KOSHA GUIDE

KOSHA GUIDE

KOSHA GUIDE

KOSHA GUIDE

KOSHA GUIDE
기술지원규정

화학물질의 아급성(28일) 경구 및 흡입독성시험에 관한 기술지원규정
E-T-8-2026

한국산업안전보건공단

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

기술지원규정의 개요

○ 개정자 : 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 흡입독성연구센터

○ 제·개정 경과
- 2013년 6월 산업독성분야 제정위원회 심의
- 2015년 5월 산업독성분야 제정위원회 심의(개정, 법규개정조항 반영)
- 2016년 10월 산업독성분야 제정위원회 심의(개정, 법규개정조항 반영)
- 2017년 9월 산업독성분야 제정위원회 심의
- 2023년 7월 산업독성분야 표준제정위원회 심의(개정)
- 2025년 11월 보건·위생분야 전문위원회 심의(개정)
- 2026년 1월 표준제정위원회 본위원회 심의(개정)

○ 관련규격 및 자료
- OECD Guidelines on The Testing of Chemicals 407. Repeated dose 28-day oral toxicity study in rodents, 2025
- OECD Guidelines on The Testing of Chemicals 412. Subacute Inhalation Toxicity: 28-Day study, 2018

○ 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)
- 국립환경과학원 고시 제2025-26호(화학물질의 시험방법에 관한 규정)
- 고용노동부예규 제203호(화학물질의 유해성·위협성 평가에 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. 경구독성시험 ····· 2

4.1 원리 ····· 2

4.2 시험의 준비 ····· 3

4.3 시험 방법 ····· 6

4.4 시험결과 및 보고 ····· 8

5. 흡입독성시험 ····· 10

5.1 원리 ····· 14

5.2 시험의 준비 ····· 19

5.3 시험 방법 ····· 20

5.4 시험결과 및 보고 ····· 20

<부록 1>동물실험계획 심의평가서 ····· 22

<부록 2>동물실험계획 승인서 ····· 23

<부록 3>동물실험시설 실태조사표 ····· 24

<부록 4>동물실험시설 세부 점검표 ····· 25

화학물질의 아급성(28일) 경구 및 흡입독성시험 기술지원규정

1. 목적

이 규정은 산업안전보건법 동법 시행규칙, 고용노동부 고시 및 예규 등에 따라 화학물질 취급에 따른 건강장해에 관한 정보를 제공하기 위한 동물시험법으로 경구 또는 호흡기 시험을 통해 화학물질 또는 혼합물의 건강 유해성을 평가하는 것을 목적으로 한다.

2. 적용범위

이 규정은 산업안전보건법 동법 시행규칙, 고용노동부 고시 및 예규 등과 관련하여 화학물질의 건강유해성에 관한 자료 제공을 위한 아급성 경구 및 흡입독성 시험법에 적용한다.

3. 용어의 정의

(1) 이 규정에서 사용하는 용어의 뜻은 다음과 같다.

(가) “아급성독성(Subacute toxicity)”이란 랫드(Rat) 또는 마우스(Mouse)에 경구, 흡입 등의 투여경로를 통해 시험물질을 28일 동안 반복 투여하였을 때 시험동물에 나타나는 영향을 말한다.

(나) “용량(Dose)“이란 투여된 시험물질의 양. 일반적으로 단위는 시험동물의 단위무게(체중) 당 시험물질의 양(mg/kg)으로 표시한다.

(다) ”농도/용량(Concentration/Dose)”이란 시험동물이 노출되는 공기 중 시험물질의 농도를 나타내며 단위는 노출되는 공기의 단위부피당 시험물질의 양(mg/L, 에어로졸 및 증기의 경우) 또는 시험물질의 부피(ppm, 가스의 경우)로 표시한다.

(라) “용량-반응(Dose-response) 관계” 란 화학물질의 노출량과 생체에 작용하는 영향과의 양-반응 관계를 말한다.

(마) “무영향관찰용량/농도(No observed adverse effect level/concentration, NOAEL/C)”란 시험물질노출과 관련된 유해소견이 관찰되지 않는 최고용량 또는 최고농도를 말하며, 노출량-반응시험에서 노출집단과 적절한 무처리집단 간 악영향의 빈도나 심각성이 통계적으로 또는 생물학적으로 유의한 차이가 없는 노출량을 말한다.

(바) “최소영향관찰용량/농도(Lowest observed adverse effect level/concentration, LOAEL/C)”란 시험물질을 시험동물에 투여하였을 때 시험동물에 독성을 나타내는 최소용량 또는 최소농도를 말한다.

(사) “회복군(Recovery group)” 또는 위성군(Satellite group)이란 이 지침에 한하여 본 시험에서 시험물질 투여/노출 완료 후 시험물질에 의한 독성변화의 지연성과 회복성을 검토하기 위해 추가로 구성하는 시험군을 말한다.

(아) “위관투여법(Gavage)“이란 사료 또는 음용수를 통해 투여를 하지 않고 위장 튜브 또는 캐뉼라(Cannula)를 이용한 강제적인 물질 투여방법을 말한다.

(자) ”흡입노출“이란 흡입할 수 있는 성상의 물질(가스, 증기 및 에어로졸 등)을 챔버를 이용해 28일간 반복 노출하여 시험물질에 의해 나타나는 유해영향을 확인하기 위한 방법이다.

(차) ”빈사상태(Moribund status)“란 치료받더라도 시험동물이 죽어가는 상태 또는 생존할 가망이 없는 상태를 말한다.

(카) ”기관지폐포세척(Bronchoalveolar lavage, BAL)“이란 기관지에 튜브를 통해 식염수를 주입하고 폐포 내에 차 있는 세포 및 물질을 획득하기 위한 세척(또는 세척액)을 말하며, BAL액 내 총 세포수와 호중구, 호산구, 대식세포 등의 세포수를 측정하여 반복 흡입 노출에 따른 독성을 평가하는데 이용한다.

