KOSHA GUIDE

KOSHA GUIDE

KOSHA GUIDE

KOSHA GUIDE

KOSHA GUIDE
기술지원규정

화학물질의 혼합 만성독성/발암성시험에 관한 기술지원규정
E-T-7-2026

한국산업안전보건공단

기술지원규정은 산업안전보건기준에 관한 규칙 등 산업안전보건법령의 요구사항을 이행하는데 참고하거나 사업장 안전·보건 수준향상에 필요한 기술적 권고 규정임

기술지원규정의 개요

○ 개정자 : 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 흡입독성연구센터

○ 제정 경과
- 2014년 7월 산업독성분야 제정위원회 심의
- 2017년 9월 산업독성분야 제정위원회 심의(개정)
- 2025년 11월 보건·위생분야 전문위원회 심의(개정)
- 2026년 1월 표준제정위원회 본위원회 심의(개정)

○ 관련규격 및 자료
- “Combined Chronic Toxicity\Carcinogenicity Studies”, OECD Guideline for the testing of chemicals. TG453, Adopted 7st Sept 2009.

○ 관련법규, 규칙, 고시 등
- 산업안전보건법 제105조(유해인자의 유해성·위험성평가 및 관리)
- 산업안전보건법 시행규칙 제142조(유해성·위험성 평가대상 선정기준 및 평가방법 등)
- 고용노동부 고시 제2023-9호(화학물질의 분류·표지 및 물질안전보건자료에 관한 기준)
- 고용노동부예규 제203호(화학물질의 유해성·위험성 평가에 관한 규정)
- 국립환경과학원고시 제2025-26호(화학물질의 시험방법에 관한 규정)

○ 기술지원규정의 적용 및 문의
- 이 기술지원규정에 대한 의견 또는 문의는 산업안전포털 홈페이지(portal.kosha.or.kr)의 기술지원규정(KOSHA GUIDE) 소관 분야별 문의처 안내를 참고하시기 바랍니다.
- 동 규정 내에서 인용된 관련규격 및 자료, 법규 등에 관하여 최근 개정본이 있을 경우에는 해당 개정본의 내용을 참고하시기 바랍니다.

공표일자 : 2026년 1월 30일
제 정 자 : 한국산업안전보건공단 이사장

목 차

1. 목적 ····· 1

2. 적용범위 ····· 1

3. 용어의 정의 ····· 1

4. 시험의 준비 ····· 2

4.1 시험의 준비 ····· 2

4.2 초기 고려사항 ····· 3

5. 시험 방법 ····· 4

5.1 시험의 원리 ····· 4

5.2 시험 방법 ····· 5

6. 시험결과 및 보고 ····· 21

6.1 자료 ····· 21

화학물질의 혼합 만성독성/발암성시험에 관한 기술지원규정

1. 목적

이 규정은 산업안전보건령에 의거 화학물질 취급에 따른 건강장해에 관한 정보를 제공하기 위한 동물시험법으로 만성독성시험 및 발암성 시험을 통해 화학물질 또는 혼합물의 건강 유해성을 평가하는 것을 목적으로 한다.

2. 적용범위

이 규정은 산업안전보건령과 관련하여 화학물질의 건강유해성에 관한 자료 제공을 위한 만성독성시험 및 발암성 시험법에 적용한다.

3. 용어의 정의

(1) 이 규정에서 사용하는 용어의 뜻은 다음과 같다.

(가) “시험동물(Laboratory animals)”이란 건강한 동물로서 시험을 목적으로 사용되는 품종이 확실한 동물을 말하며, 설치류는 특정병원체부재(Specific pathogen free) 동물을 사용한다.

(나) “반복투여독성(Repeated dose toxicity)”이란 시험물질을 시험동물에 반복적으로 투여하여 중기간 및 장기간 내에 나타나는 영향을 말한다.

(다) “만성독성(Chronic toxicity)”이란 시험물질을 시험동물에 18~24개월 동안 반복투여하였을 때 시험동물에 나타나는 영향을 말한다.

(라) “발암성(Carcinogenicity)”이란 시험물질을 시험동물에 장기간 노출하였을 때 암(종양)의 질적, 양적 유발여부를 말한다.

(마) “흡입독성(Inhalation toxicity)”이란 기체, 휘발성 물질, 증기 및 에어로졸 물질을 함유하고 있는 공기를 시험동물에 흡입 노출시켰을 때 나타나는 영향을 말한다.

(바) “벤치마크용량(BMD, Benchmark-dose)”이란 용량-반응 모델을 근거로 계산되는 값으로 어떤 독성에 대해 사전에 정한 척도나 생물학적 영향의 변화가 대조군에 비해 유해한 영향이 나타나는 용량을 말한다.

(사) “무영향농도 (NOAEL, No observed adverse effect level, 이하 NOAEL이라 한다)” 이라 함은 시험물질이 투여되었을 때 악영향을 나타내지 않는 최대농도를 말한다.

(아) “무영향용량(No observed effect level, 이하 ”NOEL"이라 한다)“이란 독성시험의 노출량-반응시험에서 노출군과 대조군의 집단간 유해영향의 빈도나 영향성이 통계적 또는 생물학적으로 유의성 증가가 없는 노출량을 말한다.

(자) “최저독성량(Lowest-observed-adverse-effect-level)"이란 시험물질을 시험동물에 노출시켰을 때 시험동물에서 악영향을 감지할 수 있는 최소용량을 말한다.

(차) “독성동태(Toxicokinetics)"란 독성시험 수행 시 시험물질의 전신노출 정도를 평가하기 위하여 약물동태학적 자료를 산출하는 실험으로서, 시험물질의 노출도와 독성시험에서의 용량단계 및 시간경과와의 상관성을 밝히기 위한 실험을 말한다.

(카) “용량-반응(dose-response) 관계”란 화학물질의 노출량과 생체에서 나타나는 건강 영향과의 양-반응 관계를 말한다.

(타) “검체(specimen)”란 검사나 분석 또는 보관을 위해 시험계로부터 얻어진 것을 말한다.

(파) “대조물질(Control material)"이란 시험물질과 비교할 목적으로 시험에 사용되는 물질을 말한다.

(하) “회복군(Recovery group)"이란 본시험에서 시험물질 노출완료 후 시험물질에 의한 독성 변화의 지연성과 회복성을 검토하기 위해 구성하는 시험동물군을 말한다.

(2) 그 밖의 용어의 뜻은 이 규정에서 특별히 규정하는 경우를 제외하고는 산업안전보건법, 같은 법 시행령, 같은 법 시행규칙 및 고용노동부 고시에서 정하는 바에 의한다.

4. 시험의 준비

4.1 시험의 준비

4.1.1 주요 노출경로(경구, 경피, 흡입)의 선택은 시험물질의 물리화학적 특성 및 사람에서 가능한 주요 노출경로에 의하여 결정한다.

4.1.2 이 규정은 혼합 만성독성/발암성 시험에서 가장 자주 사용되는 경구 노출에 중점을 두었으며, 흡입 및 경피 시험에도 응용가능하다.

4.1.3 혼합 만성독성/발암성 시험은 전 생애에 걸친 반복노출과 같은 가능한 건강 유해성 정보를 제공할 것이며, 이 시험은 물질의 잠재적 발암성을 포함하는 물질의 독성영향 정보를 제공하고, 표적장기 및 축적 가능성을 나타낼 것이다.

4.1.4 NOAEL 추정치 및 비유전독성 발암물질인 경우 사람 노출에 대한 안전 기준을 제정하는데 사용될 수 있는 종양 반응 추정을 제공할 것이다.

4.1.5 이 시험 규정이 제시하는 만성 독성/발암성 시험의 목적은, 대조군과 비교하여, 신생물 증가, 악성 신생물 증가 비율 또는 신생물 생성 시간의 감소를 가져오는 화학물질의 발암원성을 확인, 신생물 생성 시간의 확인, 화학물질의 만성 독성 확인- 만성 독성 및 발암성의 표적 장기의 확인, 용량:반응 관계의 특성화, NOAEL 또는 벤치마크 용량(BMD)의 설정을 위한 출발점의 확인, 발암성 영향의 저용량 사람 노출 수준에의 외삽, 사람 노출 수준에서 만성 독성 영향에 대한 시험자료를 제공하는 것이다.

