SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 2182—2008

两代繁殖毒性试验

Two-generation reproduction toxicity test

2008-09-04 发布　　2009-03-16 实施

中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局　发布

前　言

本标准修改采用联合国经济合作与发展组织(OECD)化学品测试方法 No.416《两代繁殖毒性试验》(1983,2001 英文版)。

本标准与 OECD 化学品测试方法 No.416 相比,存在以下差异:

——对 OECD 化学品测试方法 No.416 进行了编辑性修改;

——增加了前言部分;

——增加了繁殖指数的计算方法。

本标准由中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局提出。

本标准由国家认证认可监督管理委员会归口。

本标准负责起草单位:中华人民共和国天津出入境检验检疫局。

本标准参加起草单位:中化化工标准化研究所、江南大学、天津市检验检疫科学技术研究院。

本标准主要起草人:张园、于艳军、赵琢、于智睿、周磊、熊中强。

本标准系首次发布的出入境检验检疫行业标准。

两代繁殖毒性试验

1 范围

本标准规定了动物两代繁殖毒性试验的术语和定义、试验动物、受试物和分组、试验步骤、试验结果评价、试验结果报告及试验结果的解释。

本标准适用于检测化学品的繁殖毒性。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

GB 14924.1 实验动物 配合饲料通用质量标准

GB 14925 实验动物 环境及设施

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

生殖毒性 reproductive toxicity

由化学品引起的亲代雌性或雄性生殖功能的损伤或生殖能力的降低，如繁殖率的下降；或引起子代的非遗传性不良效应，如生长发育毒性，包括致畸性和哺乳期中的健康损害效应。

3.2

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。

3.3

发育毒性 developmental toxicity

接触受试样品的妊娠动物的子代在出生以前、围产期和出生以后所显现出的机体缺陷或功能障碍。

4 试验动物

大鼠或小鼠是首选的物种，试验组和对照组应该有足够的数量以保证获得大约 20 个孕鼠。动物饲养和环境按 GB 14924.1 和 GB 14925 的要求进行。试验开始前亲代至少在笼内饲养 5 d 以适应环境。

5 受试物和分组

5.1 受试物

全部动物在试验期用同一方法染毒。如果有一种溶剂或其他赋形剂用于染毒，它应该是已知无毒的。每周按 7 d 给药。

5.2 分组

最少应设三个染毒组，一个对照组。最高剂量应该引起中毒但不导致亲代动物死亡。理想的中间剂量要引起轻微的毒性效应，而低剂量不引起亲代和子代可观察到的有害作用。如果灌胃或胶囊染毒，

每个动物的剂量应以个体体重为基础，每周校正体重。母鼠孕期要按照每天体重或按怀孕 0 d 或妊娠 5 d 的体重染毒。

5.3 限度试验

假如受试化学物在多次剂量研究中表明是低毒的，剂量在 1 000 mg/kg 不影响生殖行为，就没有必要考虑测试其他剂量。在高剂量预试验中，有母鼠中毒的肯定证据，而没有生殖方面的有害作用，也没有必要测试其他剂量。

6 试验步骤

6.1 染毒时间

亲代雄鼠从断奶后 5 周～9 周，适应 5 d 后开始染毒，大鼠染毒持续 10 周(小鼠 8 周)。交配结束后雄鼠进行剖检或保留作为第二窝的饲养对照，试验结束前剖检。亲代母鼠适应 5 d 后开始染毒到交配前至少持续 2 周。在 3 周交配期、妊娠期，直到子代 F_1 断奶整个试验期间，亲代母鼠每天持续染毒。F_1 断奶后继续给予受试物，一直延续，直到 F_2 断奶。根据受试物的代谢和蓄积特性，剂量日程应考虑适当的修正。

6.2 交配程序

6.2.1 两代繁殖试验可用 1∶1(雌、雄各 1)或 1∶2(1 雄对 2 雌)交配。

6.2.2 1∶1 交配，一个母鼠应该一直同一个雄鼠同笼直到出现怀孕或 3 周交配期完结，每天早晨检测母鼠阴道是否有精子或阴栓，确定阴道有精子或发现阴栓的那天为妊娠 0 d。

6.2.3 子代 F_1 大鼠鼠龄 13 周(小鼠 11 周)才交配。对子代 F_1 的交配，同一剂量组中随机选择与另一窝子鼠 1∶1 交叉交配产生子代 F_2。没有被选中的 F_1 雌性和雄性子鼠至断奶时处死。

6.3 窝的规格

生育期间染毒的动物允许正常产仔以及抚养后代到断奶期。幼鼠出生后 4 d 进行窝的调整，每窝尽可能选 4 个雄鼠和 4 个雌鼠，也可根据实际情况进行部分调整，但一窝不少于 8 个幼鼠。F_2 按照同样的方式进行调整。

