

KOSHA GUIDE

T - 30 - 2022

화학물질의 28일 반복흡입독성시험 기술지침

2022. 12.

한국산업안전보건공단

안전보건기술지침의 개요

- 작성자 : 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 김 용 순
- 개정자 : 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 김 용 순
- 개정자 : 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 조 중 래
- 개정자 : 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 서 동 석

- 제·개정 경과
 - 2015년 11월 산업독성분야 제정위원회 심의(제정)
 - 2019년 11월 산업독성분야 기준제정위원회 심의(개정)
 - 2021년 09월 산업독성분야 기준제정위원회 심의(개정)
 - 2022년 12월 산업독성분야 표준제정위원회 심의(개정)

- 관련규격 및 자료
 - OECD Guidelines on The Testing of Chemicals 412 28-Day (Subacute) Inhalation Toxicity Study, 2018

- 관련법규·규칙·고시 등
 - 산업안전보건법 제105조(유해인자의 유해성·위험성 평가 및 관리), 제108조(신규화학물질의 유해성·위험성 조사)
 - 산업안전보건법 시행규칙 제141조(유해인자의 분류기준), 제143조(유해인자의 관리 등)
 - 고용노동부 예규 제166호(화학물질의 유해성·위험성 평가에 관한 규정)
 - 국립환경과학원 고시 제2021-87호(화학물질의 시험방법에 관한 규정)

- 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 관련규칙 및 자료, 법규 등에 관하여 최근 개정본이 있을 경우에는 해당 개정본의 내용을 참고하시기 바랍니다.

공표일자 : 2022년 12월 13일

제 정 자 : 한국산업안전보건공단 이사장

화학물질의 28일 반복흡입독성시험 기술지침

1. 목 적

이 지침은 산업안전보건법 및 고용노동부 예규, 국립환경과학원 고시 및 OECD 가이드라인에 따라, 근로자에게 건강장해를 일으키는 화학물질의 유해성 분류 결정을 위한 28일 반복흡입독성을 평가하고, 추가적으로 90일 반복흡입독성시험을 위한 노출농도 선정에 관한 정보를 얻는데 목적이 있다. 또한, 나노물질 뿐만 아니라 흡입되는 가스, 증기 및 에어로졸의 물리적 특성에 따른 최신 과학기술을 반영한다.

2. 적용범위

이 지침은 산업안전보건법에 따라 유해성 분류를 위한 유해인자 확인에 적용되는 실험동물을 이용한 28일 반복흡입독성시험 방법에 적용한다.

3. 용어의 정의

(1) 이 지침에서 사용되는 용어의 정의는 다음 각 호에 의한다.

(가) “28일 반복흡입독성”이라 함은 실험동물(랫드 또는 마우스)에 흡입독성시험 챔버를 이용하여 시험물질을 28일 동안 반복 흡입노출하였을 때 실험동물에 나타나는 영향을 말한다.

(나) “농도 및 용량(Concentration/Dose)”이라 함은 실험동물에 노출되는 공기 중 시험물질의 농도를 나타내며 단위는 노출되는 공기의 단위부피당 시험물질의 양 (mg/L, 에어로졸 및 증기의 경우) 또는 시험물질의 부피(ppm, 가스의 경우)를 말한다.

