



中华人民共和国国家标准

GB/T 27827—2011

化学品 体内姊妹染色单体交换 试验方法

Chemicals—Test method of *in vivo* sister chromatid exchange

2011-12-30 发布

2012-08-01 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

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准与美国环境保护局(United States Environmental Protection Agency, USEPA)预防、农药及有毒物质办公室(the Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances, OPPTS)的 OPPTS 870.5915:1998《体内姊妹染色单体交换试验》(英文版)技术性内容一致。

本标准做了下列结构和编辑性修改:

- 增加了范围一章;
- 将原文中的“简介”部分作为本标准中的“引言”;
- 将原文“定义”中的部分内容作为本标准“2 术语和定义”;
- 计量单位统一改为我国法定计量单位。

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。

本标准起草单位:中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所、辽宁省职业病防治院、中国化工经济技术发展中心、中国检验检疫科学研究院。

本标准主要起草人:曲波、林铮、李雪飞、白羽、王晓兵、陈会明。

引 言

本标准参考了 USEPA OPPTS 870.5915;1998 体内姊妹染色单体交换试验(英文版),技术内容与其相一致。该试验指南是美国环境保护局(EPA)预防、农药及有毒物质预防办公室(the Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances, OPPTS)发布的系列试验指南之一,受检对象为农药和有毒物质;所获得的毒理学资料提交后供 EPA 根据有关法规进行审查。OPPTS 发布的该试验指南是通过合并和权衡多个试验指南[包括污染预防和有毒物质办公室(the Office of Pollution Prevention and Toxics, OPPT)发布的指南、美国规范大全中标题 40 下的第 I 章第 R 亚章中所述指南(Title 40, Chapter I, Subchapter R of the Code of Federal Regulations, CFR)、农药规划办公室(the Office of Pesticide Programs, OPP)、经济合作与发展组织(the Organization for Economic Cooperation and Development, OECD)]后最终形成的一个协调一致的指南。

融合多个试验指南来形成单一一套 OPPTS 试验指南的目的是为了达到美国环境保护局对试验数据的要求,使试验方法的差异减小到最小。

适用性:为满足联邦杀虫剂、杀真菌剂和灭鼠剂法案(FIFRA)和毒性物质控制法案(TSCA)的要求,特制定本指南。

背景资料:制定本同步的 OPPTS 试验指南所参考的资料包括:OPPT40 CFR 798.5915 体内姐妹染色单体交换试验和 OPP84-2 致突变试验(杀虫剂评估指南,危害评价的 F 部分;人和家畜)美国环保署报告 540/09-82-025,1982。

姊妹染色单体交换试验检测化学物对增加复制期染色体的两个姊妹染色单体 DNA 交换的能力。可利用培养的哺乳动物细胞进行体外试验,也可利用非哺乳动物或哺乳动物组织进行体内试验。最常采用哺乳动物(如小鼠、大鼠、仓鼠)的骨髓细胞和淋巴细胞,也可使用人淋巴细胞。

化学品 体内姊妹染色单体交换 试验方法

1 范围

本标准规定了化学品体内姊妹染色单体交换试验方法的术语和定义、试验原理、试验方法、试验数据和报告。

本标准适用于化学品体内姊妹染色单体交换试验。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

2.1

姊妹染色单体交换 sister chromatid exchange, SCE

细胞分裂复制期单个染色体内的两个染色单体的相互交换。在细胞周期的中期相可观察到这种交换,它可能需要 DNA 双螺旋的酶切、转移和连接。

3 试验原理

通过适当的途径给予动物受试物染毒,随后给予溴代脱氧尿嘧啶(bromodeoxyuridine, BrdU)。动物处死前,用纺锤体抑制剂(秋水仙碱或秋水仙素)处理,将细胞分裂阻断在分裂中期。动物安乐处死后取出受检组织,制备受检组织标本,染色后在显微镜下进行 SCE 计数、分析。

