



中华人民共和国国家标准

GB/T 21754—2008

化学品 28 天/14 天重复剂量 吸入毒性试验方法

Chemicals—Test method of repeated dose inhalation
toxicity:28/14-day study

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. 412(2005 年)《28 天/14 天重复剂量吸入毒性试验》(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、陈强、温巧玲、刘志红。

OECD 引言

1. OECD 化学品测试指南定期地根据学科发展或实际评估的需要和动物福利的要求而作出相应的修改。最初的重复剂量吸入试验指南 412 采用于 1981 年,修改后的 TG412 方法文本更多地考虑包括引流淋巴结(drainage lymph)在内的组织病理学检验,另外,也延伸到对其他靶器官的组织病理学的检查,并参照测试指南 407 啮齿动物 28 天重复剂量经口毒性试验,推荐增加了功能检查。

2. 在测试和评价一种吸入物质如气体、尘、雾、蒸气、挥发性物质或气溶胶或微粒悬浮物的毒性时,重复染毒测定吸入毒性可在获得急性试验资料后进行。它提供了经吸入途径染毒一段时间而引起健康损害的资料。吸入物质的危害与其固有毒性和物理因素(如挥发性)和微粒大小有关。

3. 由于 28 天和 14 天重复剂量吸入试验存在足够的相似性,因此可以用一个测试指南来涵盖二个不同试验期的试验。二者之间的主要不同是由于染毒时间不同,而导致临床检查和病理检查的不同。

4. 本指南为危害评估和危害分类提供资料。它提供有关危害的资料,而受试物可以是依急性毒性进行联合国《化学品分类及标记全球协调制度》(GHS)分类的物质。已知有腐蚀性和严重刺激性从而能引起严重疼痛和痛苦的受试物无需进行本试验,因为这些物质被公认为 GHS 分类 I。垂死或有明显疼痛或痛苦的动物,或有明显毒性症状的动物应作人道处死,处死的这些动物在进行结果解释时被当成是试验中死亡的动物。在什么情况下应人道处死濒死或严重痛苦的动物,以及如何识别动物即将死亡,相关的判定标准和指导原则见另一个指南性文件。

化学品 28 天/14 天重复剂量 吸入毒性试验方法

1 范围

本标准规定了动物 28 d/14 d 重复剂量吸入毒性试验的范围、规范性引用文件、术语和定义、试验基本原则、试验方法、试验数据和报告。

本标准适用于化学品 28 d/14 d 重复剂量吸入毒性的测定。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

2.1

气溶胶 aerosol

固态颗粒或液态微滴悬浮于气体中形成的悬浮体。

2.2

粉尘 dust

由物质或混合物形成的能悬浮在空气中的固体颗粒。这些颗粒呈不规则形状,大小从不足 1 μm 到 100 μm 不等。

2.3

明显毒性 evident toxicity

染毒后出现了明确的中毒表现。如果采用更高的固定浓度染毒时可引起动物产生严重的疼痛、痛苦或濒于死亡、多数动物可能死亡。体重是可说明出现了“明显毒性”的一个关键,应密切注意体重减少 20% 的动物。

2.4

化学品分类及标记全球协调制度 globally harmonized system of classification and labeling of chemicals(GHS)

根据化学品对物理、健康和环境产生的危害程度,按照统一的标准对化学品进行分类。然后,根据化学品的分类级别对其有害效应进行标签以保护人类健康和环境,标签的方式是通过象形图、标识图、危害说明、预警说明及安全数据表等交流方式来传递化学品的有害效应信息。GHS 是由经济合作与发展组织(OECD)(人类健康和环境)、联合国危险货物运输专家委员会(UNCETDG)(理化特性)及国际劳工组织(ILO)(化学品危害运输信息的传递)共同倡导参与的一项活动,由化学品有效管理机构间规划组织(IOMC)统一协调。

2.5

人道观察终点 humane endpoint

可预示试验动物可能出现严重的疼痛、痛苦或濒临死亡等状态的某些早期中毒表现。

2.6

濒临死亡 impending death

在观察期尚未结束时动物出现濒死或可能死亡的状态。啮齿动物濒临死亡的症状包括抽搐、侧卧、斜卧及震颤。

2.7

空气动力学质量中位数直径 mass median aerodynamic diameter(MMAD)