4.2 초기 고려사항

4.2.1 화학물질의 잠재적 발암원성 및 만성 독성 평가에서, 시험 물질에 대한 모든 사용 가능한 정보는, 그 독성을 더욱 효과적으로 시험할 수 있도록 시험의 설계에 초점을 맞춰서 동물 사용을 최소화하기 위해, 시험 수행 전에 시험기관에 의해 고려되어야 한다.

4.2.2 시험 설계를 뒷받침할 정보는 물질명, 화학구조 및 물리-화학적 성질이며, 작용 방식에 대한 모든 정보, 유전독성 시험을 포함하는 모든 in vitro 또는 in vivo 독성 시험의 결과, 예상 사용량 및 사람노출의 잠재성, 사용가능한 (Q)SAR 자료, 변이원성/유전독성, 발암성 및 기타 구조적으로 관련된 물질에 대한 독성학적 자료들, 사용 가능한 독성동태 자료 (단일 용량 및 또한 가능한 경우 반복 용량 동태) 및 다른 반복 노출 시험에서 얻은 자료들을 포함한다.

4.2.3 만성 독성/발암성의 결정은 반복 용량 28일 및/또는 90일 독성 시험에서 얻은 초기 독성 정보로 이루어져야 하며, 단기간 암 개시-촉진 시험은 또한 유용한 정보를 제공할 수 있다.

4.2.4 결과를 분석하는 가장 적절한 통계적 방법들은, 실험 설계 및 목적에서 주어지고, 시험의 시작 전에 확립되어야 하며, 통계가 생존을 위한 조정, 생존 기간에 비교한 축적 종양 위험의 분석, 종양 시간의 분석 및 하나 이상의 군의 조기 종료 사건의 분석에 포함되어야 하는 지를 초기에 고려해야 한다.

4.2.5 발암성 시험의 수행 시 동물이 진행성 임상증상을 보이고, 더욱 상태가 악화될 때, 동물을 인도적으로 도살할 지에 대한 정확한 결정을 내려야 하며, 이 결정은 전체 시험조건에 비교하여 이 동물의 유지로 얻는 정보의 가치를 고려해야 한다.

4.2.6 만약 동물을 그냥 두기로 결정했다면 관찰을 더 자주 해야 할 필요가 있으며, 또한 시험 결과에 악영향 없이 고통이나 스트레스를 줄이도록 잠시 투여 중지도 가능할 수 있다.

4.2.7 만성 독성 및 발암성 시험에서 용량 선택의 원리에 대한 규정은, 적절한 용량수준을 선택하는데, 한편으로 유해성 스크리닝 및 저용량 반응의 성격 및 다른 것과의 상관성 간에 조화가 있어야 하며, 이것은 특히 이 혼합 만성 독성/발암성 시험의 경우에 적합하다.

4.2.8 이 혼합 시험은 시간, 비용 및 동물 사용을 줄이는데 더 큰 효율성을 제공하고, 만성 단계 또는 발암성 단계에서 자료의 품질저하가 없도록 하는데 유용하다.

5. 시험방법

5.1 시험의 원리

5.1.1 이 시험 설계는 두 개(만성 단계 및 발암성 단계)의 병렬적 단계들로 구성된다.

5.1.2 시험물질은 일반적으로 경구로 투여되지만, 흡입 또는 경피도 또한 적합할 수 있다.

5.1.3 만성 단계의 경우, 시험물질은 매일 여러 군의 시험동물에, 한 군에 한 용량씩, 정해진 용량을 투여하고, 일반적으로 12개월 기간이지만, 더 길거나 짧은 기간도 규정상 요구사항에 따라 선택 가능하다.

5.1.4 이 기간은 노인성 변화의 교란 효과가 없이 축적된 독성의 어떤 영향이 나타나기 시작할 수 있기에 충분하도록 길게 선택되어야 한다.

5.1.5 이 시험 설계는 또한 하나 이상의 중간 도살 (예로서 3-6개월) 및 동물의 추가군의 제공이 포함될 수 있다.

5.1.6 발암성 단계에서, 시험물질은 매일 여러 군의 시험동물이 그 생애 중 주된 기간에 투여되며, 두 단계의 동물들은 독성의 징표와 신생물 병소의 발달에 밀접하게 관찰된다.

5.1.7 시험 기간 동안 죽거나 도살된 동물들은 부검되고, 시험의 결론으로 생존한 동물들도 도살되고 부검된다.

5.2 시험방법

5.2.1 동물 종의 선택

(1) 이 규정은 주로 설치류에서 만성 독성 및 발암성의 확인 평가를 다루며, 비설치류 종의 사용은 사람에의 건강 영향을 예견하기에 더욱 상응할 것으로 제안되는 가능한 자료들이 있을 때 고려될 수 있다.

(2) 종의 선택은 검증되어야 한다. 선호되는 설치류 종은, 랫트이지만, 다른 설치류 종들, 예를 들어 마우스도 사용될 수 있다.

(3) 비록 발암성 시험에서 마우스의 사용이 제한적이지만, 일부의 현행 발암성시험 규정 프로그램들에서 마우스는 여전히 요구된다.

(4) 랫트와 마우스는 상대적으로 짧은 수명, 약학 및 독성학 연구에서 그 광범위한 사용, 종양 유도의 민감성 및 충분히 특성화된 계통의 사용가능성으로 인해 실험모델로 선호된다.

(5) 비설치류 종에서 만성 독성/발암성 시험의 설계와 수행이 필요한 경우, 이 규정과 OECD TG 409, 비설치류에서 90일 반복투여 경구독성에서 제시한 원리를 근거로 해야 한다.

(6) 실험 계통에 일반적으로 사용되는 젊고 건강한 성체 동물을 사용한다.

(7) 혼합 만성 독성/발암성 시험은 단기간 예비시험(들)에서 사용된 것과 같은 계통 및 같은 원천의 동물들로 수행해야 한다.

(8) 비록이 계통 및 원천의 동물들이 장기간 시험의 생존 기준에 일반적으로 받아들여지기에 문제가 있다고 해도, 장기간 시험의 수용가능 생존율을 갖는 동물 계통의 사용을 고려해야 한다.

(9) 암컷은 새끼를 낳아보지 않고 임신하지 않은 것이어야 함

5.2.2 사육과 식이 조건들

(1) 동물들은 개별적으로 사육될 수 있거나, 같은 성별의 작은 군으로 사육될 수 있음다. 개별 사육은 과학적으로 타당한 경우에만 고려되어야 한다.

(2) 케이지는 케이지 배치의 효과가 가능한 최소화되는 방법으로 놓아져야 한다.

(3) 실험 동물실의 온도는 22℃ (±3℃)여야 한다.

(4) 비록 상대습도가 적어도 30%이고 청소 동안 이외에는 70%를 넘지 않게 해야 하지만, 목표는 50-60%여야 한다.

(5) 조명은 12시간 간격으로 점멸하도록 조정한다.

(6) 식이는, 관습적인 실험용 식이가 음용수의 무제한 제공과 함께 사용될 수 있다.

(7) 식이는 시험 종의 모든 영양 요구 및 오염물의 성분에 합당한 지 시험되어야 하고, 살충제 성분, 잔류 유기 오염물, 파이토에스트로겐, 중금속 및 마이코톡신에 제한하지 않으며, 시험의 결과에 영향을 줄 수 있는 것들은 가능한 낮아야 한다.

(8) 영양 및 식이 오염 수준에 대한 분석 정보는 주기적으로 생산되어야 하고, 적어도 시험의 시작 및 사용되는 뱃치의 교환 시에, 최종보고서에 포함되어야 한다.

(9) 시험에 사용되는 음용수에 대한 분석 정보는 유사하게 제공되어야 한다.