- (다) “무영향관찰농도(NOAEC, No observed adverse effect concentration)”이라 함은 시험물질이 투여되었을 때 악영향을 나타내지 않는 최대농도를 말한다.
- (라) “에어로졸(Aerosol)”은 기체중에 고체 또는 액체형태의 입자가 분산되어 있는 것을 의미하며, dust, fume, smoke, mist, fog, smog, cloud 등을 포함한다.
- (마) “기관지폐포세척(BAL, Bronchoalveolar lavage)”이라 함은 기관지에 튜브를 통해 식염수를 주입하고 폐포 내에 차 있는 세포 및 물질을 획득하기 위한 세척 또는 세척액을 말한다.
- (바) “동물호흡영역(Animal breathing zone)”이라 함은 실험동물이 호흡하는 공간을 말한다. 온도 및 습도 측정 시 기준이 되는 지점이다.
- (사) “최대내성농도(MTC, Maximum tolerated concentration)”라 함은 실험동물을 죽이지 않는다고 알려진 물질의 최대 농도(DL₀: Dominant Lethal 0%)를 말한다.
- (아) “부형제(Vehicle)”라 함은 시험대상 물질이 실험동물에 용이하게 투여되도록 시험 물질을 혼합, 분산, 용해시키는데 이용되는 물질을 말한다.
- (자) “검체”라 함은 검사나 분석 또는 보관을 위해 시험계로부터 얻어진 것을 말한다.
- (차) “대조물질”이라 함은 시험물질과 비교할 목적으로 시험에 사용되는 물질을 말한다.
- (카) “위성군(Satellite group)”이라 함은 시험물질의 투여 종료 후 시험물질에 기인한 독성증상이 지연, 유지 또는 회복되는 지를 확인하기 위하여 필요시 추가하는 동물군을 말한다.
- (2) 기타 이 지침에서 사용하는 용어의 정의는 특별한 규정이 있는 경우를 제외하고는 국립환경과학원 고시에서 규정한 유해·위험성시험방법에서 정하는 바에 의한다.

4. 시험방법

4.1 시험원리

대조군 및 최소 3개 용량의 시험군에 시험물질을 28일간 반복 흡입 노출시켜 노출기간 동안 동물의 독성 징후를 관찰하고 시험 종결 후 생존 동물에 대해 부검 및 병리학적 분석을 통하여 시험물질의 흡입 노출에 의한 독성 가능성을 평가 한다.

4.2 실험동물

- (1) 실험동물로 선호되는 설치류 종은 랫드이다. 생후 7~9주령 미만의 건강한 수컷과 임신 및 출산의 경험이 없는 암컷을 사용한다. 만약 다른 종의 설치류를 사용하는 경우에는 그 근거와 적정성을 제시하여야 한다.
- (2) 체중은 각 성별 평균 체중의 $\pm 20\%$ 이내여야 한다. 동물은 시험 전 최소한 5일 동안 실험실 조건에서 순화한 후 무작위로 시험군과 대조군에 할당한다. 실험동물은 개별로 표시하며, 각 노출 용량 별 최소 10마리(암컷 5마리, 수컷 5마리)를 사용한다.
- (3) 동물의 사용을 최소화하고 시험의 질적 수준을 향상시키기 위하여 시험물질에 대한 이용 가능한 모든 정보를 활용한다. 빈사상태의 동물이나 질병 및 고통이 지속되는 동물은 인도적으로 안락사 시킨다.

4.3 사육조건

- (1) 동물실험실의 온도는 $22\pm 3^{\circ}\text{C}$, 습도는 30~70%가 유지되도록 한다. 조명은 12 시간 간격으로 점멸한다. 사료는 일반적으로 널리 쓰이는 것을 사용하며, 음용수는 자유로이 섭취시킨다.
- (2) 비부로 노출되는 실험동물은 순화기간 동안 노출튜브에 대한 적응훈련이 필요하다. 전신 노출되는 실험동물은 노출되는 동안 개별적으로 사육하며, 노출 시 실험동물의 피모를 통한 다른 동물로의 오염을 방지한다.

4.4 흡입챔버

- (1) 흡입챔버는 시험의 목적과 시험물질의 상태를 고려하여 결정한다. 선호되는 챔버 형태는 비부 노출형으로 액체나 고체 에어로졸, 응결되어 에어로졸을 형성할 수 있는 증기에 대해서는 비부 노출을 우선한다.
- (2) 전신 노출형을 사용할 경우에는 그 정당성을 제시 하여야 한다. 챔버 내에서 안정한 상태를 유지하기 위해 실험동물의 총 체적은 챔버용적의 5% 이내로 한다.

