical laboratory; scientific researcher; environmental pollutant; urine

[J Nanjing Med Univ, 2024, 44(01):065-071]

由于全球气候变化、农药滥用和工业发展,空气、水和食品的污染日益严重。环境污染对人类健康的负面影响已成为一个非常严重的问题^[1]。生命科学或化学领域的科研实验室工作人员在科研工作过程中,经常会使用或接触到一些环境污染物。如邻苯二甲酸二乙酯[di(2-ethylhexyl) phthalate, DEHP],又称“环境荷尔蒙”,作为邻苯二甲酸盐最常见的一种,用于实验室内塑料手套、保鲜膜、塑料制品等物品中,其可以通过影响人体内的激素含量导致内分泌失调^[2];双酚A(bisphenol A, BPA)作为一种内分泌干扰物同样也存在于生物实验室经常使用的乳胶手套制品、塑料制胶板和细胞培养皿中^[3]。越来越多的证据表明,BPA可能会对人类健康造成不利影响,包括女性生育能力^[4]、男性性功能^[5]、精子质量^[6]等;而生物实验室使用的病理组织切片的石蜡块也可能存在大量的致癌物苯并芘(benzo[a]pyrene)^[7]。相较于实验室常见的有毒物质,如二甲苯、甲醇等,已有成熟的使用规范以及规章制度,且实验室人员对其均有相应的防范意识。而DEHP、BPA、苯并芘同样是实验室人员在科研工作中经常接触的环境污染物,却并没有相应的实验室使用规范,是潜在的危险因素。2020年1月,江苏省人民政府在《省政府关于印发落实健康中国行动推进健康江苏建设实施方案的通知》中明确强调要开展职业健康保护行动,推广使用新技术、新材料和新工艺,从源头消除、减轻和控制职业病危害^[8]。目前对实验室环境污染物的监控主要还是针对环境层面的物质浓度监测,以单位时间内有毒物质的暴露剂量(time-weighted average, TWA)作为主要的监测指标^[9]。然而,实验室环境中污染物浓度的监测并不能反映这些污染物在实验室工作人员体内实际残留的水平。

本研究旨在通过靶向暴露组学方法,利用自主研发的针对尿液的高分辨率质谱检测技术,检测人体尿液中环境污染物的残留量,作为评估环境污染物在实验室科研人员体内残留状况的直接证据。研究检测了江苏省不同地区实验室科研人员体内BPA、苯并芘以及DEHP水平,帮助实验室实时监测各种环境污染物的暴露和人体摄入,提高实验室工作人员日常工作的防护意识,减少环境污染物对人体的危害。

1 对象和方法

1.1 对象

在江苏省内苏北和苏南2个经济发展程度不同的区域分别选取2个相对具有一定代表性且科研相对集中的城市:南京、苏州、盐城、淮安。选取4个地区的高校中在生物医学实验室主要从事生物学和基础医学研究工作的一线科研人员100例作为实验组,以及非实验室工作人员100例作为对照组。2021年5—7月采集研究对象的第1次晨尿中段样本。由于个人意愿的原因,实验组和对照组分别有5人和4人未提交尿液样本,最终实验组和对照组分别收集到95例和94例样本,所有入组人员基本资料完整。纳入标准为:①无基础性疾病;②生活方式相对稳定;③20~40岁;④男女比例1:1。本研究经医院伦理委员会批准(2020-SR-014)。

1.2 方法

通过高分辨率质谱检测技术,对尿液样本进行靶向暴露组学检测和比较。

高效液相色谱-串联质谱法(high-performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)检测采用岛津LCMS-8050CL三重四极杆液质联用系统(注册医疗器械号:20182400195)

LC-30A系统,包括LC-30AD×2(输液泵)、SIL-30AC(自动进样器)、CTO-30A(柱温箱)、FCV-32AH(高压流路切换阀)、CBM-20A(系统控制器)、DGU-20A5(在线脱气机)和LabSolutions Ver.5.60(色谱工作站)。

液相条件:流动相,A相:(0.1%甲酸+5 mmol/L 甲酸铵)水,B相:乙腈;流速0.4 mL/min;柱温40℃;色谱柱ACQUITY UPLC BEH C18(1.7 μm,2.1 mm×100 mm);进样体积5 μL;洗脱方式:梯度洗脱,初始梯度比例30%(B相)。