(2) 그 밖에 이 규정에서 사용하는 용어의 정의는 특별한 규정이 있는 경우를 제외하고는 산업안전보건법령 및 관련 고시에서 정하는 바에 따른다.

4. 경구독성시험

4.1 원리

몇 가지 용량의 시험물질을 28일 동안 군당 1개의 용량으로 투여하고 독성징후를 매일 관찰하며 시험기간 중 사망 및 생존 동물을 부검하여 병리조직학적, 임상적 검사를 실시해 독성을 평가한다.

4.2 시험의 준비

4.2.1 시험동물

(1) 일반적으로 생후 9주령 미만의 건강한 수컷 및 분만 또는 수태 경험이 없는 암컷 랫드를 사용한다. 다른 설치류를 이용하는 경우 그 타당성을 명시해야 한다. 이후의 장기 독성시험에 대한 예비시험으로 진행되는 경우 두 시험 모두 동일 계통 및 공급처의 동물을 사용한다.

(2) 시험동물의 암수를 구별하여 케이지 당 5 마리 이하로 사육한다. 시험 시 각 성별 평균 체중의 ± 20%를 초과하지 않도록 체중 변동을 설정한다. 각 동물은 식별가능해야 하며 처치 시작 전 최소 5 일간 케이지에 적응하도록 한다.

(3) 시험동물 수는 용량 별 최소 10 마리(암수 각 5마리 이상)을 사용하며 대조군 및 시험군에 무작위로 배치한다. 중간에 안락사를 시켜야 하는 검사가 있는 경우 추가 동물 수를 배정한다. 대조군 및 상위 용량 시험군에 추가적으로 10 마리씩(암수 각 5마리) 회복군을 설정하여 투여 종료 후 최소 14일 간 가역성, 지속성, 독성 효과의 지연 발생을 관찰할 수 있다.

4.2.2 사육 조건

시험동물을 사육하는 장소는 온도 22 ± 3℃, 습도 50 ± 20%를 유지해야 한다. 사육은 개별 또는 군별로 나눠 실시할 수 있으며 조명은 12시간 간격으로 점멸하도록 조정한다. 사료는 일반적으로 널리 쓰이는 것을 사용하며, 음용수는 자유 급수한다. 사료의 오염 여부에 대한 사항을 정기적으로 분석하고 보고 종료시까지 사료 표본을 유지한다.

4.2.3 시험물질

시험물질은 적당한 용매에 용해 또는 현탁시켜 이용한다. 시험물질은 수용액/현탁액의 사용을 우선으로 하되, 오일이 함유된 용액/현탁액과 기타 용매를 사용할 수 있으나, 물 이외의 용매를 사용하는 경우 용매의 독성 여부와 용매 내 시험물질의 안정성이 확인되어야 한다.

4.3 시험방법

4.3.1 시험물질의 투여

(1) 시험물질은 28일동안 매일 위관투여법 또는 사료/음용수를 통해 투여한다. 위관투여법의 경우 매일 유사한 시간에 투여하도록 한다.

(2) 시험물질의 양은 동물의 크기에 따라 다르나, 일반적으로 최대 1 mL/100 g(체중)을 넘지 않도록 한다. 수용액의 경우 2 mL/100 g(체중)까지 허용된다. 대조군의 동물은 시험물질을 제외하고 시험군과 동일하게 투여하며, 용매를 사용한 경우 최고 용적 단위로 투여한다.

(3) 최소 3 단계 용량의 시험군과 대조군을 구성한다. 기존 독성시험 자료를 검토하여 1,000 mg/kg(체중)/day의 투여량에서 독성영향이 없다고 판단되면 한계시험(Limit test)을 수행하며, 적절한 자료가 없는 경우 용량설정 시험을 수행하여 투여 용량을 결정할 수 있다.

(4) 최고용량은 독성 효과의 유도를 목표로 선택하고, 최저용량은 용량 관련 반응 및 무영향관찰용량을 입증하기 위한 목적으로 내림차순으로 선택한다. 내림차순 순서는 일반적으로 2 ~ 4 배 간격으로 하며, 용량 간의 간격이 큰 경우(예: 공비 10 배 이상) 추가 시험군을 설정하는 것이 좋다.

(5) 시험물질을 사료를 통해 투여하는 경우 일정한 사료 내 농도(ppm) 또는 동물 체중을 고려해 일정 용량을 유지하기 위해 조정할 필요가 있다.

(6) 한계시험에서 본 시험방법을 이용해 1,000 mg/kg와 동등한 1 개 용량에서 독성이 관찰되지 않고, 시험물질과 구조적으로 유사한 화합물 또는 화학물질의 기존 정보에서 독성이 예상되지 않을 경우 3단계 용량의 시험은 필요하지 않다. 사람에게 노출 시 더 높은 용량이 이용될 필요가 있는 경우 외에는 한계시험을 적용할 수 있다.

4.3.2 관찰 사항

(1) 28일 동안 최소 1일 1회, 매일 동일 시간에, 투여 후 예상 영향이 최대로 나타나는 기간을 고려해 일반 임상관찰을 시행하며, 관찰 사항은 아래를 참고한다.

(가) 일반 상태의 관찰사항: 피부, 털, 눈, 점막 변화, 분비물과 배설물의 발생 및 자율신경 활동(예, 눈물 분비, 털 세움, 동공 크기, 다른 호흡 패턴), 간대성 또는 간질성

경련, 상동증(예, 과도한 털 손질, 반복적인 빙글빙글 돌기) 또는 기괴한 행동(예시: 자해, 뒤로 걷기), 걸음걸이 변화, 자세 및 촉진시 반응의 변화

(나) 네 번째 투여 주간 행동기능 관찰사항: 상이한 유형의 자극에 대한 감각 반응도 [예시: 청각, 시각 및 자기수용성(Proprioceptive) 자극, 악력 강도, 운동 활동]

(2) 최초 투여 전 1회와 그 이후 매주 최소한 1회 모든 동물에게 상세한 임상 관찰을 시행하며, 회복군 동물의 경우 투여 종료 후 최소 14일 동안 실시해야 한다.