空气动力学直径中位数及其几何标准差是依据颗粒的质量和大小、用统计学方法来描述各种气溶胶的颗粒大小分布情况。占颗粒总质量 50% 的颗粒的直径小于所有颗粒直径的中位数,另外占颗粒总质量 50% 的颗粒的直径大于该直径中位数。

2.8

雾 mist

由大小从 $2\ \mu\text{m}$ ~ $100\ \mu\text{m}$ 不等的物质或混合物的液滴悬浮在空气中所形成。可由超饱和蒸气冷凝、喷雾、原子化、喷洒或发泡等方式形成。

2.9

濒死状态 moribund condition

在即使给予治疗的情况下,也即将死亡或未能存活的一种状态。

2.10

蒸气 vapour

在常温和常压下呈液态或固态的物质或混合物所形成的气体状态。

3 试验基本原则

动物分为几个浓度组、每组 1 个染毒浓度、各染毒浓度之间具有一定的间距,各组动物每天吸入染毒一定时间的受试物(蒸气、粉尘/烟尘、气体等),连续 28 d 或 14 d。在制备受试物气溶胶时如果需要使用溶剂,则应设溶剂对照组。每天于吸入染毒过程中观察毒性表现。

21 天/28 天试验可提供反复剂量吸入染毒后的毒性效应资料,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。

4 试验方法

4.1 试验动物

4.1.1 动物品系的选择

啮齿动物首选大鼠,但偶尔也可能使用其他种类的啮齿动物。使用其他啮齿动物或使用非啮齿动物时应说明理由。应使用实验室常用的动物品系、使用健康初成年动物。雌性应为未生育过和未孕的动物,试验开始时动物年龄为 8 周~12 周,其体重应不超过实验室既往使用的该品系动物平均体重的 $\pm 20\%$ 。当重复剂量吸入毒性试验作为长期试验的预试验时,预试验与长期试验要使用同一品系的动物。

4.1.2 数量和性别

每一浓度组至少应用 10 只动物(5 只雌性和 5 只雄性)。雌性应为未生育过和未孕的动物。如计划在试验过程中处死部分动物则应说明理由,并应依据计划要处死的动物的个数来相应增加浓度组内的动物数。另外,也许需要设立一个 10 只动物的附加组(每种性别 5 只动物),该组染毒高浓度受试物,连续 28 d/14 d,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。为了保护动物福利,试验中设立附加组应说明理由。

4.1.3 饲养条件

动物房的温度应为 $22^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$,相对湿度应大于 30%、除非在清洗动物房时相对湿度最好不超过 70%,50%~60%最合适。应采用人工照明,12 h 明暗交替。实验室常规饲料喂养,饮水不限。在染毒前和染毒后,动物按性别或浓度分笼饲养,每笼的动物数以不干扰对每只动物的观察为宜。

染毒过程中,每只动物置于单独的笼中并禁食、水。

4.1.4 试验动物准备

开始染毒前动物饲养观察至少 5 d 以适应实验室环境。动物随机分组、编号。在开始染毒前,动物也应在吸入染毒装置内短暂适应一会儿,以降低环境改变而造成的动物紧张。

4.2 染毒方式

采用头鼻方式或全身染毒方式均可。头鼻染毒方式可最大程度地减少经非吸入途径吸收受试物,便于在高浓度受试物染毒时不需要大量使用受试物;另外,使用头鼻染毒方式时就不太需要考虑受试物稳定性改变(例如与尿、粪等排泄物发生反应或受潮湿环境影响而改变稳定性)以及受试物气溶胶在染毒柜内分布不均匀等方面的问题。采用头鼻染毒方式时,受试物在染毒柜内达到均匀分布所需的时间比采用全身染毒方式时所需的时间要短很多。