质谱条件,离子源:ESI;DL温度:250℃;加热模块温度:400℃;接口温度:300℃;雾化气流速:2.0 L/min;干燥气流速:10.0 L/min;加热器流速:10.0 L/min;碰撞气:氩气;扫描模式:MRM。

检测步骤:①配制相关化学物质标准品的标准溶液,对标准品进行HPLC-MS/MS分析,建立对应的物质标准溶液的工作曲线;②采用甲醇为溶剂,并进行梯度稀释,通过对已知浓度的标准品进行HPLC-MS/MS分析,采集特征离子的峰面积,绘制标准曲线,实现目标物质的绝对定量;③取尿样2 mL先用0.22 μm滤膜过滤,乙酸-乙酸钠缓冲液(0.5 mol/L)调节pH值至5.4,再加入β-葡萄糖醛苷酶/芳基硫酸酯酶(10 μL),室温下孵育过夜完成酶解反应;④酶解后的样品,用SPE小柱(C18 ENVI,0.25 g)进行固相萃取。萃取物用甲醇(2 mL)洗脱,并用氮气吹干,最后用甲醇(100 μL)重溶作为待测分析物;⑤取50 μL待测分析物用微量注射器转移至液相色谱瓶中,专用于物质进样分析;⑥将HPLC-MS/MS分析所得的尿液样品中的物质根据工作曲线计算得出尿液中相应物质的绝对定量值。使用尿液样本尿肌酐数据对DEHP、BPA、苯并芘进行校准。

1.3 统计学方法

使用Microsoft Excel 2021进行数据录入,使用SPSS 23.0进行数据分析。制定物质单侧上限参考值范围,如果物质指标服从正态分布,采用正态分布法制定其95%参考值范围;如果物质指标不服从正态分布,采用百分位数法制定其95%参考值范围。分类资料用例数表示,两组间比较使用卡方检验,定量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间差异使用独立样本 t 检验或方差分析,多组定量资料则使用LSD法进行组间两两比较。使用二元Logistic回归模型对两组间年龄、性别和样本来源地点进行差异性分析。所有检验均为双侧检验, $P < 0.05$ 为

差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象基本情况

本次调查最终纳入江苏省南京、苏州、盐城、淮安4个地区共95名生物医学实验室科研人员以及94名非实验室科研人员为研究对象。被调查人员中男性114人(占60.3%),女性75人(占39.7%)。由于对照组的抽样对象以学校行政工作人员为主,其中女性人数较少,因此对照组男性居多,而实验组的抽样对象男女性别比例较为均衡,因此实验组男女比例符合1:1的入组标准。所有研究对象年龄18~44岁,平均年龄(26.83±4.89)岁;尿液中环境污染物的靶向暴露组学检测结果显示,DEHP、BPA、苯并芘在实验组尿液中残留量均高于对照组,差异具有统计学意义(P 均 < 0.001 ,表1)。使用二元Logistic回归分析对实验组与对照组年龄、性别和样本来源进行差异性分析,结果显示,年龄和地点在实验组与对照组之间无显著性差异,而性别在两组间有显著性差异($P < 0.01$,表2)。

2.2 江苏省不同地区实验室科研人员体内环境污染物残留比较

在本次调查抽样的95名实验室科研人员中,江苏省内不同地区的科研人员体内环境污染物含量有明显差异。其中苯并芘在南京和苏州地区的实验室科研人员体内含量较高[(132.4±37.1)ng/g、(139.9±32.8)ng/g],DEHP在各地实验室科研人员体内没有明显差异,而盐城地区科研人员体内的BPA含量最高[(386.1±202.1)μg/g,图1]。

此外,在南京、苏州和盐城3地的样本中,DEHP、BPA、苯并芘在实验组体内的含量均显著高于对照组(图2A~C, $P < 0.001$)。但是,在来自淮安的样本中,除了DEHP在两组之间呈现显著差异[实验组(1 284.0±283.9)μg/g;对照组(470.9±124.5)μg/g; $P < 0.001$],苯并芘和BPA在两组之间并没有显著性差异(图2D)。