(3) 투여 마지막 주에 기능관찰검사(Functional observation battery, FOB)를 실시해야 하며 여러 자극에 대한 감각반응검사, 양력검사, 운동성 검사가 포함된다. 그러나 해당 시험이 90일 반복 경구투여시험의 예비시험이거나 독성 징후가 드러나지 않는 경우 행동기능검사는 생략가능하다.

(4) 시험동물의 체중, 사료 및 음용수 소비량은 모든 동물에 대해 최소 주 1회 측정한다.

4.3.3 검사항목

(1) 혈액학 검사

(가) 시험종료 시 동물을 안락사 하기 직전 혈액을 채취하고 적절한 조건하에서 보관한다. 혈액 채취 전 하룻밤 동안 금식시킨다.

(나) 혈액샘플 채취 시 적혈구수, 적혈구용적률, 헤모글로빈 농도, 전체 및 분화백혈구 수, 혈소판 수 및 혈액응고시간/잠재력 측정 항목을 검사하며, 시험물질 또는 대사산물에 산화 특성이 있는 경우 매트헤모글로빈 농도 및 하인츠소체(Heinz bodies)가 포함되어야 한다.

(2) 생화학 검사

(가) 모든 동물에서 채취한 혈액 표본은 아래의 항목에 대해 생화학적 검사를 시행한다.

① 나트륨, 칼륨, 포도당, 총콜레스테롤, 요소, 크레아티닌, 총 단백질 및 알부민

② 간세포 영향을 나타내는 아래 효소 중 2 개 이상과 담즙산(예: 알라닌 아미노전이효소, 아스파테이트 아미노전이효소, 알칼리인산분해효소, 감마-글루타밀전이효소, 글루탐산탈수소효소)

③ 특정 상황 하에서 추가 효소(간 또는 다른 데서 유래한) 및 빌리루빈

④ 시험물질이 대사에 영향을 미치는 경우: 칼슘, 인산염, 중성지방, 특정 호르몬, 콜린에스터라아제

(나) 일정시간마다 채취한 소변 및 시험기간 마지막 주 중에 채취한 소변에 대해 외관, 용적, 삼투압 또는 비중, pH, 단백질, 글루코오스 및 혈액/혈구 항목을 측정한다.

(다) 시험물질에 의한 뇌하수체-갑상샘 축의 영향이 나타나면 T3, T4 및 선택사항으로 갑상샘자극호르몬(Thyroid-stimulation hormone, TSH)을 측정한다. 수행 시 아래의 내용을 참고한다.

① 표본은 -20 ℃에서 냉동상태로 보관한다.

② 하루 동안 호르몬 농도 변화 때문에 안락사되는 시각을 고려한다.

③ 호르몬 농도에 영향을 미칠 수 있기 때문에 동물에 대한 스트레스를 피하기 위한 안락사 방법을 고려한다.

④ 표준 곡선 별 상이할 수 있는 호르몬 측정용 시험 키트를 고려한다.

⑤ 혈장 표본은 비슷한 시각에 획득되어야 한다.

⑥ 실험실 내 균일한 자료 확보를 위해 T3 및 T4에 대해 대조군 변동 계수를 25 미만으로 하고 TSH에 대해 35 미만으로 유지한다.

⑦ 농도는 ng/mL 단위로 기록한다.

(라) 병리학적 검사

① 시험에 사용된 모든 동물은 전체 부검을 통하여 체표, 개구부, 두개, 흉강, 복강과 그 내용의 관찰을 포함한 육안적 검사를 실시하며, 모든 병리 변화를 기록한다.

② 간, 신장, 부신, 고환, 부고환, 응고샘을 포함한 전립샘, 정낭, 흉선, 비장, 뇌, 심장, 자궁경관을 포함한 한 쌍의 난소는 주변 조직을 제거 후 가능한 빨리 습중량을 측정한다.

③ 건조를 피하기 위해 해부 후 선택 조직의 무게를 우선적으로 측정할 수 있으나 (예: 자궁경관을 포함한 한쌍의 난소 및 자궁) 갑상샘의 경우 조직의 손상 시 병리조직학적 분석이 어려우므로 고정 후 중량(선택사항)을 측정할 수 있다.

④ 조직병리학적 검사를 위해서 <표 1>의 기관 및 조직을 적당한 보존액에 보존한다.

〈표 1〉 조직병리학적 검사를 위한 보존 장기 및 조직

모든 전체 병소, 뇌(대뇌, 소뇌 및 뇌교를 포함한 부위), 척수, 눈, 위, 소장과 대장[페이에르판(Peyer's patches) 포함], 간, 신장, 부신, 비장, 심장, 흉선, 갑상샘, 기도, 폐(고정액으로 팽창시킨 후 보전), 생식샘(고환과 난소), 보조 성기관(자궁과 자궁 경관, 부고환, 응고샘을 포함한 전립샘 + 정낭), 질, 방광, 림프절(근위의 배액림프절 와 다른 림프절), 말초 신경(좌골 또는 경골), 골격근및골수(부분, 또는 대안으로서, 새로 고정시킨 골수 흡인물)가 포함된 뼈, 고환[부앙(Bouin's) 또는 변형데이비드슨(Modified Davidson's solution)에 고정]

⑤ 생식샘(난소 및 고환), 보조 성기관(자궁경관을 포함한 자궁, 부고환, 응고샘 및 정낭, 전립샘), 질, 뇌하수체, 수컷의 유선, 갑상샘 및 부신 조직은 내분비 관련 효과에 대해 평가할 수 있는 근거를 제공할 수 있다.

⑥ 선택사항으로 부검 시 질도말표본(Vaginal smears)을 제작해 모든 암컷의 성주기를 확인할 수 있다.

