

ICS 07.100
C 53



中华人民共和国国家标准

GB 15193.6—2003
代替 GB 15193.6—1994

哺乳动物骨髓细胞染色体畸变试验

Mammalian bone marrow cell chromosome
aberration test

2003-09-24 发布

2004-05-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准全文强制。

本标准代替 GB 15193.6—1994《骨髓细胞染色体畸变试验》。

本标准与 GB 15193.6—1994 相比的主要修改如下：

- 将标准名称“骨髓细胞染色体畸变试验”改为“哺乳动物骨髓细胞染色体畸变试验”；
- 在“范围”中增加了受试物的具体内容：食品生产、加工、保藏、运输和销售过程中所涉及的可能对健康造成危害的化学、生物和物理因素，检验对象包括食品添加剂（含营养强化剂）、食品新资源及其成分、新资源食品、辐照食品、食品容器与包装材料、食品工具、设备、洗涤剂、消毒剂、农药残留、兽药残留、食品工业用微生物等；增加不适用范围；
- 将原操作步骤中“5.1 动物处理”标题下的有关内容分列为：“试验动物”、“剂量及分组”和“操作步骤”三章；
- 增加章节“试验动物”，将“取健康成年大、小鼠”改为“常用健康年轻的成年大鼠或小鼠”；
- 增加章节“剂量及分组”，并将高剂量组的设计方法增加一条“急性毒性试验给予受试物最大剂量（最大使用浓度和最大灌胃容量）求不出 LD_{50} 时，高剂量组则按以下顺序：a) 10 g/kg 体重；b) 人的可能摄入量的 100 倍；或 c) 一次最大灌胃剂量进行设计”；增加参考阳性对照物“丝裂霉素 C(1.5 mg/kg 体重~2.0 mg/kg 体重)，或环磷酰胺(40 mg/kg 体重)”；
- 将原“5.1.2”剂量设计以外的内容放在增加的“操作步骤”标题下，并在此标题下增加“受试物配制”的有关内容；
- 增加“结果判定”内容。

自本标准实施之日起，GB 15193.6—1994 同时废止。

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准起草单位：中国疾病预防控制中心营养与食品安全所、哈尔滨医科大学、杭州市卫生防疫站。

本标准主要起草人：韩驰、唐玲光、袁振华。

本标准于 1994 年首次发布，本次为第一次修订。

哺乳动物骨髓细胞染色体畸变试验

1 范围

本标准规定了哺乳动物骨髓染色体畸变试验的基本技术要求。

本标准适用于评价食品生产、加工、保藏、运输和销售过程中所涉及的可能对健康造成危害的化学、生物和物理因素对大、小鼠骨髓细胞的遗传毒性,检验对象包括食品添加剂(含营养强化剂)、食品新资源及其成分、新资源食品、辐照食品、食品容器与包装材料、食品工具、设备、洗涤剂、消毒剂、农药残留、兽药残留、食品工业用微生物等。

本标准不适用于有证据表明受试物或反应代谢产物达不到靶组织(target tissue)——骨髓的情况。

2 原理

染色体是细胞核中具有特殊结构和遗传功能的小体,当化学物质作用于细胞周期 G1 期和 S 期时,诱发染色体型畸变,而作用于 G2 期时则诱发染色体单体型畸变。给试验的大、小鼠腹腔注入秋水仙素,抑制细胞分裂时纺锤体的形成,以便增加中期分裂相细胞的比例,并使染色体丝缩短、分散,轮廓清晰。在显微镜下观察染色体数目和形态。

3 仪器与试剂

全部试剂除注明外均为分析纯,试验用水为蒸馏水。

3.1 0.1%秋水仙素:置于棕色瓶中,冰箱保存。

3.2 2.2%柠檬酸钠。

3.3 pH7.4 磷酸盐缓冲液。

3.3.1 1/15 mol/L 磷酸氢二钠溶液:磷酸氢二钠(Na_2HPO_4)9.47 g 溶于 1 000 mL 蒸馏水中。

3.3.2 1/15 mol/L 磷酸二氢钾溶液:磷酸二氢钾(KH_2PO_4)49.07 g 溶于 1 000 mL 蒸馏水中。

3.3.3 将磷酸氢二钠溶液 80 mL 与磷酸二氢钾溶液 20 mL 混合,用 pH 计测定并调节 pH 至 7.4。

3.4 0.075 mol/L 氯化钾溶液。

3.5 甲醇(分析纯):冰乙酸(分析纯)以 3:1 混合,临用时现配。

3.6 Giemsa 溶液。

3.6.1 Giemsa 储备液:取 Giemsa 染料 3.8 g,置玛瑙乳钵中,加少量甲醇研磨,逐渐加甲醇至 375 mL。溶解后再加 125 mL 纯甘油,于 37℃ 温箱保温 48 h,在此期间摇动数次,放置 1 周~2 周过滤备用。

3.6.2 Giemsa 应用液:取 1 mL 储备液加入 10 mL pH 7.4 磷酸缓冲液。

3.7 仪器与设备:实验室常用设备、恒温水浴锅(37℃±5℃)、离心机、生物显微镜。

4 实验动物

常用健康年轻的成年大鼠或小鼠。每组用两种性别的动物至少各 5 只。动物购买后适应环境至少 3 天。

5 剂量及分组

受试物应设三个剂量组,最高剂量组原则上为动物出现严重中毒表现和/或个别动物出现死亡的剂量,一般可取 1/2 LD_{50} ,低剂量组应不表现出毒性,分别取 1/4 和 1/8 LD_{50} 作为中、低剂量。急性毒性试验给予受试物最大剂量(最大使用浓度和最大灌胃容量)动物无死亡而求不出 LD_{50} 时,高剂量组则按以