

## الباب التاسع

أبحاث السمية الرئوية و الاستنشاق



## أبحاث السمية الرئوية و الاستنشاق

يجب و أن يشمل تصميم تجارب أبحاث السمية بالاستنشاق نفس الظروف التي تعامل لتجارب السمية و التي تعطي فيها المادة المختبرة خلال طريق القناة التنفسية تحت الظروف القياسية و الموحدة التالية :

• اختيار الأنواع الشائعة الإستخدام و التي تتضمن الفئران بنوعيهما (Mouse & rats) و الجرذان (Hamster) و خنازير غينيا ( Guinea pig ) و الكلاب .

• اختيار الجنس (Sex) و غالبا ما يستخدم الجنسين وذلك لتفاوت درجة الاستجابة بينهما .

• حجم المجموعة المختبرة و غالبا ما تكون عشرة حيوانات /جنس / مجموعة مختبرة من المجموعات الأربعة (ثلاث مجموعات معاملة بنفس التركيز و مجموعة غير معاملة تمثل الكنترول ) في الدراسة لمدة تسعون يوما . أو تكون خمسون حيوان / جنس /مجموعة وذلك في الدراسة المزمنة .

• معايير الدراسة كوزن الجسم ثم وزن الأعضاء ومعدل استهلاك (Food consumption) و الملاحظات السريرية و الاختبارات الهيماتولوجية و البيوكيميائية و الوظيفية و دراسة الحالة المرضية لكل عضو .

و بالنسبة للأبحاث لأغراض تسجيل المواد الكيميائية و العقاقير المختلفة ( Registration ) فعادة ما تنفذ طبقا لمنظمة التعاون الاقتصادي والتنمية (Organization for Economic Cooperation & Development : OECD) و التي تقسم الطرق المختلفة في البحث ودراسة السمية إلى :

١ . سمية حادة (Acute poisoning) : حيث يتم فيها التعريض لفترة أقل من ٢٤ ساعة .

٢ . سمية تحت حادة ( Sub acute Poisoning ) حيث يتم فيها التعريض لفترة ٢-٤ أسبوع .

٣ . سمية شبه مزمنة (Sub chronic poisoning) : حيث يتم فيها التعريض لفترة ١٣ أسبوع (أي تسعون يوما )

٣. سمية مزمنة ( Chronic poisoning ) : حيث يتم فيها التعريض لفترة ٧٨ أسبوع (٥٤٦ يوم ) إلى ١٣٠ أسبوع (٩١٠ يوم )

١- السمية الحادة بالاستنشاق ( Inhalation Acute Toxicity ) :  
و فيها يتم تعريض الكائن الحي المختبر لفترة أقل من ٢٤ ساعة .  
وتعتبر هذه الاختبارات عن السمية أو التأثيرات الضارة الكلية (Total harmful effects) و الناتجة عن المادة موضع الاختبار كنتيجة لتعريض مفرد (Single) خلال فترة تعريض بالاستنشاق غير متقطعة (Un interrupted period) أقل من ٢٤ ساعة .

و يكون الغرض من دراسة السمية الحادة بالاستنشاق هو الوقوف على السمية الحادة لمادة ما بالنسبة لمادة أخرى والحصول على حركية (كينيتيكية) آلية فعلها و التي تظهر هذه المادة من خلالها تأثيرها .  
و تخدم بيانات السمية المتحصل عليها لهذه المادة كأساس (كقاعدة) يرتكز إليها عند قياس المخاطرة النسبية لصحة الإنسان .  
و الاختبارات شائعة التنفيذ هنا هي :

١-١- اختبار حدود السمية ( Toxicity Limit test ) : وهي أكثر الإختبارات إستخداما و يتميز باستخدامه التركيز (C : Concentration) و الوقت (T : Time) وهو في العادة أربعة ساعات حيث تراقب الحيوانات بعد المعاملة لمدة أربعة عشرة يوم .

١-٢- اختبار تعيين التركيز القاتل لنصف عدد الأفراد ( Lethal concentration : LC<sub>50</sub> ) : وهو أكثر الإختبارات استخداما و يتميز باستخدامه التركيز (C : Concentration) و الوقت (T : Time) .