⑦ 확인된 병소는 모두 검사해야 하며, 대조군 및 고용량 시험군의 모든 동물에서 보존된 기관 및 조직에 대해 조직병리학적 검사를 수행한다. 고용량 시험군에서 변화가 관찰되면 기타 시험군에서도 추가 검사를 수행한다. 회복군의 이용 시, 시험군 내 영향이 나타난 것으로 확인된 조직 및 기관에 대해서 조직병리학적 검사를 실시한다.

4.4. 시험결과 및 보고

4.4.1 결과의 처리

(1) 결과는 개별적으로 제공되어야 하며, 항목에 대한 결과 값은 각 시험군 별로 표 형태로 요약한다.

(2) 시험시작 시 동물 수, 시험 중 사망하거나 인도적 이유로 안락사한 동물 수, 안락사 시간, 독성 징후를 나타낸 동물 수와 시간, 지속기간, 독성 영향의 심각도를 포함한 독성 징후에 대한 설명, 병소를 나타낸 동물 수와 병소 유형 및 각 병소 유형을 나타낸 동물의 백분율을 제공한다.

4.4.2 시험 결과의 보고

시험보고서는 다음의 항목을 포함한다.

(1) 시험기관의 명칭 및 소재지

(2) 시험책임자 및 담당자 성명

(3) 시험물질 정보: 식별정보, CAS 등록 번호, 물리적 성상, 순도, 이화학적 성질, 안정성, 용매에서의 용해도 및 안정성, 용매 등의 종류 및 선정 근거

(4) 시험동물의 정보: 종/계통, 수량, 주령, 성별, 공급원, 식별방법, 체중범위 등, 사료 및 사육 환경 조건

(5) 동물 식별 방법 및 체중 범위, 각 그룹 별 평균 및 표준편차를 포함한 시험 시작 및 종료시 동물 개별 중량, 랫드가 아닌 동물의 경우 사용 종에 대한 근거 및 타당성

(6) 시험 조건: 용량 선정의 근거, 시험물질 제형 및 농도, 안정성/동질성, 투여에 대한 사항, 실제 투여량 및 환산계수, 사료 및 음용수의 품질에 관한 사항 등

(7) 내분비계장애물질의 검출을 위한 권장 종단점의 선택

① 의무적 종말점: 중량(고환, 부고환, 부신, 응고샘을 포함한 전립샘, 정낭), 조직병리학(고환, 난소, 부고환, 응고샘을 포함한 전립샘, 정낭, 자궁 경관을 포함한 자궁, 부신, 갑상샘, 질)

② 선택적 종말점: 중량(난소, 자궁 경관을 포함한 자궁, 갑상샘), 조직병리학(질구, 수컷의 유선, 뇌하수체), 호르몬 측정(T3 및 T4의 순환 수준, TSH의 순환 수준)

(8) 시험 결과: 체중 및 체중 변화, 사료 및 음수섭취량, 성별 및 용량별 독성 반응 자료, 시험중/종료 시 동물의 생존 관련 사항, 심각도와 지속기간을 포함한 임상 증상, 가능한 경우 감각적 활동을 포함한 그립강도악력 및 운동 활동 평가, 혈액학적 검사 결과, 생화학적 검사 결과, 안락사 시 체중 및 기관 중량 측정 결과, 부검 육안 소견, 상세한 병리조직학적 결과, 가능한 경우 흡수량 자료, 통계 처리 결과)

(9) 결론

5. 흡입독성시험

5.1 원리

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 평가한다.

5.2 시험의 준비

5.2.1 시험동물

(1) 시험동물로 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 타당성을 제시하여야 한다.

(2) 체중은 각 성별 평균 체중의 ± 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.

5.2.2 사육 조건

(1) 동물실험실은 온도 22 ± 3℃, 습도 50 ± 20%가 유지되도록 한다. 조명은 12시간 간격으로 점멸하도록 조정한다. 사료는 일반적으로 널리 쓰이는 것을 사용하며, 음용수는 자유 급수한다.

(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.

5.2.3 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 제시하여야 한다.

(3) 챔버 내에서 안정한 상태를 유지하기 위해 실험동물의 총 체적은 챔버용적의 5% 이내로 하고, 공기 흐름이 없는 정적 흡입 챔버의 사용은 불가하다.

5.2.4 시험 물질

(1) 가스, 증기, 에어로졸, 또는 그 혼합물 형태로 시험물질을 노출시킨다. 습기를 흡수하며 화학적 반응을 보이는 시험물질은 건조 공기 조건 하에서 시험한다. 시험에 부합한 에어로졸을 형성하도록 응결될 수 있는 모든 에어로졸과 증기에 대해서는 입자 크기를 줄여야 하며 물리적 공정(밀링)을 사용할 수 있다.

(2) 나노물질과 같은 시험물질을 노출할 때 폐 영역의 노출을 향상시키기 위해 기하표준편차(σg)가 1 ~ 3 내에 있고 질량중위공기역학직경(Mass Median Aerodynamic Diameter, MMAD)의 범위가 ≤ 2 μm인 에어로졸을 권장한다. 단 이러한 기준치를 벗어날 가능성이 있는 시험물질에 대해서는 이에 대한 적절한 판단 및 근거를 제시한다.

5.2.5 초기 고려사항

(1) 화학물질의 식별정보, 화학 구조 및 물리·화학적 특성

(2) 기존 in vitro 또는 in vivo 독성 시험 결과, 예상 용도 및 사람에 대한 노출 가능성, 이용 가능한 정량적 구조-활성 관계[(Q)SAR] 자료 및 구조적으로 유사한 화학물질의 독성 자료, 기타 반복 노출 연구에서 얻은 자료

5.3 시험방법

5.3.1 시험물질 노출

(1) 한계시험의 최고농도는 최대 달성 가능 농도, 적절한 산소 공급을 유지할 필요성 및 동물복지를 고려하여 결정한다.

