

中华人民共和国国家职业卫生标准

GBZ/T 240.16—2011

化学品毒理学评价程序和试验方法 第 16 部分：亚急性经皮毒性试验

Procedures and tests for toxicological evaluations of chemicals—
Part 16: Sub-acute dermal toxicity test

2011-08-19 发布

2012-03-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布

前 言

根据《中华人民共和国职业病防治法》制定本部分。

GBZ/T 240《化学品毒理学评价程序和试验方法》现分为以下四十四部分：

- 第 1 部分：总则；
- 第 2 部分：急性经口毒性试验；
- 第 3 部分：急性经皮毒性试验；
- 第 4 部分：急性吸入毒性试验；
- 第 5 部分：急性眼刺激性/腐蚀性试验；
- 第 6 部分：急性皮肤刺激性/腐蚀性试验；
- 第 7 部分：皮肤致敏试验；
- 第 8 部分：鼠伤寒沙门氏菌回复突变试验；
- 第 9 部分：体外哺乳动物细胞染色体畸变试验；
- 第 10 部分：体外哺乳动物细胞基因突变试验；
- 第 11 部分：体内哺乳动物骨髓嗜多染红细胞微核试验；
- 第 12 部分：体内哺乳动物骨髓细胞染色体畸变试验；
- 第 13 部分：哺乳动物精原细胞/初级精母细胞染色体畸变试验；
- 第 14 部分：啮齿类动物显性致死试验；
- 第 15 部分：亚急性经口毒性试验；
- 第 16 部分：亚急性经皮毒性试验；
- 第 17 部分：亚急性吸入毒性试验；
- 第 18 部分：亚慢性经口毒性试验；
- 第 19 部分：亚慢性经皮毒性试验；
- 第 20 部分：亚慢性吸入毒性试验；
- 第 21 部分：致畸试验；
- 第 22 部分：两代繁殖毒性试验；
- 第 23 部分：迟发性神经毒性试验；
- 第 24 部分：慢性经口毒性试验；
- 第 25 部分：慢性经皮毒性试验；
- 第 26 部分：慢性吸入毒性试验；
- 第 27 部分：致癌试验；
- 第 28 部分：慢性毒性/致癌性联合试验；
- 第 29 部分：毒物代谢动力学试验；
- 第 30 部分：皮肤变态反应试验-局部淋巴结法；
- 第 31 部分：大肠杆菌回复突变试验；
- 第 32 部分：酵母菌基因突变试验；
- 第 33 部分：果蝇伴性隐性致死试验；
- 第 34 部分：枯草杆菌基因重组试验；
- 第 35 部分：体外哺乳动物细胞程序外 DNA 合成(UDS)试验；
- 第 36 部分：体内哺乳动物外周血细胞微核试验；

- 第 37 部分:体外哺乳动物细胞姊妹染色单体交换试验;
- 第 38 部分:体内哺乳动物骨髓细胞姊妹染色体交换试验;
- 第 39 部分:精子畸形试验;
- 第 40 部分:繁殖/生长发育毒性筛选试验;
- 第 41 部分:亚急性毒性合并繁殖/发育毒性筛选试验;
- 第 42 部分:一代繁殖试验;
- 第 43 部分:神经毒性筛选组合试验;
- 第 44 部分:免疫毒性评价试验。

.....

本部分为 GBZ/T 240 的第 16 部分。

本部分由卫生部职业卫生标准专业委员会提出。

本部分由中华人民共和国卫生部批准。

本部分起草单位:河北省疾病预防控制中心、中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所。

本部分主要起草人:杨卫超、左派欣、李朝林、孙金秀、高耘、林铮。

化学品毒理学评价程序和试验方法

第 16 部分：亚急性经皮毒性试验

1 范围

GBZ/T 240 的本部分规定了动物亚急性经皮毒性试验(21 d/28 d)的试验目的、试验概述、试验方法、数据处理与结果评价、评价报告和结果解释。

本部分适用于检测化学品的亚急性经皮(21 d/28 d)毒性。

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,仅所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。

