

化学发光检测试剂鲁米诺的安全使用策略

刘晓志, 赵伟, 常亮, 高健*

华北制药集团新药研究开发有限责任公司, 抗体药物研制国家重点实验室, 石家庄 050015

摘要: 鲁米诺是一种对于不可见血迹进行增强显示的试剂, 是法医科学中最敏感的显色试剂之一, 同时也可作为发光试剂应用于各种生物检测体系中。出于对安全与健康的担心, 该试剂在英国和其他一些欧洲国家的使用一直受到限制。本文综述了有关鲁米诺试剂对于健康的影响的研究进展, 分析显示只要采取适当的防护措施, 在犯罪现场或在实验室使用鲁米诺试剂的安全风险可控。

关键词: 鲁米诺; 血; 安全风险; 毒性

DOI: 10.3969/j.issn.2095-2341.2014.03.06

The Safe Use of a Chemiluminescence Detection Reagent Luminol

LIU Xiao-zhi, ZHAO Wei, CHANG Liang, GAO Jian*

State Key Laboratory of Antibody Research and Development; New Drug Research and Development Company Ltd., North China Pharmaceutical Corporation, Shijiazhuang 050015, China

Abstract: Luminol is a reagent that is used to enhance the display of non-visible blood stains and it is one of the most sensitive reagents available to forensic scientists. It is also known as light-emitting reagent used in biological detection systems. However, its use has been limited particularly within the UK and some other European countries, predominantly due to concerns about health and safety of the reagent. This paper reviews current research progress of effects of luminol on health. It showed that there is no impact on health when using luminol at the crime scene or in the laboratory if suitable protective measures are taken.

Key words: luminol; blood; safety risk; toxicity

鲁米诺(luminol), 化学名称为 3-氨基邻苯二甲酰肼。血红蛋白含有铁, 而铁能催化过氧化氢的分解, 并氧化鲁米诺发光, 所以含过氧化氢的鲁米诺试剂广泛应用于刑事侦查、生物工程、化学示踪等领域^[1]。世界各地的法医和刑警使用鲁米诺作为血迹的增强显色剂, 并用于犯罪现场证据的收集及实验室血液测定等工作, 在犯罪现场将鲁米诺溶液喷洒在可能残留血迹的区域, 鲁米诺溶液遇到血红蛋白就会释放活性氧, 氧化鲁米诺发出蓝绿色光, 用于相机拍照取证。此试剂被法医科学家认为是最敏感的血液检测增强试剂^[2]。

鲁米诺也被广泛作为化学发光试剂使用, 常用于化学发光免疫分析生化系统中^[3]。如: 辣根

过氧化物酶 HRP(horse radish peroxidase) 可以催化过氧化氢的分解, 并氧化鲁米诺, 鲁米诺经氧化后可发出蓝光, 这种蓝光可经荧光 CCD 扫描检测^[4]。

尽管鲁米诺试剂已经广泛应用于血液检测、DNA 测序和血清学分析等领域, 但是英国和其他一些欧洲国家的法医和刑警仍对该试剂存疑, 他们认为鲁米诺试剂的使用会对健康构成威胁。试剂生产商在鲁米诺的说明书中指出, 鲁米诺会通过吸入、食入或皮肤吸收等方式刺激眼睛、呼吸系统及皮肤。20 世纪 90 年代初, 鲁米诺对健康产生的影响被曝光后, 其安全性备受关注, 使用也受到了影响。但是由于使用剂量小, 鲁米诺在实验

收稿日期: 2014-02-10; 接受日期: 2014-03-31

基金项目: 国家科技重大专项(2012ZX10001008-015; 2012ZX09101313); 国家科技支撑计划项目(2012AA02A701) 资助。

作者简介: 刘晓志, 高级工程师, 博士, 主要从事蛋白药物研发。E-mail: 13073182298@163.com。* 通信作者: 高健, 高级工程师, 主要从事蛋白药物研发。E-mail: gaojian3993@aliyun.com

