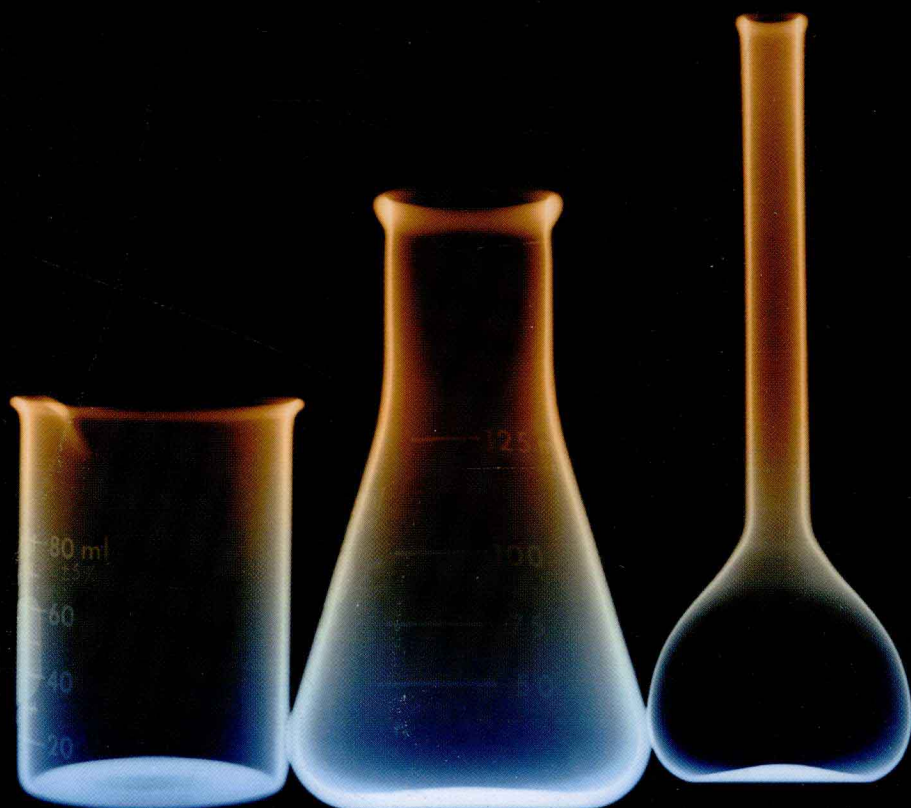


全国危险化学品管理标准化技术委员会 编
中国标准出版社第二编辑室

化学品风险相关国家标准汇编

卫生毒理 试验方法



 中国标准出版社

化学品风险相关国家标准汇编

卫生毒理试验方法

全国危险化学品管理标准化技术委员会 编
中国标准出版社第二编辑室

中国标准出版社

北 京



图书在版编目 (CIP) 数据

化学品风险相关国家标准汇编. 卫生毒理试验方法/
全国危险化学品管理标准化技术委员会, 中国标准出版社
第二编辑室编. —北京: 中国标准出版社, 2010

ISBN 978-7-5066-5734-1

I. ①化… II. ①全… ②中… III. ①化学品-危险
物品管理-国家标准-汇编-中国②化学品-卫生学:毒
理学-实验方法-国家标准-汇编-中国 IV.
①TQ086.5-65

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 030502 号

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街 16 号

邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 16 字数 455 千字

2010 年 3 月第一版 2010 年 3 月第一次印刷

*

定价 85.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换

版权专有 侵权必究

举报电话:(010)68533533

出版说明

欧盟关于化学品注册、评估、授权与限制(简称 REACH)法规已于 2007 年 6 月 1 日正式生效,并于 2008 年 6 月 1 日开始实施,REACH 法规的实施,有利于环境保护水平和成效的提高。

为了应对 REACH 法规的要求,全国危险化学品管理标准化技术委员会承担了对应其技术内容的国家标准的制定工作,本次汇编即是将所制定的国家标准分类汇集在一起,根据所涉及内容分为综合与理化试验方法、卫生毒理试验方法和生态毒理试验方法三个分册。标准数量繁多,对应不同的国际标准、国外标准和经济合作与发展组织(OECD)化学品测试方法。

