

2 急性经口毒性试验

Acute Oral Toxicity Test

1 范围

本规范规定了动物急性经口毒性试验的基本原则、要求和方法。
本规范适用于化妆品原料安全性毒理学检测。

2 试验目的

急性经口毒性试验是评估化妆品原料毒性特性的第一步，通过短时间经口染毒可提供对健康危害的信息。试验结果可作为化妆品原料毒性分级和标签标识以及确定亚慢性毒性试验和其他毒理学试验剂量的依据。

3 定义

3.1 急性经口毒性 acute oral toxicity

一次或在 24h 内多次经口给予实验动物受试物后，动物在短期内出现的健康损害效应。

3.2 经口 LD₅₀ 半数致死量 medium lethal dose

经口一次给予受试物后，引起实验动物总体中半数死亡的毒物的统计学剂量。以单位体重接受受试物的重量(mg/kg 或 g/kg)来表示。

4 试验的基本原则

以管饲法经口给予各试验组动物不同剂量的受试物，每组用一个剂量，染毒剂量的选择可通过预试验确定。染毒后观察动物的毒性反应和死亡情况。试验期间死亡的动物要进行尸检，试验结束时仍存活的动物要处死并进行尸检。本方法主要适用于啮齿类动物的研究，但也可用于非啮齿类动物的研究。

5 试验方法

5.1 受试物

受试物应溶解或悬浮于适宜的介质中，建议首选水，其次是植物油(如玉米油)，或考虑使用其他介质（如羧甲基纤维素、明胶、淀粉等）。对非水溶性介质，应了解其毒理特性，否则应在试验前先确定其毒性。每次经口染毒液体的最大容量取决于实验动物的大小，对啮齿类动物所给液体容量一般为 1mL/100g，水溶液可至 2mL/100g。通过调整受试物溶液浓度使各剂量组经口染毒的容量一致。

5.2 实验动物和饲养环境

首选健康成年大鼠和小鼠，也可选用其他敏感动物。使用雌性动物应是未孕和未曾产仔的。实验动物体重之间相差不超过平均体重的 20%。试验前动物要在实验动物房环境中至少适应 3—5d 时间。

实验动物及实验动物房应符合国家相应规定。选用标准配合饲料，饮水不限制。

5.3 剂量水平

根据所选方法的要求，原则上应设 4—6 个剂量组，每组动物一般为 10 只，雌雄各半。

各剂量组间距大小以兼顾产生毒性大小和死亡为宜，通常以较大组距和较少量动物进行预试。如果受试物毒性很低，也可采用一次限量法，即用 10 只动物（雌雄各半）口服 5000mg/kg 体重剂量，当未引起动物死亡，可考虑不再进行多个剂量的急性经口毒性试验。

5.4 试验步骤

5.4.1 试验前，实验动物禁食过夜，不限制饮水。若采用代谢率高的其他动物，禁食时间可以适当缩短。

5.4.2 正式试验时，称量动物体重，随机分组，然后对各组动物用管饲法一次进行染毒，若估计受试物毒性很低，一次给予容量太大，也可在 24h 内分 2—3 次染毒，但合并作为一次剂量计算。染毒后继续禁食 3 h—4 h。若采用分批多次染毒，根据染毒间隔长短，必要时可给动物一定量的食物和水。

5.4.3 染毒后，对每只动物都应有单独全面的记录，染毒第 1 d 要定时观察实验动物的中毒表现和死亡情况，其后至少每天进行一次仔细的检查。详细记录被毛和皮肤、眼睛和粘膜，呼吸、循环、自主神经和中枢神经系统、肢体活动和行为等改变。特别注意是否出现震颤、抽搐、流涎、腹泻、嗜睡和昏迷等症状。应记录毒作用体征出现和消失的时间和死亡时间。

5.4.4 观察期限一般不超过 14d，但观察时间并非一成不变，要视动物中毒反应的严重程度、症状出现快慢和恢复期长短而定。若有死亡延迟迹象，可延长观察时间。

观察期内存活动物每周称重，观察期结束存活动物应称重，处死后进行尸检。

5.4.5 对实验动物进行大体解剖学检查，并记录全部大体病理改变。对死亡和存活 24h 和 24h 以上动物并存在大体病理改变的器官应进行病理组织学检查。

5.4.6 可采用多种方法测定 LD₅₀，建议采用一次最大限度试验、霍恩氏法、上-下法、概率单位-对数图解法和寇氏法等。

5.5 试验结果评价

评价试验结果时，应将 LD₅₀ 与观察到的毒性效应和尸检所见相结合考虑，LD₅₀ 值是受试物毒性分级和标签标识以及判定受试物经消化道摄入后引起动物死亡可能性大小的依据。引用 LD₅₀ 值时一定要注明所用实验动物的种属、性别、染毒途径、观察期限等。评价应包括动物接触受试物与动物异常表现（包括行为和临床改变、大体损伤、体重变化、致死效应及其他毒性作用）的发生率和严重程度之间的关系。

毒性分级见表 1。

表 1 经口毒性分级

LD ₅₀ (mg/kg)	毒性分级
≤50	高毒
51—500	中等毒
501—5000	低毒
>5000	实际无毒

6 试验结果的解释

通过急性经口毒性试验和 LD₅₀ 的测定可评价受试物的毒性。其结果外推到人类的有效性很有限。