2.3 不同性别实验组与对照组体内环境污染物残留比较

二元Logistic回归分析结果表明性别在两组间有显著性差异,因此本研究分别对实验组和对照组中的男性进行了体内3种环境污染物残留水平的比较分析。结果发现,无论是男性还是女性,实验组人员体内3种环境污染物残留水平均显著高于对照组($P < 0.001$,图3)。

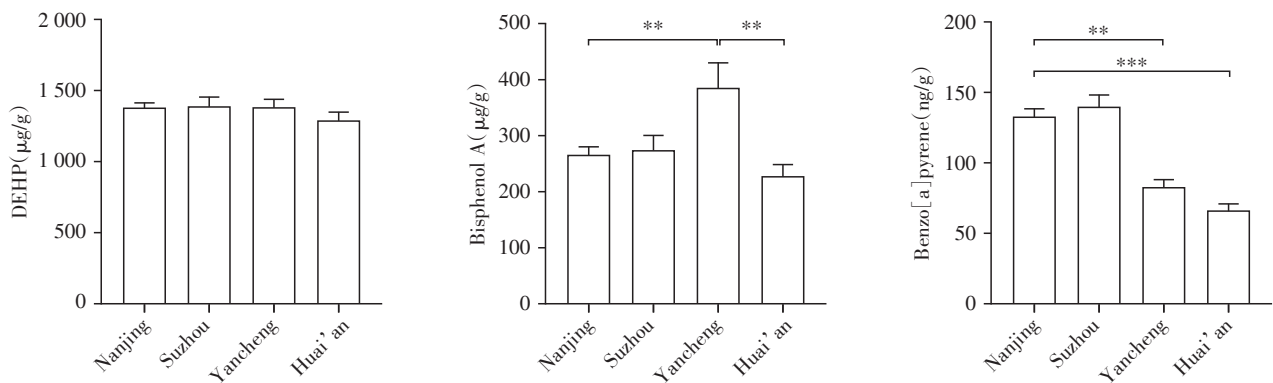
表1 研究对象基本情况表
Table 1 Demographic characteristics of subjects

Factors	Control group(n=94)	Test group(n=95)	P
Gender(n)			0.006
Male	66	48	
Female	28	47	
Age(n)			0.578
≤30 years	61	81	
31-40 years	32	14	
41-50 years	1	0	
Regional distribution(n)			1.000
Nanjing	40	41	
Suzhou	14	14	
Yancheng	20	20	
Huai'an	20	20	
Environmental pollutants			
DEHP(μg/g)	489.7 ± 103.1	1 359.0 ± 251.0	< 0.001
Bisphenol A(μg/g)	177.3 ± 86.4	284.4 ± 134.0	< 0.001
Benzo[a]pyrene(ng/g)	80.2 ± 31.5	109.0 ± 43.2	< 0.001

表2 实验人员组与对照人员组年龄,性别和样本来源的差异性分析

Table 2 Variance analysis of age, gender and location between experimental and control groups