5. 독성시험

5.1 한계농도시험

- (1) 한계시험의 최고농도는 다음의 사항을 고려하여 정한다.
 - (가) 최대 달성 가능 농도
 - (나) 적절한 산소 공급을 유지해야 할 필요성
 - (다) 동물복지
- (2) 자료에 기반한 한계농도가 별도로 없다면 아래와 같이 유엔 화학물질의 분류 및 표지에 관한 세계 조화 시스템의 급성 한계농도를 사용할 수 있다.
 - (가) 에어로졸 5 mg/ℓ
 - (나) 증기 20 mg/ℓ
 - (다) 가스 20,000 ppm
- (3) 가스상 물질이나 휘발성이 매우 높은 물질을 시험할 경우 이 한계를 초과할 필요가 있다면 그 정당성을 입증한다.

- (4) 한계농도에 대한 평가는 동물이 느끼는 심각한 스트레스나, 사망 없이 자료의 해석이 모호하지 않는 독성결과를 도출하는 수준이어야 한다.

5.2 용량 설정시험

- (1) 본시험을 수행하기 전 충분한 정보가 없을 경우 용량 설정시험 실시를 권장한다. 용량 설정시험을 통하여 입자크기의 분석방법, 입경분포, 독성기전, 임상병리, 조직병리, 호흡능력, 폐세척액 측정 등 본시험에 필요한 기술적인 결과자료를 얻을 수 있으며, 가장 민감한 종말점을 예측할 수 있다.
- (2) 용량 설정시험은 대조군과 하나 또는 그 이상의 농도군으로 구성되며, 시험의 목적에 따라 각 군당 5마리 이하의 수컷과 암컷을 사용하며, 노출기간은 5일 이상으로 14일을 초과하지 않는다.
- (3) 농도범위를 설정할 때에는 물질의 구조 활성관계 및 화학적 유사성을 포함하여 이 용할 수 있는 모든 자료를 검토한다.

5.3 본시험

- (1) 본시험은 음성(공기)대조군 또는 용매 대조군을 포함하여 최소 3개의 농도단계로 구성한다. 대조군은 시험군과 동일한 방법으로 취급한다. 물을 용매로 사용할 경우에는 상대습도가 동일한 공기에 노출시킨다.
- (2) 시험물질의 특성에 따라 옵션 A와 옵션 B의 두 가지 시험방법으로 나누어진다. 옵션 A는 일반적인 화학물질(가스, 증기, 에어로졸 또는 이들의 혼합물)에 활용하고, 옵션 B는 폐내 침착 가능성이 있는 시험물질에 활용한다. 옵션 A 또는 옵션 B의 선택은 시험책임자의 판단에 따른다.
- (3) 각 시험군은 최소 수컷 5마리와 암컷 5마리의 설치류로 구성되며, 시험물질의 노출은 1일 6시간, 1주 5일, 4주 동안 실시한다(총 시험기간은 적어도 28일의 기간을 실시한다).

- (4) 고농도는 독성영향이 나타나는 농도이어야 하지만 동물을 죽음에 이르게 하거나, 독성평가에 장애가 되는 농도를 선택하여서는 아니 된다. 중농도는 고농도와 저농도 사이의 독성영향을 나타내는 농도로 설정한다. 저농도는 시험기간 동안 어떤 독성영향도 나타나지 않거나, 아주 작은 영향을 나타낼 것으로 예측되는 농도로 설정한다.
- (5) 성별에 따라 시험물질의 민감도가 다르다면, 다른 농도로 노출시킬 수 있다. 랫드 이외의 설치류를 비부 노출형 챔버에 노출시킨다면, 종 특이성에 따른 스트레스가 최소화 될 수 있도록 보정하고, 최대노출기간을 조정한다. 1일 6시간 보다 적게 노출됐을 때 또는 더 많은 시간 노출시켰을 때에는 관련 근거를 제공해야만 한다.
- (6) 시험물질이 노출되는 시간에는 사료공급을 중단하고(6시간 미만일 경우) 노출이 끝나면 제공한다. 전신노출일 경우의 음용수는 24시간 공급한다.

5.4 중간 부검

본 시험 노출기간 동안 중간 부검이 계획된다면, 동물 수는 증가되어야 한다. 중간 부검을 사용하기 위한 근거가 제공되어야 하며 통계 분석이 고려되어야 한다.