و أي اختبار لتعيين التركيز القاتل لنصف عدد الأفراد ( LC<sub>50</sub> ) عادة ما يبدأ باختبار محدود إذا ما كان تقنيا : إذا كان أعلى تركيز محتمل أقل من ٥٠ % موت يكون موجود في مجموعة من حيوانات التجربة ، أو إذا كان عند أقصى تركيز ٥ ملج من المادة / لتر هواء فلا يكون هناك موت نتيجة التعريض ، و إذا كان الموت ٥٠ % أو أكثر فعلي الأقل مجموعة أو أكثر

تعرض لتركيزات مختلفة . حيث تقدر التركيز القاتل للنصف بعد ذلك حسابيا مع تقدير حدود الثقة عليها .

ولا تستخدم قيم التركيز القاتل للنصف فقط لتقسيم المركبات والسموم البيئية و الملوثات إلى أقسام مختلفة من حيث مراتب (Category) أو درجات السمية بالاستنشاق و لكن أيضا كأساس لأبحاث متقدمة في السمية .

### ١-٣-اختبار المخاطرة بالاستنشاق (Inhalation hazard test):

وفيه يستمر التعريض سبعة ساعات وإجراء الإختبار في الغلاف الجوي (Atmosphere) تستخدم أوعية تبخر قياسية (Vessel) و التي دائما ما تحتوى على نفس الحجم من كل مادة مختبرة ويحفظ وعاء التبخر على درجة حرارة ٢٠م فإذا ما مد الوعاء بحجم ثابت من الهواء (Fixed air volume) فان المكونات المتطايرة بالمادة المختبرة تتبخر .

أما في حالة المواد الصلبة فان الجسيمات الدقيقة تحمل أيضا مع تيار الهواء ويقدر تركيز المواد بدرجة تطايرها أما في حالة المواد الصلبة هذه فيقدر تركيزها من خلال صفاتها الطبيعية والمتعلقة بتكوين الايروسول . وتشير نتائج الاختبار فقط عما إذا كانت المادة المختبرة تعد خطر استنساقي أم لا.

### ١-٤-اختبار تقدير العلاقة بين التركيز - الوقت (Conc.-Time relationship): و اختبار تقدير العلاقة بين التركيز-الاستجابة (Conc.-Response relation ship)

بالرغم من أن قيم التركيز القاتل للنصف تعطى معلومات عن السمة الحادة بالاستنشاق وتتطور طرق الاختبار بحيث تمد بمعلومات أكثر مطابقة ومناسبة لهذا الصدد . ولقد أظهرت التجارب الحالية بأنه ما إذا كان كل من وقت التعريض والتركيز مختلفين وأثنين من الحيوانات المختبرة بدلا من عشرة تعرض لكل مجموعة فمن المتفق أن معلومات أكثر يتم الحصول عليها من نفس العدد من الحيوانات المختبرة . وعلاقة التركيز - الوقت و التركيز - الاستجابة سيتم مناقشتها فيما بعد .

٢- اختبارات السمية شبه الحادة وشبه المزمنة والمزمنة بالاستنشاق :  
تشمل اختبارات السمية شبه الحادة وشبه المزمنة والمزمنة بالاستنشاق  
التأثيرات الضارة والناجمة عن المواد الكيميائية والملوثات والسموم البيئية  
كنتيجة للتعرض بالاستنشاق اليومي المتكرر (Repeated Daily Inhalation  
Exposure).

وتضمن دراسات السمية شبه الحادة التعريض لفترة أكثر من يوم وحتى  
شهر وغالبا ما تكون ١٤-٢٨ يوم  
وتضمن دراسات السمية شبه المزمنة التعريض لفترة أكثر من شهر وحتى  
فترة لا يفضل وان تزيد عن ١٠ % من  
فترة حياة الحيوان التجريبي المتوقعة  
وعليه فغالبا ما تكون ٩٠ يوما .  
وتضمن دراسات السمية المزمنة التعريض لفترة تتراوح بين ٧٨  
-١٣٠ أسبوع أي يستمر البحث لفترة  
أكثر من ١٠% من فترة حياة الحيوان  
التجريبي المتوقعة .

وخلال فترات التعريض السابقة فإن الحيوانات عادة ما تعرض لمدة ٦-  
٧ ساعة /يوم ولمدة خمسة أيام/ أسبوع .