GBZ/T 224 职业卫生名词术语

GBZ/T 240.1 化学品毒理学评价程序和试验方法 第 1 部分:总则

3 术语和定义

GBZ/T 240.1 确立的术语和定义适用于本文件。

4 试验目的

为获得一定时期内反复多次经皮染毒受试样品而引起的健康危害,以明确化学物对动物的蓄积作用及其靶器官,并确定其 NOAEL 和 LOAEL,为亚慢性、慢性毒性或致癌试验的剂量设计提供依据。

5 试验概述

在 21 d 或 28 d 内,以不同剂量的受试样品每日给各组实验动物连续经皮染毒,染毒期间每日密切观察动物的毒性反应,期间死亡或试验结束被处死的动物要进行解剖。

6 试验方法

6.1 受试样品处理

液态受试样品一般使用原液。不溶性或难溶固体或颗粒状受试样品应研磨,过 150 μm 孔径筛,并用水或其他无毒、无刺激性、不影响其经皮吸收、也不与受试样品反应的介质配制成溶液或混悬液,以保证受试样品与皮肤的良好接触。

6.2 实验动物和饲养环境

6.2.1 实验动物

一般选用健康成年大鼠、家兔或豚鼠,其他种属动物亦可使用,但须说明理由。大鼠体重应为

200 g~300 g;豚鼠 350 g~450 g;家兔 2 000 g~3 000 g,以保证足够的染毒面积。

6.2.2 饲养条件

动物最好单笼饲养,大鼠群养时每笼不超过 5 只。动物实验室应符合国家相应规定。

6.3 剂量设计

动物应随机分配到试验组与对照组中。试验至少设三个剂量组和一个对照组,还可增设一个附加组,每组至少应有 10 只(雌雄各半)皮肤健康的动物。若计划在试验过程中处死动物,应增加动物数。高染毒剂量的设计应为引起动物明显毒效应但不造成动物死亡,中剂量应引起较轻的可观察到的毒性效应,低剂量应不出现任何毒效应。剂量组的剂量间距以 2 倍~4 倍为宜。对照组除不接触受试样品外,其他处理应与染毒组完全相同。如皮肤染毒后出现严重的皮肤刺激症状,则应降低受试样品的浓度,即使高剂量组由于浓度的降低导致了其他毒性反应的明显下降或消失,也应如此。如试验初皮肤就出现严重损伤症状,应停止试验并以较低剂量进行新的试验。

如果试验中接触水平超过每天 1 000 mg/kg 体重尚不能引起可观察到的毒性反应,并且根据文献资料能证明类似结构的化学物质亦不产生明显毒性,就不需要用三个剂量组来进行试验。

6.4 试验步骤

选择在试验环境至少适应 3 d 的健康动物。染毒前 24 h,将动物躯干背部染毒区的被毛去除,去毛时应小心不可损伤动物皮肤,以免引起皮肤通透性的改变。此后视动物被毛生长情况,大约每周要对染毒部位去毛,各组的去毛时间和去毛面积应相同。受试样品应尽可能薄而均匀地涂敷于整个染毒区域,染毒部位的面积约相当于动物体表面积的 10%,应通过对动物体重的测定确定染毒部位的面积,若受试样品毒性较大,可相对减小染毒区域的面积。应使用玻璃纸和无刺激的胶带将受试样品固定,以保证受试样品与皮肤有良好的接触和防止受试样品脱落。染毒时还应采用必要的措施防止动物舔食受试样品,如对动物进行固定时,应有一定程度的松动。但不推荐完全限制动物活动的方法。

每天染毒 6 h,染毒后用适宜的清洁剂清洗,每周染毒 7 d,持续 21 d 或 28 d。但考虑到实际工作情况,也可每周染毒 5 d。

6.5 临床观察

观察期限一般为 21 d 或 28 d,每天观察一次,观察并记录皮肤、被毛、眼、黏膜的改变和呼吸系统、循环系统、神经系统、肢体活动、行为方式等变化发生的时间、程度和持续时间。如发现动物死亡,或濒危及及时解剖或冷藏后解剖检查,以减少动物同类互残及死后组织自溶。每日测量一次饲料消耗量,每周测体重一次。