5.5 위성군

- (1) 시험물질의 노출에 의한 회복성, 지속성, 독성의 지연성 발현 또는 폐침착 등을 확인하기 위하여 추가적으로 위성군을 이용한 시험을 실시할 수 있다. 위성군의 예시는 이 지침의 부록을 참조할 수 있다.
- (2) 모든 위성군은 본 시험과 동일한 농도로 동시에 노출된다.
- (3) 폐침착 가능성이 있는 난용성(poorly soluble) 고체 에어로졸시험을 위한 폐침착 시험과 기관지폐포세척액 분석을 할 수 있는 위성군 1개 또는 2개를 들 수 있다.

5.6 노출조건

5.6.1 노출농도

실험동물은 가스, 증기, 에어로졸 및 그것의 혼합물로 된 시험물질에 노출 시킨다. 시험물질의 물리적 상태는 시험물질의 물리화학적 성상, 선정된 농도 및 취급과정에서 나타나는 물리적 형태에 의해 결정된다.

5.6.2 부형제를 이용한 시험물질 준비

시험물질은 부형제 없이 시험하는 것이 가장 이상적이지만, 만약 부형제를 사용해야 한다면, 적당한 시험물질의 농도 그리고 입자 크기로 만들어야 한다. 부형제로서는 물이 가장 적당하며, 다른 물질을 부형제로 사용한다면, 부형제의 안정성을 검토해야 한다.

5.7 노출 모니터링

5.7.1 기류

챔버를 통해 들어오는 공기의 유량은 농도의 안정성을 확보하기 위하여 세심하게 조절하여야 한다. 유량은 노출 시간 동안 적어도 한 시간에 한번은 기록하여야 한다. 비부노출형 챔버를 사용할 경우에는 재 호흡을 방지하기 위한 특별한 고려가 요구된다. 챔버 내 산소농도는 19% 이상, 이산화탄소 농도는 1% 이하가 되어야 한다.

5.7.2 챔버 내 온도 및 상대습도

챔버 내 온도는 $22\pm 3^{\circ}\text{C}$, 상대습도는 30%~70%가 되도록 하여야 한다. 온도 및 습도는 실험동물이 호흡하는 영역에서 측정하여야 하며, 매 시간 측정하여야 한다.

5.7.3 명목농도(Nominal concentration)

명목농도는 흡입챔버 시스템을 통과한 총 공기량에 대해 발생된 시험물질의 질량비로 나타낸다.

5.7.4 분석농도(Analytical concentration)

- (1) 호흡영역 내에서 시험물질의 분석농도를 측정한다. 매우 복잡한 혼합물은 각 상태(phase) (가스/증기 및 에어로졸)의 최소 1개 지표물질(분해물질 또는 활성물질)을 선택하여 측정한다. 제형형태의 혼합물질은 전체 제형에 대한 분석농도를 측정한다.
- (2) 노출 공기를 일정하게 유지한다. 시험물질 농도는 각 노출일 단위로 농도별 최소 3회 측정한다. 시험물질의 챔버 평형을 달성할 때까지 시간(t_{95})을 계산하여 기록한다. 분석농도는 가스 및 증기의 경우 평균 챔버농도에서 $\pm 10\%$, 액체 및 고체 에어로졸은 $\pm 20\%$ 를 유지한다.

5.7.5 입자의 크기 분포

- (1) 하부기도에 충분한 노출을 위하여 렫드를 기준으로 에어로졸의 공기역학질량평균입경(Mass median aerodynamic diameter, MMAD)의 범위는 $\leq 2 \mu\text{m}$, 기하표준편차는 1~3으로 가능한 조건을 충족해야 한다. 이러한 수준에 도달하지 못하였을 경우에는 그것을 충족시키기 위해 취한 노력에 대한 설명을 포함하여 정당성을 보고서에 기술하여야 한다.
- (2) 입자의 크기 분포는 노출기간 동안 농도별 최소한 주 1회 이상 측정한다. 측정 장비들은 측정 결과의 통일성과 회수효율이 입증되어야 한다. 증기가 응축되어 에어로졸을 형성할 가능성이 있거나 입자가 검출되면 입자크기를 측정한다.
- (3) 나노물질에 의해 생성된 에어로졸은 응집되어 나노 및 마이크로 크기의 입자를 형성할 수 있다. 따라서 정량적 입자노출(즉, 입자계수, 크기분포 또는 입자질량)을 측정하는 적어도 2가지 다른 방법이 사용될 수 있다. 또한 주사전자현미경(SEM) 또는 투과전자현미경(TEM) 검사를 통해 나노물질 등의 입자 크기 및 모양을 주기적으로 확인할 수 있다.