و اختبارات السمية المزمنة بالاستنشاق يمكن و أن تقسم الي :

- اختبارات سمية مزمنة (Chronic Toxicity tests)
  - اختبارات سرطانية (Carcinogenicity tests)
  - اختبارات مشتركة ( سمية مزمنة /سمية سرطانية)
- ويكون الهدف من هذه الاختبارات هو :
- الوقوف علي طبيعة الخطر للمادة الكيميائية المختبرة عقب

- إعادة التعريض بالاستنشاق للفترات السابقة .
- تقييم الأعضاء المستهدفة بهذه المواد مع انتباه خاص للقناه التنفسية .
  - الوقوف علي أعلى تركيز لا يلاحظ عنده أي تأثيرات خطره وهو ما يسمى (NOAEL : Non-Observed Adverse Effect Level) و إذا كان من المستطاع الحصول علي منحنى جرعة - استجابة .
  - والجدول التالي يوضح العناصر المختلفة لتجربة سمية قياسية بالاستنشاق :

جدول رقم (٩-١) : تصميم مصطنع (Fictitious) لتجربة سميه شبه حادة بالاستنشاق في الفئران :

طريقة التعاطي	التعرض بالاستنشاق ( تعريض الجسم كله أو الرأس فقط أو الألف فقط
نوع الحيوان	الفئران (rats)
فترة التعريض (Duration)	٤ أسبوع ( ساعة /يوم و ٥ يوم / أسبوع
نظامها (Set up)	٤ مجاميع من الفئران كل مجموعة ١٠ فئران ذكور + ١٠ فئران إناث مجموعة ١- كنترول مجموعة ٢- مجموعة التركيز المنخفض مجموعة ٣- مجموعة التركيز المتوسط مجموعة ٤- مجموعة التركيز العالي
المعايير (Criteria)	المظهر و السلوك ووزن الجسم و الهمياتولوجي و الكيمياء السريرية و وزن الأعضاء و الوظيفة الرئوية و الأعراض التشريحية و النميجية الماكرو و الميكروسكوبية

### ٣- أبحاث الاستنشاق المتخصصة (Specific Inhalation Research) :

بالإضافة إلى أبحاث السمية السابقة فإن المادة المختبرة يمكن دراستها لأكثر من تأثير ضار وعلي شيء من التخصص (Detrimental) كما بالأمثلة التالية :

### ٣-١- أبحاث التشوه-خصوبة (Teratogenicity – Fertility research) :

وهذه بحوث موجهة نحو التأثير الضار علي تطور الجنين (Embryo) / جنين مكتمل النمو (Fetus) أو علي الخصوبة .

### ٣-٢- أبحاث التطفر بالجسم (Mutagenicity research : In- vivo) :

كاختبارات الموت السائدة (Dominant) واختبارات تبادل الكروماتيد الأخت (Sister chromatid exchange tests) واختبارات زيغ الكروموسومي (Chromosomal aberration tests)

### ٣-٣- أبحاث سرطانية متخصصة (Specific carcinogenicity) :

و كلها طرق غير مناسبة .

### ٣-٤- أبحاث تجاه صفات الإستحساس للمواد مع الأخذ في الاعتبار القناة

التنفسية و للآن لم يتم التوصل لأمثل الحيوانات التجريبية كنماذج .

### ٣-٥- أبحاث تجاه التأثيرات المؤذية للمواد والسموم و الملوثات البيئية علي

وظيفة الخلايا الملتزمة في الحويصلات الهوائية سواء داخل أو خارج

الجسم ، مثل اختبار الخلايا الملتزمة في البوفين (Bovine Alveolar

Macrophage test : BAM) حيث تستخدم رئة طازجة من أبقار مذبوحة

للحصول علي السائل الرئوي (Pulmonary lavage) و تغمر الرئتين في محلول فسيولوجي فوسفاتي وتؤخذ الطبقة الطافية بعد الطرد المركزي المحتوية علي الخلايا الملتهمة عالقة في بيئة مزرعة النسيج وتقدر سمية المركبات و السموم البيئية تجاهها من خلال المعايير التالية :

\* معدل البقاء للخلايا الملتهمة بعد ١٨ ساعة تعريض

\* النشاط الإلتهامي لها بعد ١٨ ساعة تعريض في بيئة تحتوي علي (Latex globules) و لمدة ٤٥ دقيقة بعدها تقدر % للخلايا المحتوية علي واحد أو أكثر من هذه الفصوص .

أو يتم تخدير وذبح حيوانات التجريب بعد تعرضها للاستنشاق لفترات وتؤخذ الرئتين في محلول فسيولوجي و يؤخذ السائل ويطرد مركزيا وفي المعلق الناتج يقدر :

\* تركيز الخلايا الملتهمة (عدد/مل)

\* % لعدد الخلايا الملتهمة الحية من خلال طريقة صبغ حيوية تصبغ الحي منها فقط .