头鼻染毒方式需要限制动物的活动,应注意避免固定动物的固定器由于发热而对动物产生热应激。染毒过程中流入染毒柜的气体体积应略大于流出的气体体积、并保持这种状态。所使用的动物固定器以及动态气流应保证使动物无法避开吸入染毒。但是,如果不能避免流入染毒柜的空气体积小于流出的气体体积时,应防止空气经其他途径(如,经固定器)进入染毒柜使受试物气溶胶被稀释。应将染毒柜置于通风良好的化学通风橱中。要保证通风橱内部处于负压状态以防受试物泄漏到外部环境中。吸入染毒装置应配备动态气流,其通风量至少应超过染毒装置里动物总换气量的两倍(对于初成年大鼠,每分钟的换气量大约为 1 L/(kg/min))。氧含量应至少为 19%但最高不超过 24%、并要保证每只动物有类似的染毒条件。在采集气溶胶样本时,应避免过度影响动态气流。应调整采样流量的大小以保证染毒柜内条件不变。

全身吸入染毒装置需配备动态气流,每小时换气约 12 次~15 次,应保证染毒柜内氧含量不低于 19%、但最高不超过 24%,应保证受试物气溶胶均匀分布于整个染毒柜。染毒柜内应保持一个小的负压状态以防止受试物泄漏到外部环境中。保证受试物气溶胶均匀分散的一个总体原则是:试验动物所占的总体积应不超过染毒柜体积的 5%。应调整采样流量的大小以保证染毒柜内条件不变。

4.3 染毒条件

4.3.1 染毒时间

每天的染毒时间是在染毒柜中受试物浓度达到平衡后染毒 6 h。有特殊要求时,也可延长或缩短染毒时间,但应说明理由。

4.3.2 染毒浓度

至少应有 3 个浓度组和 1 个对照组,如果需要,还应有 1 个赋形剂对照组。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。最高浓度组应能引起毒性效应但不引起动物死亡,因为高浓度组动物出现死亡可影响对结果进行有意义的评价。最低浓度组应不出现任何毒性效应,但最低浓度应超过人预期接触的浓度。理想的中间浓度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浓度,则应有适当的浓度间距以产生不同程度的毒性反应。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。选择染毒浓度时,如果没有资料可参考,则应经预试验来确定合适的染毒浓度。关于如何选择合适的染毒浓度以便进行毒性评价和分类,可进一步参考联合国 GHS 系统中的有关文件。

染毒过程中应尽量减少染毒浓度的变化、保证染毒浓度恒定在同一个浓度。如果受试物具有潜在的爆炸性,应特别注意一些可能引起爆炸的危险条件。

4.4 程序

动物每天吸入染毒受试物,每周染毒 7 d,连续染毒 28 d/14 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 28 d/14 d 后不再染毒,并再观察 14 d,以检测毒性效应的可恢复性、持续性或迟发性。

4.4.1 临床观察

每天至少进行一次仔细的临床观察。还要进行些额外的观察,以采取适当措施使试验动物的损失

减少到最低限度,例如发现死亡的动物及时进行大体解剖或冷藏,濒死、严重痛苦或衰弱的动物应进行人道处死。

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,每天还应进行额外的观察以便及时发现死亡的动物并及时解剖检查或进行其他的处理。濒死的动物、显示明显病痛、持续痛苦的动物应安乐处死。

4.4.2 微粒大小

由于很难预知呼吸道的哪个部位对受试物反应性最强、受试物粒径多大时危害最大,粉尘或气溶胶的颗粒大小应能保证其到达呼吸道的每个区域。推荐受试物气溶胶的粒径大小范围为空气动力学质量中位数直径(MMAD)1 μm ~4 μm 、几何标准差(GSD)1.5~3.0,这样可以保证整个呼吸道都可接触到受试物。如果受试物气溶胶不符合上述粒径大小,则应解释其合理性。

4.4.3 受试物气溶胶的发生

必要时,可在受试物中加入适当的溶剂来帮助受试物达到所要求的浓度或帮助受试物制备成可吸入性颗粒。如果在受试物气溶胶发生过程中使用了溶剂,则应设立溶剂对照组以说明所用的溶剂不影响受试物的吸收而且不会引起毒性效应。固体颗粒状受试物应进行机械处理以减小颗粒的粒径。

