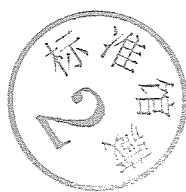


中华人民共和国国家标准

GB/T 21797—2008

化学品 有机磷化合物 28 天重复剂量的迟发性神经毒性试验

Chemicals—Delayed neurotoxicity of organophosphorus
substances 28-day repeated dose study



080925000405

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)化学品测试导则 No. 419(1995 年)《有机磷化合物 28 天重复剂量的迟发性神经毒性试验》(英文版)。

本标准做了下列编辑性修改:

- 将 OECD 的介绍和初衷部分合并归附到 OECD 引言;
- 增加了范围;
- 将附录中的定义移到正文中;
- 将计量单位改为我国法定计量单位;
- 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:环境保护部化学品登记中心。

本标准参加起草单位:沈阳化工研究院安全评价中心、中国环境科学研究院、中国国家疾病预防控制中心、宁波出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:廖雪、吕耀中、周红、李捍东、林振兴、马中春、龙再浩、陈小青。

OECD 引言

1. OECD 导则根据科学最新发展和考虑动物福利要定期对试验指南进行修改,本次更新的指南包括测量神经病靶酯酶(NTE;以前称神经毒性酯酶)效应方法的修订。染毒后 24 h~48 h 内脑和脊髓 NTE 的抑制与迟发性神经毒性的临床和形态学效应有很好的关联性。已发现 NTE 试验模型对所有已知能引起人体迟发性神经病症的有机磷酯类物质都有效。因此,在某些临床表现不明显或组织病理数据不明确时,NTE 抑制的定量数据将显著提高对上述现象是否存在潜在迟发性神经毒性的判断能力。与上次版本要求的 90 d 染毒期限不同,本次修订要求至少要染毒 28 d。通常 28 d 重复剂量足以有效评价重复接触有机磷化合物引起迟发性神经病。对多数农药来说,28 d 的接触方式要比 90 d 的接触方式更接近实际情况。
2. 本次导则 419 更新版本来源于 1992 年 2 月在巴黎召开的专家工作组关于系统性短期和迟发性神经毒性协调会议。这一更新版本主要由 1990 年 3 月 OECD 在华盛顿举行的有关神经毒性试验的特别会议上讨论形成的初稿和从各成员国收到的意见的基础上进行修订的。
3. 本导则用于评价有机磷化合物的毒性作用。通常重复染毒的迟发性神经毒性的测定是在完成急性迟发性神经毒性试验(导则 418)之后进行的。从急性迟发性神经毒性试验和其他试验所得到的结果,对设计重复染毒的迟发性神经毒性试验是有帮助的。
4. 28 d 迟发性毒性试验可提供在规定的时间内重复染毒受试物对健康危害的信息;并可为剂量-反应关系和制定安全接触水平的无可见有害作用剂量水平(NOEL)的估算提供信息。
5. 根据有些物质的用途(如增塑剂)可能需要更长时间的染毒(90 d)。在某些情况下,为了解决外推资料解释的困难,或者为了弄清某些特殊物质更为详细的使用特点,可能需要进一步的试验。

化学品 有机磷化合物

28 天重复剂量的迟发性神经毒性试验

1 范围

本标准规定了化学品有机磷化合物 28 天重复剂量的迟发性神经毒性试验的术语和定义、试验基本原则、试验步骤、试验报告和结果解释。

本标准适用于检测化学品有机磷化合物对神经系统的迟发性神经毒性反应。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

2.1

迟发性神经毒性 delayed neurotoxicity

指一组神经系统综合征,主要表现为迟发出现的共济失调,脊髓和周围神经远轴突病变,以及神经组织中神经靶酯酶的抑制和老化。

2.2

有机磷化合物 organophosphorus substance

包括不带电荷的有机磷酸酯、硫代磷酸酯或有机磷酸酐、有机磷酸,或有机磷酸一酰胺或有关的硫代磷酸、硫代磷或硫代亚磷酰胺酸,或其他可引起这类神经毒性的物质。

3 试验基本原则

用受试物每日一次经口染毒家养母鸡,共 28 d。每天至少观察一次动物是否有异常行为、共济失调和麻痹,连续观察直至停止染毒后 14 d。末次染毒后(一般为 24 h 和 48 h),每组随机选取动物进行生化检查,特别是测定神经靶酯酶(neuropathy target esterase, NTE)。在末次染毒后 14 d,处死存活母鸡,对神经组织进行病理组织学检查。