\* معدل البقاء عقب فترة تحضين (٢٠ ساعة علي ٥% ثاني أكسيد الكربون في الهواء /٣٧ م بعدها تقدر نسبة الخلايا الملتهمة التي مازالت حيه .

\* النشاط الإلتهامي (Phagocytic activity)

٣-٦- الفحص البيوكيميائي لسائل (Lavage) الحويصلات الهوائية :

في حالة تخريب الطلائية الرئوية يتفرد من الخلايا مواد داخلية المنشأ إلي محفظة الحويصلات وربما يدخل إليها أيضا الاليومين في حالة اختلاف نفاذية الشعيرات الدموية و إصابة الاليسيليوم . وبعد الطرد المركزي تنفذ علي الطبقة الطافية (Supernatant) التقديرات التالية :

- أنزيم لاكتات ديهيدروجينيز ( LDH : Lactate Dehydrogenase )
- أنزيم البيروأكسيديز (Peroxidase)

ويعد هذين الأنزيمين مؤشرا جيدا للتخريب الخلوي الغير متخصص .

- زيادة أنزيم إيلاستيز (Elastase) تشير لانتهيار النسيج الضام المفكك بالرنتين ولكنه ليس معيار حساس .
- زيادة البروتين الكلي و الاليومين و الجلوبيولين تعني حالة إصابة و التهاب في الرنتين .
- زيادة أو نقص مستوي الفوسفوليبيدات بالطبقة الطافية تعني حدوث تأثير علي السطح (Surfactant) .

٣-٧- الفحص البيوكيميائي لمتجانس الرئة (Lung homogenate) :  
حيث يمكن تقدير مستوي النشاط الأنزيمي في متجانس الرئة للأنزيمات التالية :

- جلوتاثيون بيروأكسيديز
  - جلوتاثيون ترانسفيريز
  - جلوكوز -٦- فوسفات ديهيدروجينيز
  - سيتو كروم ب -٤٥٠
- حيث زيادتها أو نقصها عن مثيلتها بالأفراد الغير معاملة يشير لحدوث تخريب خلوي بها .

٣-٨- تقدير الأنسجة الضامة في الرنتين :  
كثير من المواد الكيميائية و السموم و الملوثات البيئية تسبب زيادة في كثافة الأنسجة الضامة في الرنتين والتي يمكن تميزها بالميكروسكوب الضوئي ونتيجة لذلك فإن مرونة و أبعاد (Elasticity & Diminishes) الرنتين تعرقل عملية التبادل الغازي .  
و يمكن تقدير محتوى الأنسجة الضامة كيميائيا من خلال تقدير محتوى هيدروكسي برولين (Hydroxy proline content) أي البروتين المكون للأنسجة الضامة .

### ٣. ٩- تقنيات زراعة وعزل الأنسجة (Tissue Transplantation & Isolation technique)

تستخدم هذه التقنيات عندما يراد الإجابة علي العديد من التساؤلات بشيء من التفصيل كذلك إزالة الأنسجة المعاملة أو الغير معاملة من الجسم و استخدامها في تجارب خارج الجسم (In-vitro)

#### ٤- غرف الاستنشاق (Inhalation chambers) :

نتمكن باستخدام غرف الاستنشاق من تعريض الحيوان أو المواد البشرية إلي جو ظروفه سبق تقديرها بدقة أكبر فهي بمثابة حجرة محكمة الهواء (Air tight room) والتي يمكن فيها تعريض الكائن الحي تحت حالات معلومة ثابتة تؤخذ في الاعتبار عند تصميم الغرفة وهنا يحتوي الجو المختبر علي مادة الاختبار (ايروسولات-سوائل -مواد صلبة متطايرة -غازات -أبخرة أو اتحادات بينهما : غاز و/أو بخار و غاز أو/و ايروسول ... وهكذا ) أما بالنسبة لطبيعة التعريض (Exposure manner) :