本书为卫生毒理试验方法分册,共收集国家标准 27 项。

由于编者的时间和水平有限,书中不当之处,请读者批评指正。

中国标准出版社

2009 年 12 月

目 录

GB/T 21750—2008	化学品	毒物代谢动力学试验方法	1
GB/T 21751—2008	化学品	哺乳动物精原细胞染色体畸变试验方法	7
GB/T 21752—2008	化学品	啮齿动物 28 天重复剂量经口毒性试验方法	17
GB/T 21753—2008	化学品	21 天/28 天重复剂量经皮毒性试验方法	29
GB/T 21754—2008	化学品	28 天/14 天重复剂量吸入毒性试验方法	35
GB/T 21757—2008	化学品	急性经口毒性试验 急性毒性分类法	47
GB/T 21758—2008	化学品	两代繁殖毒性试验方法	61
GB/T 21759—2008	化学品	慢性毒性试验方法	72
GB/T 21763—2008	化学品	啮齿类动物亚慢性经口毒性试验方法	80
GB/T 21764—2008	化学品	亚慢性经皮毒性试验方法	89
GB/T 21765—2008	化学品	亚慢性吸入毒性试验方法	95
GB/T 21766—2008	化学品	生殖/发育毒性筛选试验方法	103
GB/T 21767—2008	化学品	体内哺乳动物肝细胞非程序性 DNA 合成(UDS)试验方法	115
GB/T 21768—2008	化学品	体外哺乳动物细胞 DNA 损伤与修复/非程序性 DNA 合成试验 方法	123
GB/T 21769—2008	化学品	体外 3T3 中性红摄取光毒性试验方法	129
GB/T 21770—2008	化学品(有机磷化合物)	急性染毒的迟发性神经毒性试验方法	144
GB/T 21771—2008	化学品	重复剂量毒性合并生殖/发育毒性筛选试验方法	151
GB/T 21772—2008	化学品	哺乳动物骨髓染色体畸变试验方法	165
GB/T 21773—2008	化学品	体内哺乳动物红细胞微核试验方法	174
GB/T 21778—2008	化学品	非啮齿类动物亚慢性(90 天)经口毒性试验方法	182
GB/T 21786—2008	化学品	细菌回复突变试验方法	190
GB/T 21787—2008	化学品	啮齿类动物神经毒性试验方法	199
GB/T 21788—2008	化学品	慢性毒性与致癌性联合试验方法	211
GB/T 21793—2008	化学品	体外哺乳动物细胞基因突变试验方法	221
GB/T 21794—2008	化学品	体外哺乳动物细胞染色体畸变试验方法	231
GB/T 21798—2008	化学品	小鼠可遗传易位试验方法	241
GB/T 21799—2008	化学品	小鼠斑点试验方法	247



中华人民共和国国家标准

GB/T 21750—2008

化学品 毒物代谢动力学试验方法

Chemicals—Test method of toxicokinetics studies



2008-05-12 发布

2008-09-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会

发布

前 言

本标准等同采用经济合作与发展组织(OECD)化学品测试指南 No. 417(1984 年)《毒物代谢动力学试验》(英文版)。

本标准作了下列编辑性修改:

- 增加了范围部分;
- 计量单位改成我国法定计量单位;
- 删除了 OECD 的参考文献部分。

本标准由全国危险化学品管理标准化技术委员会(SAC/TC 251)提出并归口。

本标准负责起草单位:中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所。

本标准参加起草单位:天津市疾病预防控制中心、辽宁出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:王延让、刘清君、杨德一、孙金秀、张明、张静姝、任婕。

化学品 毒物代谢动力学试验方法

1 范围

本标准规定了化学品毒物代谢动力学试验的范围、试验目的、术语和定义、试验基本原则、试验方法、试验数据和报告。

本标准适用于化学品的毒物代谢动力学试验。

2 试验目的

为了获得足够的有关受试物的吸收、分布、生物转化以及排泄的信息,从而了解它的毒作用机制。从试验所获得的受试物的基本的代谢动力学参数,可以了解受试物在组织和(或)器官内是否具有潜在的蓄积性和诱导生物转化的作用。根据这些资料,我们可以估计,将动物试验的毒性资料[特别是慢性毒性和(或)致癌性资料]外推到人时,是否具有充分性和相关性。