(10) 식이의 선택은 시험물질의 적당한 혼합 및 시험 물질이 섭이경로로 투여될 때 동물에 요구되는 영양 요구를 만족할 필요성에 영향을 받을 수 있다.

5.2.3 동물의 준비

(1) 동물은 실험실 조건에 적어도 7일간 적응시키고, 이전 실험 절차에 적용하지 않은 건강한 동물을 사용해야 한다.

(2) 설치류의 경우 동물의 투여는 이유 및 적응 후 바로 시작해야 하며, 가급적 8주령 이전에 해야 한다.

(3) 시험동물은 종, 계통, 근원, 성별, 체중 및 연령으로 특성화해야 한다.

(4) 시험의 개시 시 각 성별 동물의 무게 차이는 각 성별로 모든 동물의 체중 평균치의 ±20%를 넘지 않아야 한다.

(5) 동물은 무작위로 대조군과 처리군으로 나뉘어야 한다.

(6) 무작위 배정 후 각 성별 군간 평균 체중에 유의한 차이가 없어야 한다.

(7) 만약 통계적으로 유의한 차이가 있는 경우 가능하면 무작위 단계를 반복해야 한다.

(8) 각 동물은 고유의 식별번호를 배정해야 하고, 이 번호를 문신, 마이크로칩 이식 또는 다른 적절한 방법으로 그 숫자는 영구 표식해야 한다.

5.2.4 동물 번호와 성별

(1) 두 성별이 모두 사용되어야 한다.

(2) 충분한 수의 동물이 사용되어야 하며 이는 가능한 생물학적 및 통계적 평가를 통해 이루어져야 하며, 따라서 설치류의 경우 각 용량군과 시험의 발암성 단계를 대상으로 하는 동시 대조군이 각 성별로 적어도 50마리가 포함되어야 한다.

(3) 이 시험의 목적에 따라, 저용량에서 발암 잠재성을 추정하기 위해 50마리 이상의 저농도군과 다양한 용량군을 불균등하게 할당하여 통계적 예측력을 증가시킬 수 있다.

(4) 설치류의 경우 연구의 만성 독성 단계를 대상으로 각 복용량군 및 동시제어군은 각 성별로 적어도 10마리를 포함해야 한다.

(5) 이 수는 만성 독성시험 TG 452보다 적은 것이지만, 이 혼합 시험의 만성 독성 단계에서 군당 동물수의 감소로부터 자료의 해석은 이 시험의 발암성 단계에서 많은 동물수의 자료로 지원된다.

(6) 마우스와 관련된 시험들에서 추가 동물들은 모든 필요한 혈액학적 결정을 수행하기 위해 만성 독성 단계의 각 용량군에 필요할 수도 있다.

5.2.5 중간 도살, 위성군(회복군) 및 감시 동물에 대한 대비

(1) 이 시험은 중간 도살, 예를 들어 만성 독성 단계의 6개월에 대한 대비를 할 수 있고, 과학적으로 증명된 경우 비신생물성 변화의 진전 및 기전적 정보를 제공할 수 있다.

(2) 이런 정보가 이미 물질에 대해 이전 반복 투여독성 시험에서 사용가능한 경우 중간 도살은 과학적으로 입증되지 않을 수 있다.

(3) 이 시험의 만성 독성 단계에서 사용되는 동물들은 일반적으로 12개월 동안으로, 이 시험의 발암성 단계에서 중간 도살을 하고, 따라서 전체적으로 사용되는 동물의 수를 줄이게 된다.

(4) 위성군(회복군)은 또한 이 시험의 만성 독성 단계에 포함될 수 있으며, 관찰 중 화학물질에 의해 유도된 독성학적 변화의 가역성을 모니터링하며, 이들은 시험의 최고 용량 수준과 대조군으로 제한될 수 있다.

(5) 위성 동물의 추가군 (일반적으로 성별로 5마리)은 시험동안 필요한 경우 질병의 상태를 모니터링하기 위해 포함될 수 있다.

(6) 만약 위성군(회복군) 동물 및/또는 중간 도살이 시험 설계에 포함된 경우, 각 용량군당 동물수는 이런 목적으로 성별당 10마리가 될 것이며, 이 시험 설계에 포함되는 전체 동물수는 시험 종료 전에 도살될 예정인 동물수 만큼 증가되어야 한다.

(7) 중간 도살과 위성군(회복군) 동물들은 비록 신경독성 또는 면역독성과 같은 특징적, 주요 측정 대비에 제한적인 측정이 (중간 도살군에서) 이루어질 수 있더라도, 일반적으로 본 시험의 만성 독성 단계에서 체중, 사료/물 섭취, 혈구학적 및 임상생화학적 측정, 병리학적 고찰을 포함하는 같은 관찰을 수행해야 한다.

5.2.6 용량군 및 용량

(1) 용량 선택 및 용량 수준 간격은 만성 및 발암성 단계에서 모두 적어도 3개 용량 수준과 동시 대조군이 사용되어야 한다.

(2) 용량 수준은 일반적으로 짧은 기간 반복 용량 또는 범위 발견 시험의 결과에 근거할 것이며, 시험 물질 또는 관련된 물질들에서 사용가능한 모든 기존의 독성 및 독성동태학적 자료들을 고려해야 한다.

(3) 시험의 만성 독성 단계에서, 3단계 용량을 사용하는 완전한 시험은 필요가 고려되지 않을 수도 있고, 만약 시험이 한 용량 수준으로 예상될 수 있다면 적어도 1000 mg/kg 체중/일에 상응하고, 악영향을 나타내지 않을 것이다.

(4) 이것은 예비시험의 정보 및 독성이 예상되지 않을 것이라는 고려에 근거해야 하고, 구조적으로 관련된 물질들로부터의 자료들에 근거해야 한다.

(5) 1000 mg/kg 체중/일의 제한은 사람 노출이 더 높은 용량 수준의 필요성을 나타낼 때를 제외하고 적용될 수 있다.

(6) 시험물질의 물리-화학적 특성 또는 생물학적 영향에 제한되지 않는 한, 가장 고용량 수준은 고통, 심각한 독성, 병적 상태 또는 사망을 피하면서 근본적 표적 장기 및 독성 효과를 결정하기 위해 선택되어야 한다.

(7) 최고용량 수준은 예를 들어 체중 증가 (대략 10%)의 감소에 의해 입증되는 것과 같이 일반적으로 독성의 증거를 이끌어내기 위해 선택되어져야 한다.

(8) 하지만, 시험의 목적에 근거하여, 예를 들어 만약 용량이 우려되는 악영향을 줄이는 경우 독성의 증거로 선택되어 제공되는 용량보다 낮은 최고 용량은 그럼에도 불구하고 생애 또는 체중에 거의 영향을 미치지 않는다.

(9) 용량 수준 및 용량 수준 간격은 용량-반응을 설정하기 위해 선택되어질 수 있고, 시험물질의 행동 모드에 의존하며, NOAEL 또는 시험의 의도된 다른 결과, 예를 들어 BMD 등에 의존한다.

(10) 인자들은 용량-반응 곡선의 예상 기울기를 포함하는 낮은 용량들의 대체가 고려되어야 하고, 역치가 예상되는 대사 또는 독성 행동 모드에서 발생할 수 있는 중요한 변화 용량, 또는 저용량 외삽이 예상되는 출발점이 고려되어야 한다.

(11) 혼합 발암성/만성 독성 시험을 수행함에, 주요 목적은 발암성 위험평가 목적으로 정보, 및 만성 독성이 일반적으로 보조 목적이 될 수 있는 정보를 얻는데 있을 것이며, 이것은 시험에서 용량 수준 및 용량 수준 간격을 선택할 때 명심해야 한다.

(12) 선택된 용량 수준 간격은 시험의 목적, 시험물질의 특성 및 이 가이드라인에 의존할 것이며, 이 가이드라인에서 자세히 설명할 수 없지만, 2-4배 간격은 용량 수준의 감소 및 용량간의 (예를 들어 약 6-10 이상의) 매우 큰 간격을 사용하는 것이 종종 바람직한 네 번째 시험군의 추가 시에 좋은 시험능력을 제공한다.