4 试验方法

4.1 动物选择

4.1.1 种系

任何合适的哺乳动物种系均可使用。常用的啮齿类动物有小鼠、大鼠和仓鼠。

4.1.2 年龄

应使用健康、刚成年的动物。

4.1.3 性别和数量

每个染毒组及对照组至少 10 只动物,雌雄各 5 只。如使用单一性别或不同数量动物应提供恰当理由。

4.1.4 分组

应将实验动物随机分入染毒组和对照组。

4.2 对照组

4.2.1 对照

应同时设阳性对照和阴性(溶剂)对照。

4.2.2 阳性对照

应使用已知能够在体内试验中致 SCE 阳性的化学物作为阳性对照。

4.3 受试物

4.3.1 溶剂

受试物应尽可能溶解于等渗溶液或蒸馏水中。难溶的受试物应溶于或悬浮于合适的溶剂中。溶剂既不能干扰受试物,也不能产生毒性效应。受试物应在使用前新鲜配制。

4.3.2 剂量水平

预试验剂量应为最大耐受剂量或引起动物出现中毒反应(包括死亡)或靶细胞毒性的剂量。LD₅₀是较为合适的指标。也可以使用其他的剂量水平。确定剂量-反应关系,应至少使用3个剂量水平。

4.3.3 染毒途径

一般使用腹腔注射或经口灌胃方式染毒。也可采用其他恰当的染毒途径。

4.3.4 染毒次数

一般染毒一次。也可根据毒性资料进行重复染毒。

4.4 操作方法

4.4.1 染毒

根据试验目的或受试样品的性质选择染毒途径,建议采用经腹腔注射或经口灌胃方式。

4.4.2 给予5-溴脱氧尿嘧啶

动物染毒后,可通过多次腹腔注射、尾静脉持续滴注、皮下包埋等途径给予5-溴脱氧尿嘧啶(5-Br-dU)。

4.4.3 纺锤体抑制剂处理

动物处死前2 h,腹腔注射秋水仙素(4 mg/kg)。

4.4.4 骨髓细胞染色体标本制备

动物处死后取出骨髓,制备骨髓细胞悬液,通过低渗、预固定、固定、制片等过程,常规制备骨髓细胞染色体标本。

4.4.5 染色方法

可根据试验方案确定染色方法。推荐使用荧光吉姆萨染色法。

4.4.6 计数细胞数量

应根据所使用的动物数、阴性对照 SCE 频率、灵敏度和选择的统计检验水平确定每只动物计数的细胞数。每张玻片在镜检前均应编号。

5 试验数据和报告

5.1 数据处理

应以表格形式表述结果。列出每个中期相细胞 SCE 数及每个中期相细胞每条染色体 SCE 数。在染毒组和对照组进行比较之前,应考虑到各组组内动物间差异。

5.2 统计分析

应采用恰当的统计学方法统计分析。

5.3 结果的评价

5.3.1 阳性结果的判断标准为:有统计学意义的呈现剂量效应关系的 SCE 数增加,或在至少一个测试点有可重复的、有统计学意义的 SCE 增加。

5.3.2 既没有统计学意义的呈现剂量效应关系的 SCE 数增加,也不能在至少一个测试点出现可重复的、有统计学意义的 SCE 增加的受试物,可认为在本试验条件下,不能诱发 DNA 片段重组。

5.3.3 评价应同时考虑生物学意义和统计学意义。

5.3.4 阳性结果表明在本试验条件下,受试物能够诱发受试动物骨髓细胞姊妹染色单体交换;阴性结果表明在本试验条件下,受试物不能诱发受试动物骨髓细胞姊妹染色单体交换。

5.4 试验报告

试验报告应包括下列内容:

- 动物品系、年龄、体重、数量、性别;
- 受试物溶剂、剂量水平、剂量选择依据、毒性资料、阳性和阴性对照;
- 给予受试物染毒和 5-BrdU 的途径和时间;
- 纺锤体阻断剂名称、浓度及作用时间;
- 给予 5-BrdU 后动物处死时间;
- 玻片制备的详细资料;
- SCE 计数的标准;
- 剂量-反应关系(如可能)。

参 考 文 献

- [1] Allen, J. W. et al. Bromodeoxyuridine tablet methodology for invivo studies of DNA synthesis. *Somatic Cell Genetics*, 1978, 4:393-405
- [2] Allen, J. W. et al. Simplified technique for in vivo analysis of sister chromatid exchanges using 5-bromodeoxyuridine tablets. *Cytogenetics Cell Genetics*, 1977, 18:231-237
- [3] Latt, S. A. et al. Sister chromatid exchanges: A report of the U. S. EPA Gene-Tox rogram. *Mutation Research*, 1981, 87:17-62
-