

附录 A
(资料性附录)

大鼠肝微粒体酶的诱导和 S₉ 的制备

A.1 诱导

应用最广泛的大鼠肝微粒体酶的诱导剂是多氯联苯(Aroclor1254)混合物,选择健康雄性大鼠体重 200 g 左右,一次腹腔注射诱导剂 500 mg/kg。诱导剂溶于玉米油中,浓度为 200 mg/mL。

A.2 S₉ 制备

动物诱导后第 5 日断头处死。处死前 12 h 停止饮食,但可自由饮水。首先,用 75%酒精消毒动物皮肤,剖开腹部。在无菌条件下,取出肝脏,去除肝脏的结缔组织,用冰浴的 0.15 mol/L 氯化钾淋洗肝脏,放入盛有 0.15 mol/L 氯化钾溶液的烧杯里。按每克肝脏加入 0.15 mol/L 氯化钾溶液 3 mL。用电动匀浆器制成肝匀浆,再在低温(0℃~4℃)高速离心机上,以 9 000g 离心 10 min,取其上清液(S₉)组分分装于塑料管中。储存于液氮生物容器中或-80℃冰箱中备用。

上述全部操作均在冰水浴中和无菌条件下进行。制备肝 S₉ 所用一切手术器械、器皿等,均经灭菌消毒。S₉ 置备后,其活力需经间接性诱变剂进行鉴定。

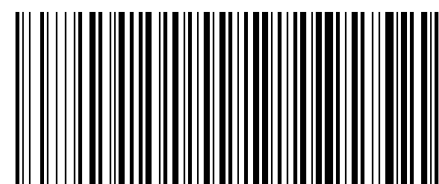
中华人民共和国国家职业卫生标准

GBZ/T 240.8—2011

化学品毒理学评价程序和试验方法

第 8 部分:鼠伤寒沙门氏菌回复突变试验

Procedures and tests for toxicological evaluations of chemicals—
Part 8: Salmonella typhimurium reverse mutation assay



GBZ/T 240.8—2011

版权专有 侵权必究

*

书号:155066·2-22221

定价: 16.00 元

2011-08-19 发布

2012-03-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布

为阳性。

7.2.2 受试样品经四个试验菌株检测后,只要有一个试验菌株,无论在加 S_9 或不加 S_9 条件下为阳性者时,均可判定该受试样品 Ames 试验结果为阳性。

7.2.3 四个试验菌株在加 S_9 和不加 S_9 条件下均为阴性,且重复试验结果一致时,则可判定受试样品 Ames 试验结果为阴性。

8 评价报告

除 GBZ/T 240.1 规定的一般项目外,评价报告还应包括以下内容:

- a) 试验菌株;
- b) 代谢活化系统及所用诱导剂;
- c) 试验方法、操作步骤、受试样品检测剂量分组及阴性、阳性对照名称;
- d) 阳性结果评价原则 以列表方式报告受试样品的 Ames 试验结果;
- e) 结论。

9 结果解释

阳性结果表明在本试验条件下受试样品具有致基因突变作用。阴性结果表明在本试验条件下受试样品不具有致基因突变作用。

中 华 人 民 共 和 国
国家职业卫生标准
化学品毒理学评价程序和试验方法
第 8 部分:鼠伤寒沙门氏菌回复突变试验
GBZ/T 240.8—2011

*

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 0.75 字数 17 千字

2011 年 10 月第一版 2011 年 10 月第一次印刷

*

书号:155066·2-22221 定价 16.00 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

表 2 测试菌株的回变性

诱变剂	剂量 μg/皿	S ₉	TA97	TA98	TA100	TA102
柔毛霉素	6.0	—	124	3 123	47	592
叠氮化钠	1.5	—	76	3	3 000	188
ICR-191	1.0	—	1 640	63	185	0
链霉素	0.25	—	inh	inh	inh	2 230
丝裂霉素 C	0.5	—	inh	inh	inh	2 772
2,4,7-三硝基-9-芴酮	0.20	—	8 377	8 244	400	16
4-硝基-O-次苯二胺	20	—	2 160	1 599	798	0
4-硝基喹啉-N-氧化物	0.5	—	528	292	4 220	287
甲基磺酸甲酯	1.0	—	174	23	2 730	6 586
2-氨基苄	10	+	1 742	6 194	3 026	261
苯并(a)芘	1.0	+	337	143	937	255

注：inh 表示抑菌。表中数值均已扣除溶剂对照的回变菌落数；其他菌株对阳性物的反应参照有关文献。

6.4.4.7 阳性对照物的回变菌落数

6.5 试验方法——平板掺入法

6.5.1 倒平板：先将底层培养基在 45℃ 时倒平板，冷却凝固后放入 37℃ 培养箱内 24 h。无菌落生长方可使用。

6.5.2 接种：将含 0.5 mmol/L 组氨酸-0.5 mmol/L 生物素溶液的顶层琼脂培养基 2.0 mL 分装于试管中，45℃ 水浴中保温，然后每管依次加入试验菌株增菌液 0.1 mL，受试样品溶液 0.1 mL 和 S₉ 混合液 0.5 mL(需代谢活化时)，充分混匀，迅速倾入底层琼脂平板上，转动平板，使之分布均匀。水平放置待冷凝固后，倒置于 37℃ 培养箱里孵育 48 h。每受试样品检测皿加或不加 S₉ 混合液均作三个平行皿。

6.5.3 对照：每一受试样品检测时必须设定阳性物对照，即将操作过程中加入受试样品溶液更换为阳性物，其他操作完全相同；同时，每批受试样品检测必须设定阴性对照，观察自发回变菌落数。操作过程中不加入受试样品，其余操作同本部分 6.5.2。

6.5.4 试验至少重复一次。

7 数据处理与结果评价

7.1 数据处理

记录受试样品各剂量组、空白对照组自发回变、溶剂对照组及阳性对照组的每皿回变菌落数，并求平均值和标准差。

7.2 结果评价

7.2.1 受试样品诱发的回变菌落数超过自发回变菌落数 2 倍以上，并呈剂量-反应关系判定检测结果

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；