室作为化学发光试剂使用仍被认为是安全的。本文综述了鲁米诺试剂的安全风险研究情况,在此基础上提出了其安全使用的策略。

1 鲁米诺的发现与应用

20 世纪 30 年代,鲁米诺作为血液增强试剂被首次报道,它可作为一种发现肉眼不可见的血痕的检测试剂在法医领域广泛应用^[5]。但鲁米诺并不仅仅应用于法医学领域,在 20 世纪 60 年代曾用于脱发的临床治疗、促进血液凝集和伤口愈合等^[6],后来由于耐药性的问题退出了临床治疗领域。目前,其氧化发光的特性在免疫学检测领域得到了非常广泛的应用^[7~10]。

2 鲁米诺的安全风险研究

2.1 鲁米诺的遗传毒性

姊妹染色体单交换 (SCE, sister chromatid exchanges) 发生在细胞有丝分裂时同源姊妹染色体之间,SCE 的发生几率被用来评估化学物质或类似物潜在的遗传毒性。1990 年,Ikushima^[11] 研究发现鲁米诺可能会增大 SCE 的几率。该研究分别用 0.25 mmol/L、0.5 mmol/L 和 1 mmol/L 的鲁米诺处理中华仓鼠 (Chinese hamster) V79 细胞,无论处理时长为 12 h 还是 24 h,V79 细胞 SCE 的几率都会增加。该研究还发现,SCE 只发生在细胞分裂间期“S 期”,而且去除鲁米诺之后,细胞会迅速地回复到正常的状态,因此推测鲁米诺可能并不直接作用于 DNA 而产生 SCE。

另一项针对中华仓鼠细胞的实验^[12]证实,鲁米诺可以对 DNA 的修复与重组产生影响。鲁米诺可抑制多聚腺苷二磷酸核糖聚合酶的活性,进而影响细胞 DNA 的修复、复制和重组,并增加 DNA 的断裂。

目前研究只能确定鲁米诺是可能的诱变剂,但未对人正常细胞 (如人类外周血淋巴细胞) SCE 的增加几率及细胞损伤的危险程度进行实验,因此,尚无法评估鲁米诺对人体细胞产生毒害的剂量。除鲁米诺以外,日常生活及实验室工作中接触的许多化学品,如氯仿^[13]、乙酸^[14]和糖精^[15]等,也可能引起 SCE 的增加,并影响体内 DNA 的修复和重组。但是实际上,这些化学品常

会被作为食品添加剂使用,并没有被禁止。因此问题的关键是,必须控制这类化学品的摄入量以降低机体产生诱变的可能,并对实验室使用加以规范和加强管理,以降低使用风险。

2.2 鲁米诺的毒理学研究

有关鲁米诺的毒理学研究主要为动物实验。1997 年,美国 ILS 公司 (Integrated Laboratory System Inc.) 的研究报告^[16]显示,大鼠口服鲁米诺的 LD₅₀ (半致死剂量) 为 500 mg/kg; 雌狗静脉推注 2.5 mg 鲁米诺可导致尿钠增加及动脉血压下降; 小鼠腹腔注射 2.5 mg 鲁米诺无不良反应发生。

鲁米诺在体外实验中被氧化形成包括 3-氨基邻苯二甲酸盐在内的三种产物,但研究显示在体内,鲁米诺并不形成上述产物^[17]。在体内,鲁米诺会被胃肠道迅速吸收并从尿液排出体外,只有极少量的鲁米诺及其代谢产物在组织中沉积。Sanders 等^[18]的研究表明,皮肤对鲁米诺的吸收很差,如果人体的鲁米诺代谢方式同大鼠相似,通过皮肤或其他途径进入体内的鲁米诺不会在体内沉积或造成慢性毒性。并且,至今没有一例因没有佩戴口罩等防护措施导致使用鲁米诺中毒事件的报道。因此可以推测,即使鲁米诺很容易吸收肺泡上皮细胞或通过胃肠道粘膜等进入血液,也会被从尿液快速排出体外,鲁米诺透过皮肤或在体内沉积的几率很小,因此导致慢性中毒的可能性很小。美国卫生及公共服务部认为,由于缺乏皮肤吸收途径、并且代谢迅速得以清除,因此鲁米诺是安全的^[19]。英国卫生部的一项国家毒理学计划研究也显示,鲁米诺没有诱变剂的基本特征^[20]。