#### ٤-١- نظام تعريض الجسم كله (Total-body system) : حيث يتم تعريض

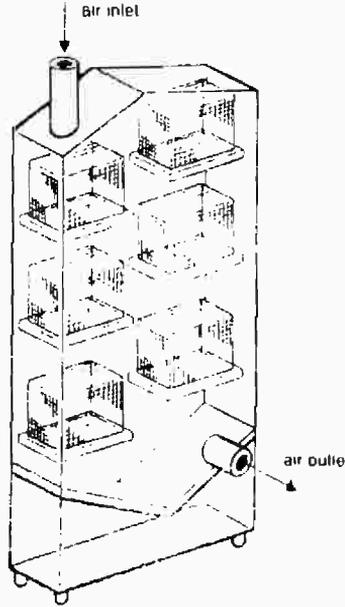
الجسم كله سواء أكان لحيوان تجريبي أو بشر .  
ولهذه الطريقة مميزاتها وعيوبها فتعريض الجسم كله يؤدي لتساخه نتيجة التلوث كما يؤدي تداخل سلوك الكائن نفسه مثل ما يحدث عند لعق الحيوان لجلده (Licking the fur) وهنا فإن أخذ المركب المختبر عن طريق الفم يأخذ مكانه و بكمية معقولة خاصة مع المواد التي يكون فعلها جهازى وهو ما يوضح أهمية و خصوصية نظام تعريض الرأس أو/ و الأنف مع طرق دراسة الايروسولات ، جدول رقم (٩-٢) .

ومن وجهة الأيروديناميك فإن غرف الاستنشاق الأسطوانية (Cylindrical chamber) تعتبر غرف نموذجية لعدم وجود أركان مينة بها و تماثل معدل السريان بكل مناطقها و بالتالي تساوي تركيز المادة المختبرة في كل أجزائها و من هنا تكون كل الحيوانات معرضة لنفس التركيز المستخدم خاصة مع الايروسولات والتي تعد مادة ترسب و إستقرار .

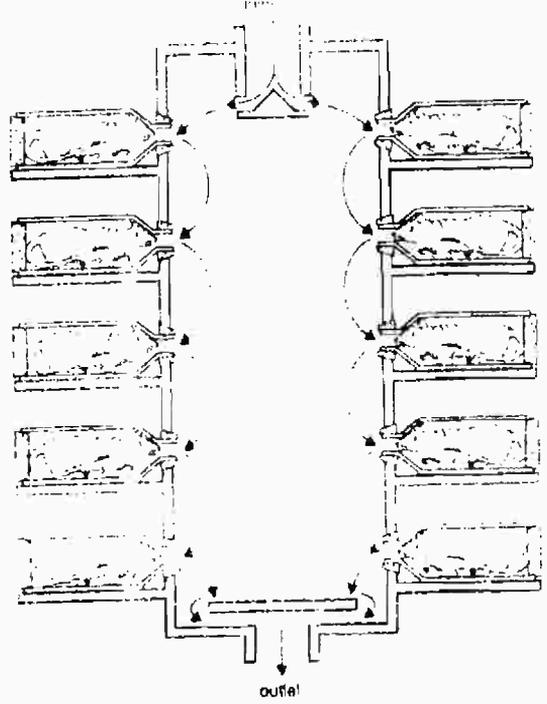
و أغلب الغرف يكون لها أربعة أو ست أوجه والسطح و القاعدة سطحه أو بشكل هرمي وهنا تكون ذات ستة أوجه وقاعدة مثلثة و سقف مخروطي بهدف التأكد من أمثلية التوزيع المتوقع للمادة ( الجو ) المختبرة و غالبا ما يدخل الهواء من قمة الغرفة ويصرف من مركز القاعدة المسطحة مع الأخذ في الاعتبار أن أي شيء موضوع داخل الغرفة يؤدي لاضطراب في حركة و انسياب الهواء بداخلها و هو ما يؤدي بدوره في النهاية علي توزيع المادة المختبرة خاصة الايروسولات ، شكل رقم (٩-١).

جدول رقم (٩-٢) : مميزات و عيوب تعريض الجسم كله أو الرأس أو / و الأنف في تجارب الاستنشاق

تعريض الرأس أو / الأنف	تعريض الجسم كله
<p>يتم التعريض بدون تلوث الجسم بالمادة المختبرة. لا يمكنها التحرك بحرية لصغر المكان نسبيا . تحتاج لكمية صغيرة من المادة المختبرة . يمكن زيادة أو نقص التركيزات بسرعة.</p>	<p>تمتاز : باستخدام عدد كبير من الحيوانات تعرض تلقائيا . يتحرك الحيوانات بحرية تامة و بدون أي ضغط . تظهر الأعراض المريرية بسرعة. مناسبة للدراسة علي المدى القصير و الطويل.</p>
<p>ضغط و عدم راحة من تثبيتها . لا تلاحظ السلوك و الأعراض المريرية بسهولة. تعريض عدد كبير ليس عملي .</p>	<p>عيوبها : سطح الجسم كله معرض . تحتاج الي كمية كبيرة من المادة المختبرة. أتلاف مدي تركيزات المادة المختبرة كثيرا في عدة مستويات . تحتاج الغرفة لمساحة كبيرة . زيادة أو نقص التركيزات يكون بطيء . تلوث جو الاختبار نتيجة الفضلات و التبول تكاليف تأمين عالية نسبيا</p>

