

METODY TESTOVÁNÍ GENOTOXICITY

Testy genotoxicity

členění dle řady kritérií

Druh organismu: bakterie
rostliny
obratlovci

Alternativní metody: jednoduché organismy
tkáňové kultury

Úkoly EU pro testování genotoxicity

- minimální počet zvířat
- bezbolestivé procedury
- preference testů in vitro (*tkáňové kultury*)

UPRAVUJE

VYHLÁŠKA 443 / 2004 Sb. kterou se stanoví
základní metody pro zkoušení toxicity chemických
látek a chemických přípravků

Příloha č. 1 - Seznam základních metod pro zkoušení
toxicity chemických látek nebo přípravků

Dále uvedené a popsané metody jsou v souladu
s právem Evropského společenství

Seznam základních metod pro zkoušení toxicity chemických látek nebo přípravků

B.1 bis

Akutní toxicita orální (per os) -
metoda fixní dávky

Seznam základních metod pro zkoušení toxicity chemických látek nebo přípravků

B.1 tris

Akutní toxicita orální (per os) -
metoda stanovení třídy
akutní toxicity

Seznam základních metod pro zkoušení toxicity chemických látek nebo přípravků

B.2 Akutní toxicita inhalační

Seznam základních metod pro zkoušení toxicity chemických látek nebo přípravků

B.3 Akutní toxicita dermální

Seznam základních metod pro zkoušení toxicity chemických látek nebo přípravků

B.4 Kožní dráždivost

Seznam základních metod pro zkoušení toxicity chemických látek nebo přípravků

B.5 Oční dráždivost

Seznam základních metod pro zkoušení toxicity chemických látek nebo přípravků

B.6 Senzibilizace kůže

Seznam základních metod pro zkoušení toxicity chemických látek nebo přípravků

B.7 Subakutní toxicita orální (per os)
(28denní opakovaná aplikace)

Seznam základních metod pro zkoušení toxicity chemických látek nebo přípravků

B.8 Subakutní toxicita inhalační
(28denní opakovaná aplikace)

Seznam základních metod pro zkoušení toxicity chemických látek nebo přípravků

B.9 Subakutní toxicita dermální (28denní opakovaná aplikace)

Seznam základních metod pro zkoušení toxicity chemických látek nebo přípravků

B.10 Mutagenita – test chromozómových aberrací u savčích buněk in vitro

(tkáňová kultura savčích buněk se vystaví
expozici testované látky bez metabolické
aktivace nebo po předchozí metabolické
aktivaci)

Seznam základních metod pro zkoušení toxicity chemických látek nebo přípravků

B.11 Mutagenita - test chromozómových aberací v kostní dřeni savců in vivo

(zvíře se vystaví působení testované látky a následně se před usmrcením aplikuje např. kolchicin pro zastavení mitoz ve vhodné fázi – metafázi)

Seznam základních metod pro zkoušení toxicity chemických látek nebo přípravků

B.12 Mutagenita - in vivo mikronukleus test v savčích erythrocytech

(vychází z předpokladu, že testovaná látka vytváří fragmentaci DNA a vznik mikrojader, které se v preparátu buněk např. z kostní dřeně zjišťují – obdoba „kometového testu“)

Seznam základních metod pro zkoušení toxicity chemických látek nebo přípravků

B.13/14

Mutagenita - test reverzních mutací u bakterií (Amensův test)

(plotna s naočkovanými bakteriemi se vystaví působení test. látky a vyhodnocuje se vznik reverzní mutace – získání schopnosti tvořit určitý metabolit)

Seznam základních metod pro zkoušení toxicity chemických látek nebo přípravků

B.15 Genové mutace - *Saccharomyces cerevisiae*

(obdoba metody B.14 s tím, že se využívají namísto bakterií kvasinky, které mohou být buď v haploidní nebo diploidní formě)

Seznam základních metod pro zkoušení toxicity chemických látek nebo přípravků

B.16 Mitotická rekombinace - *Saccharomyces cerevisiae*

(specifická metoda založená na zjišťování
výskytu rekombinací po působení testované
látky)

Seznam základních metod pro zkoušení toxicity chemických látek nebo přípravků

B.17 Mutagenita - test genových mutací
v savčích buňkách in vitro

(použije se klon savčích buněk s forward mutací – ztrátou např. určitého enzymu nebo jeho aktivity a po expozici testovanou látkou se měří reverzní mutační frekvence)

Seznam základních metod pro zkoušení toxicity chemických látek nebo přípravků

B.18 Poškození DNA a reparace

(po záměrném odstranění části DNA se měří po expozici testované látky rychlost reparace např. s využitím inkorporace radioaktivně značeného thiminu)

Seznam základních metod pro zkoušení toxicity chemických látek nebo přípravků

B.19 SCE - výměna sesterských chromatid in vitro

(výměna úseků mezi chromatidami jako důsledek působení testované látky vyžaduje jejich zlom a opětovné spojení – metoda detekuje výměnu chromatid, což umožňuje jejich rozdílné značení)

Seznam základních metod pro zkoušení toxicity chemických látek nebo přípravků

B.20 Recesivní letální mutace vázané na pohlaví u *Drosophila melanogaster*

(využívá toho, že recesivní mutace v X chromozomu se projeví u samců v hemizygotním stavu, jde-li o letální mutace genu v X chromozomu znamená, že v potomstvu D.m. se nevyskytují samečci)

Seznam základních metod pro zkoušení toxicity chemických látek nebo přípravků

B.21 Test transformace savčích buněk in vitro

(po působení testované látky se měří vznik morfologických změn v buňkách tkáňové kultury, např. vznik maligních transformací – vhodný test pro stanovení karcinogenity)

Seznam základních metod pro zkoušení toxicity chemických látek nebo přípravků

B.22 Dominantní letální test u hlodavců

(na samečky se před připouštěním na neovlivněné samice působí testovanou látkou – u samic se následně hodnotí preinimplantační -dle žlutých tělísek- a postimplantační ztráty, jejichž součet je Celková Dominantní Letalita)

Seznam základních metod pro zkoušení toxicity chemických látek nebo přípravků

B.23 Analýza chromozómových aberací u savčích spermatogonií

(klasická cytogenetická metoda využívající diferenční citlivost zárodečných buněk-**spermatogonií**- k testované látce, jinak stejně jako **B11** – zvířata se exponují test.látkou, podání cytostatika, a vyhodnocení karyotypu)

Seznam základních metod pro zkoušení toxicity chemických látek nebo přípravků

B.24 Spot test u myší

(in vivo test kdy je test. látka podávána v počátku embryogeneze a vyvolané mutace způsobují změnu genů melanoblastů, což se projevuje změnou barvy srsti na určitých místech u narozených myší – skvrny – spots)

Seznam základních metod pro zkoušení toxicity chemických látek nebo přípravků

B.25 Přenosné translokace u myši

(cytogenetická metoda detekující chromozomální aberace v první generaci potomků vzniklých od rodičů, kdy jeden, nebo oba byli ovlivněni testovanou látkou)

Seznam základních metod pro zkoušení toxicity chemických látek nebo přípravků

B.26 Test subchronické orální toxicity
(90denní studie orální toxicity s
opakovanou aplikací hlodavcům)

Seznam základních metod pro zkoušení toxicity chemických látek nebo přípravků

B.27 Test subchronické orální toxicity
(90denní studie orální toxicity s
opakovanou aplikací nehlodavcům)

Seznam základních metod pro zkoušení toxicity chemických látek nebo přípravků

B.28 Subchronická toxicita dermální
(90denní opakovaná aplikace,
studie na hlodavcích)