

# 中华人民共和国国家职业卫生标准

GBZ/T 240.25—2011

## 化学品毒理学评价程序和试验方法 第 25 部分：慢性经皮毒性试验

Procedures and tests for toxicological evaluations of chemicals—  
Part 25: Chronic 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：免疫毒性试验。

.....

本部分为 GBZ/T 240 的第 25 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：广东省职业病防治院、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：黄建勋、孙金秀、郑玉新、李斌、史晓祎。

# 化学品毒理学评价程序和试验方法

## 第 25 部分：慢性经皮毒性试验

### 1 范围

GBZ/T 240 的本部分规定了动物慢性经皮毒性试验的目的、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慢性经皮毒性。

### 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 界定的术语和定义适用于本文件。

#### 3.1

**慢性经皮毒性 chronic dermal toxicity**

动物在正常生命期的大部分时间内经皮接触受试样品所引起的健康损害效应。

#### 3.2

**靶器官 target organ**

实验动物出现的由受试样品引起的明显毒性作用的任何器官。

### 4 试验目的

实验动物经皮途径反复给予不同剂量(浓度)的受试样品，观察实验动物的慢性毒性效应、严重程度、靶器官和损害的可逆性，确定无作用剂量(浓度)，为拟定人类经皮接触该受试样品的职业接触限值的制定提供依据。

### 5 试验概述

在实验动物的大部分生命期间将用受试样品对动物经皮染毒，通常连续染毒 1 年以上，观察动物的中毒表现，并进行生化指标、血液学指标、病理组织学等检查，以阐明此受试样品的慢性毒性。

### 6 试验方法

#### 6.1 受试样品

##### 6.1.1 资料收集

在开始本试验之前，应尽量搜集受试样品现有的各种资料：

- a) 受试样品的商品名和其他名称及 CAS 号;
- b) 受试样品的结构式、分子式和相对分子质量;
- c) 受试样品的物理、化学性质(可包括:外观、沸点、熔点、折射率、光谱资料、溶解度、挥发性、化学活性、光化学性质、电离度、粒度、密度等)。重要的参数还包括稳定性(包括在介质中的稳定性);
- d) 受试样品的分析方法;
- e) 受试样品的生产方法、合成路线、杂质、种类和含量;
- f) 受试样品(包括在介质)要有长期储存的合适方法,否则需定期制备新鲜样品;
- g) 人类可能接触的途径和水平。

### 6.1.2 登记接受样品的日期

开始试验前应有适当数量的受试样品。样品来源和批号应相同,尽可能使用同一批生产的受试样品,否则,应分别测定每一批受试样品的纯度和杂质。

## 6.2 实验动物和饲养环境

### 6.2.1 实验动物的种类和品系

为选择合适的动物种类和品系,应进行有关的急性、亚急性、亚慢性、蓄积毒性甚至毒物动力学试验。所选用的品系应对该类受试样品的慢性毒性作用敏感。通常需用两种动物进行慢性试验,一种为啮齿类动物,首选大鼠;另一种为非啮齿类动物,常用狗等动物,但国际上对使用这类动物有诸多限制。如果仅有啮齿类动物的资料,将资料外推到人时敏感性降低。

### 6.2.2 实验动物的年龄、数量和性别

啮齿类动物断奶后应在短期适应环境后尽快开始试验,尽早使动物在生长的快速期接触受试样品。每组动物不少于 40 只(非啮齿类动物每组至少 8 只),雌雄各半,同性别体重差异不超过平均体重的 10%。如试验期间计划提前剖杀一些动物,或在染毒结束时留一部分动物继续观察,应在试验开始时相应增加动物数量。试验结束时各剂量组每种性别的动物应能满足统计学要求。

### 6.2.3 饲养和环境

6.2.3.1 实验动物和动物试验的环境设施应符合国家相应规定,应有合理的动物管理措施并严格控制环境条件,尽量减少人员流动。饲养条件、饲料的杂质、空气、饮水、垫料、疾病、药物治疗等都可对试验结果产生影响。

6.2.3.2 每一房间只能饲养一种动物;每一房间只供一种受试样品试验用(除非有证据表明不同受试样品对动物无影响),也应考虑受试样品对对照组动物的影响。

6.2.3.3 笼具等物品应便于消毒和清洁,应避免使用消毒剂和农药等,特别是与动物有密切接触的部位更应注意,因为这类活性物质对试验结果可能产生影响。饲料应满足动物营养需要,应定期分析饲料成分(包括营养成分和杂质等),不含对试验有影响的杂质,分析结果应在评价报告列出。

