

中华人民共和国国家职业卫生标准

GBZ/T 240.22—2011

化学品毒理学评价程序和试验方法 第 22 部分：两代繁殖毒性试验

Procedures and tests for toxicological evaluations of chemicals—
Part 22: Two-generation reproduction toxicity 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 22 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:上海市疾病预防控制中心、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:肖萍、李斌、薛春宵、孙金秀、林铮。



化学品毒理学评价程序和试验方法

第 22 部分:两代繁殖毒性试验

1 范围

GBZ/T 240 的本部分规定了动物两代繁殖毒性试验的目的、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的繁殖毒性。

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 化学品毒理学评价的程序和试验方法 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

繁殖力的损害 **impairment of fertility**

表现为雌性或雄性动物生殖功能或能力的障碍。

4 试验目的

提供关于受试样对雌性和雄性动物繁殖功能影响的一般性资料,如性腺功能、交配行为、受孕、分娩、哺乳、断乳以及子代的生长发育情况等。同时也可在子代生长发育毒性(新生仔缺陷、死亡和畸形等)方面取得初步资料,为其他有关毒性试验提供参考。

5 试验概述

试验应设多个剂量组。选择生长期中的雌雄动物进行试验。染毒期限亲代雄性动物至少为一个完整的精子发生期(大鼠约为 70 d),亲代雌性动物至少为两个完整的发情周期及交配期、妊娠和哺乳期。F₁ 子代断乳后开始染毒,直到交配结束(雄性 F₁ 子代)以及对 F₂ 子代哺乳结束后(雌性 F₁ 子代)。

6 试验方法

6.1 实验动物

6.1.1 动物选择

首选健康初成年的大鼠或小鼠。选用繁殖率高的品系。所选动物应注明种类、品系、性别、体重和

(或)周龄。

6.1.2 性别和试验开始时的年龄

为了正确地评价化学品对动物生殖能力的影响,两种性别的动物都应使用。最常使用7周~8周龄,至少经过3d适应期的动物来进行繁殖毒性试验。雌性动物必须是未经产仔的。

6.1.3 动物数

为了获得足够的试验数据,正确地评价受试样品对两代动物繁殖过程(包括亲代动物繁殖、妊娠和哺育的过程, F_1 子代从出生到成熟过程中的吸乳、生长发育情况,以及 F_2 子代从出生到断乳的生长发育过程)可能引起的健康损害效应。雄性和雌性动物通常按1:1或1:2的比例合笼交配。交配的动物数应保证每个剂量组及对照组都能获得20只孕鼠。

孕鼠临近分娩时,应单笼饲养在分娩笼中,需要时笼中放置造窝垫料。

6.2 剂量设计

试验至少设三个剂量组和一个对照组。应考虑受试样品特性(如生物代谢和生物蓄积特性)的影响作用。在受试样品理化和生物特性允许的条件下,高剂量应使亲代动物出现明显的毒性反应,但不引起动物死亡;中剂量可引起轻微的毒性反应;低剂量应不引起亲代及其子代动物的任何毒性反应。如果受试样品的毒性较低,1000 mg/kg体重的剂量仍未对繁殖过程有任何毒副作用,则可以采用限量试验,即试验不需要设其他剂量组。若高剂量的预试验观察到明显的母体毒性作用,但对生育无影响,也可以采用限量试验。

6.3 试验方法

6.3.1 染毒途径及方法

首选饲料掺入法,也可用饮水给予或其他适当的方法给药。每周给药7d。整个试验过程中所有的动物必须采用相同的给药方式。若使用除水外的其他溶剂或介质时,这些物质应不会引起任何毒副作用并应设立对照。如果染毒的途径为吸入染毒,参照有关亚慢性吸入毒性试验。对于妊娠期的母鼠,给药量应按妊娠的第0天或第6天的体重分两阶段计算染毒量。

6.3.2 给药期限及繁殖程序(以大鼠为例,见表1)

表1 大鼠给药期限及繁殖程序

试验周期	亲代(P)	子一代(F_1)	子二代(F_2)
第1~第8周末	给予受试样品		
第9~第11周末	交配(给药),结束后处死雄性鼠		
第12~第14周末	妊娠(给药)	出生,调整每窝只留8只动物	
第15~第17周末	哺乳(给药),结束后处死	母乳喂养	
第18周		基础饲料喂养	
第19~第26周末		给予受试样品	
第27~第29周末		交配(给药),结束后处死雄性鼠	
第30~第32周末		妊娠(给药)	出生,调整每窝只留8只动物
第33~第35周末		哺乳(给药),结束后处死	断乳后处死

