

GB/T 21753—2008

- a) 动物种系;
- b) 不同性别和剂量的毒性反应数据;
- c) 试验过程中动物死亡的时间及试验结束时动物是否存活;
- d) 毒性效应和其他效应;
- e) 观察到每种异常时的出现时间及后续过程;
- f) 消耗量和体重数据;
- g) 血液学检测指标及其相应的正常值范围;
- h) 临床生化检测指标及其相应的正常值范围;
- i) 大体解剖结果;
- j) 详细描述所有的组织病理学改变;
- k) 结果的统计分析(需要时)。

5.4 结果解释

重复剂量经皮染毒毒性试验将提供皮肤反复接触受试物引起的毒性反应资料。虽然从试验结果外推到人的可靠性有限,但是能提供关于某受试物经皮肤吸收程度的资料。

GB/T 21753—2008

ICS 13.300;11.100
A 80



中华人民共和国国家标准

GB/T 21753—2008

化学品 21天/28天重复剂量经皮毒性 试验方法

Chemicals—Test method of repeated dose dermal toxicity:21/28-day study



GB/T 21753—2008

版权专有 侵权必究

*

书号:155066·1-32182

定价: 10.00 元

2008-05-12 发布

2008-09-01 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

察：皮肤和被毛、眼睛和黏膜、呼吸系统、循环系统、自主和中枢神经系统、四肢活动和行为方式等的变化。每周称量摄食量和动物体重。有必要对动物进行定期观察以保证不会由于动物自相残杀、组织自溶和误放等原因在试验过程中损失动物。试验结束时，除附加组外，处死所有存活的动物。当发现濒死动物时，应移走并安乐处死。

4.5.2 临床检查

应对所有的动物进行下列项目的检查：

4.5.2.1 试验结束时进行血液学检查，包括红细胞比积、血红蛋白浓度、红细胞数、白细胞数及其分类、凝血功能（如凝血时间、凝血酶元时间、血栓形成时间或血小板数）测定。

4.5.2.2 试验结束时进行血液临床生化测定。应测定反应肝功能、肾功能的指标。建议测定的项目有：血清中的钙、磷、氯、钠、钾、空腹血糖（禁食时间依动物品系而定）、血清谷氨酰-丙氨酸转氨酶（现在称作丙氨酸转氨酶）（ALT）、谷氨酰-天门冬氨酸转氨酶（现在称作天门冬氨酸转氨酶）（AST）、鸟氨酸脱羧酶、 γ -谷氨酰转酞酶、尿素氮、白蛋白、肌酐、总胆红素和血清总蛋白。如有必要，可检查脂类、激素、酸碱平衡、高铁血红蛋白和胆碱酯酶活性等。必要时，根据受试物作用方式选择其他特殊测定。

4.5.2.3 一般情况下不要求进行尿液分析，但是仅在受试物的预期毒性或已观察到的毒性提示需要时才进行尿液分析。

如果实验室已有的血液学和临床生化的正常值资料不够充分时，应考虑在染毒开始前进行血液学和临床生化测定。

4.5.3 病理学检查

4.5.3.1 大体解剖

对所有的动物都应进行全面的大体解剖，包括体表、体腔的各开口处，颅腔、胸腔和腹腔及其内部的器官和组织。肝、肾、肾上腺和睾丸在分离后应尽快称重以免失水干燥。应将下列器官和组织保存于适宜的固定液中以备组织病理学检查：正常的和染毒过的皮肤、肝、肾和靶器官（大体解剖有异常或大小有改变的器官）。

4.5.3.2 组织病理学检查

对高剂量组和对照组固定保存的器官和组织进行病理组织学检查。高剂量组发现病变时，再进一步对其他剂量组的动物进行组织病理学检查。对附加组的组织病理学检查应重点检查在其他染毒组有病变的器官和组织。

5 试验数据和报告

5.1 结果处理

5.1.1 将数据综合成表格形式，表示试验开始时各组的动物数、出现损害的动物数、损害类型及出现每种类型损害的动物的百分数。

5.1.2 所有观察到的结果，无论是计量资料还是计数资料，都应采用适当的统计方法进行统计分析。要使用常用的统计学方法。试验设计时就应选好所采用的统计方法。

5.2 结果评价

综合考虑临床观察、临床检查、大体解剖、组织病理学检查等方面的结果，评价受试物重复剂量经皮染毒的毒性。主要是评价受试物的染毒剂量与异常的有无、发生率和严重程度之间的关系。异常包括临床观察发现异常、临床检查发现异常、大体解剖发现器官和组织损伤、已确认的靶器官、体重改变、对死亡率的影响以及出现其他一般的或特殊的毒性效应。正确实施的 21 d/28 d 的试验应能说明受试物反复经皮染毒后的毒性作用，并能表明是否需要进一步的较长期试验。同时亦为较长期试验的剂量选择提供资料。