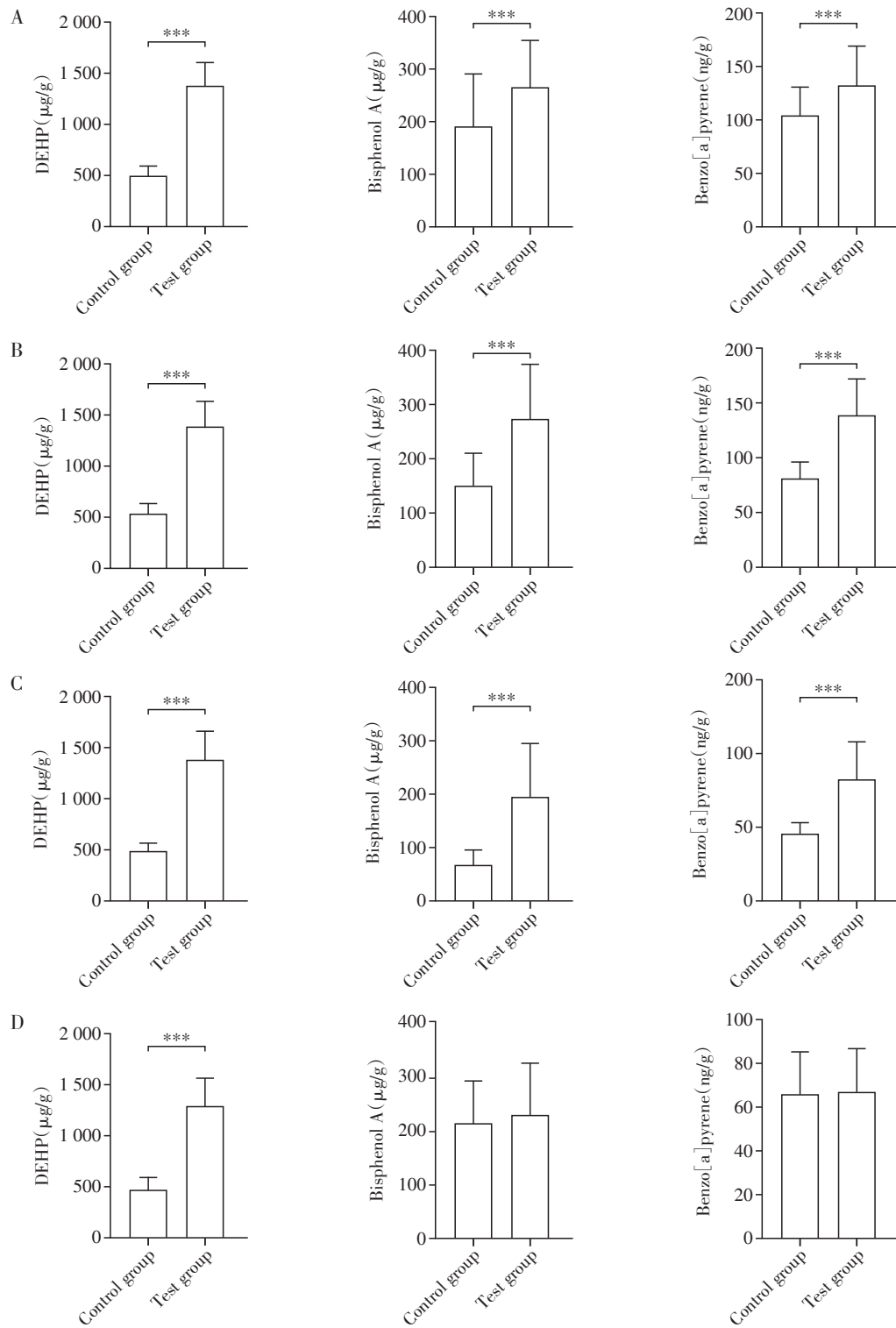
Factors	B	S.E.	Wald	df	P	OR	95%CI
Age	-0.005	0.031	0.022	1	0.882	0.995	0.936-1.058
Gender(male vs. female)	-0.847	0.307	7.608	1	0.006	0.429	0.235-0.783
Locations							
Nanjing	0	-	0.124	3	0.989	1.000	-
Suzhou	-0.153	0.451	0.115	1	0.734	0.858	0.354-2.078
Yancheng	-0.045	0.396	0.013	1	0.909	0.956	0.440-2.076
Huai'an	-0.074	0.402	0.034	1	0.854	0.929	0.423-2.041



The above data have been calibrated for urinary creatinine standardization. **P < 0.01, ***P < 0.001.