(13) 일반적으로 10 이상 인자의 사용은 피해야만 하고, 가능한 경우 검증되어야 한다.

(14) 용량 선택에서 고려되어야 할 점들은 아래를 포함한다.

(가) 알려졌거나 의심되는 용량-반응의 비선형 또는 변곡점;

(나) 독성동태학 및 대사 유도 용량 범위, 포화 또는 일어나거나 일어날 수 없는 외부 및 내부 용량 간의 비선형;

(다) 전구체 병변, 효과의 마커, 또는 핵심 운영 생물학적 과정의 지표;

(라) 세포독성이 시작되고, 홀몬 수준이 교란되고, 항상성 기전이 압도되는 등의 용량과 같은 행동 모드의 핵심(또는 의심) 관점;

(마) 예를 들어 예상 BMD 또는 의심되는 임계치의 범위와 같은 특히 견고한 추정이 필요한 용량-반응 곡선의 영역;

(바) 특히 중간 및 낮은 용량의 선택시 예상되는 인체 노출 수준의 고려

(15) 대조군은 비처리군 또는 시험군을 처리하는데 vehicle이 사용되는 경우 vehicle-대조군이 되어야 한다.

(16) 시험물질의 처리를 제외하고, 대조군의 동물들은 시험군과 같은 방법으로 취급되어야 한다.

(17) vehicle이 사용되면, 대조군은 용량군 중에서 사용되는 가장 큰 부피에서 vehicle을 받아야 한다.

(18) 시험물질이 식이와 함께 투여되고, 이로 인해 식이의 기호성 감소로 인한 식이섭취의 감소를 유의하게 유발한다면, 더욱 적합한 대조군을 제공하기 위해 추가적인 쌍-공급 대조군이 유용할 수 있다.

5.2.7 용량의 준비 및 시험물질의 투여

(1) 시험물질은 일반적으로 경구로, 먹이나 음용수를 통하거나 위장관을 통해 투여된다.

(2) 경로 및 투여 방법은 시험의 목적, 시험물질의 물리적/화학적 성질, 그 생체이용률 및 사람에의 주된 경로 및 노출 방법에 의존한다.

(3) 이론적 해석은 투여의 경로 및 방법을 선택하기 위해 제공되어야 한다.

(4) 동물복지의 관점에서, 경구 위장관은 일반적으로 이 경로와 투여방법이 잠재적 사람 노출(예를 들어 약물)을 합리적으로 표현하는 물질들에서만 선택되어야 한다.

(5) 농약을 포함하는 식품 또는 환경 화학물질에서, 투여는 일반적으로 먹이와 음용수를 통해 이루어지지만, 예를 들어 직업적 노출과 같은 일부 시나리오에서 다른 경로로의 투여가 더욱 적합할 수 있다.

(6) 필요한 경우 시험물질은 적당한 부형제에 녹이거나 현탁한다.

(7) 적절한 경우 부형제 및 다른 첨가제의 성질(흡수, 분포, 대사 또는 시험물질의 체류에의 영향; 그 독성에 영향을 미칠 수 있는 시험물질의 화학적 성질에 영향; 및 식이 또는 물 섭취 또는 동물의 영양적 상태에 영향)에 따른 고려가 있어야 한다.

(8) 가능한 경우 용액/현탁액의 사용이 우선 고려되어야 하고, 용액/오일 에멀전 (예를 들어 corn oil과 같은)이 그 다음 고려되어야 하고 다른 부형제의 용액이 가능한 고려되어야 한다.

(9) 물이 아닌 부형제인 경우, 그 부형제의 독성 영향을 알려야 한다.

(10) 투여의 조건에서 (예를 들어 식이) 시험물질의 안정성, 투여용액 또는 식이의 균질성 (적절히)에 대한 정보가 이용가능해야 한다.

(11) 식이 또는 물로 투여되는 물질들은 정상 영양 또는 물 균형을 방해하지 않는 시험물질의 양을 결정하는 것이 중요하다.

(12) 식이 투여를 이용하는 장기 독성 시험에서 투여되는 물질의 농도는 영양 불균형을 피하기위해, 일반적으로 전체 식이의 5%를 초과하지 않아야 한다.

(13) 시험물질이 식이로 투여될 때, 동물의 체중 (mg/kg 체중)의 측면에서 일정한 식이 농도 (mg/kg 식이 또는 ppm), 또는 일정한 용량 수준이 매주 단위로 계산하여 사용될 수 있다.

(14) 경구투여의 경우, 동물은 12개월(만성 단계) 또는 24개월(발암성 단계) 동안 매일 (매주 7일) 시험물질이 투여되고, 기타 용량 체제, 즉 주당 5일은 검증되어야 한다.

(15) 경피 투여의 경우, 동물들은 일반적으로 매일 적어도 6시간, 주당 7일간, 12개월 동안 (만성 단계) 또는 24개월 동안 (발암성 단계) 시험물질 처리되어야 한다.

(16) 흡입 경로에 의한 노출은 일당 6시간, 주당 7일 수행되지만, 정당화된 경우 주당 5일도 사용될 수 있다.

(17) 랫트 이외의 설치류가 비부노출되는 경우 최고 노출기간은 종-특이적 고통을 최소화하도록 고정되어야 한다.

(18) 매일 6시간 미만의 노출기간을 사용하는 경우 이론적 근거가 제공되어야 한다.

(19) 시험물질이 위장관으로 투여되는 경우 위장 튜브 또는 적합한 삽관 캐뉼라를 이용, 매일 같은 시간에 투여되어야 한다. 예를 들어 물질이 국소 자극성인 경우 일반적으로 단일 용량은 하루에 한번 투여될 것이고, 분할 투여 (하루에 두 번) 함으로써 매일 용량-비율을 유지하는 것이 가능할 수 있다.

(20) 한 번에 투여될 수 있는 액체의 최대 부피는 시험동물의 크기에 비례한다.

(21) 부피는 가능한 낮게 유지하고, 일반적으로 설치류의 100g 체중 당 1 ml를 넘지 않아야 한다.

(22) 시험물질 부피의 변화는 모든 용량 수준에서 일정한 부피를 유지할 수 있도록 농도를 조정하여 최소화되어야 한다.

(23) 잠재적 부식성 또는 자극성 물질은 제외하고, 심각한 국소 영향을 피하기 위해 희석될 필요가 있다.

(24) 위장관에 부식성 또는 자극성을 일으킬 수 있는 농도에서의 시험은 삼가야 한다.

5.2.8 시험기간

(1) 이 시험의 용량의 기간 및 만성 단계의 기간은, 비록 이 시험 설계가 단기간 (예를 들어 6개월 또는 9개월) 또는 장기간 (예를 들어 18개월 또는 24개월) 시험에 적용되고 응용될 수 있지만, 일반적으로 12개월이고, 특정한 규정 체계 또는 특정한 기전적 목적에 의존한다.

(2) 12개월 노출기간에서 특히 단기간의 경우에는 편차가 검증되어야 한다.

(3) 이 단계에 해당하는 모든 용량군은 만성 독성과 비-종양성 병변의 평가에 대해 지정된 시간에 종료될 것이다.

(4) 조사에서 화학물질에 의해 유도되는 모든 독성학적 변화의 가역성을 모니터하기 위해 4주 및 노출 중단 후 전체 시험 기간의 3분의 1 이상 투여되지 않는 위성군(회복군)이 포함된다.

(5) 이 시험에서 발암성 단계의 기간은 일반적으로 설치류에서 24개월이고, 이는 사용된 동물들의 일반적 생애의 대부분을 차지한다.

(6) 장단기간의 시험기간이 이용될 수 있으며, 시험의 동물종 계통의 생애에 의존하지만, 정당화되어야 한다. 예를 들어 AKR/J, C3H/J or C57BL/6J 계통의 마우스 특이 계통인 경우 12개월의 기간이 더욱 적당할 수 있다.

(7) 다음은 기간, 시험의 종료 및 생존에 대한 일부 가이드를 제공한다.