(2) 자료에 기반한 별도의 한계농도가 없다면 유엔 화학물질의 분류 및 표지에 관한 세계조화 시스템의 급성 한계농도를 사용할 수 있다.(에어로졸 5 ㎎/ℓ, 증기 20 ㎎/ℓ, 가스 20,000 ppm)

(3) 가스상 물질이나 휘발성이 매우 높은 물질을 시험할 경우 이 한계를 초과할 필요가 있다면 그 정당성을 입증한다.

5.3.2 노출농도 설정 시험

(1) 본시험을 수행하기 전 충분한 정보가 없을 경우 노출농도 설정시험을 권장한다. 입자크기의 분석방법, 입경분포, 전신독성, 독성동력학, 폐에서의 시험물질 용해성, 입자 이동, 독성기전, 임상병리(혈액학, 생화학), 조직 병리, 폐손상 생체지표, 성 감수성, 기관지폐포세척액(Bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 분석 및 무해농도 예측에 대한 기술적 정보를 얻을 수 있다.

(2) 한계 농도는 동물에게 과도한 스트레스를 주지 않도록 설정하고, 시험물질의 독성을 가장 잘 확인할 수 있도록 측정항목 확인을 위한 농도설정시험을 수행할 수 있다. 이때 BALF의 분석은 시험물질 노출 종료 또는 회복기간에 주기적으로 수행 가능하다. 고체 에어로졸 시험 시 시험물질 용해성과 폐 침착평가는 노출 후 회복 기간과 관찰 간격을 설정하기 위해, 폐관련림프절(LALN) 침착 시험은 시험물질 이동에 대한 정보를 제공하기 위해 수행될 수 있다.

(3) 농도설정시험은 대조군과 하나 또는 그 이상의 농도군으로 구성되며, 시험의 목적에 따라 각 군당 5마리 이하의 수컷과 암컷을 사용한다. 노출기간은 5 일 이상으로 14 일을 초과하지 않으나 난용성 입자의 경우 14 일을 초과할 수 있고 회복군을 둘 수 있다.

5.3.3 본시험

(1) 본시험은 음성(공기)대조군 또는 용매 대조군과 최소 3개의 시험물질 농도군으로 구성한다. 대조군은 시험군과 동일한 방법으로 취급하고, 물을 용매로 사용할 경우에는 상대습도가 동일한 공기에 노출시킨다. 성 감수성의 차이가 있는 경우 성별에 따라 다른 농도를 설정할 수 있다.

(2) 시험물질은 <부록 1>에 따라 두 가지 시험방법으로 나눌 수 있다. 시험설계 옵션 A는 일반적인 화학물질(가스, 증기, 에어로졸 또는 이들의 혼합물)에 활용하고, 옵션 B는 폐내 침착 가능성이 있는 시험물질에 활용한다.

(3) 각 시험군은 최소 수컷 5마리와 암컷 5마리의 설치류로 구성되며, 시험물질의 노출은 1 일 6 시간, 주당 5 일, 4 주(28 일) 동안 실시한다. 필요 시 주당 7 일의 노출도 가능하다. 랫드 외의 설치류 종에 비부 노출하는 경우 고통을 최소화하기 위해 최대 노출 시간을 조절할 수 있으나 근거를 제시하여야 한다. 최대 6 시간을 초과하지 않는 노출 중에는 사료를 제공하지 않으나, 음용수는 공급할 수 있다.

(4) 고농도는 독성영향이 나타나지만 평가에 장애가 되거나 동물의 사망이 유도되지 않는 농도로 설정한다. 중농도는 고농도와 저농도 사이의 독성영향이 단계적으로 차이나도록 설정한다. 이상적인 저농도는 NOAEC에 해당되어 독성영향이 나타나지 않아야 한다.

5.3.4 중간 부검

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

5.3.5 위성군

(1) 시험물질 노출 종료 후 시험물질에 의한 회복성, 지속성, 독성의 지연성 발현 또는 폐침착 등을 확인하기 위하여 <부록 1>과 같이 추가적으로 위성군을 이용한 시험을 실시할 수 있다.

(2) 시험물질이 폐에 축적될 가능성이 있으면 시험설계 B에 따르고, 그렇지 않으면 시험설계 A에 따라 수행한다.

(3) 시험설계 B에서 폐침착 가능성이 있는 난용성(poorly soluble) 고체에어로졸시험을 위한 폐침착 시험과 기관지폐포세척액 분석을 할 수 있도록 위성군을 1개 또는 2개를 둘 수 있다.

5.3.6 노출

(1) 챔버 기류는 노출시간 동안 최소 한 시간 간격으로 기록한다. 비부 노출 챔버 안에서는 동물의 재 호흡을 방지하기 위한 고려가 필요하다. 산소농도는 최소 19% 이상 유지시키고, 이산화탄소 농도는 1%를 초과해서는 안 된다.

(2) 챔버의 온도는 22 ± 3℃로, 동물의 호흡 구역 내 습도는 50 ± 20%로 유지하며, 노출시간동안 연속적으로 관찰하고 매 시간 기록한다.

(3) 명목 농도(Nominal concentration)는 생성된 시험 대상 화학 물질의 질량을 노출 챔버 시스템을 통해 통과한 총 공기 부피로 나눈 값이다.

(4) 분석농도(Analytical concentration)

(가) 동물의 호흡구역 내에서 표본을 추출하여 시험물질의 분석 농도를 측정한다. 복잡한 혼합물은 각 위상(가스/증기 및 에어로졸)의 최소한 1 개 지표물질(분해 물질 또는 활성물질)을 선택하여 측정한다. 제형형태의 혼합물 시험물질은 전체 제형에 대한 분석 농도를 측정한다.