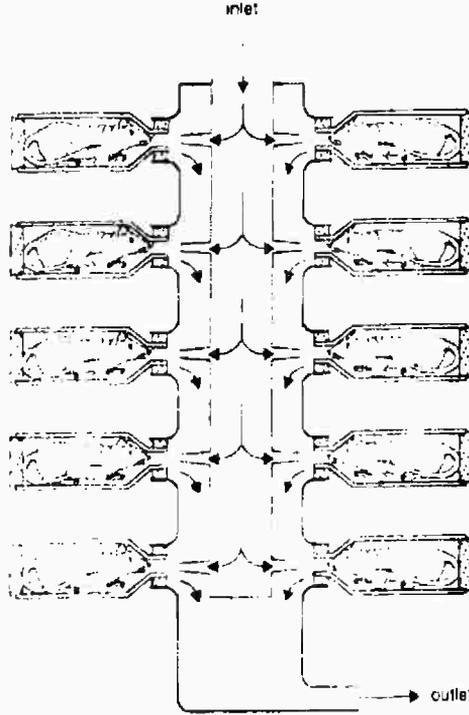


شكل رقم (٩-١) : تخطيط لغرفة إستنشاق لتعريض الجسم كله  
 (الحجر مرتبة بشكل زجاجي في ارتفاعات مختلفة)  
 ٤-٢- نظام تعريض الرأس أو/ والأنف ( Head / Nose only system ) : حيث  
 يتم تعريض الرأس أو الأنف فقط للجو المختبر .  
 وتتكون معدات التعريض هنا من اسطوانات ذات جدار مفرد أو  
 مزدوج مغلق ، شكل رقم (٩-٢) ، حيث توجد فتحات في حائط  
 الأسطوانة بكل منها حيوان واحد مثبتة في حامل من الزجاج أو  
 البلاستيك وإحدى نهايتها مخروطية الشكل بحيث يجعل رأس وعنق  
 الحيوان مثبت بداخلها ويساعد في ذلك وجود موقف سطح (Stopper)  
 بحيث يقلل الفتحة جيدا ويمنع سحب الحيوان لرقبته للخلف  
 (Retracting) فيوقف تسرب الهواء المعامل .



شكل رقم (٩-٢) : حجرة تعريض الرأس أو / و الأتف : نظام الحائط المزدوج (Double wall system)

أما الغرفة ذات الحائط المزدوج ، شكل رقم (٩-٣) و تتميز بأن الحيوانات المعرضة فيها دائما ما تستنشق هواء جوي طازج أول بأول وهو ما لا يتوافر في نظام الحائط المفرد حيث تستنشق الحيوانات المعرضة هواء تم استنشاقه من حيوانات أخرى بنفس الغرفة .



شكل رقم (٣-٩) : حجرة تعريض الرأس أو / و الأنف : نظام الحائط المزدوج (Single wall system)

٣-٤ نظام تعريض الرئة أو جزء منها وهي طريقة جائرة (Invasive) وتستخدم فقط تحت التخدير العام و قلما تستخدم .

٤-٤ ويتم اختيار المواد المصنوعة منها الغرف و الحوامل فقد تكون من الصلب الذي لا يصدأ و الخامل كـيماويا وقوي واه قوة احتمال عالية إلا أنه مكلف من الناحية الاقتصادية. و قد تكون من الألومنيوم فيكون أقل تكلفة إلا أنه غير خامل كـيماويا . أما في حالة تصنيعية من البلاستيك فيتميز بخفة الوزن والشفافية وسهولة تداوله لكن يعيبه نقص المتانة و الضعف علاوة على الكهربية الاستاتيكية و حساس للتخريب بالكيمائيات . و قد تصنع من الزجاج و المتميز بالشفافية وأنه خامل كـيماويا و غير مكلف ولكنه سهل الكسر وصعب التصنيع .