6.4 观察结果

6.4.1 整个试验期间。每个动物最少每天观察 1 次与中毒相关的行为改变，产仔困难或延迟，所有的中毒体征，包括死亡率都要记录。

6.4.2 亲代(P 和 F_1)染毒当天称量，此后每周一次。成年动物的这些结果应该按个体报告。

6.4.3 在交配前和交配期，每天测量食物消耗量，妊娠期也每天测量一次。

6.4.4 交配期间应检查雌鼠(P 和 F_1)的阴道和子宫颈，以此判断雌鼠的发情周期有无异常。

6.4.5 产仔后哺乳期，食物消耗量和窝仔称量应该同一天测量。

6.4.6 为了确定幼鼠数量、性别、死胎、活胎和外观畸形，每窝应该产仔后尽快检查。死胎和第 4 天杀死的幼鼠应该防腐保存并作缺陷检查。

6.4.7 活幼鼠在出生后的当天上午、第 4 天和第 7 天计数和称量，此后每周 1 次直至试验结束。

6.4.8 当动物单个称量时应该记录观察到的母鼠和子代生理活动异常。

6.5 病理学检查

6.5.1 大体解剖

试验动物不再继续做生殖毒性试验时，所有的亲代和子代 F_1 成、幼鼠均应处死，没有选作交配的子代 F_1 和全部子代 F_2 断奶时都应被处死。在研究期间死亡或宰杀的所有亲代和子代 F_1 如有任何结构异常或病变均应作大体解剖，应特别注意生殖系统器官。死亡或垂死的幼鼠应作缺陷检查。

6.5.2 器官称量

6.5.2.1 在大体解剖的基础上应对下列器官进行称量(对称器官应逐个记录)：

——子宫和卵巢；

——睾丸和附睾；

——前列腺；

——精囊腺；

——脑、肝脏、肾、脾、脑垂体、甲状腺和肾上腺和重要的靶器官。

6.5.2.2 被选中做大体解剖的 P 和 F_1 幼仔的体重和重要器官(脑、脾和甲状腺)的质量需要记录。

6.5.3 病理组织学检查

选择交配的亲代和子代 F_1 的卵巢、子宫、子宫颈、阴道、睾丸、副睾、精液小囊、前列腺、阴茎和靶器官，保留作显微镜检查，雄鼠还应判断精子的数量是否改变，是否出现精子畸形。大体解剖中显示病变的组织应作显微镜检查，建议怀疑不育的动物的生殖器官应当作显微镜检查。

7 试验结果评价

7.1 繁殖指数

繁殖指数见式(1)～式(5)：

$$交配成功率 = \frac{交配成功动物数}{用于交配的雌性动物数} \times 100\% \quad \cdots\cdots(1)$$

$$受孕率 = \frac{受孕动物数}{用于交配的雌性动物数} \times 100\% \quad \cdots\cdots(2)$$

$$活产率 = \frac{产生活仔的雌性动物数}{受孕动物数} \times 100\% \quad \cdots\cdots(3)$$

$$出生存活率 = \frac{出生后\ 4\ d\ 幼仔存活数}{出生当时存活幼仔数} \times 100\% \quad \cdots\cdots(4)$$

$$哺育成活率 = \frac{21\ d\ 断奶时幼仔成活数}{出生后\ 4\ d\ 幼仔存活数} \times 100\% \quad \cdots\cdots(5)$$

7.2 数据处理

7.2.1 数据摘要列表，显示每组试验开始时的动物数，能生育的雄性数和妊娠的雌性数，各种变化的类型和百分率。

7.2.2 应对数据用适当的统计学方法做出评价，统计学方法应作为研究设计的一部分。

8 试验结果报告

结果报告应包含下列各试验数据项：

——动物品、系；

——按性别和剂量-毒性反应数据，包括生育能力、妊娠和生存指数；

——试验期动物死亡的时间或试验动物是否生存到试验结束；

——窝重，幼鼠的评价体重，试验终点幼鼠的个体体重；

——生殖、子代和后期生长等方面的毒性和其他效应；

——观察到各种体征的日期及其后果；

——亲代和选作交配的 F_1 代动物的体重数据；

——大体解剖的发现；

——病理组织学检查结果的详细描述；

——结果的统计处理；

——结果解释。

SN/T 2182—2008

9 试验结果的解释

两代繁殖试验将提供反复经口染毒引起毒性反应的信息。研究结果应该结合亚慢性、致畸和其他试验结果作出解释。虽然在无效应水平和人允许暴露水平方面可以提供有用的信息，但是研究结果外推到人的有效程度有局限性。