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

毒物代谢动力学 toxicokinetics

研究外源化合物在体内吸收、分布、排泄和代谢的学科。

3.2

吸收 absorption

外源化合物通过某种方式进入体内的过程。

3.3

分布 distribution

经吸收外源化合物和(或)代谢产物在体内的循环、分布过程。

3.4

排泄 excretion

外源化合物和(或)代谢产物向机体外转运的过程。

3.5

代谢 metabolism

外源化合物在体内经酶促或非酶促反应,结构发生改变的过程。

4 试验基本原则

受试物通过适当的途径染毒。根据试验目的,对一组或几组试验动物分别给予一次染毒或在规定的时间内多次染毒。然后按试验要求,测定动物体液、组织和(或)排泄物中的受试物和(或)其代谢产物的量或浓度。

5 试验方法

5.1 受试物基本信息

5.1.1 固体、液体(蒸气压、沸点)、气体、气溶胶或颗粒物;

5.1.2 名称和识别码;

- 5.1.3 纯度(杂质含量);
- 5.1.4 标记物的纯度及放射性比度;
- 5.1.5 固体:溶解性、熔点、沸点;
- 5.1.6 液体:蒸气压、沸点;
- 5.1.7 气溶胶或颗粒物:粒径大小、形态及密度分布;
- 5.1.8 pH 值;
- 5.1.9 分配系数;
- 5.1.10 闪燃点;
- 5.1.11 爆炸性。

5.2 准备

健康初成年动物,试验前预先适应实验条件至少 5 d,并随机分组。特殊情况下,幼小、怀孕期动物也可以使用。

5.3 实验动物

5.3.1 动物种系选择

毒物代谢动力学通常采用 1 种或多种合适的动物种系,并适当考虑该受试物在其他毒理学试验中采用或拟采用的动物种系。当试验用啮齿类动物时,体重的标准差异不应超过平均体重的 20%。

5.3.2 数量与性别

在吸收与排泄试验中,开始时每个剂量组需要 4 只动物,雌雄不限。但在某些特定条件下,两种性别都需要试验。如果有性别差异,那需要每种性别设 4 只动物。试验中采用非啮齿类动物时,所用动物数量可酌情减少。

当试验受试物的组织分布时,在确定每个剂量组试验开始的动物数量时,应考虑到每个时间点需要处死的动物数。

当试验受试物的代谢情况时,每个剂量组的动物数取决于试验的需要。

对于多剂量和多时间点的试验,每个剂量组动物数与时间点数和计划处死的动物数有关,但不能少于 2 只。每组动物数应足以提供受试物的吸收、稳态和消减的良好特性。

5.3.3 动物饲养条件

试验动物房应维持温度 $22^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$,相对湿度 30%~70%。动物于代谢笼中单独饲养,人工照明,并模拟 12 h 昼夜差,常规实验室饲料喂养,饮水不限。非啮齿类动物可采用其他相关的饲养条件,饲料成分需给出,并考虑其对试验的影响。

5.4 试验条件

5.4.1 受试物

试验可采用“未标记的”或“标记”受试物。使用标记受试物时,应标在受试物的适当位置,以便尽可能多的提供该物质在体内转归的信息。

5.4.2 染毒剂量

一次性染毒时,至少应设 2 个剂量,其中包括一个最大无作用剂量(低)和能引起毒物代谢动力学参数改变或产生毒效应的高剂量。

多次重复剂量染毒时,通常设低剂量即可;但在某些情况下,也需设高剂量组。

5.4.3 染毒途径

在毒物代谢动力学试验中,尽可能选用其他毒理学试验中使用的染毒途径和赋形剂。受试物可在规定的期限内通过经口灌胃、喂饲、经皮或吸入等方式给动物染毒。如果要测定给受试物后不久的吸收量和在体内的分布情况,可采用静脉内染毒。

试验中应考虑赋形剂对受试物的干扰,应注意经口灌胃和喂饲之间在机体吸收水平上的差异,并应得到喂饲的精确剂量。

5.4.4 观察时间

所有染毒动物需每日对其毒性表现及其他相关临床体征进行观察,包括起始时间、水平和持续时间。

5.5 操作步骤

动物称重后,随机分组,适当途径染毒。如有需要,染毒前动物应禁食。

5.5.1 吸收

可采取多种方法测定受试物吸收速率和程度,可设也可不设参照组,如:

- 测定机体排泄物(如尿液、胆汁、粪便、呼气及残留在体内)内的受试物和(或)其代谢产物的量;
- 比较剂量组和对照组和(或)参照组之间的生物学反应(如急性毒性试验);
- 比较剂量组和参照组之间经肾脏排泄的量;
- 测定受试物和(或)代谢产物的血浆水平-时间曲线下的面积,并与参照组比较。

5.5.2 分布

目前有两种方法,可以采取其中的一种或两种方法分析分布模式:

- 用整体放射自显影技术获得有用的定量资料;
- 染毒后不同时段处死动物,测定组织器官内受试物和(或)代谢产物的量,而获得定量资料。

5.5.3 排泄

在排泄试验中,分别收集动物的尿样、粪便、呼出气,某些情况下还应收集胆汁。动物染毒后,应多次测定这些排泄物中的受试物和(或)代谢产物,直至染毒剂量95%被排出体外时或染毒后第7天。

特殊情况下,还需测定哺乳期动物乳汁中排出的受试物。

5.5.4 代谢

应采用适当的技术分析生物样本,以确定受试物的代谢程度和模型。应阐明代谢产物的结构,而代谢途径的提出,是回答既往毒理学试验所提问题的需要。此外,体外试验也有助于获取受试物代谢途径方面的信息。

为了进一步获得受试物代谢与毒性有关系的资料,可以进行生化试验,如测定受试物对机体代谢酶系统、内源性非蛋白巯基化合物的耗减以及受试物与生物大分子结合的影响。

6 试验数据和报告

6.1 结果处理

根据具体的试验类型,将数据汇总,并以表格列出,再适当配加图例。适当情况下,每个剂量最好能按组与时间、剂量、组织和器官显示平均值和统计学差异。要通过适当的方法测定吸收的程度和排泄的量和速率;在代谢试验中,应给出已确认的代谢产物的结构和可能的代谢途径。

6.2 结果评价

6.2.1 吸收

测定受试物的吸收数据有助于急性毒性试验的评价和重复剂量毒性试验的剂量设计及评价。完全不吸收和无急性毒性作用的受试物(如多聚物),提示再无必要进行后续的重复剂量毒性试验。

6.2.2 分布

测定受试物在组织和器官内的分布谱有助于对重复剂量毒性试验的评价。孕期动物的受试物分布试验可以提供器官形成期这一关键时期内由母体经胎盘转移到子代的受试物剂量。分布试验也可提供受试物在体内或体内有关组织和器官中的蓄积情况。

6.2.3 排泄

受试物的排泄数据可用于重复剂量毒性试验的评价。排泄量和排泄速率可以显示受试物或代谢产物是否能在体内贮留,残留水平可能与受试物的毒性反应的改变有关。

6.2.4 代谢

测定受试物的代谢模式和代谢速率的数据有助于长时程毒性试验的解释。此类试验中的代谢参数变异可在一定剂量范围内反映机体毒理学反应不呈比例的变化。代谢的剂量依赖性资料是长时程毒性试验的剂量选择依据。

重复剂量试验中可观察到毒理学反应的变化,可能与代谢酶的诱导作用有关。

放射标记的受试物染毒后,与体内大分子结合的放射活性,可能来自正常的中间代谢过程,或表明活性中间代谢产物的形成。

了解内源性巯基化合物的消耗有助于评价与活性代谢产物形成有关的毒性作用和重复剂量试验的剂量选择。

6.3 试验报告

试验报告需包括如下内容:

- 6.3.1 信息资料;
- 6.3.2 动物种属、品系、来源、环境条件、饮食;
- 6.3.3 标记物的特性(使用时);
- 6.3.4 剂量水平及染毒间距;
- 6.3.5 染毒途径和所用的赋形剂;
- 6.3.6 观察到的毒性效应及其他效应;
- 6.3.7 呼气 and 生物样本中的受试物和(或)代谢产物的检测方法;
- 6.3.8 用表按动物的性别、剂量、时间、组织和器官列出相关的测定数据;
- 6.3.9 按时间呈现吸收和排泄的程度;
- 6.3.10 生物样品中代谢产物的识别和鉴定方法;
- 6.3.11 与代谢产物相关的生化检测方法;
- 6.3.12 所提出的代谢途径;
- 6.3.13 试验结果的讨论;
- 6.3.14 试验结果的解释。