图1 3种环境污染物在不同地区生物医学实验室科研人员体内残留水平的差异

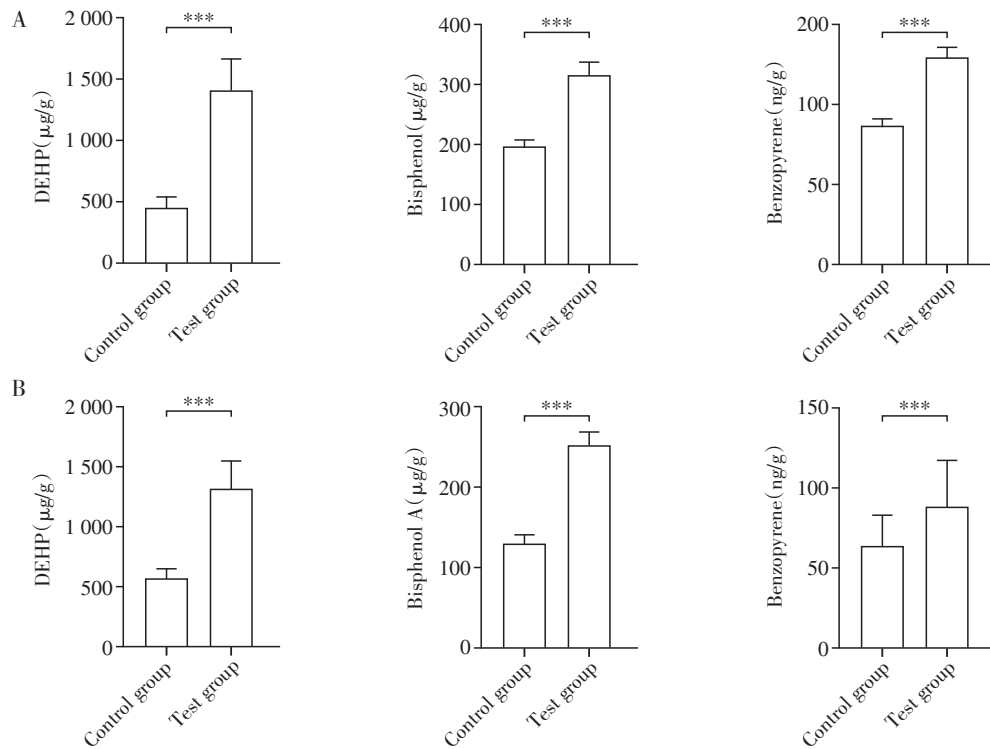
Figure 1 Differences in residual levels of three environmental pollutants in biomedical laboratory researchers from different regions



A: Differences of three environmental pollutants in urine samples of laboratory researchers and control group in Nanjing. B: Differences of three environmental pollutants in urine samples of laboratory researchers and control group in Suzhou. C: Differences of three environmental pollutants in urine samples of laboratory researchers and control group in Yancheng. D: Differences of three environmental pollutants in urine samples of laboratory researchers and control group in Huai'an. The above data have been standardized for urinary creatinine. *** $P < 0.001$.

图2 不同地区生物医学实验室科研人员与对照组人员体内3种环境污染物质残留水平比较

Figure 2 Comparison of residual levels of three environmental pollutants between biomedical laboratory researchers and control group from different regions



A: Differences of three environmental pollutants in urine samples of male laboratory researchers and control subjects. B: Differences of three environmental pollutants in urine samples of female laboratory researchers and control group. The above data have been standardized for urinary creatinine. *** $P < 0.001$.

图3 不同性别实验室人员与对照人员体内3种环境污染物质残留水平的差异

Figure 3 Differences in residual levels of three environmental contaminants in male and female laboratory researchers and control groups

3 讨论

生物医学实验室科研人员每天工作都会接触到各种环境污染物,这些环境污染物会对生殖系统、神经系统和内分泌系统造成很大的影响^[10],如果不加以控制,将会严重危害身体健康、家庭幸福以及未来的职业发展。DEHP、BPA、苯并芘为3种实验室常见的环境污染物,国内外关于这3种环境污染物对人体的危害研究较多,较为全面,但对3种污染物危害的关注主要集中于土壤、水体和气体等环境介质,而对于生物医学实验室这类同样容易受到污染的环境以及可能对科研人员健康造成的危害并没有足够的关注。

本研究通过检测DEHP、BPA、苯并芘在人体内的残留水平,探究3种环境污染物在实验室科研人员中的暴露现状。本研究采取非侵入性来源的尿液作为检测对象,这种样本有利于收集且价格低廉。研究结果显示在纳入的189例样本中,江苏省各地区实验室科研人员体内积累的环境污染物普遍高于非实验室科研人员,且无论在男性还是女性

队列中均存在此现象。这可能是因为生物医学实验室科研人员每天在进行各种实验的过程中不可避免地会接触到手套、培养皿、石蜡等实验器材,这可能导致器材中的环境污染物在人体的积累。本研究的问卷调查同时也发现实验室科研人员对DEHP、BPA、苯并芘等环境污染物的防范意识较差,没有正确认识到这些环境污染物对人体的危害,这种状况很可能导致环境污染物在体内的积累,进而引发各种“职业病”。因此应进一步加强对科研工作者环境污染物危害相关知识的宣传力度和深度,加强科研工作者的防范意识。

