

## 中华人民共和国国家职业卫生标准

GBZ/T 240.14—2011

---

### 化学品毒理学评价程序和试验方法 第 14 部分：啮齿类动物显性致死试验

Procedures and tests for toxicological evaluations of chemicals—  
Part 14: Rodent dominant lethal test

2011-08-19 发布

2012-03-01 实施



中华人民共和国卫生部 发布

## 前 言

根据《中华人民共和国职业病防治法》制定本部分。

GBZ/T 240《化学品毒理学评价程序和试验方法》现分为以下四十四部分：

- 第 1 部分：总则；
- 第 2 部分：急性经口毒性试验；
- 第 3 部分：急性经皮毒性试验；
- 第 4 部分：急性吸入毒性试验；
- 第 5 部分：急性眼刺激性/腐蚀性试验；
- 第 6 部分：急性皮肤刺激性/腐蚀性试验；
- 第 7 部分：皮肤致敏试验；
- 第 8 部分：鼠伤寒沙门氏菌回复突变试验；
- 第 9 部分：体外哺乳动物细胞染色体畸变试验；
- 第 10 部分：体外哺乳动物细胞基因突变试验；
- 第 11 部分：体内哺乳动物骨髓嗜多染红细胞微核试验；
- 第 12 部分：体内哺乳动物骨髓细胞染色体畸变试验；
- 第 13 部分：哺乳动物精原细胞/初级精母细胞染色体畸变试验；
- 第 14 部分：啮齿类动物显性致死试验；
- 第 15 部分：亚急性经口毒性试验；
- 第 16 部分：亚急性经皮毒性试验；
- 第 17 部分：亚急性吸入毒性试验；
- 第 18 部分：亚慢性经口毒性试验；
- 第 19 部分：亚慢性经皮毒性试验；
- 第 20 部分：亚慢性吸入毒性试验；
- 第 21 部分：致畸试验；
- 第 22 部分：两代繁殖毒性试验；
- 第 23 部分：迟发性神经毒性试验；
- 第 24 部分：慢性经口毒性试验；
- 第 25 部分：慢性经皮毒性试验；
- 第 26 部分：慢性吸入毒性试验；
- 第 27 部分：致癌试验；
- 第 28 部分：慢性毒性/致癌性联合试验；
- 第 29 部分：毒物代谢动力学试验；
- 第 30 部分：皮肤变态反应试验-局部淋巴结法；
- 第 31 部分：大肠杆菌回复突变试验；
- 第 32 部分：酵母菌基因突变试验；
- 第 33 部分：果蝇伴性隐性致死试验；
- 第 34 部分：枯草杆菌基因重组试验；
- 第 35 部分：体外哺乳动物细胞程序外 DNA 合成(UDS)试验；
- 第 36 部分：体内哺乳动物外周血细胞微核试验；

- 第 37 部分:体外哺乳动物细胞姊妹染色单体交换试验;
- 第 38 部分:体内哺乳动物骨髓细胞姊妹染色体交换试验;
- 第 39 部分:精子畸形试验;
- 第 40 部分:繁殖/生长发育毒性筛选试验;
- 第 41 部分:亚急性毒性合并繁殖/发育毒性筛选试验;
- 第 42 部分:一代繁殖试验;
- 第 43 部分:神经毒性筛选组合试验;
- 第 44 部分:免疫毒性试验。

.....