6.3.3 交配方法及妊娠检查

雄性和雌性动物按 1:1 或 1:2 的比例进行交配。

以 1:1 的交配方式为例,雌鼠应始终与同剂量组的同一只,但不是同窝所生的雄鼠合笼直至受孕,合笼最长时间可为 3 周。在交配过程中,每天早晨应对雌鼠进行检查,查看有无阴栓或阴道中是否有精子。将检查到精子或阴栓的当天计为雌鼠妊娠的第 0 天(判为交配成功动物)。大鼠 F_1 子代至少应长到 9 周后(小鼠 11 周)才能进行交配。交配时,从 F_1 子代每窝中随机选择雌雄各一只,与同剂量组中不同窝的动物以 1:1 的比例交叉配对,繁殖 F_2 子代。未被选作交配的 F_1 子代在断乳后予以处死。

若交配三周后仍未受孕,应对不育的动物进行检查,分析其原因。可以将不育的动物与证实过生育功能正常的动物重新配对,需要时也可进行生殖器官的病理组织学、发情周期和精子发生周期的检查。

6.3.4 每窝新生幼鼠数量的调整

F_1 代出生后的第 4 天,应将仔鼠数尽量随机调整到每窝 8 只,雌雄各半,否则可作不均等的调整(如 5 雄 3 雌)。每窝的幼仔数小于 8 只时,就不需要进行调整。 F_2 子代按同样的方法进行调整。

6.4 观察及检查

6.4.1 每日至少对动物进行一次仔细的观察。记录有无行为改变,难产或滞产以及所有的毒性反应(包括死亡)。

6.4.2 在交配前和交配期,应计算每周的摄食量和饮水量,在妊娠中可考虑逐日记录。产仔后,每窝仔鼠需要称量体重时,母鼠的摄食量和饮水量也应同时计算。

6.4.3 繁殖试验的动物(亲代和 F_1 子代)应在给药的第 1 天进行称重,以后每周称量体重一次。数据应逐只进行记录。交配结束时,采集亲代雄鼠附睾的精子,显微镜下计数 200 个精子,观察其活动性、形状及数量。

6.4.4 妊娠周期应该从怀孕的第 0 天开始计算。生产下的仔鼠应尽早分辨性别,记录每窝的出生数、活仔数以及幼仔外观有无异常和畸形。同时记录母鼠或仔鼠在生理上和行为上的异常表现。

6.4.5 产仔后哺乳期,食物消耗量和窝仔称重应该同一天测量。

6.4.6 活仔鼠在出生后的当天上午、第 4 天、第 7 天、第 14 天和第 21 天进行称重。

6.5 大体解剖

死亡和到期处死的亲代和成年的 F_1 子代动物都应解剖进行大体检查,肉眼观察有无组织器官形态上的改变,特别是生殖器官。死亡或濒临死亡的仔鼠也应接受检查,查看是否有外观或器官形态的缺陷。

6.6 病理组织学检查

保留上述剖检的所有亲代和 F_1 子代动物的卵巢、子宫、子宫颈、阴道、睾丸、附睾、精囊、前列腺、脑下垂体和靶器官标本。先对高剂量组和对照组的动物标本以及剖检中发现异常的标本进行组织病理学检查。如高剂量组没有发现有意义的病变,其他剂量组的标本可不必再进行病理检查。反之,若高剂量组发现有意义的病理改变,则其他剂量组相关的标本也应作进一步的检查。

7 数据处理与结果评价

7.1 数据处理

7.1.1 数据可以用表格进行统计,表中应显示每组的实验动物数、交配的雄性动物数、受孕的雌性动物

数、各种毒性反应及其出现动物百分数。数据应进行统计分析,可采用任何一种适当的统计方法进行处理。

7.1.2 繁殖指数

- 交配成功率=(交配成功动物数/用于交配的雌性动物数)×100%;
- 受孕率=(受孕动物数/用于交配的雌性动物数)×100%;
- 活产率=(产生活仔的雌性动物数/受孕动物数)×100%;
- 出生存活率=(出生后4d幼仔存活数/出生当时存活仔数)×100%;
- 哺育成活率=(21d断奶时幼仔成活数/出生后4d幼仔存活数)×100%。

7.2 结果评价

逐一比较剂量组动物与对照组动物繁殖指数差异是否有显著性,以评定受试样品有无繁殖毒性,同时还可根据统计学意义出现的指标上(如体重,观察指标、大体解剖和病理组织学检查结果等),进一步评价繁殖毒性的损害作用特点。

8 评价报告

除 GBZ/T 240.1 中规定的一般项目外,评价报告还应包括以下内容:

- a) 亲代和成年 F₁ 子代动物的摄食量和体重资料;
- b) 按性别和剂量组分别记录的毒性反应,包括繁殖、妊娠和发育能力的异常;
- c) 每窝仔鼠的体重和仔鼠的平均体重,以及试验后期单个仔鼠的重量;
- d) 任何有关繁殖,仔鼠及其生长发育的毒性和其他健康损害效应;
- e) 观察到的各种异常症状的出现时间和持续过程。

9 结果解释

本试验可反应动物在多次接触某一受试样品后对繁殖所产生的影响。在分析结果时,应将其与亚慢性试验,致畸试验以及其他试验的结果相结合,进行综合分析。试验结果能提供 NOAEL 和人体安全接触水平,但试验结果外推到人仍存在着一定的局限性。
