

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 2241—2008

结合重复染毒毒性研究的 生殖发育毒性筛选试验

Combined repeated dose toxicity study with the reproduction/
developmental toxicity screening test

2008-11-18 发布

2009-06-01 实施

中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局 发布

中华人民共和国出入境检验检疫
行 业 标 准
结合重复染毒毒性研究的
生殖发育毒性筛选试验

SN/T 2241—2008

*

中国标准出版社出版
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

*

开本 880×1230 1/16 印张 0.5 字数 9 千字

2009年2月第一版 2009年2月第一次印刷

印数 1—2 000

*

书号: 155066·2-19530 定价 6.00 元

前 言

本标准修改采用联合国经济合作与发展组织(OECD)化学品测试方法 No. 422《结合反复染毒毒性研究的生殖发育毒性筛选试验》(1996)。

本标准与 OECD 化学品测试方法 No. 422 相比,存在以下差异:

——对 OECD 化学品测试方法 No. 422 进行了编辑性修改;

——增加了前言部分。

本标准由国家质量监督检验检疫总局提出。

本标准由国家认证认可监督管理委员会归口。

本标准负责起草单位:中华人民共和国天津出入境检验检疫局。

本标准参加起草单位:中化化工标准化研究所、江南大学和天津市检验检疫科学技术研究院。

本标准主要起草人:赵好力宝、张园、李学洋、于智睿、赵黎华、周磊。

本标准系首次发布的出入境检验检疫行业标准。

结合重复染毒毒性研究的 生殖发育毒性筛选试验

1 范围

本标准规定了动物亚急性毒性联合繁殖/发育毒性筛选试验的术语定义、试验方法和临床检查及结果报告。

本标准适用于检测化学品的亚急性毒性、繁殖毒性及生长发育的影响。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB 14924.1 实验动物 配合饲料通用质量标准

GB 14925 实验动物 环境及设施

卫生部《化学品毒性鉴定技术规范》(2005)

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

生殖毒性 reproduction toxicity

受试样品对亲代繁殖功能或能力的影响和(或)对子代生长发育的损害效应。

3.2

母体毒性 maternal toxicity

引起亲代雌性妊娠动物直接或间接的健康损害效应。

3.3

繁殖力的损害 impairment of fertility

表现为雌性或雄性动物生殖功能或能力的障碍。

3.4

生长发育毒性 developmental toxicity

妊娠动物接触受试样品而引起的子代在出生前、围产期和出生后所显现出的机体缺陷或功能障碍。

4 试验动物

4.1 饲养环境

按 GB 14924.1 及 GB 14925 的要求进行。

4.2 动物的选择

应选健康初成年的大鼠,未经交配,未参加过任何试验。避免选用繁殖力低和生长发育缺陷率高的品系。试验初,动物的体重不应超过同性别平均体重的 20%。如果试验分为预试验和正式试验,所用动物的品系和来源应相同。所选动物应注明种类、品系、性别、体重和(或)周龄。最好使用 7 周龄~8 周龄,至少经过 5 天适应期的动物。雌性动物必须是未产过仔的。

4.3 动物数量

试验初,每个试验组至少应有 20 只动物,雌雄各半。如果试验中间需要处死一部分动物进行检查,则试验初就需要增加这一部分的动物数。

5 试验方法

5.1 受试样品

受试样品可以是固体、液体、气体或蒸气。试验前应对受试样品的化学特性、纯度(含有的重要杂质)、溶解性、挥发性、稳定性等进行了解。需要时还应知道其熔点/沸点或酸碱度。若需要赋形剂,首先应考虑水溶液或水混悬液,再考虑选用油性的溶液、乳化剂(植物油)或其他溶剂。如果选用非水的溶剂作为赋形剂时,应明确赋形剂的毒性及受试样品在赋形剂中的稳定性。

