



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 21752—2008

---

## 化学品 啮齿动物 28 天重复剂量经口 毒性试验方法

Chemicals—Test method of repeated dose 28-day oral toxicity study in rodents

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

## 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. 407(2005 年)《啮齿动物 28 天重复剂量经口毒性试验》(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。

本标准附录 A 为资料性附录。

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、深圳出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：许崇辉、侯粉霞、谢建军、刘丽。

## OECD 引 言

1. 1998年,OECD启动了一项具有高度优先权的活动,即,修订现存指南、建立用于筛查和检测潜在在内分泌干扰物的新指南。其中一项工作就是修订啮齿动物28天重复剂量经口毒性试验(OECD TG 407),在其中增添适用于检测受试物内分泌活性的评价指标。为了验证所增添的这些新指标与内分泌的相关性及其可操作性,在国际范围内开展了广泛的验证性研究。选用一些具有雌激素、抗雌激素、雄激素、抗雄激素、甲状腺素、抗甲状腺素活性的化学品进行试验,测定这些新指标,证明这些指标与内分泌功能的相关性,比较测定结果在实验室内和实验室间的可重复性,说明修订前的OECD407中要求测定的指标对新增添的指标的影响。在上述研究中使用的化学品包括炔雌醇(ethinylestradiol)、金雀异黄酮(genistein)、壬基苯酚(nonylphenol)、它莫西芬(tamoxifen)、CGS 18320 B、甲基睾酮(methyl testosterone)、氟他胺(flutamide)、二氯二苯二氯乙烯( $p, p'$ -DDE)、丙硫氧嘧啶(propylthiouracil)和1-甲状腺素(1-thyroxine)。所获得的大量研究数据已经被汇总到一起、OECD的一份综合性报告对这些研究结果进行了详细的评价。该修订后的TG 407是上述国际范围内验证试验得出的经验和结果的结晶。新TG 407允许在评价其他毒理学效应时同时评价内分泌介导的毒性效应。

2. 在OECD TG 407中增添用于检测内分泌介导的毒性效应指标的合理性在OECD专论中进行了论述。该专论中列出了主要的修订内容,其中大部分修订内容的合理性在国际性验证研究的第一阶段使用氟他胺和丙硫氧嘧啶进行了验证。在第一阶段还使用了更多的化合物进行了验证,但是后来开展的这些研究没有对前版本TG 407要求的所有观察终点进行观察,比如FOB或运动功能评价,有些研究也没有很充分地报道,有些与前版本TG 407的要求相比使用剂量太低。根据第一阶段验证试验对新增添评价指标测定时所获得的有关其测定的可操作性、重复性和灵敏性等方面的资料,来决定应选择其中的哪些评价指标进行国际范围内的第二阶段验证试验。现行TG 407是在第二阶段验证试验结果的基础上形成的。

3. 本试验作为一种体内试验方法,可提供关于多种内分泌机制及其效应的数据,可在“OECD内分泌干扰物测定与评价的概念框架”(附录A)中看到。在该概念性框架中,TG 407被包含在第4级。该试验除了可获得原版本可能提供的信息外,还提供多种内分泌机制及其效应的相关数据、并说明这种多种内分泌机制效应是否存在剂量-反应关系。

4. 国际范围内对TG 407的验证研究结果表明,该TG 407在要求的灵敏度范围内,检测出了已知的具有强内分泌活性作用的化学品,包括(抗)雌激素类化学品、(抗)雄激素类化学品或(抗)甲状腺素类化学品。用甲基睾酮和二氯二苯二氯乙烯( $p, p'$ -DDE)进行的试验表明,该试验程序也可用于检测对甲状腺产生微弱作用的化学品。关于金雀异黄酮(植物雌激素)、壬基苯酚(弱雌激素作用)、 $p, p'$ -DDE(弱的抗雄性激素作用)等测试物,其产生的内分泌活性作用与其产生的其他毒性效应相比太弱了,即使在高剂量组也检测不到内分泌相关指标的明显改变,另一种情况是,各实验室得出的试验结果都具有不确定性(指异黄酮的试验结果)。

5. 通过对国际范围内验证试验结果的详尽分析,认为需要对TG 407进行进一步修订以提高试验的灵敏度,特别是检测弱雌激素类物质和(抗)雄性激素类物质的灵敏度。推荐在试验中进行雌性和雄性动物乳腺的组织病理学检查、评价雌性生殖器官的组织病理学改变(应特别注意雌性生殖器官组织结构与发情周期(阴道涂片检查)同步性的改变)。这些方面的测定内容未包含在提供给参与验证实验室的研究程序中。

6. 国际范围内验证研究的结果不能明确说明是否需要在TG 407中加入甲状腺激素的测定,但是明确提示甲状腺激素(T<sub>4</sub>、T<sub>3</sub>)和促甲状腺素(TSH)应作为更新指标加入到TG 407的试验程序中。

7. 国际范围内的验证研究的结果表明, TG 407 验证试验中数据的质量主要依赖于实验室的经验, 特别是实验室在检查雌性生殖器官组织结构周期性改变方面的经验以及在分离和称量激素依赖性小器官的重量时所具有的经验。因此, 建议各实验室在按照 TG 407 进行试验时应进行适当的质量控制。

8. 该 TG 407 是经过两次会议讨论后的产物, 一次是哺乳动物试验方法确认管理小组/内分泌干扰物测试与评估任务组于 2006 年 4 月在华盛顿召开的, 另一次是 OECD 于 2006 年 4 月在斯德哥尔摩召开的。新版 TG 407 是在国际范围内对其进行方法验证的基础上产生的。