(가) 시험의 종료는 저용량군 또는 대조군에서 생존한 동물수가 25% 미만일 때 고려되여야 한다.

(나) 고용량군에서만 독성으로 조기에 죽은 경우, 이는 시험의 종료를 촉발하지 않아야 함

(다) 각 성별에서 생존은 개별적으로 고려되어야 함

(라) 이 시험은 시험에서 이용 가능한 자료가 더 이상 통계적으로 유효한 평가를 가능하게 하지 않으면 이 시점을 넘어 확장되지 않아야 함

5.2.9 관찰 (만성 독성 단계)

(1) 모든 동물은 주말 및 공휴일을 포함하여 일반적으로 매일의 시작과 끝에서 병적 상태 또는 사망을 확인해야 한다.

(2) 일반적 임상관찰은 적어도 하루에 한번 실시해야 하고, 매일 같은 시간이 바람직하며, 위장관 관리의 경우 투여 후 예상되는 효과의 최고 기간을 고려한다.

(3) 자세한 임상 관찰은 첫 노출 이전에 적어도 한번 모든 동물에서 수행되어야 하고 (피사체 내의 비교를 허용하는), 시험의 첫 주의 말과 이후 매달 수행되어야 한다.

(4) 관찰의 절차는 개별 관찰자간의 편차를 최소화하고 시험군에 의존하지 않도록 배치되어야 한다.

(5) 이러한 관찰은 케이지 밖에서 수행되어야 하고, 각 경우마다 유사한 시간에 표준 분야에서 수행하는 것이 바람직하며, 시험 기관에서 정의된 스코어링 체계를 이용하여 조심스럽게 기록되는 것이 바람직하다.

(6) 관찰 조건에서의 편차가 최소화되도록 하는 노력이 있어야 한다. 언급된 증상이 포함되어야 하지만, 피부, 털, 눈, 점막의 변화, 분비물과 배설물 및 자율 활동 (예를 들어, 눈물 흘림, 입모, 동공 크기, 비정상적인 호흡 패턴)의 발생에 한정되지 않는다. 걸음걸이, 자세의 변화 및 취급에의 반응 뿐만 아니라, 간헐적 경련성 또는 강장성 운동, 상동운동 (예를 들어 과도한 정리, 반복 선회) 또는 기괴한 행동 (예를 들어 자해, 뒤로 걷기)도 또한 기록되어야 한다.

(7) 검안경 또는 다른 적절한 장비를 사용하는 안과 검사는 시험 물질의 첫 투여 이전에 모든 동물에서 수행되어야 한다.

(8) 연구의 종료 시에, 이 시험은 모든 동물에서 실시하는 것이 바람직하지만, 적어도 고용량군과 대조군에서는 수행되어야 하고, 눈에서 치료 관련 변화가 감지되면 모든 동물은 조사되어야 한다.

(9) 구조적 분석 또는 다른 정보가 안구 독성을 제안하면, 안구 검사의 빈도를 증가시켜야 한다.

(10) 신경독성 영향을 일으키는 가능성이 나타난 이전의 반복 투여 28일 및/또는 90일 독성시험의 물질들에서, 다른 종류의 자극에 대한 감각 반응 (예를 들어, 청각, 시각

및 고유 감각 자극), 악력 및 운동능 평가는 임의로 시험의 개시 이전 및 시험 개시 후 3개월에서 12개월까지, 또한 시험 종료 (만약 12개월보다 긴 경우)에 수행될 수 있다.

(11) 이전의 반복 용량 28일 및/또는 90일 독성시험이 면역독성 영향을 일으키는 가능성을 나타낸 화학물질들에서, 이 종료점의 추가 조사는 종료 시에 선택적으로 수행될 수 있다.

5.2.10 체중, 음식/물 소비와 음식 효율

(1) 모든 동물들은 처리의 개시 시에, 첫 13주 동안에 적어도 일주일에 한번, 이후 적어도 매달 칭량되어야 한다.

(2) 음식 섭취 및 음식 효율의 측정은 첫 13주 동안 적어도 매주, 이후 적어도 매달 측정되어야 한다.

(3) 음용수 소비는 첫 13주 동안은 적어도 매주 측정되어야 하고, 이후 물질이 음용수에 섞어 투여될 경우 적어도 매달 측정되어야 한다.

(4) 물 소비량 측정은 또한 마시는 활동이 변화되는 시험을 위해 고려되어야 한다.

5.2.11 혈액학 및 임상 생화학

(1) 설치류와 관련된 시험들에서, 혈액학적 검사들은 모든 시험동물들(군당 숫컷 10마리, 암컷 10마리)에서 3, 6, 12개월 및 또한 시험 종료 시(12개월보다 긴 경우)에 수행되어야 한다.

(2) 마우스에서는 위성군(회복군) 동물들은 모든 필요한 혈액학적 결정인자들을 수행하기 위해 필요할 수 있다.

(3) 비설치류 시험에서는, 설치류에서 설명한 중간 샘플링 시간 및 종료 시에 더 적은 수의 동물들로부터 (예를 들어, 개 시험에서 성별 및 군당 4마리씩) 샘플들이 채취될 것이다.

(4) 설치류 또는 비설치류에서 3개월 시험의 측정은 비교 용량 수준에서 수행된 이전의 90일 시험에서 혈액학적 인자들에서 아무런 영향을 보이지 않았다면 수행될 필요가 없다. 혈액 샘플은 예를 들어 심장 천자 또는 복고-궤도 부비강으로부터 마취를 통해 이름이 부여된 부위에서 채취되어야 한다.

(5) 전체 및 차등 백혈구 수, 적혈구 수, 혈소판 수, 헤모글로빈 농도, 헤마토크릿 (집적된 세포 부피), 평균 미립자 부피 (MCV), 평균 미립자 헤모글로빈 (MCH), 평균 미립자 헤모글로빈 농도 (MCHC), 프로트롬빈 시간 및 활성화된 부분 트롬보플라스틴 시간은 모두 조사되어야 한다.

(6) 하인즈-바디 또는 다른 비정형 적혈구 형태학 또는 메트헤모글로빈과 같은 다른 혈액학 인자들은 물질의 독성에 따라 적절하게 측정될 수 있다.

(7) 전반적으로, 유연한 접근 방식은 주어진 물질의 관찰 및/또는 예상되는 효과에 따라 채택되어야 한다.

(8) 화학물질이 조혈계에 영향을 미치는 경우, 비록 이것들이 일상적으로 수행될 필요가 없다고 할지라도, 망상적혈구 수치와 골수 세포검사는 또한 지시될 수 있다.

(9) 조직에서 주요 독성영향을 관찰하기 위한 임상생화학 인자들 및 특히 신장과 간에의 효과들은 시험동물들 (군당 숫컷 10마리와 암컷 10마리)에서 얻어진 혈액샘플에서, 혈액학적 관찰에 특이적인 동일 시간 간격으로 수행되어야 한다.

(10) 마우스에서는, 위성 동물들은 모든 요구되는 임상생화학 인자들을 수행하기 위해 필요될 수 있다.

(11) 비설치류 시험에서, 샘플들은 더 적은 수의 동물들 (예를 들어, 개 시험에서 성별 및 군당 4마리씩)에서, 중간 샘플링 시간 및 설치류에서 언급된 종료 시에 채취되어질 것이다.

(12) 설치류와 비설치류에서 3개월 시 측정은 비교 용량 수준으로 수행된 이전의 90일 시험에서 임상생화학 인자들에서 아무런 영향이 없는 경우 수행될 필요가 없다.