本部分为 GBZ/T 240 的第 14 部分。

本部分由卫生部职业卫生标准专业委员会提出。

本部分由中华人民共和国卫生部批准。

本部分起草单位:湖南省劳动卫生职业病防治所、中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所。

本部分主要起草人:陆丹、许建宁、孙金秀、林锋。



# 化学品毒理学评价程序和试验方法

## 第 14 部分:啮齿类动物显性致死试验

### 1 范围

GBZ/T 240 的本部分规定了啮齿类动物显性致死试验的目的、试验概述、试验方法、数据处理与结果评价、评价报告和结果解释。

本部分适用于检测化学品对整体啮齿类动物生殖细胞染色体的损伤。

### 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GBZ/T 224 职业卫生名词术语

GBZ/T 240.1 化学品毒理学评价程序和试验方法 第 1 部分:总则

### 3 术语和定义

GBZ/T 240.1 界定的术语和定义适用于本文件。

#### 3.1

**显性致死 dominant lethal, DL**

引起胚胎或胎儿死亡。表明受试样品作用于实验动物的生殖组织,一般认为是引起生殖细胞染色体结构和数量的改变的结果。不除外基因突变和毒性作用。

#### 3.2

**显性致死突变 dominant lethal mutation**

发育中的精子或卵子在物理或化学因素作用下,发生了染色体损伤,从而使受精卵在发育中死亡,并不引起受精障碍,但引起受精卵的死亡。

### 4 试验目的

本试验是一项生殖细胞致突变试验,用来检测整体啮齿类动物生殖细胞染色体畸变,以评价受试样品能否到达性腺组织产生遗传危害。

### 5 试验概述

通过适当的途径使雄性动物接触受试样品,然后与未经染毒且未交配过的雌性动物交配,交配结束后,取出雌性动物。雌性动物于妊娠后半期处死,剖开腹腔,取出子宫,检查两侧子宫内的植入数(着床数)、早死胎、晚死胎和活胎数。雄性动物则于一定间隔时间后再与另一批未经染毒且未交配过的雌性动物交配,如此共进行数批,以保证覆盖一个精子周期(6周~9周)。

## 6 试验方法

### 6.1 受试样品处理

受试样品一般应新鲜配制。如溶液贮存稳定,可以不必新鲜配制。固体受试样品应溶于或悬于适当的溶剂或载体中,并进行稀释。液体受试样品可直接使用或稀释后使用。根据受试样品的理化性质(水溶性/脂溶性)确定受试样品所用的溶剂或载体。但所用溶剂或载体在使用剂量水平对实验动物应不产生毒作用,且不与受试样品发生任何化学反应。通常用蒸馏水、等渗盐水、植物油、食用淀粉、羧甲基纤维素钠等。如为非常用的溶剂或载体,应有参考资料说明其成分。

### 6.2 对照

6.2.1 每次试验都应设置相应的阳性对照和阴性对照(溶剂或载体),阴性对照除不使用受试样品外,其他处理与受试样品组一致。

6.2.2 若近期内(一年之内)已从试验中获得了有效的阳性对照结果,则在同一实验室进行本试验时可不设阳性对照组。

6.2.3 应该使用已被证明在较低剂量水平即对显性致死敏感的阳性对照物,常用的阳性对照物有:

- 环磷酰胺(cyclophosphamide, CAS号 50-18-0);
- 单水环磷酰胺(cyclophosphamide monohydrate, CAS号 6055-19-2);
- 三亚乙基胺(triethylenemelamine, CAS号 51-18-3)
- 甲磺酸乙酯(ethyl methanesulphonate, CAS号 62-50-0)。

6.2.4 阴性对照溶剂或载体。当所使用的溶剂没有文献资料或历史性资料证明其无有害作用或无致突变性作用时,还应设未处理对照组。

### 6.3 实验动物和饲养环境

#### 6.3.1 实验动物

应选用低背景的显性致死率、高妊娠率和高植入数、健康、性成熟的动物品系,大鼠和小鼠是本试验的常规使用动物。经生殖能力预试,受孕率应在70%以上。小鼠体重30g以上或大鼠体重200g以上,动物平均体重变化按性别不能超过 $\pm 20\%$ 。雌鼠应为未交配雌鼠,且为雄鼠的5倍~6倍量(参见GB 15193.3—2003)。动物应随机分组,每个处理组和对照组雄鼠一般不少于15只,要求每组每周至少有30只受孕雌鼠。动物购回后应适应实验室新环境3d~5d。

#### 6.3.2 饲养环境

动物实验室、实验动物和动物饲料应符合国家相应规定。

### 6.4 剂量设计

6.4.1 受试样品至少设三个剂量组,应先进行预试验以确定高剂量组。高剂量应能使实验动物出现毒性症状或繁殖能力轻微降低,染毒剂量可选择在 $1/10LD_{50} \sim 1/3LD_{50}$ 之间。中剂量应引起较轻的可观察到的毒性效应,低剂量应不出现任何毒效应。剂量组的剂量间距以2倍~4倍为宜。对照组除不接触受试样品外,其他条件应与染毒组完全相同。必要时可设介质对照组,以研究介质的影响。对照组中介质的浓度可采用高浓度组的介质用量。如染毒后出现严重的中毒症状,则应降低受试样品的剂量,即使高剂量组由于浓度的降低导致了其他毒性反应明显下降或消失,也应如此。