5.2 剂量水平

试验至少设三个染毒组和一个对照组。剂量水平可以根据受试样品已知的毒性和毒代动力学的数据来制定,同时还应考虑到妊娠动物对受试样品毒性的敏感程度不同于非妊娠动物。最高剂量应使亲代动物出现毒性反应,但又不引发动物的死亡或明显的痛苦;低剂量应不引起亲代及其子代动物的任何毒性反应;中间剂量可引起轻微的毒性反应。组间距通常为 2 倍~4 倍。若试验设 4 个剂量组,第四个剂量组的组距则可以考虑大一些,如 10 倍。

5.3 染毒

将动物按体重随机分为染毒组和对照组,编号后进行染毒。受试样品可以通过灌胃经口染毒。应该采用相同的灌胃体积。每只动物的给样体积应按其体重来确定,且每周进行调整。最大的灌胃量通常不超过 1 mL/100 g 动物体重。如果受试样品为水溶液,灌胃量则可以考虑增大到 2 mL/100 g 体重。每周染毒 7 天,每天应在相同的时间进行。对照组动物除了不给予受试样品外,其余的处理应与剂量组完全相同。如果受试样品使用赋形剂,对照组应采用赋形剂的最大使用量进行平行染毒。如果将受试样品掺入饲料或溶于饮水中进行染毒,受试样品在饲料或饮水中的含量应恒定,但受试样品的添加量不能破坏普通饲料或饮水中的营养平衡。

5.4 给样期限及繁殖程序

给样期限及繁殖程序见表 1。

表 1 给样期限及繁殖程序

试验周期	亲代(P)	F ₁ (子代)
第 1~第 2 周末	雄性与雌性亲代动物开始染毒	
第 3~第 4 周末	交配(给样),4 周末处死雄性动物	
第 5~第 7 周末	孕鼠继续给样(妊娠及分娩)	F ₁ 出生
第 8 周	哺乳(给样),子代出生 4d 后处死雌性动物	出生 4d 后处死 F ₁
第 9~第 10 周末	未处死的动物,继续染毒 2 周后予以处死	

交配方法及妊娠检查:雄性和雌性动物按 1:1 比例合笼交配。雌鼠应始终与同剂量组的同一只,但不是同窝所生的雄鼠合笼直至受孕,合笼时间最长可为 2 周。在交配过程中,每天早晨应对雌鼠进行检查,查看阴道中是否有精子或阴栓。将检查到精子或阴栓的当天计为雌鼠妊娠的第 0 天。若交配两周后仍未受孕,可以将不育的动物与证实过生育功能正常的同一剂量组的动物重新配对,再次合笼交配。

5.5 限度试验

如果受试样品以 1 000 mg/kg 体重的剂量经口给予,仍未观察到任何毒副作用时,则可以采用限量试验,即试验不需要设其他剂量组。若试验采用的是其他的染毒途径:如吸入或经皮染毒,染毒的最高浓度(或剂量)由受试样品的理化特性来决定。

6 观察与临床检查

6.1 观察

6.1.1 观察时间

一般每日至少对动物进行一次仔细的观察,观察时点应固定,并选择在染毒后毒性症状可能出现的高峰期。但对动物发病或死亡的情况,每天至少观察两次。

6.1.2 临床检查

在染毒前和给样后的每一周,都应对所有的动物进行详细的临床检查。检查皮肤、毛、眼睛、粘膜、分泌物、排泄物、自律活动(如:流泪、竖毛、瞳孔的大小、异常的呼吸方式)的变化;观察动物的步态、姿势的变化和对受试样品的反应(如:抽搐、僵直、呆滞、过度梳理毛发、反复地转圈);记录动物有无行为改变(如:自残、倒走),难产或滞产等现象。

6.1.3 感官刺激、抓力和肌肉运动

在染毒结束后和采血进行血液和生化检查之前,从各组随机选择 5 雌 5 雄,对其进行感官刺激(如:听力、视觉和肢体反应)、抓力和肌肉运动的检查。由于受检查的母鼠正处于哺乳期,母鼠离开仔鼠接受检查的时间不能超过 30 min~40 min。