(13) 채혈 전에 동물의 밤새(overnight) 공복이 권장된다.[1)]

(14) 포도당, 우레아(요소 질소), 크레아티닌, 총단백, 알부민, 칼슘, 나트륨, 칼륨, 총콜레스테롤, 간세포 평가를 위한 적어도 두 개의 적절한 시험 (알라닌 아미노 전이효소, 아스파라긴산 아미노전이효소, 글루탐산 탈수소효소, 총담즙산) 및 간담도

1) 특히 포도당에 가장 특이적인 혈청 및 혈장에서의 계측시에는, 밤새 공복이 바람직함. 이에 대한 주요 이유는 섭이의 필연적인 결과로 변동성이 증가되기 때문으로, 더 미묘한 효과를 가리고 해석을 어렵게 하는 경향이 있음. 하지만 밤새 금식은 특히 식이 연구에서, 동물의 일반적인 대사를 방해할 수 있고, 시험물질의 매일 노출을 방해할 수 있음을 주목해야 함. 모든 동물들은 같은 생리학적 조건에서 평가되어야 하고 자세한 신경학적 평가는 임상생화학 샘플링하는 날이 아닌 다른 날에 잡아야 함.

평가를 위한 적어도 두 개의 적절한 시험들 (알칼리 인산화효소, 감마 글루타밀 이동효소, 5'-뉴클레오티다제, 총빌리루빈, 총담즙산)은 조사되어야 한다.

(15) 공복시 트리글리세리드, 특정 홀몬 및 콜린에스테라제와 같은 다른 임상생화학 인자들은 물질의 독성에 따라 적절히 측정될 수 있으며, 전반적으로, 주어진 물질에 대한 관찰 및/또는 예상되는 효과에 따라 유연한 접근이 필요하다.

(16) 소변검사의 인자들은 모든 시험동물들(군당 숫컷 10마리와 암컷 10마리)에서, 혈액학 및 임상생화학에서와 같은 간격으로 샘플이 수집되어야 한다.

(17) 3개월 시 측정은 비교 용량 수준으로 수행된 이전의 90일 시험에서 소변검사가 아무런 영향이 없는 경우 수행될 필요가 없다.

(18) 다음의 인자들 목록은 임상 병리학 시험에서 전문가의 권장에 포함되었음

(가) 외모, 부피, 삼투압이나 비중, pH, 총단백질 및 포도당

(나) 다른 인자들은 케톤, 우로빌리노겐, 빌리루빈 및 잠혈을 포함

(다) 관찰된 효과(들)의 연구를 확장하는 것이 필요한 경우 추가 인자들이 채용될 수 있다.

(19) 개 시험에서 기본 혈액학적 및 임상생화학 변수들이 처리 전에 결정될 필요가 있지만, 설치류 시험에서는 결정될 필요가 없다. 하지만, 과거 기준 자료들이 적절한 경우, 이러한 고려는 자료들을 생성하는데 주어져야 한다.

5.2.12 병리학 - 전체 부검

(1) 시험에서 모든 동물들은 일반적으로 전체, 총 부검을 해야 하고, 이는 몸의 외부 표면, 모든 구멍과 두개골, 흉부 및 복강 및 그 내용물의 세심한 검사를 포함한다.

(2) 또한 신경독성 또는 면역독성과 같은 특이적, 주요 조치에 제한적인 방법들(중간 도살 또는 위성군)을 만들 수 있다.

(3) 이 동물들은 부검되고, 후속 절차를 다음 단락에서 설명할 필요가 없으며, 위성군(회복군) 동물들은 시험책임자의 판단에 따라 사례별로 부검이 필요할 수 있다.

(4) 장기 무게는 (1)에서 제외된 것 이외에 모든 동물들에서 수집되어야 한다; 부신, 뇌, 부고환, 심장, 신장, 간, 난소, 비장, 고환, 갑상선 (고정 후 부갑상선과 함께 칭량), 및 모든 동물들의 자궁 (빈사 상태로 발견 및/또는 중간에 죽은 동물과 별도로)은 모든 부착 조직을 적절히 손질해야 하고, 그 습중량은 건조를 막기 위해 절개한 후 가능한 빨리 칭량된다.

(5) 다음 <표 1>의 조직들은 조직의 형태 및 의도하는 이후 조직병리학적 검사 (꺽은 괄호 안의 조직은 선택적)를 위해 가장 적절한 고정액에서 보관되어야 한다.

<표 1> 조직병리학적 검사를 위해 필요한 조직 부위들

필수 조직: 모든 총 병변, 심장, 췌장, 위(전위, 선위), 부신, 회장, 부갑상선, [이빨], 대동맥, 공장, 말초 신경, 고환, 뇌(대뇌 일부, 소뇌 및 수질/뇌교 포함), 신장, 뇌하수체, 흉선, 맹장, 눈물샘(눈외), 전립선, 갑상샘, 간, 직장, 응고선, 폐, 침샘, 기관, 결장, 림프절(표면 및 심부). 정낭, 방광, 십이지장, 유선(수컷의 경우 육안으로 보일 경우), 골격근, 자궁(자궁 경부 포함), 부고환, 피부, 눈(망막 포함), 식도, 척수(경수, 흉수, 요수), 비장, 질, 담낭(존재하는 경우), 난소, 골수(일부 또는 골수흡인액), 하더리안선, 선택 조직 : 이빨, 혀, 코, 비갑개 및 부비동을 포함하는 상부호흡기, 요관, 요도, 관절 및 대퇴, 후각 망울, 흉골

(6) 쌍으로 있는 장기의 경우, 예를 들어 신장, 부신, 두 기관이 모두 유지되어야 한다.

(7) 임상 및 기타 연구결과는 추가 조직 검사가 필요함을 제시할 수 있다. 또한 시험물질 알려진 특성에 기초하여 표적 기관으로 간주될 가능성이 있는 모든 장기들도 보존되어야 한다.

(8) 피부경로 투여와 관련된 시험들에서, 경구 경로로 설정된 기관들의 목록은 조사되어야 하며, 특정 샘플링 및 응용 부위 피부의 보존이 필요하다.

(9) 흡입연구에서, 호흡 기관에서 보존 및 조사된 조직의 목록은 OECD TG 412 및 TG 413의 권고를 따라야 하며, 다른 장기/조직의 경우 (및 호흡 기관에서 구체적으로 보존 조직에 추가된) 경구 경로로 설정한 기관의 목록을 조사해야 한다.

(10) 본 규정은 독성병리 연구의 수행에도 적용 가능하며, 최소 조직병리학적 검사는 다음과 같다.

(가) 고용량 및 대조군의 모든 조직

(나) 시험 도중 죽었거나 도살된 동물들의 모든 조직

(다) 거시적 이상을 보이는 모든 조직;

(라) 표적 조직, 또는 다른 모든 용량군의 모든 동물들에서와 달리 고용량군에서 처리-관련 변화를 보인 조직,

(마) 쌍으로 존재하는 기관인 경우, 예를 들어 신장, 부신은 모두 검사해야 함

5.2.13 관찰 (발암성 단계)

(1) 모든 동물들은 주말 및 공휴일을 포함, 일반적으로 매일 시작 및 종료시에 병적상태 또는 사망에 대해 확인되어야 하고, 추가적으로 독성 관련 징후를 매일 한 번씩 점검되어야 한다.

(2) 투여 시험의 경우, 동물들은 각 용량에서 투여 직후의 기간에 점검되어야 한다. 종양 발생에 특별한 주의를 기울여야 하고, 종양의 발생 시간, 위치, 크기, 모양 및 보이거나 만져질 정도로 크게 진행된 종양은 기록해야 한다.

(3) 모든 동물들은 처리 시작 시, 첫 13주 동안 적어도 한 번 및 그 후 적어도 매달 한 번은 칭량해야 한다.

(4) 식이 섭취 및 식이 효율의 측정은 첫 13주 동안은 적어도 매주 및 그 후 적어도 매달 해야 한다.

(5) 음용수 소비는 물질이 음용수로 투여되는 경우 첫 13주 동안은 적어도 매주 및 그 후는 적어도 매달 측정해야 한다.

5.2.14 혈액학, 임상 생화학 및 기타 측정

(1) 시험에서 얻어지는 정보를 최대화하기 위해, 특히 작용 방식을 고려할 때, 비록 시험 책임자의 재량에 달려 있지만, 혈액 샘플은 혈액학 및 임상 생화학을 위해 수행될 수 있으며, 소변검사 또한 적절할 수 있다.

(2) 만성 시험 단계에서 사용되는 동물의 자료는 일반적으로 12개월 기간으로 이 인자들에 대한 정보를 제공한다.