٤-٥-٥- بالنسبة لحجرة الإعاشة في غرف الاستنشاق الخاصة بالجسم كله فيجب و أن يكون مكان حمل الحيوان من الصلب الغير قابل للصدأ . و يجب استخدام الحجر المفردة (Single housed) إذا ما كانت المادة المختبرة ايروسول و لا يجب وضع عدة حيوانات في حجرة واحدة حيث يمكن أن تخفي أنفها في فرو الجسم وهو ما يعد بمثابة مرشح للهواء المستشق في حين لا يتأثر التعرض حالة كون المادة المختبرة غاز أو أبخرة .

ويصعب تثبيت درجة الحرارة والرطوبة النسبية إذا ما احتوت غرف الاستنشاق علي عدد كبير من الحيوانات و أكثر من ذلك فإن تركيزات الغاز المستشق بالحيوانات و نواتج التمثيل و الانهيار المختلفة للبراز و اليورين تصبح غير مقبولة و هو ما يعود بنا إلي القاعدة العامة وهي بأنه لا يجب و أن يزيد الحجم الكلي لعدد الحيوانات عن ٥ % من حجم الغرفة .

٤-٦-٦- أما بالنسبة لهواء جو الاختبار (Test atmosphere) فيجب و أن يكون نظيف و خالي من الملوثات حيث يزود مصدر التهوية (Ventilation) بمرشحات للأتربة و مرشحات تحتوي علي كربون نشط كما يجب و أن يكون الهواء جاف و بارد بحيث تكون في النهاية درجة حرارة غرفة الاستنشاق تتراوح بين ٢٠-٢٤م<sup>٢</sup> و الرطوبة النسبية ٤٠-٧٠% كما يجب و ألا تزيد سرعة الهواء عن ٠,٢ متر /ثانية ، شكل رقم (٩-٤) .

٤-٧-٧- أما بالنسبة لتوليد جو الاختبار سواء أكان غاز أو بخار خاصة و أن لهما نفس حالة التقلب (Aggregation) فالبخار في حالته الغازية تكون له درجة غليان أعلى من درجة حرارة الغرفة العادية .

وحرارة توليد الغاز أو الأبخرة المستخدمة يجب و أن تكون ثابتة و متحكم فيها و عموما يمكن الحصول عليها من أسطوانات غاز جاهزة و بتوليدها من خلال طرق طبيعية أو كيميائية أو بيخر السوائل أو تطاير المواد الصلبة .

ويختلف توليد جو الاختبار للغازات و الأبخرة فسي أنظمة التعريض الاستاتيكية : فهو نظام مقفل لا يوجد به تجديد حيث يقل المحتوى الأكسجيني به تدريجيا نتيجة تنفس حيوانات التجريب وهو بدوره ما يؤدي لارتفاع ثاني

أكسيد الكربون و الرطوبة النسبية بدرجة غير مقبولة و هنا يجب توافر وسائل لقياس استهلاك الأوكسجين و إزالة ثاني أكسيد الكربون و أبخرة الماء من جو الاختبار و لهذا غالبا ما يستخدم مع تجارب فترات التعريض القصيرة و الأعداد القليلة من حيوانات التعريض و علي وجه الخصوص تجارب تمثيل المواد المتطايرة .

و عليه يتم توليد جو الاختبار في هذا النظام للغازات أو المواد السائلة المتطايرة بتقديم كمية معلومة من الغاز أو المادة السائلة المتطايرة إلى نظام معلوم الحجم و عليه يقلل الضغط بعض الشيء بحيث بعد إدخال الغاز أو المادة السائلة المتطايرة و تطايرها فإن الضغط يرجع مرة أخرى لحالته الأولية . ويعبر عن تركيز الغاز في جو الاختبار بالجزء في المليون :

$$\text{تركيز الغاز (PPM)} = \text{حجم الغاز بالملل (V}_g\text{)} / \text{حجم النظام بالمتر (V}_n\text{)} \times 1000$$

و يمكن أيضا حساب التركيز بالمليجرام /لتر أو بالمليجرام / متر مكعب. ويمكن استخدام قانون أفوجادرو والذي يبين عدد الجزيئات الموجودة في الحجوم المتساوية من الغازات و التي تتساوى عند الضغط و درجة الحرارة فعند درجة حرارة ٢٠م<sup>٢</sup> و ضغط ١ جوي فإن ١ مول من الغاز يأخذ حجم قدره ٢٤,٢١ لتر و عند التعبير عن التركيز بالمليجرام / متر مكعب فإن المعادلة تصبح :

$$\text{تركيز الغاز (مليجرام /م}^3\text{)} = \text{حجم الغاز (ملنج)} / \text{حجم النظام (V}_n\text{)} \times 1000 \times (\text{مول} / ٢٤,٢١)$$