9. 由于按照 TG 407 进行试验需要花费大量动物、很多费用、很长时间, 因此, 如果对 TG 407 进行像体外试验方法验证要求的那样进行全面的方法验证, 则无论是过去还是现在看来都不太合适。无论从动物福利还是从经济方面考虑都不应开展这种全面的验证试验。根据对 TG 407 中某些评价指标的验证结果, 认识到需要对某些评价指标进行进一步的验证和优化。在新版 TG 407 的应用过程中, 将会获得更多的有关这些评价指标的经验。

10. 该 TG 407 在今后的几年里可用于测定受试物重复经口染毒所引起的毒性作用, 包括对内分泌系统的作用。在该试验程序经世界范围内的应用而进一步取得经验后, 应召集专家对 TG 407 进行进一步的修改、提炼和认可。今后在对 TG 407 进行修改时, 必要时应重点对那些目前尚不能明确其价值的一些观察终点进行评价, 如, 乳腺的组织病理学检查、雌性生殖器官组织结构周期性变化与动情周期的一致性测定、甲状腺相关激素的测定等。

11. 对化学品进行毒性特征评价时, 可在获得最初的急性毒性资料后进行重复剂量经口毒性试验。该试验可提供在一个相对有限的时间内重复染毒受试物可能产生的健康危害效应资料, 包括对内分泌系统的毒性作用。该试验作为一种重复剂量毒性试验, 可在未要求进行 90 天重复染毒试验时(如, 受试物的产量未超过规定的限值)进行或作为长期毒性试验的预试验来开展。染毒期限应为 28 天。

12. 该修改后的 TG 407 增加了用于检测化学品对甲状腺生理功能影响和对雄性和(或)雌性生殖器官影响的评价指标, 同时仍然保留修改前的 TG 407 中的所有毒理学评价指标。根据验证试验的数据资料, 必须强调的是该试验程序的敏感性尚不足以检测出所有的(抗)雄激素类物质或(抗)雌激素类物质。用于 TG 407 试验的动物未处于对内分泌干扰物最敏感的年龄。该 TG 407 可检测出强的或中等程度的内分泌活性物质, 但是, 在多数情况下, 检测不出弱的内分泌活性物质。因此, 不能把该试验当作内分泌干扰作用的筛选试验。

13. 因此, 未检测出内分泌效应时并不能据此认为化学品对内分泌系统无影响。按照内分泌介导的效应对受试物进行分类时, 不能仅依赖该 TG 407 的结果, 而是应该对现有的可反映受试物潜在内分泌活性的所有资料进行证据权重分析后再进行分类。当要制定化学品内分泌活性(化学品分类)相关的管理决策时, 应依据上述经证据权重分析后的结果, 而不是仅仅依赖于该 TG 所获得的结果。

14. 该 TG 407 是为了根据试验所观察到的毒性效应, 包括内分泌影响效应, 来检测受试物可能的危害作用。也就是说, 根据该 TG 407 的结果可对受试物进行危害识别和危险度评价。有关内分泌评价指标的测定结果可参见“OECD 内分泌干扰化学品测定与评价的概念框架”(附录 A)。

15. 众所周知, 所有涉及到动物的操作都应当符合当地的动物保护标准; 下面所述的动物保护和处理要求是最低要求, 当地的动物保护标准应高于此要求。OECD 另外还有一项关于“人道对待动物”的规范。

# 化学品 啮齿动物 28 天重复剂量经口 毒性试验方法

## 1 范围

本标准规定了啮齿动物 28 d 重复剂量经口毒性试验的范围、术语和定义、试验基本原则、试验方法、试验数据和报告。

本标准适用于检测化学品的 28 d 重复剂量经口毒性试验。

## 2 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

### 2.1

#### 剂量 dose

所受受试物的量,常以质量(g、mg)或动物单位体重所给予的受试物的量(mg/kg)来表示;如将受试物掺入饲料进行喂养染毒时,也可以用受试物在饲料中的恒定浓度(mg/kg)来表示。

### 2.2

#### 用量 dosage

包括染毒剂量、染毒次数及染毒期限在内的一般性术语。

### 2.3

#### 明显毒性 evident toxicity

受试物染毒后出现了明显的毒性表现,根据这些毒性表现完全可以对受试物进行危害评价,而且在增加染毒剂量时,预期可产生严重的毒性表现、甚至引起动物死亡。

### 2.4

#### 未观察到可见作用剂量 no-observed-effect level(NOEL)

未发现可引起任何观察指标发生改变的最高剂量。

### 2.5

#### 未观察到有害作用的剂量 no-observed-adverse-effect level(NOAEL)

未发现与染毒有关的有害作用的最高剂量。

### 2.6

#### 雌激素作用 oestrogenicity

一种化学品可发挥与哺乳动物体内雌激素(如:雌二醇  $\beta$ 17)相同作用的能力。

### 2.7

#### 雄激素作用 androgenicity

一种化学品可发挥与哺乳动物体内雄激素(如:睾酮)相同作用的能力。

### 2.8

#### 甲状腺素活性 thyroid activity

一种化学品可发挥与哺乳动物体内甲状腺激素(如:T3)相同作用的能力。

### 2.9

#### 抗雌激素作用 antioestrogenicity

一种化学品可抑制哺乳动物体内雌激素(如:雌二醇  $\beta$ 17)作用的能力。