

KOSHA GUIDE

T - 5 - 2017

화학물질의 태자발달 독성시험 기술지침

2017. 10.

한국산업안전보건공단

안전보건기술지침의 개요

- 작성자 : 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 김 종 규
- 개정자 : 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 정 용 현
- 개정자 : 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 정 용 현
- 개정자 : 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 김 용 순

- 제정 경과
 - 2013년 11월 산업독성분야 제정위원회 심의(제정)
 - 2015년 5월 산업독성분야 제정위원회 심의(개정, 법규개정조항 반영)
 - 2016년 10월 산업독성분야 제정위원회 심의(개정, 법규개정조항 반영)
 - 2017년 9월 산업독성분야 제정위원회 심의(개정, 법규개정조항 반영)

- 관련규격 및 자료
 - 국립환경과학원고시 제2017-4호(화학물질의 시험방법에 관한 규정)
 - OECD Guideline for the testing of chemicals
(TG 414, Prenatal Developmental Toxicity Study)(2001)

- 관련법규, 규칙, 고시 등
 - 산업안전보건법 제39조(유해인자의 관리 등)
 - 고용노동부고시 제2015-74호(화학물질의 유해성·위험성 시험 등에 관한 기준)
 - 고용노동부고시 제2016-19호(화학물질의 분류·표시 및 물질안전보건자료에 관한 기준)

- 기술지침의 적용 및 문의
 - 이 기술지침에 대한 의견 또는 문의는 한국산업안전보건공단 홈페이지(www.kosha.or.kr)의 안전보건기술지침 소관 분야별 문의처 안내를 참고하시기 바랍니다.
 - 동 지침 내에서 인용된 관련규격 및 자료, 법규 등에 관하여 최근 개정본이 있을 경우에는 해당 개정본의 내용을 참고하시기 바랍니다.

공표일자 : 2017년 10월 24일

제 정 자 : 한국산업안전보건공단 이사장

화학물질의 태자발달 독성시험 기술지침

1. 목적

이 지침은 산업안전보건법 제39조(유해인자의 관리 등), 화학물질의 유해성·위험성시험 등에 관한 기준(고용노동부고시 제2015-74호)에 따라, 독성 미확인 산업화학물질을 태자의 기관형성기 상태에 있는 임신동물에 투여하고, 시험물질이 태자의 발생에 미치는 장애와 최기형성을 확인하기 위한 시험방법을 제정하여 시험 결과의 신뢰성을 확보하는데 그 목적이 있다.

2. 적용범위

이 지침은 화학물질의 노출에 의한 태자발달 영향 및 건강장애에 관한 독성시험에 적용한다.

3. 용어의 정의

(1) 이 지침에서 사용되는 용어의 정의는 다음과 같다.

(가) “태자(Foetus)”란 포유류의 모체 안에서 자라고 있는 유체(幼體)로서 배아기간을 지난 후 태어나기 전 새끼를 말한다.

(나) “태자독성(Foetotoxicity)”이란 태자의 구조, 발달, 성장의 저하 등을 일으키는 독성을 말한다.

(다) “최기형성”이란 태자 발생기동안 구조적으로나 기능적으로 영구적 이상을 초래하는 화학 물질의 성질

(라) “우수비임상시험실(GLP: Good Laboratory Practice)”이란 의약품, 화장품 등의 안전성 평가를 하여 실시하는 각종 독성시험의 신뢰성을 보증하기 위하여 연구인력, 실험시설·장비, 시험방법 등 시험의 전과정에 관련되는 모든 사항을 조직적, 체계적으로 관리하는 규정을 말한다.

(마) “무영향농도 (NOAEL, No observed adverse effect level, 이하 NOAEL이라 한다)”
라 함은 시험물질이 투여되었을 때 악영향을 나타내지 않는 최대농도를 말한다.

4. 시험의 준비

4.1 시험동물

(1) 동물종

(가) 랫드 또는 마우스와 같은 설치류 및 토끼와 같은 비설치류로부터 각 1종 이상씩을 선택한다.

(나) 동물종, 계통 또는 품종을 선택하는데 있어서는 수태능력, 자연발생기형의 발생빈도, 기타 생식독성물질에 대한 감수성 등을 고려한다.

(다) 랫드, 마우스 또는 토끼 이외의 동물종을 이용할 때는 본 지침을 목적에 알맞게 적당히 수정할 필요가 있다.

(2) 동물 수

랫드와 마우스는 임신된 개체의 수가 각 용량군마다 20 마리 이상, 토끼는 12 마리 이상으로 한다.

(3) 순화기간 및 암컷 군 구성

(가) 실험동물은 실험 전 적어도 5일 이상 실험실 조건에서 순화기간을 갖는다.

(나) 실험동물 암컷은 출산경험이 없는 젊은 성체 동물을 사용하여야 한다.