أما في النظام الديناميكي و الذي يتميز بتوليد جو اختبار ثابت (constants atmosphere) حيث تضاف بانتظام كمية معلومة من أسطوانة المادة المختبرة إلى تيار الهواء المستمر أو من عملية كيميائية و هنا يتأثر إنتاجها بعوامل التفاعل (حرارة و ذوبان ... ) وهو ما يجعل توليد الغاز في جو الاختبار صعب جدا أو من عملية طبيعية (تحليل كهربى Electrolysis : أو انهيار حراري Thermal decomposition : تفاعلات ضوء كيمووية Photochemical reactions : أو التأين : Ionization ) .

و عموما هناك طرق مختلفة لتوليد جو الاختبار و أكثرها شيوعا الحقن المباشر بسائل عالي التطاير أو تذرير السوائل فتتبخر بعدها بسرعة أو تبخير المادة علي سطح ساخن أو الانتشار من خلال أنبوبة منفذة.

و يعبر عن تركيز المادة في جو الاختبار بطريقتين :

• التركيز النظري (Nominal concentration) : وهو التركيز الذي يمكن

وجوده نظريا و بالتالي حسابه من الكمية الحيوانات

المستخدمة من المادة و حجم الهواء أو الغاز خلال

توزيعها .

• التركيز الفعلي (Actual concentration) : وهو التركيز المقاس معمليا .

و المروض أن النتيجتين واحدة و لكن من الناحية العملية فإن التركيز الفعلي عادة ما يكون أقل من النظري وهو غالبا ما يكون ناتج عن الامتصاص بالحوائط أو الثبات أو التمثيل أو التسرب .

و غالبا ما يقاس التركيز خلال تجارب الاستنشاق بالكروماتوجرافي الغازي (GLC : Gas Chromatography) أو بالكروماتوجرافي الغازي فائق القدرة (High Performance Liquid Chromatography H.P.LC) أو بالأشعة تحت حمراء (Infra Red :IR) أو التحليل اللوني (Colorimetry or Spectro photometry) أو كاشفات أو مستشعرات متخصصة (Detectors) لذلك أو طرق التحليل الكيماوية الكلاسيكية .

٤-٨-أما بالنسبة للايروسولات المستخدمة فقد تكون جسيماتها متساوية الحجم (Mono disphere) وتستخدم في المعايرة و دراسة الترسب و الاستقرار في القناة التنفسية . أما إذا كانت ذات جسيمات مختلفة أو متفاوتة في الحجم (Poly disphere) و تمثل أغلب أنواع الايروسولات المتعرض لها البشر و لهذا تستخدم في غالبية دراسات السمية بالاستنشاق .

و من الأهمية بمكان في دراسات الاستنشاق بالايروسولات توليد جسيمات يمكنها الدخول و التوزيع في مسار الهواء و هو ما يتوقف بدورة علي حجم الجسيم : القطر الهندسي أو القطر الايروديناميكي كمقياس للقطر (Geometric diameter) و الضروري تقديره وهو سهل بالنسبة للجسيمات

الكروية (Globular) و يصعب تقديره مع الجسيمات الغير منتظمة الشكل ولأهميته في تجارب السمية بالاستنشاق سمي بالقطر الايروديناميكي و يعرف علي أنه قطر الكرة ذات الكثافة ١ و التي لها نفس معدل الترسيب كجسيمة و هو ما يعني بأن الجسيم الذي له قطر ايروديناميكي ٥ ميكروميتر له نفس معدل الترسيب في الهواء لكرة لها قطر ٥ ميكروميتر و كثافة ١.

أما الجسيمات الهفو : الذغيبية (Fluff) و التي لها مساحة مسطح كبير و كثافة منخفضة يكون قطر الايروديناميكي لها صغير جدا بينما القطر الهندسي كبير نسبيا . و لهذا فقطع الرصاص الصغيرة ذات الكثافة العالية و مساحة المسطح الصغيرة يكون نسيثها و مسكها بالهواء قليلة .

٤-٩-أما بالنسبة لزيادة الشحنة الكهروستاتيكية (Electrostatic charge) و التي تكتسبها جسيمات الايروسول عند احتكاكها مع السطح الداخلي لمولد الايروسولات فلها تأثير كبير علي سلوك الجسيمات في مسارات الهواء و درجة التجمع و الترسيب . و بتأين هواء الايروسول فإن الشحنة الكهروستاتيكية تتبادل جزئيا .