(나) 노출 대기를 일정하게 유지하며, 각 노출일 중 농도별로 최소한 3회 측정한다. 시험물질이 챔버 평형에 달성할 때까지의 시간(Time to attain chamber equilibration, t95)을 계산하여 기록하며, 실제 농도는 가스 및 증기의 경우 평균 챔버 농도에서 ± 10%, 액체 및 고체 에어로졸의 경우 ± 20%를 유지해야 한다.

(5) 입자크기 분포(Particle size distribution)

(가) 입자크기 분포는 노출 시간 동안 농도별 최소한 주 1 회 이상 다단입경측정장치(Cascade impactor) 또는 이에 상응하는 대체 장비(열역학적 등가 직경 또는 광학 입자 측정기 등) 등을 이용하여 측정한다. 측정 장비들은 측정 결과의 통일성 및 수거 효율이 입증되어야 한다. 응축되어 에어로졸을 형성할 수 있는 증기에 대해서는 입자크기를 측정한다.

(나) 나노물질에 의해 생성된 에어로졸은 응집되어 나노 및 마이크로 크기의 입자를 형성할 수 있으므로, 정량적 입자노출(즉, 입자계수, 크기분포 또는 입자 질량)을 측정하는 2가지 이상의 다른 방법이 사용되어야 한다. 또한 주사 전자현미경(SEM) 또는 투과전자현미경(TEM) 검사를 통해 나노물질 등의 입자 크기 및 모양을 주기적으로 확인해야 한다.

5.3.7 관찰 및 측정 사항

(1) 노출 기간 이전, 노출 중 및 노출 이후에 아래의 각 동물별 관찰 사항을 기록하고 안락사시킨 경우나 사망하였을 경우에는 사망 시간을 기록한다.

(가) 피부, 털, 눈, 점막 변화, 호흡기계 및 순환계 변화, 신경계 변화, 운동활동 및 거동 패턴 변화

(나) 떨림, 경련, 타액 분비, 설사, 무기력, 수면, 그리고 혼수상태에 대한 관찰

(다) 직장 온도의 측정을 통한 처치나 보정에 관련된 반사적 호흡완서, 통증반사 또는 저/고체온에 대한 보충 증거

(라) 연구 프로토콜에 생물 감시, 폐 기능 평가 및 거동 변화와 같은 추가 평가가 포함될 수 있다.

(2) 동물의 체중은 첫 번째 노출 전 및 그 이후에는 주당 2 회 실시한다. 첫 2 주 노출 동안에 특별한 체중 변화가 관찰되지 않을 경우, 남은 시험 기간 동안 주 1 회 측정할 수 있다. 회복 기간 내 위성군의 체중은 주간으로 측정한다. 시험 종료시 안락사 시키기 직전에 모든 동물의 체중을 측정하여 기록한다.

(3) 사료섭취량은 주 1 회 이상 주기적으로 측정해야 하며, 음용수 섭취량은 시험 목적에 따라 측정할 수 있다.

5.3.8 검사항목

(1) 임상병리학적 평가는 대조군과 위성군을 포함한 모든 동물에 대해서 수행하며 안락사 시킨 동물도 포함한다. 폐침착 측정에 사용된 위성군 동물에 대해서는 임상병리학적 평가가 요구되지 않지만, 필요에 따라 추가할 수 있다.

(가) 혈액학 검사항목: 적혈구 수, 전체 백혈구 수, 헤마토크릿, 분화(Differential) 백혈구 수, 헤모글로빈 농도, 혈소판 수, 평균 혈구 헤모글로빈, 평균 혈구 양, 평균 혈구 헤모글로빈 농도, 망상적혈구, 응고 가능성(택1, 프로트롬빈 시간, 응고시간, 부분 트롬보플라스틴 시간)

(나) 생화학 검사 항목 : 글루코오스(야간 공복 후), 총 콜레스테롤, 트리글리세라이드, 혈액 요소성 질소, 총 빌리루빈, 크레아티닌, 총 단백질, 알부민, 글로불린, 알라닌 아미노기전이효소, 아스파르트산염 아미노기 전이효소, 알칼리 인산가수분해효소, 칼륨, 나트륨, 칼슘, 인, 염화물

(다) 뇨 검사항목(선택사항) : 외관(색상 및 혼탁도), 총 단백질, 용적, 글루코오스, 비중 또는 삼투압, 혈액/혈구, pH

(라) 시험물질의 독성학적 영향에 대하여 보다 주의 깊은 평가가 필요한 경우 시험책임자는 콜린에스터라아제, 지질, 호르몬, 산/염기 균형, 메트헤모글로빈 또는 하인츠소체, 크레

아틴 키나아제, 골수세포(bone marrow cytology), 트로포닌, 젖산탈수소효소, 글루탐산탈수소효소, 감마-글루타밀전이효소 등의 측정 항목을 추가할 수 있다.

(2) 기관지폐포세척 분석은 시험설계 옵션 A와 옵션 B의 본시험(부검 후 24 시간 내) 에서 암컷 및 수컷 각각 5 마리에서 수행되어야 한다. 특히 시험설계 옵션 B의 경우 본시험 외에 위성시험인 위성군 1을 둘 수 있으며 암컷에서만 수행한다. 기관지폐포세척 분석은 오른쪽 폐에서 수행되고 젖산탈수소효소, 총단백질 또는 알부민, 총세포 수, 폐대식세포/림프구/호중구/호산구 수를 필수로 측정한다.

(3) 폐침착시험(Lung burden)은 난용성 고체에어로졸을 위한 시험설계 B에서만 수행되며 부검 후 24시간 내에 수행되는 본시험과 위성시험(위성군 1, 2)에서 수행될 수 있다. 폐침착시험은 수컷의 오른쪽 폐에서 수행한다.

(4) 검안경이나 동등한 장치를 이용하여 시험물질 노출 전에서 모든 동물 및 종료시 대조군 및 모든 고농도군에서 안저, 굴절매체, 홍채 및 결막에 대한 눈 검사를 수행한다. 변화가 검출되면 위성군 동물을 포함한 다른 그룹에 속한 모든 동물을 검사한다.

