



中华人民共和国国家标准

GB/T 30664—2014

化学品 两栖动物变态试验

Chemicals—Amphibian metamorphosis assay

2014-12-31 发布

2015-04-30 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

目 次

前言	V
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 缩略语	1
4 方法原理	1
5 方法说明	2
5.1 试验物种	2
5.2 设备和用品	2
5.3 化学品可检测性	2
5.4 暴露系统	3
5.5 水质	3
5.6 试验用水中的碘化物浓度	3
5.7 动物饲养	3
5.7.1 成体饲养	3
5.7.2 蝌蚪饲养和选择	4
5.7.3 蝌蚪的培养和喂食	4
5.8 分析化学	5
5.9 化学品输送	5
5.10 试验浓度选择	5
6 试验步骤	6
6.1 试验开始和进行	6
6.2 观察	7
6.2.1 一般说明	7
6.2.2 第7天测量	7
6.2.3 第21天测量(试验终止)	7
6.3 生物学终点的测定	8
6.4 终点指标	8
6.4.1 一般说明	8
6.4.2 发育阶段	8
6.4.3 HLL	9
6.4.4 体长和湿体重	9
6.4.5 甲状腺组织学	9
6.4.6 死亡	10
6.4.7 更多观察	10
7 数据和报告	10
7.1 数据采集	10
7.1.1 试验物质	10

7.1.2	试验条件	10
7.1.3	结果	10
7.1.4	数据报告	10
7.2	性能标准和试验可接受性/有效性	11
7.3	试验有效性	11
7.4	进行 AMA 的判定逻辑	11
7.4.1	AMA 的判定逻辑流程	11
7.4.2	提前发育(通过发育阶段、SVL 和 HLL 判定)	12
7.4.3	不同步发育(用发育阶段标准判定)	13
7.4.4	组织病理学	13
7.4.5	发育延迟(用发育阶段、HLL、身体湿重、SVL 判定)	13
7.5	统计分析	14
7.6	特殊数据分析考虑	15
7.6.1	有不良影响试验浓度的使用	15
7.6.2	溶剂对照	15
7.6.3	达到 60 及更高发育阶段的处理组	16
附录 A (资料性附录)	21 天两栖类变态试验的试验条件	17
附录 B (资料性附录)	原始数据和总结数据报告表	18
附录 C (资料性附录)	有一个或更多浓度的后期发育蝌蚪数超过 20%时的体重和体长 分析备选方法	29
参考文献		30
图 1	51 阶段非洲爪蟾蝌蚪的后肢形态	7
图 2	非洲爪蟾蝌蚪的体长测量和 HLL 测量	9
图 3	进行 AMA 的判定逻辑	12
图 4	连续效应数据的统计检验方法流程图	15
表 1	流水条件下 AMA 非洲爪蟾蝌蚪生存期间喂食方案	4
表 2	根据 Neuwkoop 和 Faber 指导的突出形态学阶段标志	6
表 3	AMA 主要终点的观察时间点	8
表 4	AMA 的性能标准	11
表 A.1	21 天两栖类变态试验的试验条件	17
表 B.1	受试化学品的一般信息	18
表 B.2	第 7 天和第 21 天原始数据采集表	18
表 B.3	第 7 天和第 21 天终点数据的计算总结	21
表 B.4	每日死亡率数据	22
表 B.5	水质标准	23
表 B.6	化学数据总结	23
表 B.7	核心标准的组织病理学报告表	24

表 B.8	其他组织病理学标准	25
表 B.9	组织病理学结果的叙述性说明	26
表 B.10	AMA 第 7 天或第 21 天的总结报告表模板	27
表 B.11	AMA 第 7 天或第 21 天发育阶段数据的总结报告表模板	28

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准与经济合作与发展组织(OECD)化学品测试导则 No. 231(2009 年)《两栖动物变态测试评价》(英文版)技术内容一致。

本标准由全国危险化学品管理标准化技术委员会(SAC/TC 251)提出并归口。

本标准起草单位:中国检验检疫科学研究院、中国科学研究院生态环境研究中心。

本标准主要起草人:程艳、秦占芬、崔媛、陈会明、李晞、张银凤、谢文平。

化学品 两栖动物变态试验

1 范围

本标准规定了化学品两栖动物变态试验的方法原理、方法说明、试验步骤、数据和报告。
本标准适用于化学品两栖动物变态测试。

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。

ASTM E729 用鱼类、大型无脊椎动物和两栖类动物进行受试材料急性毒性试验的标准指南(Standard guide for conducting acute toxicity tests on test materials with fishes, macroinvertebrates, and amphibians)

ASTM E1439 非洲爪蟾胚胎致畸试验的标准指南(FETAX)[Standard guide for conducting the frog embryo teratogenesis assay—*Xenopus* (FETAX)]

Nieuwkoop PD, Faber J 非洲爪蟾生长发育表(Normal table of *Xenopus laevis*)

3 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

AMA:两栖类变态试验(amphibian metamorphosis assay)。

HPT:下丘脑-垂体-甲状腺(hypothalamic-pituitary-thyroid)。

SVL:口至泄殖孔的长度(snout to vent length)。

hCG:人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin)。

DO:溶解氧(dissolved oxygen)。

MTC:最大耐受浓度(maximum tolerated concentration)。

LC₅₀:半数致死浓度(lethal concentration 50)。

TSH:促甲状腺激素(thyroid stimulating hormone)。

HLL:后肢长度(hind limb length)。

OECD:经济合作与发展组织(organisation for economic co-operation and development)。

NF:Nieuwkoop PD, Faber J (1994)中对非洲爪蟾正常发育的形态学标准发育阶段分级(Nieuwkoop and Faber)。

4 方法原理

4.1 AMA 是一项筛选试验,其用途是凭经验鉴别可能会干扰 HPT 轴正常功能的物质。在 HPT 轴保守的结构和机能的范围内,AMA 代表了一种广义的脊椎动物模型方法。这是一项重要的试验,因为两栖类变态是一个研究较为成熟的、甲状腺依赖性的过程,该过程对 HPT 轴内的活性物质有应答,并且这是目前唯一的检测形态学发育中动物甲状腺活性的试验。