(다) 임신 0일은 설치류의 경우 질정(vaginal plug), 또는 정자가 관찰된 날로 하며, 토끼의 경우는 성교 또는 인공수정 날로 한다.

(라) 용량·반응 관계를 알고, 무영향농도를 측정하기 위하여, 원칙적으로 3단계 이상 용량의 시험군을 설정한다.

(마) 한계시험(1000 mg/kg BW)에서 독성이 관찰되지 않거나, 기존 자료를 기반으로 독성이 발생하지 않을 것으로 판단될 경우는 3단계이상 용량의 시험군을 설정하지 않아도 된다.

(4) 사육조건

(가) 실험동물은 관찰을 용이하게 하기 위하여 개별적으로 사육한다.

(나) 실험동물을 사육하는 공간의 온도는 설치류의 경우 $22\pm 3^{\circ}\text{C}$ 가 되도록 하며, 토끼는 $18\pm 3^{\circ}\text{C}$ 로 유지한다.

(다) 상대습도는 30~70%로 유지할 수 있다. 그러나 50~60%를 유지하는 것이 이상적이다.

(라) 개별 케이지 사용이 이상적이다. 그러나 동물의 수가 적을 경우 집단 케이지 사용도 가능하다.

(마) 케이지는 배치로 인해 미칠 수 있는 영향을 최소화하는 방법으로 배열되어야 한다.

(바) 음용수는 무제한으로 공급하여야 하며, 일반 실험실용 사료를 공급한다.

(사) 조명은 12시간 소등(20:00~익일 08:00), 12시간 점등(08:00~20:00)이 되도록 조절한다.

5. 시험방법

5.1 원리

시험물질을 착상일로부터 분만 하루 전까지 투여한 후 부검하여 임신 성립여부, 황체수, 착상수를 조사하고, 내부기관을 육안적으로 관찰한다.

5.2 시험물질

(1) 투여방법

경구투여를 원칙으로 한다. 그러나 필요시 흡입노출, 피부노출을 할 수 있다.

(2) 용량

용량·반응 관계를 알고 무영향농도를 측정하기 위하여, 원칙적으로 3단계 이상 용량의 시험군을 설정한다. 최고용량은 모동물에서 섭이량의 저하나 체중증가의 억제 등 약간의 독성증상을 나타내지만 10%이상의 사망까지는 가지 않는 양으로 한다. 투여 가능한 최대량(1,000 mg/kg을 한도로 한다)에 있어서도 어미동물에 독성증상이 나타나지 않는 경우는 그 양을 최고용량으로 한다. 최저용량은 태자의 발생에 독성영향이 나타나지 않는 양으로 한다. 별도로 용매만을 투여하는 대조군을 둔다.

(3) 투여기간

태자의 기관형성기간 동안 매일 투여한다. 보통 교미 확인된 날을 임신 0일로 했을 경우, 마우스와 랫드에서는 임신 6일부터 16일 까지, 토끼에서는 임신 6일에서 18일까지로 한다.

5.3 관찰 및 측정사항

(1) 모동물

전 시험기간 동안에 일반상태를 관찰하고, 체중 및 섭이량을 측정한다. 출산 예정일의 바로 전날에 모두 부검하고, 임신성립여부, 황체수, 착상수를 조사하고, 내부기관을 육안적으로 관찰한다.

(2) 태자

태자의 생사를 판정하고, 사망새끼에 대해서는 사망시기를 추정한다. 살아있는 새끼에 대해서는 체중을 측정하고 성을 판정한다. 그리고 외형 및 내부기관의 육안적 검사와 1/3 이상의 새끼에 대하여 골격검사를 한다. 태아의 변형, 기형, 이상 등 골격과 연부조직의 변화를 확인한다.

6. 시험결과 및 보고

6.1 결과의 처리

관찰된 이상상태나 독성증상과 시험물질의 투여량과의 관계에 대해서는 적절한 통계학적 수법을 이용하여 고찰하고, 최대무영향용량에 대한 견해를 밝힌다. 이때, 한배에서 나온 새끼들을 표본단위로 한다.

6.2 시험 결과의 보고

시험보고서는 다음의 항목을 포함한다.

- (1) 시험기관의 명칭 및 소재지
- (2) 시험책임자 및 담당자 성명
- (3) 시험동물: 종, 계통, 체중, 주령, 및 사용수
- (4) 선택용량에 대한 이론적 설명
- (5) 시험물질투여 등에 관한 독성반응자료
- (6) 각 시험동물의 이상증후를 발견한 시간 및 이상증후
- (7) 사료 및 체중관련자료
- (8) 임신 및 출생동물에 관한 자료
- (9) 태아관련자료 (사망/생존, 성, 연골 및 경골 결함여부)
- (10) 모동물, 발달독성에 대한 무영향농도(NOAEL: No Observed Adverse Effect Level) 값