5.8 동물실험

5.8.1 관찰

- (1) 실험동물은 노출 전 및 노출 이후에 임상적 관찰을 실시하여 개별적으로 기록을 남겨야 한다. 비노출일 또는 노출 후 관찰종료 이후 기간에는 최소 1일 1회 관찰한다. 실험동물들의 사망을 발견하거나, 인도적 사유로 안락사 시켰을 때 가능한 명확한 시간을 기록하고, 부검하여 원인을 확인한다. 사망률은 물론 신경증상, 안구검사소견 등 모든 동물에 대하여 기록하고, 독성의 발현시간이나 진행 상태에 관해서도 기록한다.
- (2) 실험동물의 체중은 첫 번째 노출 당일 측정하여 기록하고 그 이후에는 주당 2회 측정한다. 첫 2주 노출 동안에 특별한 체중 변화가 관찰되지 않을 경우, 남은 기간 동안 주 1회 측정한다. 회복기간 내의 회복군의 체중은 주 단위로 측정한다. 노출이 종료되고 안락사하기 직전에 모든 동물의 체중을 측정하여 기록한다.
- (3) 사료 소비량은 주 단위로 측정한다. 음수량은 측정이 필요하다고 판단되면 측정할 수 있다.

5.8.2 혈액검사

- (1) 혈액학적 검사는 실험동물의 혈액을 이용하여 측정한다. 적혈구수(Erythrocyte count), 총 백혈구수(Total leukocyte count), 혈소판 수(Platelet count) 등의 혈액학적 지표에 대하여 부록 2와 같은 항목을 검사한다. 단, 폐침착 측정에 사용되는 회복군 동물에 대해서는 임상병리학적 평가가 요구되지 않지만, 필요에 따라 추가할 수 있다.
- (2) 혈청생화학적 검사는 실험동물의 혈액에서 분리한 혈청을 이용하며 총 콜레스테롤(Total cholesterol), 글루코스(Glucose), 알부민(Albumin), 칼슘 이온(Calciumion ion), 나트륨 이온(Sodium ion) 등의 생화학적 지표를 부록 3과 같은 항목을 검사한다.

5.8.3 소변검사

소변검사는 일반적인 시험에서는 요구되지 않지만, 필요한 경우 유용한 정보를 얻을 수 있다.

5.8.4 기관지폐포세척 검사

노출 종료 후 부검 시 기관지폐포세척 검사를 실시한다. 일반적으로 우측 폐를 이용하여 아래의 <표 1>의 항목을 검사한다.

<표 1> 검사항목

- 젖산탈수소효소(lactate dehydrogenase, LDH)
- 총단백질(total protein) 또는 알부민(albumin)
- 총세포수(total cell counts)
- 폐대식세포(macrophage) 수, 림프구(lymphocyte) 수, 호중구(neutrophils) 수, 호산구(eosinophils) 수

5.8.5 폐침착시험(Lung burden)

난용성고체 에어로졸을 시험할 경우, 수컷 5마리의 우측 폐를 사용하여 폐침착 시험을 수행한다. 옵션 B에서 수행되며 노출 종료 후 24시간 내에 수행되는 본시험과 위성군을 둘 수 있다.

5.8.6 안검사

검안경 또는 유사한 장치를 이용하여 대조군과 고농도군을 비교하며 검사한다. 이상 증상이 발견될 경우 모든 군에 대하여 안검사를 실시한다.

5.8.7 병리학적 검사

- (1) 시험에 사용된 모든 동물(도중에 사망 하거나, 인도적 사유로 안락사 시킨 동물 포함)을 부검하여 각 장기별 이상 유무를 육안 관찰한다. 또한 실험동물로부터 채취한 폐, 심장, 간장, 비장, 신장, 부신, 뇌, 정소, 난소, 흉선 및 자궁 등에 대해 중량을 측정한다.