6.4.2 受试样品毒性较低时,高剂量一次染毒可达5g/kg体重,多次染毒可达1g/(kg·d)体重。

## 6.5 试验步骤

### 6.5.1 染毒方式与途径

- 6.5.1.1 雄鼠预先接触受试样品,再进行交配。雌鼠不接触受试样品。
- 6.5.1.2 根据试验目的或受试样品的性质选择染毒途径,通常采取经口灌胃或腹腔注射的途径。
- 6.5.1.3 受试样品溶液一次给予的最大容量不应超过 20 mL/kg。
- 6.5.1.4 一般情况下染毒一次,或一次/d、连续 5 d。

### 6.5.2 交配方式

雄鼠接触受试样品后的当天(染毒一次)或最后一次接触受试样品后的当天(多次染毒),按雌:雄鼠 1:1 或 2:1 的比例同笼交配,于 5 d 后取出雌鼠另行饲养。雄鼠则于 2 d 后再与同样数量的另一批未交配的雌鼠同笼交配,如此共进行 6 批~9 批。每日检查阴栓或镜检阴道精子,确定交配成功。

### 6.5.3 临床观察

主要观察并记录亲代动物的毒性反应。

### 6.5.4 胚胎检查

以雌雄鼠同笼日算起第 15 天~第 17 天处死雌鼠,立即剖腹取出子宫,仔细检查、计数,分别记录每一雌鼠的植入数、活胎数、早期死亡胚胎数和晚期死亡胚胎数。

### 6.5.5 胚胎鉴别

- 6.5.5.1 活胎:完整成形、色鲜红,有自然运动,机械刺激后有运动反应。
- 6.5.5.2 早期死亡胚胎:胚胎形体较小,外形不完整,胎盘较小或不明显。最早期死亡胚胎会在子宫内壁上隆起如一小瘤。如已完全被吸收,仅在子宫内壁上留一隆起暗褐色点状物。
- 6.5.5.3 晚期死亡胚胎:成形、色泽暗淡,无自然运动,机械刺激后无运动反应。

## 7 数据处理与结果评价

### 7.1 数据处理

应以表格的形式列出雄鼠数、孕鼠数和未受孕雌鼠数。应分别记录每次每对雌雄鼠交配的情况。对每只雌鼠而言,还应详细记录其交配周次、与之交配的雄鼠接触受试样品的剂量以及活胎率和死胎率情况。

以受试样品组的雄鼠为单位,分别计算每周的下列各项指标。

$$\text{平均受孕率} = \frac{\text{每组孕鼠数}}{\text{每组同笼雌鼠总数}} \times 100\%$$

$$\text{总着床数} = \text{活胎数} + \text{早期胚胎死亡数} + \text{晚期胚胎死亡数}$$

$$\text{平均着床数} = \frac{\text{每组总着床数}}{\text{每组受孕雌鼠数}}$$

$$\text{早期胚胎死亡率} = \frac{\text{每组早期胚胎死亡数}}{\text{每组总着床数}} \times 100\%$$

$$\text{晚期胚胎死亡率} = \frac{\text{每组晚期胚胎死亡数}}{\text{每组总着床数}} \times 100\%$$

$$\text{平均早期胚胎死亡数} = \frac{\text{每组早期胚胎死亡数}}{\text{每组受孕雌鼠数}}$$

## GBZ/T 240.14—2011

接受样品组与对照组动物的上述指标分别用适当的统计分析方法进行分析。

## 7.2 结果评价

受试样品组动物受孕率或着床数明显低于阴性对照组；早期或晚期胚胎死亡率明显高于阴性对照组，并有明显的剂量-反应关系和统计学意义时，即可确认为阳性结果。若统计学上差异有显著性，但无剂量-反应关系，则须进行重复试验，结果能重复者可确定为阳性。显性致死阳性表明在试验条件下受试样品对所用动物的生殖细胞具有遗传毒性。

## 8 评价报告

除 GBZ/T 240.1 规定的一般的项目外，评价报告还应包括以下内容：

- a) 剂量分组及选择剂量的基本原则，阳性和阴性对照资料（包括当前和历史的资料）、染毒途径和方式；
- b) 试验方法：简述操作步骤，所用统计学方法，结果判定标准；
- c) 结果：中毒症状、每周每组总着床数、平均着床数、平均受孕率、早期胚胎死亡率、晚期胚胎死亡率和平均早期胚胎死亡数，剂量-反应关系、阴性对照的参考资料及历史资料、阳性对照的参考资料等。

## 9 结果解释

阳性结果表明在本试验条件下受试样品对实验动物的生殖细胞具有遗传毒性。阴性结果表明在本试验条件下受试样品对实验动物生殖细胞无遗传毒性。

---