(3) 만약 혈액 샘플이 채취된 경우, 동물을 죽이는 절차의 직전 또는 그 일부로서 시험 기간의 끝에 모아져야 하고, 예를 들어 심장 전차 또는 마취 조건에서 복고-궤도 부 비강으로부터 지정된 부위에서 채취되어야 한다.

(4) 혈액 도말은, 특히 골수가 표적 장기로 보이는 경우, 비록 발암성/발암가능성의 평가를 위해 발암성 단계에서 이런 혈액 도말의 검사치에 의문이 제기되었지만 또한 검사에서 준비되어야 한다.

5.2.15 병리 - 총 부검

(1) 시험에서 위성 동물들을 제외한 모든 동물들 및 기타 위성 동물들은 몸의 외부 표면, 모든 구멍과 충치, 두개골, 흉부 및 복부 강과 그 내용물의 세심한 검사를 포함하는 자세한 총 부검이 실시되어야 한다.

(2) 위성 동물들과 기타 위성 동물들은 시험책임자의 판단에 따라 사례별로 부검이 필요할 수 있다.

(3) 장기중량은 노인성 변화이므로 일반적으로 발암성 시험에 포함되지 않고, 이후 단계에서 종양의 발생은 장기 중량 자료의 유용성을 혼동시키지만, 그것들은 증거의 무게 평가를 수행하는데 특히 작용 방식의 고려에 매우 중요하며, 만약 그것이 위성 연구의 일부라면, 시험의 개시 후 1년 이내에 수집되어야 한다.

(4) <표 1>의 조직들은 조직의 유형과 의도된 후속 조직병리학적 검사에서 가장 적절한 고정액에 보존되어야 한다.

(5) 쌍으로 존재하는 장기의 경우, 예를 들어 신장, 부신은 두 개 모두 유지되어야 한다.

(6) 임상 및 기타 결과들은 추가적인 조직 검사가 필요함을 제안할 수 있다.

(7) 또한, 시험물질의 알려진 성질에 기초하여 표적 장기로 간주될 가능성이 높은 모든 장기들은 보존되어야 한다.

(8) 경피 경로 투여관련 시험에서, 경구 경로로 설정된 장기들의 목록은 조사되어야 하며, 특정 샘플링 및 응용 부위 피부의 보존이 필요하다.

(9) 흡입 시험에서, 호흡기관에서 보존되고 검사되는 조직의 목록은 OECD TG 412 및 TG 413의 권고를 따라야 한다.

(10) 다른 장기/조직 (및 호흡기관에서 특히 보존되는 조직에 추가로) 경구 경로로 설정된 장기들의 목록은 조사되어야 한다.

5.2.16 조직병리학

(1) 이 규정은 독성병리 시험의 수행에도 적용가능하며, 수행되어야 하는 최소한의 조직은 다음과 같다.

(가) 고용량군과 대조군의 모든 조직

(나) 시험기간 동안 죽었거나 도살된 동물들의 모든 조직

(다) 종양을 포함하여 거시적 이상을 보이는 모든 조직

(라) 고용량군에서 처리-관련 조직병리학적 변화가 관찰되었을 때, 그 조직은 다른 모든 용량군의 모든 동물들에서 검사될 것이다.

(마) 쌍으로 존재하는 장기, 예를 들어 신장, 부신은 두 개 모두 검사되어야 한다.

6. 시험결과 및 보고

6.1 자료

6.1.1 각각의 동물 자료들은 평가된 모든 인자들에서 제공되어야 한다.

(1) 추가로, 모든 자료들은, 각 시험개시 시 각 시험군의 동물 수, 인도적 이유 또는 인도적 도살의 모든 경우에 죽은 동물 수, 독성의 징후를 나타내는 동물 수, 발생 시간, 지속기간 및 독성 효과의 심각성을 포함한 관찰된 독성의 징후에 대한 설명, 병변을 보이는 동물 수, 병변의 유형 및 각 병변의 유형을 표시하는 동물의 비율을 각각 표의 형태로 정리해야 한다.

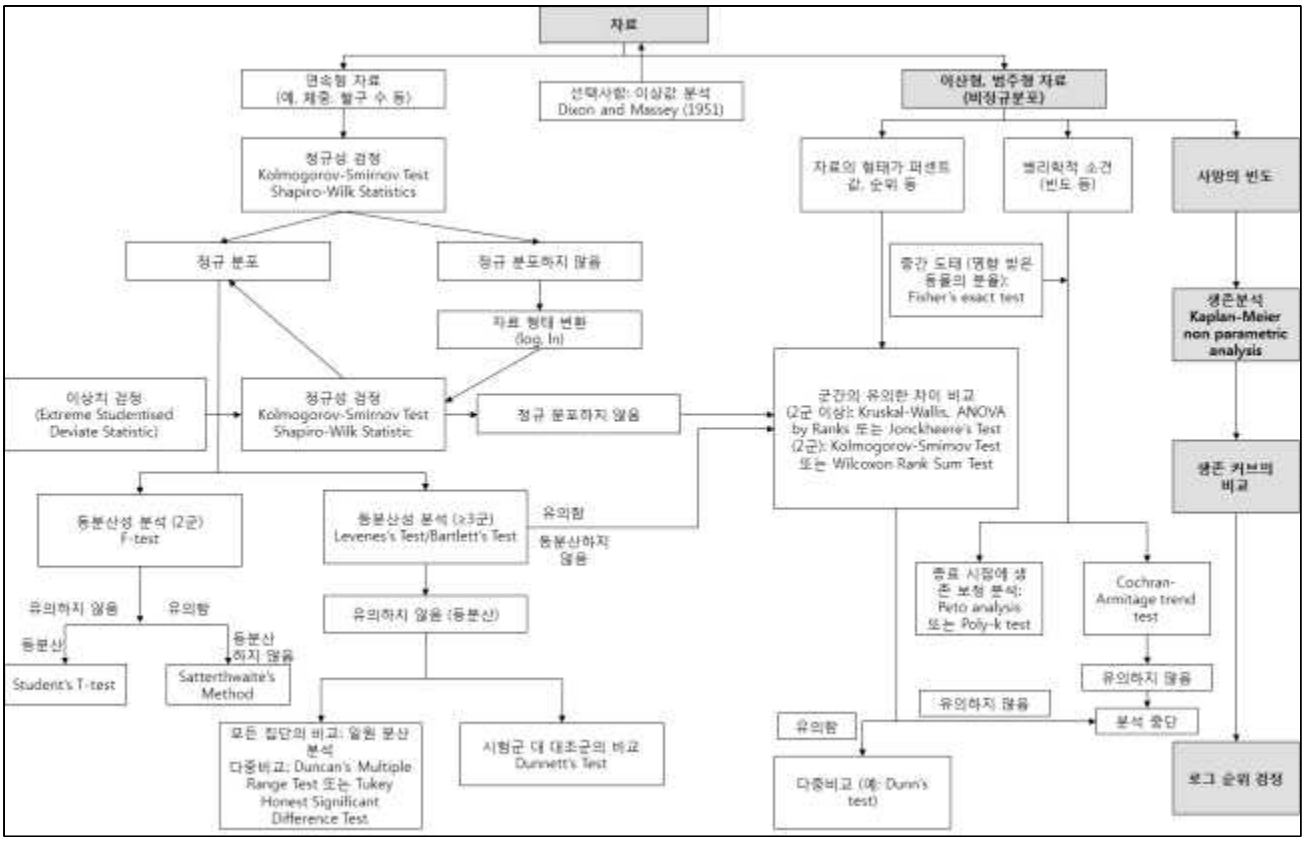
(2) 요약 자료들의 표는 병변의 등급에 더하여, 독성 영향 또는 병변을 나타내는 동물들의 (연속 시험 자료에 대한) 평균 및 표준편차를 제공해야 한다.

6.1.2 경험적 대조 자료들은 예를 들어 같은 시험시설/콜로니에서 대조군 동물들의 최근 자료들과 비교했을 때 제어에 의해 제공된 자료들이 실질적으로 시험의 결과를 해석하는 데 유용할 수 있다.