(5) 시험에 사용된 모든 시험동물은 안락사시켜 부검을 실시하고 육안 병리검사를 수행한다. 사망동물 발견 직후 부검을 실시하지 못하는 경우에는 사망한 동물을 충분히 낮은 온도의 냉장상태(냉동아님)에 보관하며 가능한 하루나 이틀 이내에 부검한다. 각 동물의 최종 노출 종료 시간과 안락사 사이의 시간을 기록한다.

(6) 모든 육안 병리검사 결과는 개별적으로 각각의 동물에 대해서 기록하여야 하고 특히 호흡기 계통의 변화에 대해서는 주의 깊게 수행하여야 한다. 조직병리검사를 위하여 육안 병리검사 시 적절한 고정액에 고정해야 하는 장기 및 조직은 아래를 참고한다.

(가) 육안 병리검사 시 적절한 고정액에 고정해야 한다.

(나) 갑상샘의 경우 조직의 손상 시 병리조직학적 분석이 어려우므로 필요한 경우에만 중량을 측정한다.

(다) 왼쪽 폐는 조직병리학적 검사를 위해 온전하게 제거하여, 무게를 달고, 폐 조직이 확실히 유지되도록 20 ~ 30 cm의 물 압력에서 고정한다. 폐 침착 측정을 수행하는 위성군의 경우 왼쪽 및 오른쪽 폐 모두의 무게를 측정할 수 있다.

(라) 부검 시 <표 2>의 조직 목록을 보존한다. 비인두 조직은 최소한 4 개 부위를 검사해야 하며, 편평 상피, 이행 상피(무섬모 호흡기), 호흡기(섬모 호흡기) 및 후각 상피, 그리고 배수 림프 조직(NALT)을 적절히 검사할 수 있도록 비인두관이 포함되어야 한다. 시험책임자의 판단에 따라 눈(망막, 시신경) 및 눈꺼풀을 추가로 보존할 수 있다.

〈표 2〉 흡입시험의 조직병리학적 검사를 위한 보존 장기 및 조직

모든 전체 병소, 골수(및/또는 새로운 흡인물), 후두(3 개 부위, 후두개의 바닥포함), 폐문림프절(난용성입자상 물질 연구), 심층연구 및 면역학적 연구(후종격내목, 부교감, 후목, 귀관, 목/아래턱밑 림프절 고려), 림프절(유입구에서 먼 쪽), 비인두 조직(최소한 4 개 부위; 1 개 부위는 비인두관 및 비강 연관 면역조직(NALT) 포함), 식도, 후각신경구, 정낭, 척수(경부, 중간 흉부 및 요추), 위, 기도(분지를 포함하는 세로 및 가로 2개 부위 이상), 방광, 부신, 비장, 뇌(대뇌, 소뇌 및 수질/뇌교 부분 포함), 심장, 신장, 고환, 난소, 흉선, 간, 폐(늑막과 주기관지를 포함한 왼쪽 폐. 최소한 3 개 부위), 갑상샘(고정 후에 트리밍 및 중량 측정), 자궁

(마) 시험물질의 이동(translocation)을 평가할 필요가 있다면 보존된 조직병리학 조직표본에서 관련 조직의 입자침착을 측정할 수 있다. 또한 LALN에서의 입자 침착은 난용성 미립자를 시험할 때 항상 이동의 지표로 이용된다.

(바) 대조군 및 고농도 시험군과 시험 수행 중 사망한 동물들에서 보존한 장기 및 조직에 대해 조직병리검사를 수행한다. 고농도 시험군의 장기 및 조직에서 조직병리검사 결과 시험물질에 기인한 병소가 관찰된 경우 모든 시험군에 대한 검사를 실시한다. 시험에서 위성군을 둔 경우, 시험군에서 영향이 확인된 모든 장기와 조직에서 조직병리검사를 수행한다.

(7) 농도설정시험에서 설치류의 반사적 호흡완서, 고통반사 또는 저체온증이 나타나면 본시험에서 폐기능과 체온을 정기적으로 측정하여 정량화해야 한다.

5.4 시험결과 및 보고

5.4.1 결과의 처리

(1) 체중, 사료섭취량, 임상 병리학, 기관지폐포세척액 분석, 육안병리검사, 장기무게, 폐침착(평가시) 및 조직병리학에 관한 측정치가 개별적으로 제시되어야 하며, 항목에 대한 결과 값은 각 시험군 별로 표 형태로 요약한다.

(2) 시험군 별 동물 수, 시험 중 사망하거나 인도적 이유로 안락사한 동물 수, 안락사 시간, 독성 징후를 나타낸 동물 수와 시간, 독성 영향 및 가역성에 대한 설명 및 시간, 부검 조사 결과를 제시한다. 시험 결과는 설계 시 제시된 통계적 방법으로 평가한다.

(3) 입자크기 기준(특히 MMAD)을 충족시킬 수 없다면 조사결과를 감안한 입자의 호흡 가능성을 다뤄야 하며, 시험의 전반적 평가에 분석농도와 명목 농도와의 관계가 포함되어야 한다.

(4) 사망의 원인과 독성작용기전을 추정하고, 심각하고 지속적인 통증을 나타내는 동물의 안락사에 대한 설명 및 표적장기를 확인한다.

(5) 기준농도(BMC) 또는 무영향관찰농도(NOAEC) 및 최소영향관찰농도(LOAEC)를 결정한다.

(6) 본시험에서 발생한 모든 합병증과 위성군에서의 폐침착 측정 방법 및 설계에 대해 세부적으로 설명한다.

5.4.2 시험 결과의 보고

시험보고서는 다음의 항목을 포함한다.

