

化学品毒理学评价程序和试验方法 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

Procedures and tests for toxicological evaluations of chemicals—
Part 13: Mammalian spermatogonium/primary spermatocyte
chromosome aberration test

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 13 部分：哺乳动物精原细胞/初级精母细
胞染色体畸变试验
GBZ/T 240.13—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 13 千字
2011 年 11 月第一版 2011 年 11 月第一次印刷

*
书号：155066·2-22226 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



GBZ/T 240.13—2011

2011-08-19 发布

2012-03-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布

7 数据处理与结果评价

7.1 数据处理

每一实验动物作为一个观察单位。精原细胞试验每组动物分别计算染色体结构畸变细胞百分率。一般用 χ^2 检验方法进行统计学分析。初级精母细胞受试样品组与对照组的断片、易位、畸变细胞率、常染色体单价体、性染色体单价体等分别按 χ^2 检验进行统计分析。两种细胞染色体畸变的裂隙都应分别记录和报告,但一般不计入总的畸变率。

7.2 结果评价

受试样品组细胞染色体畸变率与阴性对照组相比,统计学意义上有显著性差异,并有明确的剂量-反应关系或在一个受试样品组出现染色体细胞畸变数明显增高时,即可认为精原细胞/初级精母细胞染色体畸变试验阳性。若统计学上差异有显著性,但无剂量-效应关系,则须进行重复试验,结果能重复者可确定为精原细胞/初级精母细胞染色体畸变试验阳性。

多倍体的增加提示受试样品具有潜在的诱导精原细胞染色体数目畸变的作用。

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方面:

- 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,采样时间点;
- 细胞分裂中期阻断剂名称、使用浓度及处理时间;
- 试验方法:简述操作步骤,所用统计学方法,结果判定标准;
- 结果:中毒症状、每只动物染色体畸变类型和畸变细胞数、每组动物细胞畸变总数、均数和标准差、每组每细胞各类型畸变数、剂量-反应关系、阴性对照的参考资料、历史资料及范围、均值和标准差、阳性对照的参考资料等。精原细胞还应包括:有丝分裂指数、精原细胞有丝分裂中期相与第一次和第二次减数分裂中期相的比率。以列表方式报告受试样品组、溶剂对照组和阳性对照组动物精原细胞/初级精母细胞染色体畸变类型和数量及畸变率;
- 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引起受试动物精原细胞/初级精母细胞染色体畸变的能力。阴性结果表明在本试验条件下受试样品不引起受试动物精原细胞/初级精母细胞染色体畸变。哺乳动物精原细胞/初级精母细胞染色体畸变试验能够提供受试样品对雄性生殖细胞遗传学的毒性作用资料,其试验结果仅能有限地外推到人。

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 13 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、史晓祎。

6.6.2.4 离心

以 1 000 r/min 速度离心 10 min。

6.6.2.5 软化

用滴管吸尽上清液。加入 60%冰乙酸 2 mL,滴管吹打至不透光。

加入 2 mL 新鲜固定液,用细口滴管充分混匀。

6.6.2.6 制片

在洁净的冷冻玻片上滴 3 滴~4 滴细胞悬液,轻吹细胞悬液扩散平铺于玻片上。将玻片在酒精灯上微热烘干。每个睾丸制片 2 张~3 张。

6.6.2.7 染色

将制备好的标本片放入 Giemsa 应用液中染色 10 min~20 min,用蒸馏水冲洗、晾干。

6.7 阅片

6.7.1 标本片编号

所有玻片,包括阳性对照和阴性对照,在镜检前要分别编号。

6.7.2 标本片阅检

在低倍镜下寻找背景清晰、分散良好、染色体收缩适中的中期分裂相,在油镜下注意选取细胞膜形态完整、邻近无游离染色体或中期相的细胞进行观察。

6.7.3 有丝分裂指数(仅限于精原细胞)

对各处理组、阴性对照组和阳性对照组,每只动物计数 1 000 个细胞测定有丝分裂指数,以确定细胞毒性。

6.7.4 计数畸变细胞

用双盲法阅片。每只动物做两侧睾丸,每侧睾丸至少分析 50 个精原细胞/初级精母细胞中期分裂相,即每个剂量组至少观察 500 个中期分裂相。当观察到的畸变细胞数量较多时,可以减少观察的细胞数。在阅片时应记录每一观察细胞染色体畸变的数目和类型以及显微镜视野的坐标位置。

6.7.5 观察项目

6.7.5.1 精原细胞

6.7.5.1.1 染色体数目的改变:多倍体。正常精原细胞中期分裂相中常可见到多倍体,这是因为精原细胞至少两次有丝分裂和它们子细胞的减数分裂常同步进行。可以有两个或四个中期分裂相彼此极靠近,看来像一个中期相。因此阐明生殖细胞多倍体的意义时应很慎重,仅在第一次减数分裂中,四倍体生殖细胞有一个被确认为四价体时才有意义。

6.7.5.1.2 染色体结构的改变:断裂、断片、微小体、无着丝点环、环状染色体、双或多着丝点染色体、单体互换等。

6.7.5.2 初级精母细胞

除观察裂隙、断片、断裂、微小体外,还应观察相互易位、X-Y 和常染色体的单价体和多倍体。