- (2) 조직병리학적 검사는 전자현미경 혹은 광학현미경을 이용하여 검사하며, 아래의 <표 2>의 장기에 대해서 실시한다. 최고 농도군과 대조군에 대해서 검사하며, 고농도군에서 조직학적 변화가 관찰된 장기에 대해서는 다른 농도군에서도 조직학적 관찰을 해야 한다. 특히 흡입노출의 경우 비강, 인두, 후두 및 기관지 등 호흡기는 반드시 포함되어야 한다.

〈표 2〉 검사대상 장기의 종류

부신, 골수, 뇌, 심장, 신장, 후두, 간, 폐, 림프절(폐문부, 유입구로부터 먼 쪽) 비인두 조직(최소한 4 개 부위; 1 개 비인두관 및 비강연관조직(Nasal Associated Lymphoid Tissue, NALT)), 식도, 후두망울, 난소, 정낭, 척수(경부, 흉부 중간부위 및 요추), 비장, 위, 고환, 흉선, 갑상선, 기도, 방광, 자궁, 육안병변 부위

5.8.8 기타

시험 중 사망한 동물에 관해서는 그 원인을 조사한다. 또한 시험물질 투여기간 중 임상적 상태가 매우 좋지 않아서 사망 직전에 있는 동물은 부검하여 원인을 확인한다. 기타 필요한 검사항목이나 사항에 대해서는 추가적으로 검사 할 수 있다.

6. 시험결과 및 보고

6.1 결과의 처리는 아래와 같은 방법으로 한다.

- (1) 결과는 표로 요약한다. 체중, 사료섭취량, 임상병리학, 장기 중량 및 조직병리학에 관한 개별 동물자료가 제시되어야 한다.
- (2) 각 시험군 별로 동물의 수, 특정 독성 징후를 나타내는 동물의 수, 시험 중에 죽었거나 안락사 동물의 수, 개별동물의 사망 시각, 독성 영향 및 가역성에 대한 설명 및 시간 과정, 부검 결과를 표 형태로 요약한다. 시험결과는 연구계획에서 선택한 통계적 방법으로 평가한다.

6.2 시험결과와 보고서에는 다음의 항목이 포함되어야 한다.

6.2.1 시험기관 및 시험물질에 대한 정보

(1) 시험기관의 명칭 및 소재지

(2) 시험책임자 및 담당자

(3) 시험물질 정보

(가) 알려져 있는 경우 식별 자료 및 CAS 번호

(나) 물리적 성상과 순도

(다) 시험의 실시와 관련되는 물리 화학적 특성 : 용해도 특성, 녹는점, 끓는점, pH(적절한 경우), 기압자료(가능한 경우)

6.2.2 용매/보조제 종류

물 이외의 용매 사용 시 적정성 자료

6.2.3 실험동물

(1) 동물의 종/계통

(2) 동물의 수, 주령, 성별

(3) 구입처, 사육환경, 사료

(4) 동물군 분리시의 무작위 추출방법

(5) 케이지 당 동물수

(6) 사료, 검역, 질환에 대한 처치를 포함한 사전 시험 조건

6.2.4 시험조건

- (1) 시험물품의 준비 내역
- (2) 시험물질 노출에 사용한 장비에 대한 설명
- (3) 챔버 내 온도, 습도, 기류를 모니터링하기 위해 사용한 장비 내역
- (4) 챔버 내 농도 및 입자크기 분포 결정용 시료 수집 장비 내역
- (5) 사용한 화학적 분석 방법의 내역 및 방법 검증
- (6) 무작위 추출방법
- (7) 사료 및 음용수의 내역
- (8) 시험농도 선택에 대한 이론적 근거 무

6.2.5 흡입챔버

- (1) 흡입챔버에 대한 상세한 설명
- (2) 시험물질 및 시험 대기환경 형성, 동물 노출용으로 사용된 장비의 구입처와 설명
- (3) 온도, 습도, 입자크기 및 실제 농도를 측정하기 위한 장비
- (4) 조절용으로 사용된 공기와 시스템의 출처
- (5) 동질적 시험환경을 보장하기 위해 장비의 교정에 사용된 방법
- (6) 차압(양압 및 음압)
- (7) 챔버 당 노출 포트(비부노출용), 챔버 내 동물의 위치(전신노출용)