4.5 染毒条件的监测

需要注意的是,对染毒柜内气体的监测可全面反映染毒装置的各种动力学参数,因而可间接地控制相关的各种动态吸入参数,因此,每个浓度组每周只需测量一次气溶胶的分散度。

4.5.1 受试物浓度物理测量

4.5.1.1 应进行下列测量的监测:

- 气流速度,最好连续监测。
- 染毒过程中,应尽可能地使受试物的实际浓度维持恒定(气体/蒸气状态的受试物浓度的波动范围应不超过其平均浓度的10%,气溶胶状态的受试物浓度的波动范围应不超过其平均浓度的20%)。
- 在进行气溶胶发生时,为了发生出浓度可保持不变的气溶胶,应测定受试物颗粒的大小。染毒期间每个浓度组每周至少进行一次气溶胶分散度的测定。
- 最好连续监测温度和湿度。

4.5.1.2 染毒过程中应每隔一定时间测定一次染毒柜内受试物的浓度以监测受试物浓度是否保持不变。检测颗粒状受试物浓度时最好使用气溶胶光度计、检测易挥发性受试物浓度时最好使用总烃类分析仪,检测的结果可说明染毒条件是否稳定不变以及染毒柜内受试物浓度的变化是否在标准所要求的范围内。对染毒柜内气体的监测可全面反映染毒装置的各种动力学参数,因而可间接地控制相关的各种动态吸入参数,因此,每天在染毒过程中只需测量一次气流速度。然而,受试物浓度太高时,检测浓度的仪器的感量元件由于接触过多的受试物可能不能正常工作。因此,在检测高浓度的颗粒状受试物时,应评价所监测的物理参数是否反映实际的情况。必要时,应定期对气流速度进行校准以保证染毒装置所有的相关条件未发生改变。应注意评价采样是否存在人为错误、从样本中提取受试物的效率、采样后受试物的稳定性、计算浓度与实测浓度的差距等。

4.5.1.3 蒸气及液体气溶胶受试物在染毒装置发生后,应可允许在每天的染毒过程中至少进行3次受试物浓度分析、并可计算出计算浓度。对于液体受试物气溶胶,应说明在其发生过程中如何提高粒子的可吸入性、如何制备高浓度的受试物气溶胶、计算浓度与实测浓度的差距、气溶胶的分散度等。染毒期间上述测定应至少每周进行一次。

4.5.1.4 对于干燥气溶胶,每天染毒过程中应至少进行三次浓度测定。对于非挥发性受试物(粉末和液体),认为其计算浓度与实测浓度是一致的,染毒期间应至少每周测定一次分散度。

4.5.1.5 如果受试物是混合物,所测定的浓度应是整个制剂的浓度而不是其中某个成分的浓度。如果动物呼吸带区域测得的受试物成分与受试物制剂的成分基本相同时,则不必测定受试物中的无活性成

分的浓度。如果受试物由于沉降、混合不均匀、含有易挥发性成分等原因,难以进行浓度测定时,则有必要另外对无活性成分进行浓度测定。

4.5.1.6 测定染毒柜内温度和湿度时应在动物呼吸带区域测定。染毒过程中温度应保持在 $22^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$,相对湿度应保持在 $30\% \sim 70\%$,最好在 $50\% \sim 60\%$ 。当用水作为溶剂时或将高浓度的干燥颗粒状受试物制成气溶胶时,相对湿度可能会超出上述范围。

4.5.2 染毒柜内气体的采样

采集受试动物呼吸区域的气体样本,定期监测其因吸附剂阻力引起的气体流速改变,如在测试样本收集时使用蒸汽发生器,则要避免溶媒蒸发而影响监测。在气体采集时,要使用合适的采样器采样,以免误差。

4.5.3 试验动物

4.5.3.1 临床检查

4.5.3.1.1 吸入染毒过程中以及不染毒时都要观察动物。应进行系统的观察和记录,每只动物要有单独的记录。动物每天观察一次并记录其毒性表现,包括出现时间、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。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。当发现濒死动物时,应移走并安乐处死。应记录安乐处死动物的时间以及发现动物死亡的时间。