4 试验步骤

4.1 实验动物

4.1.1 动物种属

选用初成年(8~12 月龄)家养产卵家鸡(*Gallus gallus domesticus*),正常体重范围及标准种属和品系。动物应是在能自由活动的环境条件下长大。

4.1.2 饲养环境

在正常条件下饲养母鸡,单笼饲养;鸡笼应足够大,以使动物能够自由活动,并易于观察步态;采用人工照明时,保持每日光照 12 h 和黑暗 12 h,应给予合适的饲料及自由饮水。

4.1.3 动物准备

使用健康初成年母鸡,要确保无病毒性疾病、没有接受过药物治疗和无步态异常,将其随机分成对照组和染毒组。在试验开始前,动物要检疫驯化并适应实验室条件至少 5 d 时间。

4.2 染毒途径和受试物制备

4.2.1 每天经口染毒,每周 7 d,最好选择灌胃或胶囊方式染毒。

4.2.2 如果受试物是液体,可以不稀释或用适当的赋形剂进行稀释,如玉米油;如果受试物是固体,由于大剂量固体用胶囊可能会影响有效吸收,应当尽可能溶解在赋形剂中。如果使用的赋形剂不是水,应当了解它的毒性特征,如果不明确,应在试验前测定其毒性。

4.3 动物数量及分组

4.3.1 每组要有足够数量的动物,以确保有 6 只动物用于生化检测(两个时间点,每次 3 只)和停止染毒后的 14 d 观察期结束时有 6 只动物用于病理检查。

4.3.2 通常情况下,每次试验要设置至少 3 个染毒组和 1 个赋形剂对照组,但如果根据其他数据(例如急性一次染毒试验、体外筛选试验或结构活性关系)进行评价表明染毒剂量 1 000 mg/(kg·d)不会产生毒性效应,那么可以只进行限量试验。

4.3.3 赋形剂对照组和每个染毒组至少应有 6 只母鸡用于生化检测和 6 只母鸡用于病理检查。除了不给予受试物外,赋形剂对照组的处理方式与染毒组是相同的。

4.4 剂量选择

剂量选择应当参考受试物急性迟发性神经毒性试验的结果以及受试物已知的毒性或动力学数据。选择的受试物最高剂量要诱导动物出现毒性效应,最好是迟发性神经毒性,但不能使动物死亡或出现明显的痛苦。因此应选择递减次序的不同剂量水平,以证明剂量-反应关系和在最低剂量组确定无可见有害作用剂量水平。

4.5 限量试验

如果使用本标准规定的程序进行试验,试验中受试物染毒剂量不低于 1 000 mg/(kg·d),结果没有观察到毒性效应,或根据结构相关的化合物进行分析获得的数据表明也不会产生毒性,那么不必进行更高剂量的试验。当人体暴露水平表明需要进行更高剂量试验时,不应选用限量试验。

4.6 观察

染毒开始后立即开始观察动物,在 28 d 染毒期间应仔细观察每只母鸡,每天至少观察一次,染毒停止后再观察 14 d,或直至母鸡按试验设计全部处死为止。必须详尽记录动物出现的全部中毒症状,包括开始时间、类型、严重程度以及持续时间。观察内容包括(但不局限于)行为异常。共济失调可通过至少由 4 级水平构成的评分量表来评价,并记录动物麻痹状况。为了易于观察到最轻微的毒性效应,至少一周 2 次从笼内取出母鸡,进行强迫性运动,比如爬楼梯。取出并处死所有的濒死动物,进行大体解剖检查。