- (8) 시험공기환경의 안정성
- (9) 온도 및 습도 센서의 위치와 챔버 내 시험공기환경의 시료 추출
- (10) 공급된/추출된 공기의 처리
- (11) 송풍량, 송풍량/노출 포트(비부노출 용), 또는 동물 하중/챔버(전신)
- (12) 흡입챔버 내에서 시험물질이 평형 되기까지 시간(t95)
- (13) 시간 당 용적 변경의 수
- (14) 해당하는 경우 계측 장치

6.2.6 노출 자료

- (1) 시험물질의 농도는 질량 단위(mg/ℓ, mg/m³ 등)로 보고
- (2) 본 시험에서 표적 농도 선택에 대한 이론적 근거
- (3) 명목농도
- (4) 동물의 호흡 영역에서 채취한 분석농도
- (5) 계산방법을 포함한 입자크기 분포, MMAD, 기하표준편차, 개별입자 크기 분석

6.2.7 결과

- (1) 체중/체중 변화
- (2) 사료섭취량과 음용수섭취량(필요시)
- (3) 독성 징후를 포함한 성별 및 용량별 독성 반응 자료

- (4) 시험 중 사망한 시간 또는 시험 종료 시 동물의 생존 여부
- (5) 임상 관찰의 성격, 심각도와 지속시간(가역성 여부와 상관없이)
- (6) 혈액학적 시험 결과
- (7) 임상 생화학 시험 결과
- (8) 기관지폐포세척액(bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 분석 결과
- (9) 폐침착 분석 결과 (측정시)
- (10) 안락사 당시의 체중 및 장기 중량 측정 자료
- (11) 부검 소견
- (12) 모든 병리조직학적 조사결과 및 설명
- (13) 챔버 내 온도, 습도, 공기 유량
- (14) 챔버의 명목 및 분석농도 자료
- (15) 입자 크기 분포 및 MMAD의 계산 등을 포함한 입자크기 자료
- (16) 결과의 적절한 통계 처리

<부록 1> 시험설계 예시

옵션 A (가스, 증기, 액체에어로졸 및 용해성 고체에어로졸)

노출군	본시험	위성군	총 동물수
	PEO-1	PEO-2	
대조군	조직병리(좌폐) + BAL(우폐) 암수 각 5마리	조직병리(좌폐) + BAL(우폐) 암수 각 5마리	20마리
저농도	조직병리(좌폐) + BAL(우폐) 암수 각 5마리	조직병리(좌폐) + BAL(우폐) 암수 각 5마리	20마리
중농도	조직병리(좌폐) + BAL(우폐) 암수 각 5마리	조직병리(좌폐) + BAL(우폐) 암수 각 5마리	20마리
고농도	조직병리(좌폐) + BAL(우폐) 암수 각 5마리	조직병리(좌폐) + BAL(우폐) 암수 각 5마리	20마리
동물수	총 40마리	총 40마리	총 80마리

BAL, bronchoalveolar lavage, 기관지폐포세척

PEO, post-exposure observations, 노출 후 관찰

PEO-1 : 노출 종료 후 1일 이내

PEO-2 : 노출 종료 후 임의의 기간 이내(시험책임자의 판단에 의해 기간 설정)

본시험은 필수 시험이지만 위성군은 선택사항임

옵션 B (난용성 고체에어로졸)

<본시험>

노출군	본시험		총 동물수
PEO-1			
대조군	조직병리(좌폐) + BAL(우폐) 암수 각 5마리	폐침착(우폐) + 기타(좌폐) 수컷 5마리	15마리
저농도	조직병리(좌폐) + BAL(우폐) 암수 각 5마리	폐침착(우폐) + 기타(좌폐) 수컷 5마리	15마리
중농도	조직병리(좌폐) + BAL(우폐) 암수 각 5마리	폐침착(우폐) + 기타(좌폐) 수컷 5마리	15마리
고농도	조직병리(좌폐) + BAL(우폐) 암수 각 5마리	폐침착(우폐) + 기타(좌폐) 수컷 5마리	15마리
동물수	총 40마리	총 20마리	총 60마리