6.4 结果解释

受试物的吸收资料为估算该物质经口、经皮、吸入或其他染毒途径进入试验动物体内的量和吸收速度提供了依据。

受试物的体内分布资料为估算受试物被吸收入体后,该物质和(或)代谢产物在体内的循环和在不同器官组织的分布情况提供了依据。

受试物的排泄资料为估算受试物和(或)代谢产物排出体外的量和排泄速度打下了基础。

受试物的代谢情况试验为体内受试物通过酶促反应或非酶促反应发生结构性改变提供了有用的信息。



中华人民共和国国家标准

GB/T 21751—2008

化学品 哺乳动物精原细胞染色体畸变 试验方法

Chemicals—Test method of mammalian spermatogonial chromosome aberration

2008-05-12 发布

2008-09-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会

发布

前 言

本标准等同采用经济合作与发展组织(OECD)化学品测试指南 No. 483(1997 年)《哺乳动物精原细胞染色体畸变试验》(英文版)。

本标准作了下列编辑性修改:

- 增加了范围部分;
- 计量单位改成我国法定计量单位;
- 删除了 OECD 参考文献。

本标准由全国危险化学品管理标准化技术委员会(SAC/TC 251)提出并归口。

本标准负责起草单位:中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所。

本标准参加起草单位:天津市疾病预防控制中心、广东出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:吴维皓、杨德一、刘克明、刘清君、刘静、李国星、许崇辉。



OECD 引 言

1. 哺乳动物体内精原细胞染色体畸变试验的目的是鉴定那些能引起哺乳动物精原细胞染色体结构畸变的物质。结构畸变包括两种类型,即染色体型畸变或染色单体型畸变。大多数化学诱变剂诱发的畸变类型为染色单体型畸变,但也可发生染色体型畸变。本方法不是旨在检测染色体的数目畸变,也不用于常规的数目畸变检测。许多人类遗传病可由染色体畸变及其相关的改变所引起。

2. 本试验检测精原生殖细胞中染色体的变化,从而预测引起生殖细胞可遗传性突变的可能性。

3. 本试验常规采用啮齿类动物。该体内细胞遗传试验是为检测精原细胞有丝分裂相的染色体畸变。其他靶细胞不作为本方法的观察对象。

4. 为检测精原细胞染色单体型畸变,应检查染毒后细胞的第一次有丝分裂,以免这些损伤在其后的细胞分裂中丢失。当染毒的精原细胞变为精母细胞时,通过对处于终变期——分裂中期 I 相的染色体型畸变进行减数分裂的染色体分析,可以从染毒后的精原干细胞中获得更多信息。

5. 本体内试验的设计是研究体细胞诱变剂在生殖细胞中是否也具有活性。此外,由于精原细胞的试验考虑到了体内新陈代谢、药代动力学和 DNA 修复过程等多种因素,所以可用于评价致突变危险性。

6. 睾丸中存在多代精原细胞,它们对化学品染毒后具有广泛的敏感性各不相同。因此,检测的畸变代表了经化学品处理过的精原细胞群的集合反应,其中多数主要为分化的精原细胞。由于物理和生理的赛尔托利氏细胞(Sertoli cell)屏障和血液-睾丸屏障的作用,不同代的精原细胞根据其在睾丸中的位置可能会暴露或不暴露于体循环。

7. 如果有证据表明被测物或一个活性代谢产物不能到达靶组织,那么本试验方法不适用于检测此物质。

化学品 哺乳动物精原细胞染色体畸变 试验方法

1 范围

本标准规定了化学品哺乳动物精原细胞染色体畸变试验的范围、术语和定义、试验基本原则、试验方法、试验数据和报告。

本规范适用于检测化学品对哺乳动物精原细胞的细胞遗传学毒性。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