此外,不同地区实验室科研人员体内3种环境污染物含量也有差异,南京,苏州和盐城地区实验室科研人员可能更容易接触到实验室内部的各种化学物质。这种差异的出现可能是不同地区的经济发展水平以及工业侧重方向的不同导致的。经济发展水平的不同往往会影响到当地实验室配备仪器耗材的种类,实验室防护设备的完善程度以及科研任务的强度,这些影响就有可能导致不同地区实验室科研人员体内环境污染物残留水平的差异。

研究报道称中国西南地区学生体内这3种污染物的残留水平都显著低于来自华东地区的学生^[11];也有报道称中国华北地区的空气污染比华南地区严重^[12]。这可能部分解释生活环境可以决定我们体内累积的污染物水平。

本次调查存在一些局限性,本研究所选取的实验室科研人员均为主动申报,并非随机抽样产生,容易产生偏倚。另外,由于非实验室科研人员的样本来源以学校行政工作人员为主,其中女性人数较少,因此非实验室科研人员入组的男性居多,易产生性别偏倚,虽然科研人员体内3种环境污染物水平在男性和女性样本中均显著高于对照组人员,并不影响本研究的结论,但后续仍然需要扩充样本量,均衡男女性别比例,提高结果的可信度。

鉴于以上调研结果,本文建议制定并完善各实验室职业安全管理制度,增加实验室常见化学物质的常规检测,并将人体环境污染物检测作为一项常规体检项目,建立科研人员环境污染物相关的健康信息档案。同时,制定更加完善的实验室安全防护制度。只有建立健全完善的实验室安全防护制度,提高科研人员的防护意识,才能持续有效地推动科研工作,推进科研强国建设。

[参考文献]

- [1] LI A M. Ecological determinants of health: food and environment on human health[J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2017, 24(10): 9002-9015
- [2] 林兴桃,王小逸,任仁. 环境内分泌干扰物——邻苯二甲酸酯的研究[J]. *环境污染与防治*, 2003, 25(5): 286-288, 292
- [3] MANELLE R, MEREDITH S, RAFAEL J, et al. Disruption of neonatal cardiomyocyte physiology following exposure to bisphenol-a[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 7356
- [4] WETHERILL Y B, AKINGBEMI B T, KANNO J, et al. *In vitro* molecular mechanisms of bisphenol A action [J]. *Reprod Toxicol*, 2007, 24(2): 178-198
- [5] LI D, ZHOU Z, QING D, et al. Occupational exposure to bisphenol-A (BPA) and the risk of self-reported male sexual dysfunction[J]. *Hum Reprod*, 2010, 25(2): 519-527
- [6] MEEKER J D, EHRLICH S, TOTH T L, et al. Semen quality and sperm DNA damage in relation to urinary bisphenol A among men from an infertility clinic [J]. *Reproductive Toxicol Elmsford N Y*, 2010, 30(4): 532-539
- [7] NAKAGAWA T, SATO Y, WATABE A, et al. Determination of benzo(a)pyrene in liquid paraffin by high performance liquid chromatography (HPLC) [J]. *Bull Environ Contam Toxicol*, 1978, 19(6): 703-706
- [8] 江苏省人民政府. 省政府关于印发落实健康中国行动推进健康江苏建设实施方案的通知 [EB/OL]. (2020-01-26)[2023-11-02]. http://www.jiangsu.gov.cn/art/2020/2/7/art_46143_8965253.html
- [9] DONG Z, WANG H, YIN P, et al. Time-weighted average of fine particulate matter exposure and cause-specific mortality in China: a nationwide analysis[J]. *Lancet Planet Health*, 2020, 4(8): e343-e351
- [10] 张信连,杨维东,刘洁生. 环境内分泌干扰物对生物和人体健康的影响[J]. *国外医学(临床生物化学与检验学分册)*, 2005, 26(6): 349-351
- [11] LIANG D, WANG Y Q, WANG Y J, et al. National air pollution distribution in China and related geographic, gaseous pollutant, and socio-economic factors [J]. *Environ Pollut*, 2019, 250: 998-1009
- [12] SONG C, WU L, XIE Y, et al. Air pollution in China: status and spatiotemporal variations [J]. *Environ Pollut*, 2017, 227: 334-347

[收稿日期] 2023-04-19

(本文编辑:蒋莉)