6.2.3.4 必要时应监测饮水的水质。食盒内饲料应定期更换,约每周一次。动物自由饮水。

## 6.3 剂量设计

6.3.1 一般应设三个剂量组及一个对照组。剂量选择可根据急性毒性、亚急性毒性、亚慢性毒性、蓄积毒性和代谢研究等资料确定。高剂量组可以出现某些较轻或较明显的毒性反应,个别动物可能死亡;低剂量不应引起任何毒性反应;中剂量界于高剂量和低剂量之间,动物可能产生轻微的毒性效应。

- 6.3.2 若掌握人群接触水平，则最低染毒剂量应高于人群的实际接触水平。
- 6.3.3 对照组动物除不接触受试样品及其他介质外，其他处理均与染毒组相同。若染毒应加入溶剂或添加剂，这些溶剂或添加剂不应影响受试样品的吸收或引起毒性作用，同时还应设相应的助剂对照组。
- 6.3.4 可另设一追踪观察组，即选用 20 只动物（雌雄各半），给予高剂量受试样品，染毒两年，在全程染毒结束后继续观察一段时间（一般不少于 28 d），以了解毒性作用的持续性、可逆性或迟发毒作用；也可在试验设计时每组增加一定的动物数，试验结束时每组剖杀部分动物（数量应满足统计分析），部分动物继续作追踪观察。
- 6.3.5 若受试样品引起严重的皮肤刺激效应，应降低受试样品的使用浓度，尽管这样可能导致原来在高浓度（或高剂量）下出现的毒性作用减弱或消失。若试验早期动物的皮肤受到严重损伤，则应终止试验，并降低浓度重新开始试验。
- 6.3.6 本试验中，如果每日接触水平超过 1 000 mg/kg 体重时仍未产生可观测到的毒性效应，而且可以根据化合物的构效关系预测受试样品毒性时，则不必进行三个剂量水平的全面试验观察。

#### 6.4 试验方法

- 6.4.1 染毒前 24 h，对动物躯干背部染毒区备皮，备皮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，每周要对染毒部位备皮一次，各组的备皮时间及面积应相同。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%，应通过测定动物体重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。
- 6.4.2 通常每天染毒一次（6 h），理想的染毒周期是每周 7 d，但考虑到实际情况，每周也可染毒 5 d。
- 6.4.3 染毒的第一个月每周按体重调节一次染毒量，以后每月调整一次染毒量，半年以后每 3 月调整一次。
- 6.4.4 染毒周期：动物连续染毒 1 年以上，小鼠通常为一年半，大鼠通常为 2 年。

#### 6.5 临床观察

试验期内每天至少详细观察一次，必要时增加观察次数，并采取适当的措施尽量减少动物损失，如对死亡动物进行解剖，对质弱或濒死动物隔离、处死、冷藏并剖验，仔细记录毒性作用的开始时间及其进展情况，减少因疾病、自溶或被同类所食造成的动物损失。

观察期间应记录动物的任何毒性表现，包括神经系统、眼睛变化、肿瘤和死亡等，记录其开始时间及进展情况。

逐个记录体重变化，前 13 周每周记录一次，此后每 4 周记录一次。摄食量在前 13 周每周记录一次，此后如动物健康状况或体重无异常改变则至少一个月记录一次。

#### 6.6 临床检查

##### 6.6.1 血常规检查和其他血液指标检查

检查指标可包括血红蛋白浓度、红细胞压积、红细胞数、血小板数、白细胞计数与分类、凝血功能等指标。在染毒开始后第 3 个月和第 6 个月各检查一次（如果没有该种动物品系的历史资料时，可在试验开始时做正常值），此后每隔 6 个月检查一次，试验结束时检查一次。大鼠每组每性别可检查 10 只，非啮齿类动物应全部应检查。每次检查的动物最好相同。

在试验过程中如有动物健康状况恶化，应对该动物作白细胞分类计数。白细胞分类计数通常先在高剂量组和对照组进行，如高剂量组有问题才依次再检查较低剂量组动物。

### 6.6.2 尿液检查

收集各组动物尿样进行分析,大鼠每组每性别可检查 10 只,非啮齿类动物应全部检查,每次检查的动物最好相同,检查时间间隔与血常规检查一致。

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。

### 6.6.3 临床生化检查

在染毒开始后第 3 个月和第 6 个月各检查一次(如果没有该种动物品系的历史资料时,可在试验开始时做正常值),此后应每隔 6 个月检查一次,试验结束时检查一次。大鼠每组每性别可检查 10 只,非啮齿类动物应全部检查。每次检查的动物最好相同。