鲁米诺对人类的毒性尚无直接证据,虽然有体外实验证实鲁米诺可以和人血清白蛋白结合^[21],但是上述美国 ILS 公司的动物实验证实,只有大剂量药物才导致实验动物生理变化及死亡,小剂量没有对实验动物几乎没有影响; 20 世纪 60 年代鲁米诺被直接用于临床治疗,也没有证据证实鲁米诺有毒副作用^[6]。因此,可以认为仅鲁米诺本身对人类产生的危害很小。

2.3 鲁米诺试剂潜在的使用风险

法医使用的鲁米诺试剂中并非只有鲁米诺单一成分。Grotsky 等^[22]报道中所配制的溶液被称

为鲁米诺溶液 I,是利用碳酸钠和过硼酸钠等配制的溶液;之后 Weber 等^[23]配制的溶液被成为鲁米诺溶液 II,是利用氢氧化钠和过氧化氢等配制的溶液。这些溶液都是水性溶液。通常鲁米诺溶液中的鲁米诺含量在 0.5~1.0 g/L 范围内。

鲁米诺试剂的使用风险除了来自鲁米诺本身外,还来源于其溶液中的其他成分,如碱和氧化剂等。其中,氢氧化钠具有腐蚀性,对呼吸道会产生严重的刺激性,还可以引发诱变;碳酸钠对眼睛和粘膜具有较大的刺激并对生殖具有危害;过氧化氢具有腐蚀性,吸入可导致伤害,吞咽可能致癌、导致同源姊妹染色体发生交换^[24];过硼酸钠对眼睛和皮肤有致畸和突变的危险^[25]。

3 鲁米诺的安全使用策略

虽然鲁米诺溶液被作为血液显色增强剂在全世界广泛应用,但出于安全考虑,并不被英国及其他一些欧洲国家所接受,人们担心在溶液配制、应用及使用后在物品表面的残留危害。但研究发现,鲁米诺以及配制鲁米诺试剂所使用的其他化学品普遍具有潜在的健康风险,因此,我们在控制有害化学品用量的同时,应采取适当措施和使用防护设备来减少风险。过氧化氢同鲁米诺一样是由于引发了同源姊妹染色体交换而备受关注的^[24],但是过氧化氢却被广泛的应用于头发漂白、牙齿美白、医疗的消毒和灭菌行业。这说明,不必过分关注由化学品引发的姊妹染色体交换几率的上升,应对可引发危害的药物剂量及采用的安全措施加以研究。

使用鲁米诺的风险控制关键在于溶液的制备及使用过程。在溶液制备时,对组分浓度及在配制过程中每种组分的暴露进行严格控制。在实验室或犯罪现场使用鲁米诺溶液前,应该仔细查阅产品安全数据说明书中有关各组分的相关信息。这些信息包括特定方法下药物使用的浓度和质量,以及泄漏后的处理办法。健康和安全规范一般要求说明危险品危害身体的途径(通过呼吸系统、皮肤和食道等),采用适当的防护装备阻止伤害。使用者应使用必要的防护装备以阻止在配制及使用过程中的危害。

