



中华人民共和国国家标准

GB/T 21773—2008

化学品 体内哺乳动物红细胞 微核试验方法

Chemicals—Test method of in vivo mammalian
erythrocyte micronucleus

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 发布
中国国家标准化管理委员会

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. 474(1997 年)《体内哺乳动物骨髓嗜多染红细胞微核试验》(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、天津市检验检疫科学技术研究院。

本标准主要起草人：刘克明、侯粉霞、杨德一、李津、王春花、杨雪莹、张园、李宁涛。

OECD 引言

1. 哺乳动物体内微核试验通过分析啮齿类动物骨髓和(或)外周血液样本中的嗜多染红细胞,用以检测受试物诱发的染色体或成红细胞有丝分裂器的损伤。

2. 微核试验的目的是鉴别可引起细胞遗传学损伤的物质,这种损伤会导致含迟滞染色体片断或整条染色体的微核形成。

3. 当骨髓正染红细胞演变成嗜多染红细胞时,其主核被排出,已形成的微核随后就留在无细胞核的胞浆中。由于这些细胞中缺少主核,故很易观察到。在染毒动物中有微核的嗜多染红细胞出现频率的增加,是引起染色体损伤指征。

4. 该试验中常规使用啮齿类动物骨髓,因该组织中可产生嗜多染红细胞。如果已证明某种动物的脾脏不能清除有微核红细胞,或已显示某种动物对检测能致染色体结构或数目畸变的物质有足够的敏感性,则同样也可考虑检测其外周血的有核未成熟的(嗜多染的)红细胞。有很多判断微核的标准,其中包括微核是否存在着丝粒或着丝的 DNA。有微核的未成熟的(嗜多染的)红细胞的出现率是主要的终点。当受试动物连续染毒 4 周或更长时,外周血中的某些成熟红细胞也含有微核,这时外周血中成熟的(正染红的)红细胞数也可作为试验终点。

5. 哺乳动物体内微核试验特别适用于评价那些需要考虑体内代谢、药物代谢动力学和 DNA 修复过程诸因素的致突变危害。可上述诸因素在不同动物种属、不同组织和不同的遗传终点之间是有所不同。微核试验对于进一步研究体外系统已检测到的致突变作用也是有用的。

6. 如果有证据表明受试物质或活性代谢产物不能到达相应的靶组织内,则不适合使用本试验。

化学品 体内哺乳动物红细胞 微核试验方法

1 范围

本标准规定了体内哺乳动物红细胞微核试验的范围、术语和定义、试验基本原则、试验方法、试验数据和报告。

本标准适用于检测化学品的致突变作用。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

2.1

着丝粒 centromere/kinetochore

在细胞分裂期,染色体与纺锤丝联合的区域,以使子染色体有序地向子细胞的两极移动。

2.2

微核 micronuclei

在有丝分裂(减数分裂)末期,由落后染色体片断或整体染色体产生的,分离或附属于细胞主核的小核。

2.3

正染红细胞 normochromatic erythrocyte

成熟红细胞,因缺乏核糖体,可以用选择性核糖体染料与不成熟的嗜多染红细胞区分开来。

2.4

嗜多染红细胞 polychromatic erythrocyte

未成熟红细胞,处于发育中期,仍含核糖体,故可用选择性核糖体染料与成熟的正染红细胞区分开来。

3 试验基本原则

采用适当染毒途径使受试动物染毒。如使用骨髓样本,则在染毒后的合适时间将动物处死,提取骨髓,制片和染色。当使用外周血样时,则要在染毒后适当时间采血、制备涂片和染色,且最后一次染毒和细胞收获之间的时间要尽可能短。分析制片中存在的微核。

4 试验方法

4.1 准备

4.1.1 动物种属的选择

如使用骨髓样品,则推荐使用小鼠和大鼠,当然其他合适的哺乳动物也可使用。当使用外周血样,则推荐使用小鼠。但是,假如某种动物的脾脏不能清除有微核的红细胞,或已显示某种动物对检测能引起染色体结构或数目畸变的物质有足够的敏感性,则此种动物可以使用。一般试验所用的动物应是初成年的健康动物。在试验开始时,动物的体重差异要小,同性别间不能超过平均体重的 $\pm 20\%$ 。

4.1.2 饲养条件

试验动物房的温度应为 $22^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$,相对湿度最好不超过 70% ,目标应该是 $50\% \sim 60\%$ (但清扫动