(1) 시험기관의 명칭 및 소재지

(2) 시험책임자 및 담당자 성명

(3) 시험물질 정보: 식별정보, CAS 등록 번호, 물리적 성상, 순도, 이성질화 및 방사성 표지 여부, 용해도 특성, 용해점, 비등점, pH(적절한 경우), 기압자료(가능한 경우), 나노물질과 같은 입자상 물질의 경우 입자모양, 표면적/비표면적, 표면화학, 코팅 및 표면 변형, 표면전하, 입자용해도 및 응집/응결(aggregation/ agglomeration) 상태

(4) 용매/보조제 종류와 물 외의 용매 사용시 적절성 자료

(5) 시험동물의 정보: 종/계통, 수량, 주령, 성별, 공급원, 식별방법, 체중범위 등), 사료 및 사육 환경 조건, 군 분리시의 무작위 추출 방법, 케이지 당 동물수, 검역 및 질환의 처치를 포함한 시험 조건

(6) 시험 조건: 시험물질 조제 내역, 시험 대기 생성 및 노출에 사용한 장비의 설명, 챔버 온도, 습도, 기류 모니터링 장비의 내역, 챔버 농도 및 입자 크기 분포 결정용 표본 수집 장비 내역, 사용한 화학적 분석법의 내역 및 방법의 검증, 사료 및 음용수의 내역, 기관지폐포세척액 분석 및 폐침착 측정을 위한 방법 등

(7) 흡입 챔버

(가) 용적 및 다이어그램을 포함하여 흡입 챔버에 대한 상세한 설명

(나) 대기 생성은 물론 동물 노출용으로 사용된 장비의 구입처와 설명

(다) 온도, 습도, 입자크기 및 분석농도를 측정하기 위한 장비

(라) 조절용으로 사용된 공기와 시스템의 출처

(마) 균일한 시험대기를 보장하기 위해 장비의 교정에 사용된 방법

(바) 차압(양압 및 음압)

(사) 챔버 당 노출 포트(비부 노출), 챔버 내 동물의 위치(전신)

(아) 시험 대기의 안정성

(자) 온도 및 습도 센서의 위치와 챔버 내 시험 대기의 표본 추출

(차) 공급된/추출된 공기의 처리

(카) 공기유량, 공기유량/노출 포트(비부 노출), 또는 동물 부하/챔버(전신 노출)

(타) 흡입 챔버 평형까지의 시간(t95)

(파) 시간당 챔버 내 공기 용적 변경의 수

(하) 해당하는 경우 계측장치

(8) 노출 자료: 본시험에서 표적 농도 선택에 대한 이론적 근거, 명목농도, 계산방법을 포함한 입자크기 분포, 질량중위공기역학직경(MMAD), 기하학적 표준편차(σg), 개별 입자크기 분석, 열역학적등가직경(개수 또는 질량중앙값), 에어로졸에서 나노물질의 응집도 분석

(가) 공기 농도는 질량 단위(mg/L, mg/m^3 등)로 보고

(나) 동물의 호흡 구역으로부터 채취한 시험물질의 분석농도, 이질적인 물리적 형태(가스, 증기, 에어로졸)를 생성하는 혼합물의 경우 각각을 별도로 분석 가능

(9) 시험 결과: 체중 및 체중 변화, 사료 및 음수섭취량 (필요시), 성별 및 용량별 독성 반응 자료, 시험 중/종료 시 동물의 생존 관련 사항, 심각도와 지속기간을 포함한 임상 증상, 가능한 경우 감각적 활동을 포함한 그립강도악력 및 운동 활동 평가, 혈액학적 검사 결과, 생화학적 검사 결과, 기관지폐포세척액 분석 결과, 폐침착 분석 결과 (측정시), 안락사 시 체중 및 기관 중량 측정 결과, 부검 육안 소견, 상세한 병리조직학적 결과, 챔버 온도, 습도, 공기 유량, 챔버의 명목농도 및 분석농도 자료, 입자크기 분포, 질량중위공기역학직경(MMAD) 및 기하학적 표준편차(σg)의 계산, 계수중앙직경(CMD) 및 기하학적 표준편차(σg) 등을 포함한 입자 크기, 통계 처리 결과

(10) 결론

<부록 1> 시험설계 예시

옵션 A (가스, 증기, 액체에어로졸 및 용해성 고체에어로졸)

노출군	본시험 (PEO-1)	위성시험 (PEO-2)	총 동물수
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

옵션 B (난용성 고체에어로졸)

노출군	본시험 (PEO-1)		총 동물수
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

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

BAL, bronchoalveolar lavage, 기관지폐포세척

PEO-1: 노출 종료 후 1일 이내 관찰

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

안전보건기술규정 개정 이력

□ 개정일 : 2026. 1. 30.

○ 개정자 : 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 흡입독성연구센터

○ 개정사유 : 산업안전보건법 화학물질 유해성 평가 관련 법 조항 추가 및 최신화와 유사 규정 통폐합 등

- 고용노동부 고시 및 예규 추가
- 국립환경과학원고시 제2025-26호(화학물질의 시험방법에 관한 규정) 최신화
- OECD 화학물질 시험 가이드라인 최신화
- 아급성 경구(T-2) 및 흡입독성시험(T-30) 규정 통폐합

관리번호	기술지원규정명	정비유형
E-T-8-2026	화학물질의 아급성(28일) 경구 및 흡입독성시험에 관한 기술지원규정	통폐합(개정)
T-2-2023	화학물질의 아급성 독성시험 기술지침	통폐합(폐지)
T-30-2022	화학물질의 28일 반복흡입독성시험 기술지침	

○ 주요 개정내용

- 아급성 경구독성시험의 검사항목(내분비계 장애물질 검출 관련) 추가
- 최신 가이드라인을 적용한 흡입독성시험 항목 추가
- 투여 경로 별 시험 방법, 검사 항목 등의 분리

KOSHA GUIDE
기술지원규정

·규정번호 : E-T-8-2026
·심　　의 : 산업안전보건표준제정위원회
·공 표 일 : 2026. 1. 30.