综上所述,鲁米诺是一种安全的实验试剂,只

要遵循试剂说明进行使用并采取必要的防护措施,对法医人员及实验者的危害很小。

参 考 文 献

- [1] Lara F J, García-Campaña A M, Velasco A I. Advances and analytical applications in chemiluminescence coupled to capillary electrophoresis[J]. *Electrophoresis*, 2010, 31(12): 1998–2027.
- [2] Castello A, Alvarez M, Verdu F. Accuracy, reliability, and safety of luminol in bloodstain investigation[J]. *Can. Soc. Forensic Sci. J.*, 2002, (2): 113–121.
- [3] Kugimiya A, Fukada R, Funamoto D. A luminol chemiluminescence method for sensing histidine and lysine using enzyme reactions[J]. *Anal. Biochem.*, 2013, 443(1): 22–26.
- [4] Díaz A N, Sánchez F G, Baro E N, *et al.*. Sensitive chemiluminescent immunoassay of triclopyr by digital image analysis[J]. *Talanta*, 2012, 97: 42–47.
- [5] Proescher F, Moody A M. Detection of blood by means of chemiluminescence[J]. *J. Lab. Clin. Med.*, 1939, 24: 1183–1189.
- [6] Irie S. The treatment of wounds with 3-aminophthalhydrazide[J]. *The American Surgeon*, 1961, 27(2): 642–645.
- [7] Fan A, Cao Z, Li H, *et al.*. Chemiluminescence platforms in immunoassay and DNA analyses[J]. *Anal. Sci.*, 2009, 25(5): 587–597.
- [8] Yu X, He Y, Jiang J, *et al.*. A competitive immunoassay for sensitive detection of small molecules chloramphenicol based on luminol functionalized silver nanoprobe[J]. *Anal. Chim. Acta.*, 2014, (812): 236–242.
- [9] Jiang X, Chai Y, Wang H, *et al.*. Electrochemiluminescence of luminol enhanced by the synergetic catalysis of hemin and silver nanoparticles for sensitive protein detection[J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2014, 15(54): 20–26.
- [10] Yu F, Yu S, Yu L, *et al.*. Determination of residual enrofloxacin in food samples by a sensitive method of chemiluminescence enzyme immunoassay[J]. *Food Chem.*, 2014, 15(149): 71–75.
- [11] Ikushima T. Bimodal induction of sister chromatid exchanges by luminol, an inhibitor of poly (ADP-ribose) synthetase, during the S-phase of the cell cycle[J]. *Chromosoma.*, 1990, 99(5): 360–364.
- [12] Abramian D S, Romanov S R, Smagina L V, *et al.*. Agents that act on chromatin structure affect the rate of intrachromosomal homologous DNA recombination in cultured cells[J]. *Tsitologiya*, 1994, 36(9–10): 1012–1021.
- [13] Chloroform, Safety Data Sheet [EB/OL]. <http://www.labchem.com/tools/msds/msds/LC13040.pdf>, 2013–06–03.
- [14] Acetic Acid, Safety Data Sheet 75003[EB/OL]. <http://www.labchem.com/tools/msds/msds/LC10100.pdf>, 2013–10–01.
- [15] Wolff S, Rodin B. Saccharin-induced sister chromatid exchanges in Chinese hamster and human cells[J]. *Science*, 1978, 200(4341): 543–545.
- [16] Tice R. Review of toxicological literature, report prepared by ‘Integrated Laboratory Systems’ for National Institute of Envi-

- ronmental Health Sciences [EB/OL]. http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/Chem_Background/ExSumPdf/Luminol_508.pdf, 1997-07.
- [17] Jansen E H, van den Berg R H, High-performance liquid chromatographic investigation of product formation in the horseradish peroxidase-enhanced chemiluminescence of luminol with different enhancers[J]. J Chromatogr., 1991, 566(2): 461-469.
- [18] Sanders J M, Chen L J, Burka L T, *et al.*. Metabolism and disposition of luminol in the rat[J]. Xenobiotica., 2000, 30(3): 263-272.
- [19] Chemicals nominated to the NTP for study and testing[R]. Federal Register, 1997, 62(176): 47821-47822.
- [20] Home Office Police Scientific Development Branch Fingerprint Development and Imaging Update Publication No. 26/2003 [R]. 2003-11.
- [21] Buturlakin M S, Kiseleva V G, Shmelev V P. Interaction of human serum albumin and luminol [J]. Biofizika, 1975, 20(6): 975-977.
- [22] Grodsky M, Wright K, Kirk P L. Simplified preliminary blood testing: an improved technique and a comparative study of methods[J]. J J. Crimin. Law Criminol., 1951, 42(1): 95-104.
- [23] Weber K. The use of chemiluminescence of luminol in forensic medicine and toxicology. I. Identification of blood stains [J]. Dtsch Z Gesamte Gerichtl Med., 1966; 57(3): 410-423.
- [24] Chatterjee A, Chattopadhyay A, Lawlor C J. Effect of glutathione on sister-chromatid exchanges in normal and buthionine sulfoximine-treated mice[J]. Mutat. Res., 1995, 327(1-2): 171-177.
- [25] Duydu Y, Başaran N, Üstündağ A, *et al.*. Reproductive toxicity parameters and biological monitoring in occupationally and environmentally boron-exposed persons in Bandırma, Turkey[J]. Arch. Toxicol., 2011, 85(6): 589-600.