6.6 临床检查

6.6.1 血液学检查

试验结束时测定血红蛋白浓度、红细胞数、白细胞总数和分类计数、红细胞压积等,必要时测定凝血功能如凝血时间、凝血酶原时间、凝血激酶时间或血小板等指标。

血液标本应在专用实验室采取,并在适当条件下储存。

6.6.2 临床血液生化检查

在试验结束时进行。检查指标主要包括丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)、白蛋白(Alb)、总蛋白(TP)。如有必要还应做电解质平衡、钙(Ca)、

磷(P)、氯(Cl)、钠(Na)、钾(K)、空腹血糖(Glu)(禁食时间要适当)、碱性磷酸酶(ALP)与总胆红素。在某些情况下,还须检测与肝或其他器官有关的酶和胆酸,以及脂类化合物、激素、高铁血红蛋白、胆碱酯酶(ChE)活性等分析。如出现肉眼可见的脏器改变,可增加与之相应的血液生化指标。还可增加其他脏器以进一步对观察到的毒性反应进行研究。

6.6.3 尿液检查

一般应进行尿液的常规检查,包括外观、pH值、尿蛋白、尿糖和血细胞。如尿样分析可作为预期或观察得到的毒性指标,则可增加有关的尿液检查项目。

6.6.4 大体解剖

所有动物皆应进行大体检查,内容应包括:体表,各开口处,颅、胸、腹腔及其内容物。解剖分离后的肝、肺、肾、肾上腺、睾丸(卵巢)、附睾、脾、脑、心脏等应尽快称重,以防水分丢失,并立即保存在固定液中,备病理组织学检查。

心、肝、脾、肺、肾、脑、睾丸(卵巢)等的绝对质量和脏器系数(脏器系数=脏器质量/体重×100%)为必测指标,必要时加测其他脏器绝对质量和脏器系数。应详细检查染毒区皮肤和非染毒区皮肤的损害情况。

6.6.5 病理组织学检查

凡符合以下条件的皆应进行组织病理学检查:

- a) 所有高剂量组和对照组动物的肝、肺、肾及染毒区和非染毒区皮肤等重要的和可能受到损伤的器官或组织;
- b) 如高剂量组动物的器官或组织有组织病理学病变时,则应扩展至其他剂量组的相应器官和组织;
- c) 各剂量组大体解剖有异常的器官和组织;
- d) 附加组动物的被其他试验组证明有病变的器官和组织。

7 数据处理与结果评价

7.1 数据处理

试验结果以表格形式总结,内容包括各组动物数、出现损伤的动物数、损伤的类型和每种损伤动物的百分比。采用适当的统计学方法进行统计。

7.2 结果评价

综合临床观察、临床检查、大体解剖、组织病理学检查的结果,对受试样品经皮21d或28d染毒有无毒作用及其毒作用特点,包括受试样品的靶器官、蓄积毒性等做出初步评价;对是否需要更长时间的毒理学试验及其剂量和观察指标提出建议。如发现试验组与对照组有显著性差异或能得出剂量-效应或剂量-反应曲线时,应对NOAEL和LOAEL作出初步评价。

8 评价报告

除GBZ/T 240.1规定的一般项目外,评价报告还应包括以下内容:

- a) 受试样品及介质的有关理化特性,受试样品的配制方法;
- b) 各组动物染毒开始时间、结束时间,染毒方法介绍,染毒过程的描述,染毒剂量的选择;

- c) 观察次数及持续时间,依动物的性别、组别观察试验中症状出现、消失的时间,对症状特点的文字描述,食物消耗量及体重变化,各性别组别动物的毒性反应资料,血液检查及参考正常值,生化检查及正常值,动物死亡及剖检的时间,大体解剖及病理检查所见病变特点的描述;
- d) 各种毒性反应的频数、发生率及检测指标的均值和标准差;
- e) 所用统计学分析方法及计算结果;
- f) 可能时绘出剂量-效应或剂量-反应曲线。

9 结果解释

本项试验结果可提供亚急性经皮(21 d/28 d)染毒的毒作用资料。其结果外推至人的有效性有限。
