



中华人民共和国国家标准

GB 15193.17—2003
代替 GB 15193.17—1994

慢性毒性和致癌试验

Chronic toxicity and carcinogenicity study

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

109

前 言

本标准全文强制。

本标准代替 GB 15193.17—1994《慢性毒性和致癌试验》。

本标准与 GB 15193.17—1994 相比主要修改如下：

- 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；
- 在“实验动物”中，增加了“动物种类的选择”，“动物的起始周龄和体重”、“肿瘤自发率”、“动物的性别和数量”等相应的内容，将“动物种类的选择”中的有关内容改为“啮齿类动物慢性毒性试验用大鼠，致癌试验大小鼠均可”；
- 将原标准“分组”中“组数”和“动物数”合并改为“剂量及分组”，并增加“高剂量组的设计根据 90 天喂养试验确定，低剂量组不引起任何毒性作用”，“如果受试物使用了某种毒性不明的介质，则应同时设未处理对照和介质(vehicle)对照”；
- 在“操作步骤”中，增加了饲料、饲养管理、受试物、实验期限、对试验动物的观察与检测、病理检查，并增加“受试物的给予方式和受试物的配制”内容。
- 在“观察指标”中：
 - 1) 血液生化检测：改为“谷丙转氨酶(ALT 或 SGPT)、谷草转氨酶(AST 或 SGOT)、尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)、血糖(Glu)、血清白蛋白(Alb)、总蛋白(TP)、总胆固醇(TCH)和甘油三酯(TG)等均为必测指标，此外还可考虑测定碱性磷酸酶(ALP)、乳酸脱氢酶(LDH)、胆酸等”指标。
 - 2) 大体检查：增加“测定重要脏器的绝对重量和脏器比值，至少包括肝、肾、肾上腺、脾、睾丸、附睾、卵巢、子宫、脑、心等脏器。必要时还应选择其他脏器。”
 - 3) 生物显微镜检查：增加消化系统、神经系统、腺体、呼吸系统、心血管系统及造血系统、泌尿及生殖系统及其他(所有大体观察有损害的组织、肿块、皮肤等)。

自本标准实施之日起，GB 15193.17—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、上海医科大学。

本标准主要起草人：戴寅、徐晋康、严文。

本标准于 1994 年首次发布，本次为第一次修订。

慢性毒性和致癌试验

1 范围

本标准规定了慢性毒性和致癌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、生物和物理因素的慢性毒性和/或致癌作用,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。必要时两者可以结合进行。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

2.1

最大未观察到有害作用剂量 no-observed-adverse-effect-level, NOAEL

通过动物试验,以现有的技术手段和检测指标未观察到与受试物有关的毒性作用的最大剂量。

2.2

靶器官 target organ

实验动物出现由受试物引起的明显毒性作用的任何器官。

2.3

致癌性 carcinogenicity

实验动物每日重复暴露于受试物导致肿瘤的发生。

2.4

慢性毒性 chronic toxicity

实验动物长期每日重复暴露于受试物出现的有害作用。

3 原理

在动物的大部分生命期间,经过反复给予受试物后观察其呈现的慢性毒性作用及其剂量-反应关系,尤其是进行性的不可逆毒性作用及肿瘤疾患。并确定受试物的未观察到有害作用剂量(NOAEL),作为最终评定受试物能否应用于食品的依据。

4 实验动物

4.1 动物种类的选择

原则上,宜选用接近人体代谢特点的实验动物,因为目前已掌握大、小鼠各品系的特点及诱发肿瘤的敏感性,可优先用于慢性毒性和致癌试验;慢性毒性试验啮齿类动物用大鼠,致癌试验大小鼠均可。对活性不明的受试物,则宜用两种性别的啮齿类和非啮齿类动物。

4.2 动物的起始周龄和体重

一般用雌、雄两种性别的断乳大鼠或小鼠。动物个体体重的变动范围不应超出各性别平均体重的20%。

4.3 肿瘤自发率

实验动物的自然肿瘤发生率原则是控制到越低越好,但试验结束评价时主要是以在相同条件下观察对照组与各剂量组的肿瘤发生率及其剂量-反应关系作为依据来判定其致癌性。

4.4 动物的性别和数量

每组至少 50 只,雌雄各半,雌鼠应是非经产鼠、非孕鼠。非啮齿类动物每组每一性别至少 4 只,如计划在试验期间定期剖杀时,动物数要作相应增加。当慢性毒性和致癌试验结合在一起进行时,每组动物雌雄均以 50 只以上为宜,如计划在试验期间定时剖杀,动物数要作相应增加。

5 剂量及分组

除对照组外,一般试验组可分为 3 组~5 组,高剂量应引起一些毒性表现或损害作用,但不影响其正常生长、发育和寿命,高剂量组的设计根据 90 天喂养试验确定,低剂量组不引起任何毒性作用。对照组除了不给予受试物外,其他各方面都应与试验组相同,如果受试物使用了某种毒性不明的介质,则应同时设未处理对照和介质(vehicle)对照。试验组的剂量可按几何级数或其他规律划分。

6 操作步骤

6.1 受试物的给予方式

经口给予,可加入饲料、饮水中或灌胃。如果受试物是灌胃给予,应每周称体重两次,根据体重计算给予受试物的体积。

6.2 受试物的配制及存放

6.2.1 一般用蒸馏水作溶剂,如受试物不溶于水,可用食用植物油、医用淀粉、羧甲基纤维素等配成乳化液或悬浮液。受试物应于灌胃前新鲜配制,除非有资料表明以溶液(或悬浊液、乳浊液等)保存具有稳定性。同时应考虑使用的介质可能对受试物的吸收、分布、代谢或滞留的影响;对理化性质的影响及由此而引起的毒性特征的影响;对摄食量或饮水量或动物营养状况的影响。