4.5.3.1.2 开始首次染毒前,应对所有动物进行详细的临床观察以便进行比较。依据试验期间所观察到的临床表现和(或)依据预期的潜在神经毒性作用,在染毒的第四周也应对所有动物进行详细的临床观察(从实际情况考虑,需要每周测量一次的观测指标在每天开始染毒前进行测量可能会影响 6 h 的染毒过程)。这些观察应在动物笼外的一个标准观察台上进行、最好在同一时间观察。应详细记录所观察到的改变,最好按照实验室制定的打分标准对观察到的症状进行打分。应尽量避免试验条件的改变。观察者最好不要了解动物的染毒情况。观察的症状应包括但不限于如下方面的改变:皮肤、被毛、眼、黏膜、口鼻分泌物增多、尿粪排泄异常、自主神经活动(如:流泪、被毛竖起、瞳孔大小、呼吸类型异常等)。也应记录步态、体态、抓取动物时动物的反应、肌肉阵挛性或强直性运动、固定保持一种动作(如:前爪反复做洗脸样动作、反复做转圈运动)、行为异常(如:动物自残、后退行走)等改变。

4.5.3.1.3 在染毒的最后一周,应对感觉器官对不同刺激(如:听觉刺激、视觉刺激以及本体感觉刺激)的反应能力、握力(抓力)以及运动功能进行评价。如果该 28 d/14 d 毒性试验是作为要开展的亚慢性(90 d)毒性试验的预试验时,则不需要对这些功能进行评价,而是需要在亚慢性试验中进行评价。另外,如果可获得 28/14 d 重复吸入染毒对感觉器官功能影响的相关资料,则可有助于亚慢性吸入毒性试验中染毒浓度的设计。

每周测量摄食量和动物体重。试验结束时,所有动物称重并安乐处死。

4.5.3.1.4 对所有动物应做下列项目的检查:

- 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。
- 试验结束时,对血液进行临床生化测定。应根据受试物的毒性效应特征来选择有针对性的生化检测项目,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)、血清丙氨酸转氨酶(ALT)、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,根据观察到的毒性效应也可进行其他生化指标的测定。
- 一般情况下不要求进行尿分析,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。

4.5.3.2 病理学检查

4.5.3.2.1 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:鼻道(包括与鼻相联系的淋巴组织)、喉、气管、肺(取出的肺要完整、称重后用合适的固定液固定以维持肺脏结构保持完好,用固定液灌流肺脏是一个保持肺脏结构完好的一个有效方法)、呼吸组织引流的淋巴结(颈/颞淋巴结和肺门淋巴结)、肝、肾、脾、胸腺、肾上腺、心、睾丸和靶器官(大体解剖有异常或大小有改变的器官)。

4.5.3.2.2 病理组织学

对高浓度组和对对照组动物固定保存的器官和组织应进行组织病理学检查。当高浓度组发现的病变提示有必要时才对其他浓度组进行进一步的组织病理检查。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。

应对不同部位的鼻组织分别进行组织病理学检查,包括覆盖鳞状上皮的鼻组织、过渡区域(无纤毛、呼吸区)鼻组织、呼吸性(有纤毛、呼吸区)鼻组织、覆盖嗅觉上皮的鼻组织,以及鼻部引流淋巴组织或NALT。喉部应包括会厌的下部腹侧;气管应包括气管分支隆起部;肺组织应包括主支气管。

5 试验数据和报告

5.1 数据

应给出每只动物的数据。另外,应以表格形式汇总所有的试验数据,说明每组的动物数、出现中毒症状的动物数、试验期间死亡的动物数、安乐处死的动物数、每只动物的死亡时间、毒性作用特征、毒性作用出现、持续以及恢复时间、大体解剖所见等方面的信息。

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吸入染毒的毒性。主要是评价受试物的染毒浓度与异常的有无、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天/28天的试验应能说明受试物反复吸入染毒后的毒性作用,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浓度选择提供资料。

5.3 试验报告

试验报告应包括以下内容:

5.3.1 受试物

- 物理性状、纯度以及相关的理化特性(包括异构体化);
- 名称和识别码如CAS编号(如果有)。

5.3.2 溶剂

说明需要使用溶剂的理由,选用的溶剂不是水时也应说明理由。

5.3.3 试验动物

- 动物的品系;
- 动物的洁净程度等级(如果知道就在报告中提供);
- 试验前适应环境的时间;
- 动物的数量、周龄和性别(合适时,应说明使用雄性动物而不使用雌性动物的理由);

- e) 动物来源、饲养条件、历史数据、饲料等等。

5.3.4 试验条件

- a) 吸入染毒柜；
- b) 仪器的来源并描述其性能和参数；
- c) 仪器的校准；
- d) 染毒柜的大小和容积；
- e) 压差(正压或负压)；
- f) 采用头鼻染毒方式时动物所在的固定器的位置、采用全身染毒方式时动物在染毒柜内的位置；
- g) 受试物在染毒柜内是否能均匀分布,其浓度是否可保持稳定不变；
- h) 染毒柜内温度和湿度传感器的位置；
- i) 采集染毒柜内气体时的采样位置；
- j) 对所用的校准方法进行描述；
- k) 流入和流出空气的处理。

5.3.5 染毒柜内受试物气溶胶

- a) 通过气溶胶发生装置的空气流速；
- b) 其他途径进入的空气(稀释空气)；
- c) 供/排气流速度；
- d) 每个固定器所在位置的气流速度(鼻式染毒方式)或每个染毒柜内允许放入多少只动物(全身染毒方式)；
- e) 受试物在染毒柜内达到均匀分布及浓度保持稳定所需的时间, t_{90} 还是 t_{99} ($k \times$ 染毒柜的容积/流速, 计算 t_{90} 时 $k=2.303$, 计算 t_{99} 时 $k=4.605$)；
- f) 每小时换气量；
- g) 描述所采用的校准方法、提供证据说明所采用的受试物气溶胶发生方法是合理的；
- h) 计量仪器(如有)；
- i) 描述所采用的气溶胶发生装置；
- j) 所用溶剂的物理性质；
- k) 受试物在溶剂中的浓度；
- l) 计算浓度的计算(可能不适合气溶胶)；
- m) 机械加工受试物的颗粒使其大小具有可吸入性所采用的方法的描述；
- n) 染毒柜内受试物浓度分析及其分散度测定的频次；
- o) 进行受试物浓度分析及分散度测定时的采样条件；
- p) 应用特异性技术(分析受试物的量)和非特异性技术(层析技术)所测定的染毒柜内受试物浓度；
- q) 粒径大小分布情况:MMAD 和 GSD 是多少,粒径小于 $3\ \mu\text{m}$ 的可呼吸性粒子占总粒子数的百分比是多少；
- r) 比较染毒柜内受试物的计算浓度和测试(实际)浓度(需要时)；
- s) 空气的温度和湿度。

5.3.6 结果

- a) 以表格形式报告染毒柜内的温度、湿度和空气流量；
- b) 以表格形式报告染毒柜内受试物的计算浓度和实测浓度；
- c) 以表格形式报告受试物粒径大小的相关结果,包括进行浓度分析时的采样结果、分散度以及 MMAD 和 GSD 的计算；
- d) 以表格形式报告不同性别、不同组别动物的毒性反应资料；

- e) 以表格形式报告试验期间动物死亡的死亡时间、动物是否存活到试验结束时;
- f) 毒性作用及其他作用;
- g) 每种异常表现的观察时间及其异常表现的转归;
- h) 以表格形式报告摄食量和体重;
- i) 血液学检测指标及其结果;
- j) 临床生化检测指标及其结果;
- k) 尿液分析及其结果;
- l) 大体解剖所见;
- m) 详细描述组织病理学检查结果;
- n) 结果的统计处理(有时)。

5.3.7 结果讨论与解释

结果讨论与解释包括:受试物气溶胶发生及其浓度和分散度测定时所面临的技术问题,讨论所观察到的毒性表现是全身作用引起的还是局部作用引起的;

浓度-反应关系和未观察到有害作用的剂量(NOAEI)(如可能);

重复剂量吸入毒性试验将提供经吸入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,但是能提供经吸入途径接触该受试物可能引起的毒性效应及其作用特征。

5.3.8 结论