<위성군>

노출군	본시험			총 동물수
PEO-2		PEO-3		
대조군	조직병리(좌폐)+BAL(우폐) 암컷 5마리	조직병리(좌폐)+폐침착(우폐) 수컷 5마리	폐침착(우폐)+기타(좌폐) 수컷 5마리	15마리
저농도	조직병리(좌폐)+BAL(우폐) 암컷 5마리	조직병리(좌폐)+폐침착(우폐) 수컷 5마리	폐침착(우폐)+기타(좌폐) 수컷 5마리	15마리
중농도	조직병리(좌폐)+BAL(우폐) 암컷 5마리	조직병리(좌폐)+폐침착(우폐) 수컷 5마리	폐침착(우폐)+기타(좌폐) 수컷 5마리	15마리
고농도	조직병리(좌폐)+BAL(우폐) 암컷 5마리	조직병리(좌폐)+폐침착(우폐) 수컷 5마리	폐침착(우폐)+기타(좌폐) 수컷 5마리	15마리
동물수	총 40마리	총 20마리	총 60마리	

BAL, bronchoalveolar lavage, 기관지폐포세척

PEO, post-exposure observations, 노출 후 관찰

PEO-1 : 노출 종료 후 1일 이내

PEO-2 및 PEO-3 : 노출 종료 후 임의의 기간 이내(시험책임자의 판단에 의해 기간 설정)

본시험은 필수 시험이지만 위성군은 선택사항임

<부록 2> 혈액학적 검사항목

항 목

-
-
- ① 적혈구수(Erythrocyte count)
-
- ② 적혈구용적률(Haematocrit)
-
- ③ 혈색소 농도(Hemoglobin concentration)
-
- ④ 평균적혈구혈색소(Mean corpuscular haemoglobin)
-
- ⑤ 평균적혈구용적(Mean corpuscular volume)
-
- ⑥ 평균적혈구혈색소농도(Mean corpuscular haemoglobin concentration)
-
- ⑦ 망상적혈구수(Reticulocytes)
-
- ⑧ 백혈구수(Total leukocyte count)
-
- ⑨ 백혈구감별계산(Differential leukocyte count)
-
- ⑩ 혈소판(Platelet count)
-
- ⑪ 혈액응고능(Clotting potential): 프로트롬빈 시간(Prothrombin Time) 또는 부분활성트롬보플라스틴시간(Activated partial thromboplastin time)
-

<부록 3> 혈액생화학적 검사항목

항 목

-
-
- ① 포도당(Glucose)

 - ② 총 콜레스테롤(Total cholesterol)

 - ③ 중성지방(Triglyceride)

 - ④ 혈액요소질소(Blood urea nitrogen)

 - ⑤ 총 빌리루빈(Total bilirubin)

 - ⑥ 크레아티닌(Creatinine)

 - ⑦ 총단백질(Total protein)

 - ⑧ 알부민(Albumin)

 - ⑨ 글로불린(Globulin)

 - ⑩ 알라닌아미노전이효소(Alanine aminotransferase)

 - ⑪ 아스파테이트아미노전이효소(Aspartate aminotransferase)

 - ⑫ 알칼리인산분해효소(Alkaline phosphatase)

 - ⑬ 칼륨(Potassium)

 - ⑭ 나트륨(Sodium)

 - ⑮ 칼슘(Calcium)

 - ⑯ 무기인(phosphorus)

 - ⑰ 염소(Chloride)

지침 개정 이력

□ 개정일 : 2022. 12.

- 개정자 : 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 서동석
- 개정사유 : OECD 가이드라인 및 국립환경과학원 고시 내용 반영
- 주요 개정내용
 - 용어의 정의, 중간 부검, 나노물질 관련 입자 분포 등 국립환경과학원 고시(화학물질의 시험방법에 관한 규정) 내용과 일치하도록 수정