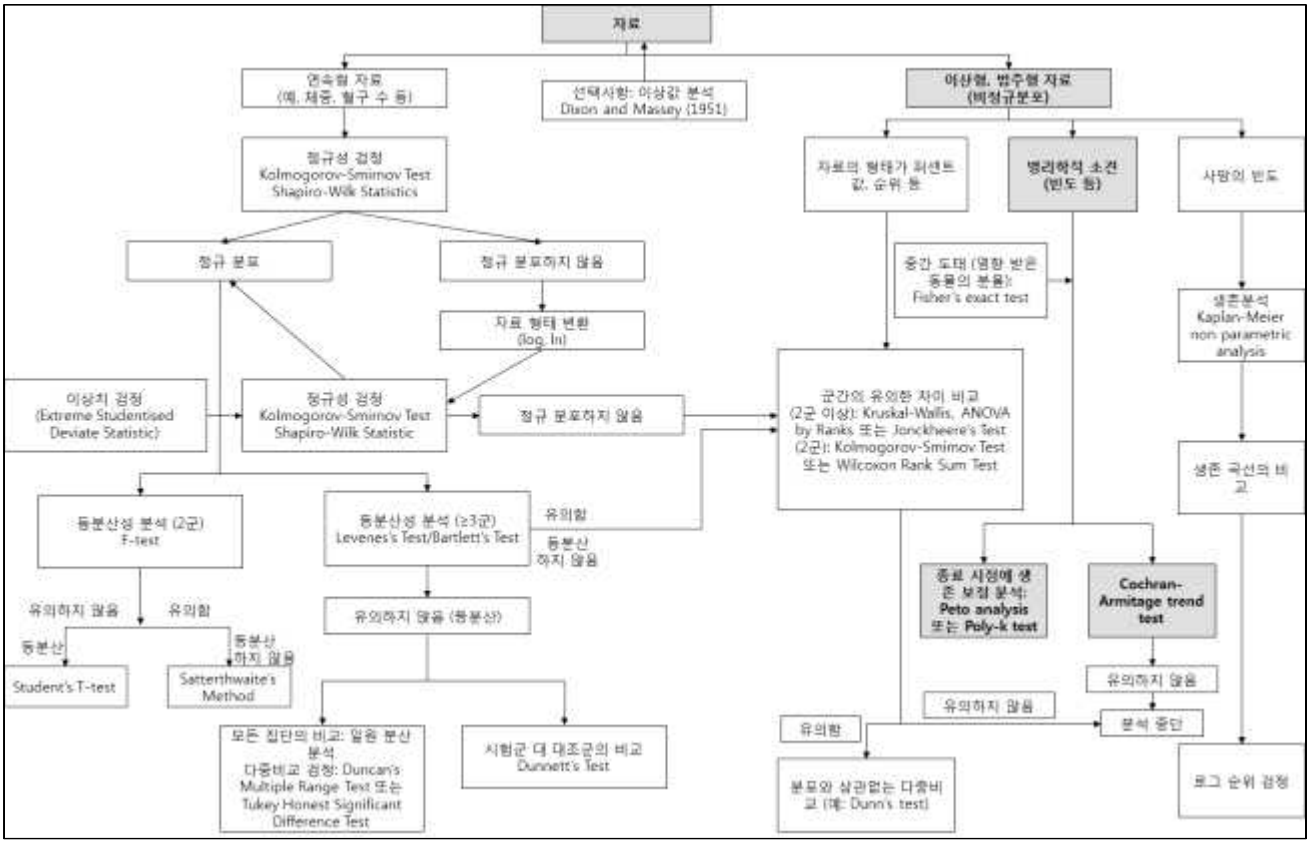
(1) 평가하는 경우, 경험적 대조 자료들은 문제의 시험 이전 5년 동안 생성된 같은 실험실, 같은 주령 및 계통의 동물들에서 제출되어야 한다.

6.1.3 통계처리의 절차는 다음과 같은 방법에 따라 수행한다.

(1) 생존/사망 자료의 통계 분석



(2) 종양 자료의 통계 분석



6.1.4 시험보고서는 다음의 정보를 포함해야 한다.

(1) 시험물질:

(가) 물리적 특성, 순도 및 물리화학적 성질

(나) 식별 자료들

(다) 물질의 소스

(라) 뱃치 번호

(마) 화학 분석 증명서

(2) vehicle (해당되는 경우)

(가) vehicle의 선택에 대한 타당성 (물 이외의 경우)

(3) 시험동물

(가) 사용되는 종/계통 및 선택의 타당성

(나) 시험개시 시 동물의 수, 연령 및 성별

(다) 계통, 사육 조건, 식이 등

(라) 시험개시 시 각 동물들의 체중

(4) 시험조건

(가) 투여경로 및 용량 선택에 대한 근거

(나) 가능한 경우, 자료의 분석에 사용되는 통계적 방법

(다) 시험물질 제제/식이 준비의 세부 사항

(라) 시료의 달성 농도, 안정성과 동질성에 대한 분석 자료

(마) 투여 경로 및 시험물질 투여의 세부사항

(바) 흡입시험의 경우, 비부노출 또는 전신노출 여부

(사) 가능한 경우, 실제 용량 (mg/kg 체중/일)과 식이/음용수 시험물질 농도 (mg/kg 또는 ppm)를 실제 용량으로의 변환 계수

(아) 식이 및 수질의 세부사항

(5) 결과 (요약 표로 자료 및 개별 동물 자료들이 제시되어야 함)

(가) 일반

① 생존 자료

② 체중/체중 변화

③ 사료 섭취, 계산한 경우 식이 효율의 계산치 및 가능한 경우 음용수 소비

④ 가능한 경우 독성동태학적 자료

⑤ 가능한 경우 도상 검안경 검사

⑥ 가능한 경우 혈액학

⑦ 가능한 경우 임상 화학

(나) 임상 결과

① 독성의 징후

② 모든 비정상의 부각 (및 심각성의 점수화)

③ 임상 관찰의 특성, 심각성 및 지속시간 (일시적 또는 영구적인)

(다) 부검 자료

① 종료시 체중

② 가능한 경우 장기 무게 및 그 비율

③ 부검 결과; 비정상의 발생 및 심각성

(라) 조직병리학

① 비종양성 조직병리학적 발견

② 종양성 조직병리학적 발견

③ 거시적 및 현미경적 결과간의 상관관계

④ 심각도를 포함한 모든 처리-관련 조직병리학적 발견들의 자세한 설명

⑤ 모든 슬라이드의 동료 심사 보고서

(6) 결과의 적절한 통계 처리

(7) 다음을 포함하는 결과의 토론

① 모든 모델링 접근 방식의 토론

② 용량:반응 상관관계

③ 경험적 대조 자료들

④ 모든 작용 방식 정보의 고려

⑤ BMD, NOAEL 또는 LOAEL 결정

⑥ 사람에의 관련성

(8) 결론

기술지원규정 개정 이력

□ 개정일 : 2026. 1. 30.

○ 개정자 : 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 흡입독성연구센터

○ 개정사유 : 산업안전보건법 전부개정에 따른 화학물질 유해성 평가 관련 법 조항 최신화 등

- 산업안전보건법 제105조(유해인자의 유해성·위험성평가 및 관리)
- 산업안전보건법 시행규칙 제142조(유해성·위험성 평가대상 선정기준 및 평가방법 등)
- 고용노동부예규 제203호(화학물질의 유해성·위협성 평가에 관한 규정)
- 고용노동부 고시 제2023-9호(화학물질의 분류·표지 및 물질안전보건자료에 관한 기준)
- 국립환경과학원고시 제2025-26호(화학물질의 시험방법에 관한 규정)

○ 주요 개정내용

- 검사 시 필요한 조직에 대해 한글 용어 변경
- 통계적 분석 방법 상세화

KOSHA GUIDE
기술지원규정

·규정번호 : E-T-7-2026
·심　　의 : 산업안전보건표준제정위원회
·공 표 일 : 2026. 1. 30.