4.7 体重称量

在染毒前,对全部母鸡称体重 1 次,之后每周称体重 1 次。

4.8 生化测定

4.8.1 在末次染毒最初几天内,从染毒组和溶剂对照组随机选择并处死 6 只母鸡(两个时间点,每个时间点 3 只),取脑和脊髓,测定其神经病靶酯酶(NTE)活力。此外,制备和测定坐骨神经的神经病靶酯酶(NTE)活力,也是有意义的。通常在末次染毒后的 24 h 与 48 h,分别从对照组和每个染毒组中,各取 3 只母鸡处死进行生化检查。但是如果从急性迟发性神经毒性试验或其他研究(例如毒物代谢动力学)中获得的数据表明,在末次染毒后的其他时间内处死动物更合理,那么就可以选择其他处死时间,同时要在试验报告中说明理由。

4.8.2 必要时,可测定上述神经组织样品的乙酰胆碱酯酶(AchE)活力。但在体内,乙酰胆碱酯酶可以发生自发复活,因而会导致低估受试物抑制乙酰胆碱酯酶的能力。

4.9 病理检查

4.9.1 大体解剖

将所有动物(包括濒死动物和按计划处死动物),进行大体解剖,肉眼观察脑和脊髓的外观。

4.9.2 组织病理学

主要对动物的神经组织进行镜检,神经组织取材于观察期存活(未用于生化检查)的动物。使用灌注法技术对组织进行原位固定。组织切片必须包括小脑(中间纵向水平)、延髓、脊髓和外周神经。脊髓切片应包括上颈段、中胸段和腰骶部。外周神经切片部位应包括坐骨神经、胫骨神经及其支配腓肠肌的分支远端区。应用适当的髓鞘和轴突特异性染色方法对切片进行染色。镜检时要首先检查对照组和高剂量组动物的组织。如果发现在高剂量组的组织切片中出现病理改变,则应对中、低剂量组的组织切片进行镜检。

5 数据与试验报告

5.1 数据

必须提供包括每一个体动物的数据。所有数据应以表格的形式给出,列出试验开始时各染毒组的动物数,出现损伤、行为异常或生化改变的动物数,以及损伤或毒性效应的类型和严重程度,以及相应的百分率。

5.2 结果评价

将试验组与对照组所见的行为异常、生化和组织病理学改变等毒性效应发生率、严重程度及相关性作出全面的结果评价,对得出的数据,应用合适的统计学方法进行统计学处理。在试验设计时应选定统计分析方法。

5.3 试验报告

试验报告至少应包括以下内容:

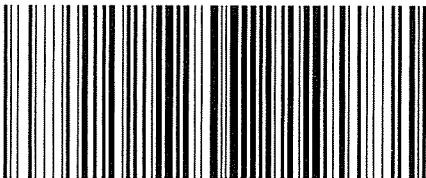
- a) 受试物:
 - 物理属性(包括异构化、纯度和理化性质);
 - 标识鉴定资料。
- b) 赋形剂:
 - 若使用了水以外的其他溶剂或赋形剂,应说明理由。
- c) 实验动物:
 - 动物品系;
 - 动物数量和年龄;
 - 动物来源,饲养条件等;
 - 试验开始时每只动物的体重。
- d) 试验条件:
 - 详述受试物的制备、稳定性和均匀度;
 - 详述受试物的染毒途径;
 - 饲料和饮水质量;
 - 剂量设计的理由;
 - 详述染毒情况,包括赋形剂或溶剂的详细情况,染毒体积以及受试物的物理状态。
- e) 试验结果:
 - 体重数据;
 - 各剂量组毒性反应数据,包括死亡率;
 - NOAEL(未观察到有害作用的剂量水平);
 - 临床观察到症状的性质、严重程度、持续时间(是否可逆);
 - 详述生化测定方法和结果;
 - 大体解剖检查结果;
 - 详述组织病理学检查的全部结果;

——结果的统计学处理。

- f) 结果讨论。
- g) 结论。

6 结果解释

本试验所得结果可为重复暴露或一段时间内接触有机磷化合物可能产生健康危害提供信息,推算出人体 NOAEL 值,为制定有机磷化合物安全的人体暴露水平标准提供依据,但由于有机磷化合物对人体 AchE 的抑制作用的 NOAEL 远低于诱发迟发性神经病的 NOAEL,因此其在制定安全接触水平中的作用并无实际意义。



GB/T 21797-2008

版权专有 侵权必究

*

书号:155066 • 1-32298

定价: 10.00 元