5.3 试验报告

试验报告要包括下列的材料：

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
化 学 品 21 天/28 天重复剂量经皮毒性
试 验 方 法

GB/T 21753—2008

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街 16 号

邮政编码：100045

网址 www.spc.net.cn

电话：68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 0.5 字数 8 千字

2008 年 7 月第一版 2008 年 7 月第一次印刷

*

书号：155066·1-32182 定价 10.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换

版权专有 侵权必究

举报电话：(010)68533533

物。如计划在试验过程中处死部分动物,则应依据试验结束前计划要处死的动物的个数来相应增加剂量组内的动物数。另外,应有一个10只动物附加组(每种性别5只动物),该组以高剂量染毒21 d/28 d,并且在染毒结束后14 d期间内,观察毒性反应的可恢复性、持续性以及迟发性。

4.1.3 饲养条件

动物应单笼饲养。动物房的温度,啮齿类动物应为 $22^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$,兔为 $20^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$;相对湿度为30%~70%。人工照明时,应每12 h明暗交替。饲以实验室的常规饲料,饮水不限。

4.2 试验条件

4.2.1 剂量设计

至少应有3个染毒剂量组和1个对照组,如有需要,还应有1个溶剂/赋形剂对照组。对照组动物除了无受试物染毒外,其他处理应与试验组完全一样。最高剂量组应能引起毒性效应但不引起动物死亡,因为高剂量组动物出现死亡可影响对结果进行有意义的评价。最低剂量组应不出现任何毒性效应,但最低剂量应超过人预期接触的剂量。理想的中间剂量组应能产生最小的可观察到的毒性效应。如有一个以上的中间剂量,则应有适当的剂量间隔,以产生不同程度的毒性反应。在低、中剂量组和对照组的动物死亡数应很少,以便对结果进行有意义的评价。

如果皮肤染毒产生了严重的皮肤刺激作用,则应降低受试样品的剂量,尽管这可能引起高剂量组毒性效应减少或不出现。如果在试验初期皮肤就受到严重损伤,也许应停止试验,并且以较低剂量重新试验。

4.2.2 限量试验

如果1 000 mg/kg的剂量(人类预期接触水平可能提示需要使用更高的剂量)未引起可观察到的毒性效应,或预期不会产生毒性效应(根据结构类似的化合物的毒性资料)时,就不需要用三个剂量组来进行试验。

4.3 实验准备

健康初成年的动物于试验前饲养观察至少5 d以使其适应试验环境。试验前将动物随机分配到各染毒组和对照组。即将进行皮肤染毒前,剪去动物躯干背部的被毛,也可采用剃毛的方式,但剃毛应于染毒前约24 h完成。根据动物被毛生长情况,大约每隔1周需要进行一次重新剪毛或剃毛。剪毛或剃毛时,一定要注意不要损伤皮肤(除非试验设计中要求损伤皮肤时),否则就会改变皮肤的渗透性。去毛面积应不少于体表面积的10%。在决定去毛面积和纱布的大小时应考虑动物体重的大小。固体受试物(有时需要研磨)染毒时用水使其湿润或使用适当的溶剂/赋形剂,以保证与皮肤接触良好。使用溶剂/赋形剂时,应考虑溶剂/赋形剂对皮肤渗透受试物能力的影响。液体受试物一般不需要稀释。

4.4 方法

动物每天经皮染毒受试物至少6 h,每周染毒7 d,连续染毒21 d/28 d。然而,考虑到实际情况,每周染毒5 d也是可以接受的。为追踪观察而设的附加组动物,染毒21 d/28 d后不再染毒,并再观察14 d,以检测毒效应的可恢复性、持续性或迟发性。

将受试物以均匀的薄层涂敷在约占动物总体表面积的10%动物体皮肤上。对于高毒性受试物,涂皮面积可以小一些,但涂敷的薄层应尽可能薄、尽可能均匀地涂满整个染毒区域。

用多孔纱布和无刺激性胶布固定,使受试物与皮肤保持接触;然后以适当的方式进一步覆盖染毒部位以防止纱布脱落并保证受试物不被动物舔食。为了防止受试物被动物舔食,可以采取一些限制措施,但不提倡采用完全限制动物活动的方法。

4.5 观察

4.5.1 临床观察

每天至少进行一次仔细的临床观察。为了减少在试验过程中损失动物,每天还应注意观察以便及时解剖死亡的动物、隔离或处死病弱或濒死的动物。

记录所观察到的毒性效应,包括其出现时间、程度和持续时间。笼旁观察应包括但不限于如下观

前 言

本标准等同采用经济合作与发展组织(OECD)化学品测试指南 No. 410(1981年)《21天/28天重复剂量经皮毒性试验》(英文版)。

本标准作了下列编辑性修改:

——增加了范围部分;

——计量单位改成我国法定计量单位;

——删除 OECD 的参考文献部分。

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。

本标准负责起草单位:中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所。

本标准参加起草单位:广东出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:侯粉霞、许崇辉、潘芳、吴景武。