6.2.2 非营养性受试物加入饲料中的量不能大于饲料量的 5%;营养成分受试物应尽可能采用高剂量,应保证实验动物的营养平衡或采用对饲方法。

6.2.3 受试物制备或存放时,要求不影响饲料的营养成分含量和性质。

6.2.4 饲料中加入受试物的量很少时,宜先将受试物加入少量饲料中充分混匀后,再加入一定量饲料后再混匀,如此反复 3 次~4 次。

6.3 饲料

6.3.1 饲料中营养成分应能满足该实验动物的营养需要。

6.3.2 饲料的污染物如残余杀虫剂、多环芳烃化合物、雌激素、重金属、亚硝胺类化合物等的含量要控制;不饱和脂肪酸与硒的含量要限制,均应使其不影响受试物的试验结果。

6.4 饲养管理

除参见食品毒理试验中实验动物和饲料要求外,尚需做到:

- a) 同一间动物房中不得放置两种实验动物,也不能同时进行两种受试物的毒性试验;
- b) 不得使用消毒剂和杀虫剂等药物;
- c) 动物饲料罐中的饲料每周至少要更换两次。

6.5 试验期限

6.5.1 一般情况下,致癌试验试验期小鼠定为 18 个月,大鼠为 24 个月;个别生命期较长和自发性肿瘤率较低的动物可适当延长。

6.5.2 试验期中,当最低剂量组或对照组存活的动物数仅为开始时的 25% 时,可及时中止试验;但因明显的受试物毒性作用造成高剂量组动物过早死亡,则应继续进行试验;如因管理不善所造成的动物死亡大于 10% 及小鼠在试验期为 18 个月或大鼠为 24 个月时,各组存活率均小于 50% 也应终止进行。

6.6 观察指标

6.6.1 对实验动物的一般观察

6.6.1.1 对实验动物的一般健康状况每天至少有一次认真的观察和记录。对死亡动物要及时剖检;对

有病或濒死的动物需分开放置或处死,并检测各项指标。

6.6.1.2 动物出现异常,需详细记录肉眼所见、病变性质、时间、部位、大小、外形和发展等情况,对濒死动物要详细描述。

6.6.1.3 试验期的前13周即前三个月,每周要对全部动物分别称量体重,以后每4周一次,每周要检查和记录一次每只动物的饲料食用量。如以后健康状况或体重无异常改变,可以每3个月检查一次。

6.6.2 血液学检查

于试验的第3、6个月及以后每半年常规检查一次血红蛋白、血细胞压积、红细胞计数、白细胞计数及分类、血小板及凝血试验等。大、小鼠每组每一性别检查10只,且每次检查尽可能安排为同一动物。非啮齿类动物则全部检查。

6.6.3 血液生化检测

按6.6.2规定的时间进行,其指标有:谷丙转氨酶(ALT或SGPT)、谷草转氨酶(AST或SGOT)、尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)、血糖(Glu)、血清白蛋白(Alb)、总蛋白(TP)、总胆固醇(TCH)和甘油三酯(TG)等均为必测指标,此外还可考虑测定碱性磷酸酶(ALP)、乳酸脱氢酶(LDH)、胆酸等。

6.6.4 病理检查

6.6.4.1 大体检查

6.6.4.1.1 所有试验动物,包括试验过程中死亡或濒死而处死的动物及试验期满处死的动物都应进行解剖和全面系统的肉眼观察,观察到的可疑病变和肿瘤部位均应留样,进一步做组织学检查。

6.6.4.1.2 测定重要脏器的绝对重量和脏体比值,至少包括肝、肾、肾上腺、脾、睾丸、附睾、卵巢、子宫、脑、心等脏器。必要时还应选择其他脏器。

6.6.4.2 生物显微镜检查

生物显微镜检查是慢性毒性试验的主要必检项目,凡在试验过程中濒死处理的动物均应进行。应保存以便需要时作进一步检测的器官和组织有:

消化系统:食管、胃、十二指肠、空肠、回肠、盲肠、结肠、直肠、胰腺、肝;

神经系统:脑、脑垂体、周围神经、脊髓、眼;

腺体:肾上腺、甲状腺(包括甲状旁腺)、胸腺;

呼吸系统:气管、肺、咽、喉、鼻子;

心血管系统及造血系统:主动脉、心、骨髓、淋巴结、脾;

泌尿及生殖系统:肾、膀胱、前列腺、睾丸、附睾、精囊、子宫、卵巢、雌鼠的乳腺;

其他:所有大体观察有损害的组织、肿块、皮肤。

6.6.4.3 电镜检查

有条件 and 需要时可酌情进行。

6.7 资料搜集

有关动物、饲料、饲养的日常观测、气象、人员变动及实验过程中发生的情况均应详细记载和妥善保存。要累积常用动物的肿瘤发生数据,为今后制定相应自然肿瘤发生率提供依据。

7 数据处理

按各阶段的试验资料、数据汇总后进行统计分析;完整、准确地描述对照组与各剂量组动物间各项指标的差异,以展示其毒性作用。数据处理按相关的统计学方法进行。

8 试验报告

报告应阐明设计、毒性表现、受试物的食用可行性评价。