2.1

染色单体型畸变 chromatid-type aberration

表现为单个染色单体断裂或染色单体间断裂和重接的染色体结构损伤。

2.2

染色体型畸变 chromosome-type aberration

表现为两个染色单体在相同位点断裂或断裂和重接的染色体结构损伤。

2.3

裂隙 gap

小于染色单体宽度的不着色的损伤,并伴有染色单体极小的错位。

2.4

数目畸变 numerical aberration

染色体数目改变,不同于所用动物染色体的正常数目。

2.5

多倍体 polyploidy

单倍体染色体(n)的数目,但不包括二倍体数目(即 $3n$, $4n$ 等等)。

2.6

结构畸变 structural aberration

通过显微镜可观察到的发生在细胞分化中期的染色体结构改变,镜下可见如缺失、碎片、内交换或互换。

3 试验方法

3.1 试验基本原则

动物通过适当的途径接触受试样品,一定时间后处死动物。在处死之前,用细胞中期分裂相阻断剂(如:秋水仙素或秋水仙酰胺)处理。随之后制备生殖细胞染色体标本并染色,分析中期分裂相细胞的染色体畸变。

3.2 实验动物和饲养环境

3.2.1 动物种属

本试验通常用雄性中国仓鼠和小鼠。但也可使用其他合适的雄性哺乳动物。通常应使用健康初成年的实验动物品系。在试验开始时,动物间的体重差异应尽可能小,不超过平均体重的 $\pm 20\%$ 。

3.2.2 饲养条件

实验动物房合适的温度应为 22℃±3℃。相对湿度不超过 70% (房间清洗时除外), 但应争取达到 50%~60%; 人工照明 12 h 光照, 12 h 黑暗。喂饲常规的实验室饲料, 饮水不限。如果采用喂饲染毒法, 应根据需要选择饲料确保受试物能均匀地在其中混合。动物可以单笼饲养或把少量的同性别的动物一起笼养。

3.2.3 动物准备

将健康和初成年的雄性动物随机分配到对照组和处理组。应尽可能减少笼子安放位置可能产生的影响。动物要标上特有的标识。在试验开始之前, 动物应先适应实验室环境至少 5 d 以上。

3.2.4 受试物的准备

固体受试物应溶解或悬浮于适当的溶剂或赋形剂中, 在染毒前可根据需要进行适当的稀释。液体受试物可直接染毒也可稀释后染毒。除非有稳定性资料证明可以贮存, 否则受试物应新鲜配制。

3.3 试验条件

3.3.1 溶剂/赋形剂

在选用的剂量水平下, 溶剂/赋形剂不应产生毒性效应, 也不应存在与受试物发生化学反应的可能性。如果使用的不是熟知溶剂/赋形剂, 应有参比资料支持其合适性。建议只要条件允许, 应首先考虑用水做溶剂/赋形剂。

3.3.2 对照

每次试验都应同时设置阳性和阴性(溶剂/赋形剂)对照。阴性对照组除不使用受试样品外, 其他处理应与受试样品组一致。

阳性对照物的接触剂量应使阳性对照组动物体内能产生可被检测的高于背景的精原细胞染色体结构畸变。阳性对照组的剂量设置应能产生明显效应, 但又不能使读片者一看即知为阳性对照标本片。阳性对照物的染毒途径可以有别于受试物, 且可以只采取一个时间点的样品。此外, 可以考虑使用相关分类的阳性对照化合物。阳性对照物的例子见表 1。

表 1 相关分类的阳性对照化合物

物 质	CAS No.	EINECS No.
环磷酰胺(cyclophosphamide)	50-18-0	200-015-4
一水合环磷酰胺(monohydrate)	6055-19-2	
环己胺(cyclohexylamine)	108-91-8	203-629-0
丝裂霉素 C(mitomycin C)	50-07-7	200-008-6
单聚丙烯酰胺(monomeric acrylamide)	79-06-1	201-173-7
三亚乙基胍胺(triethylenemelamine)	51-18-3	200-083-5

在每个采样时点均应设置。此外, 除非有历史的或公开发表的对照资料证明所用溶剂或赋形剂无毒性或致突变作用, 否则还应另设立空白对照。

3.4 操作步骤

3.4.1 动物数量

每个试验组和对照组必须包括至少 5 个可供分析的雄性动物。

3.4.2 染毒程序

受试物最好一次或分两次染毒(即为一次性给予或分两次给予)。受试物也可分成小剂量给药, 即: 在同一天内进行两次染毒, 其相隔时间不超过几个小时, 以便于大容量染毒。其他染毒方式应经过科学论证才能使用。

最高剂量试验组在染毒后应分两次采集样品。由于受试物可能影响细胞周期动力学, 早晚两次采