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。还可增加其他脏器相应指标的检查,以进一步对观察到的毒性反应进行研究。

### 6.6.4 大体解剖

所有动物,包括在试验过程中死亡或濒死而被处死的动物均应进行大体解剖。如果处死动物,处死前应收集其血样进行白细胞分类计数。保存所有肉眼可见病变、肿瘤或可疑肿瘤组织。应分析大体解剖与病理组织学检查结果的对应情况。

所有的器官组织都应保存。一般包括下列器官和组织:脑、垂体、甲状腺(包括甲状旁腺)、胸腺、肺(包括气管)、心脏、主动脉、唾液腺、肝、脾、肾、肾上腺、食管、胃、十二指肠、空肠、回肠、盲肠、结肠、直肠、子宫、膀胱、淋巴结、胰腺、性腺、生殖附属器官、雌性乳腺、皮肤、肌肉、外周神经、脊髓(颈,胸,腰段)、胸骨或股骨(包括关节)和眼睛。肺和膀胱用固定剂填充能保存更好。脑、肝、脾、肾、肾上腺、性腺需称重。大鼠每组每性别可称 10 只,非啮齿类动物包括甲状腺及甲状旁腺应全部称重。

### 6.6.5 病理组织学检查

6.6.5.1 对所有肉眼可见的肿瘤和异常的组织器官应进行病理组织学检查。

6.6.5.2 对在试验中途死亡或处死的动物、所有高剂量组和对照组动物的组织器官进行病理组织学检查并详细描述。

6.6.5.3 试验结果证明某一剂量组的动物正常寿命发生明显改变或诱发了影响毒性反应的效应,则下一个剂量组也应做病理组织学检查。

6.6.5.4 如果怀疑某种病变是由受试样品引起的,则应对所有剂量组动物的相应器官和组织进行病理组织学检查。

6.6.5.5 某一剂量组病理组织学检查有问题时,下一剂量组需作病理组织学检查。

6.6.5.6 如高剂量组与对照组病理组织学检查存在明显差别,则其他剂量组的相应器官和组织也应进行病理组织学检查。

## 7 数据处理与结果评价

### 7.1 数据处理

可通过表格形式总结试验结果,显示试验开始时各组动物数、出现毒性反应的动物数、毒性反应的

类型和动物出现毒性反应的百分比。对所有数据应采用适当的统计学方法进行评价,统计学方法应在试验设计时确定。

## 7.2 结果评价

慢性毒性试验结果评价应结合前期试验结果,综合考虑到毒性效应指标和解剖及病理组织学检查结果。毒性评价应包括受试样品染毒剂量与是否出现毒性反应、毒性反应的发生率及其程度之间的关系。这些反应包括行为或临床异常、肉眼可见的损伤、靶器官、体重变化情况、死亡效应以及其他一般或特殊的毒性作用。成功的慢性试验应能够提出安全性评价中有意义的 NOAEL。

## 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) 试验方法;
- b) 按性别和剂量的毒性反应数据;
- c) 试验期内动物死亡的数量和时间;
- d) 毒性作用或其他作用;
- e) 每种异常症状出现的时间及其转归情况;
- f) 动物体重资料、摄食量和(或)饮水量资料;
- g) 眼科检查结果;
- h) 血液学检查结果;
- i) 临床生化检查结果;
- j) 大体解剖所见;
- k) 病理组织学检查所见的详细描述;
- l) 对结果进行处理的统计学方法;
- m) 确定 NOAEL;
- n) 结论;
- o) 进行该试验的实验室的名称和地址、试验日期、试验和报告负责人;
- p) 评价报告还应包括所有必要的信息,对试验过程和结果评价提供全面而准确的描述。应包括摘要、资料分析和结论等,摘要应对试验资料以及任何与对照组比较有异常的数据进行概括。

## 9 结果解释

慢性经皮毒性试验能够提供长期接触受试样品的毒性作用资料,为拟定人类接触该受试样品的职业接触限值提供依据。但由于本试验并不主要研究受试样品的致癌性,确定受试样品致癌性仍有限。