6.1.4 仔鼠的检查

妊娠周期应该从怀孕的当天开始计算。生产下的仔鼠应尽早分辨性别,记录每窝的出生数、活仔数、死仔数、低体重仔数以及幼仔外观有无异常和畸形。

6.2 体重

- 以每窝为单位,分别于仔鼠出生的当天和第 4 天进行称量。记录仔鼠的任何异常反应;
- 动物应在染毒的第一天进行称量,以后每周称量一次。雌鼠还应在妊娠的第 0、7、14 和 20 天,以及分娩后的当天(或第 1 天)和第 4 天称量。数据应逐只进行记录。

6.3 食物与水的消耗量

在交配前和交配期,应测定每天的食物摄入量(交配期间雌、雄动物的摄入量分别按交配前期的周平均值计算)。如果受试样品是加入饮水中给予的,水的摄入量也应计算。

6.4 血液学检查

到期处死动物之前,应从各组随机选择 5 雌 5 雄,对其进行一次血液学检查,包括血球容积、血红蛋白含量、红细胞计数、白细胞计数及分类、血小板计数和一种检查血凝时间的试验。

6.5 生化检验

- 到期处死动物之前,应从各组随机选择 5 雌 5 雄,对其进行一次生化检验。主要检测受试样品对组织,特别是肝、肾的毒性作用。检验的标本可为血浆或血清,检验的指标包括钠、钾、葡萄糖、总胆固醇、尿素、肌酐、总蛋白和白蛋白的含量,以及至少两项肝功能试验(如谷氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶和山梨糖醇脱氢酶)和胆酸;
- 雄性动物也可以采用尿检代替血生化检查。检查的指标包括定时收集的尿量、外观、渗透压、比重、pH 值、尿蛋白、尿糖和隐血;
- 若已知受试样品对其他一些生化指标有影响(如:钙、磷、空腹甘油三脂和葡萄糖,激素、高铁血红蛋白和胆碱酯酶),应增加这些检测指标。

6.6 大体解剖检查

所有成熟的动物都应解剖进行大体检查,肉眼观察有无外观和组织器官形态上的改变,包括口、头、胸、腹腔及其内脏组织,特别是生殖系统。雌鼠同时记录着床数和黄体数;对雄鼠的睾丸和附睾进行称重。死亡的和出生后 4d 被处死的仔鼠也应检查有无异常。此外,从各组随机选择雌、雄鼠各 5 只,取出肝、肾、肾上腺、胸腺、脾、脑和心,并称量湿重。

6.7 病理检查

保留上述剖检的所有动物的脑、脊髓、胃、肠、肝、肾、肾上腺、胸腺、脾、甲状腺、心、气管、肺、子宫、膀胱、淋巴结、外周神经、骨髓、睾丸、附睾以及肉眼观察有病变的器官标本。睾丸和附睾组织建议使用 Bouin 液进行固定。先对最高剂量组和对照组的动物标本以及剖检中发现异常的标本进行组织病理学检查。如最高剂量组没有发现有意义的病变,其他剂量组的标本可不必再进行病理检查。反之,若最高剂量组发现有意义的病理改变,则其他剂量组相关的标本也应作进一步的检查。

7 试验结果

7.1 数据处理与结果评价

按卫生部《化学品毒性鉴定技术规范》的要求进行。

7.2 结果报告

结果报告应包括以下内容:

- 受试样品名称、理化特性、配制方法(溶剂);
- 试验动物的种类、品系、性别、体重、数量和来源(注明合格证号和动物级别);
- 试验动物饲养环境,包括饲料、饮水的来源、室温、相对湿度、合笼或单笼饲养、动物实验室合格证号;
- 试验方法:剂量设计的原则,给样方法和期限,剂量分组;
- 动物的食物(或饮水)摄入量和体重资料;
- 按性别和剂量组分别记录的毒性反应,包括繁殖、妊娠及其子代、子代发育和其他毒性症状;
- 感官、抓力和肌肉运动的检查结果;
- 血液学、生化检查结果;
- 着床数、黄体数、每窝仔鼠的多少及重量、活仔数、流产数、肉眼观察到的畸形和低体重仔鼠数;
- 亲代动物脏器的重量;
- 大体检查的结果;
- 详述病理检查结果;
- 统计处理的结果;
- 结论。



SN/T 2241—2008

书号:155066·2-19530

定价: 6.00 元