

DB44

地 方 标 准

DB 44/ XXXXX—20XX

实验动物 合成材料运动场地面层吸入毒性 安全技术规范

Synthetic materials sports field surfaces——
Safety and technical specification for inhalation toxicity test in laboratory animal

点此处添加与国际标准一致性程度的标识

（征求意见稿）

XXXX – XX – XX 发布

XXXX – XX – XX 实施

发 布

目 次

前言.....II

1 范围..... 1

2 规范性引用文件..... 1

3 术语和定义..... 1

4 原理..... 2

5 实验要求..... 3

 5.1 受试物制备..... 3

 5.2 实验动物..... 3

 5.3 染毒设施和环境..... 3

 5.4 实验步骤和观察指标..... 4

6 数据处理和结果评价..... 5

 6.1 数据处理..... 5

 6.2 结果评价..... 6

7 试验结果的解释..... 6

附录 A（资料性附录） 吸入染毒装置示例..... 7

参考文献..... 8

前 言

本文件按照GB/T 1.1 - 2020 《标准化工作导则 第1部分:标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由广东省实验动物标准化技术委员会（GD/TC 93）提出和归口。

本文件起草单位：广州质量监督检测研究院，广州市从化区教育局，广州市花都区教育局，广州市教育基建和装备中心，广东省奥林匹克中心，广东省体育场馆协会，广东省体育设施制造商协会，广州同欣体育股份有限公司，广州杰锐新材料有限公司，江门市长河化工实业集团有限公司，广州信源体育产业有限公司，广东川奥高新科技有限公司。

本文件主要起草人：

本文件为首次发布。

实验动物 运动场地面层合成材料吸入毒性安全技术规范

1 范围

本文件规定了啮齿类动物5 d/28 d吸入毒性安全技术规范的范围、原理、实验要求、数据处理和报告评价、试验结果的解释。

本文件适用于现浇型面层、预制型面层、人造草面层、半预制复合型面层及其原料等合成材料运动场地面层的吸入毒性安全性研究。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB 14922 实验动物 微生物、寄生虫学等级及监测

GB 14924 实验动物 配合饲料

GB 14925 实验动物 环境及设施

GB 36246 中小学合成材料面层运动场地

GB/T 43564 中小学合成材料面层田径场地

GB/T 43566 中小学人造草面层足球场地

GB 5749 生活饮用水卫生标准

3 术语和定义

3.1

合成材料面层 synthetic surface

铺装 in 沥青混凝土或水泥混凝土等基础层上的高分子合成材料层。

注：合成材料面层主要包括现浇型面层、预制型面层和人造草面层。

[来源：GB/T 43564-2023，3.1]

3.2

现浇型面层 in-situ casting surface

将高分子原料和其他原料在现场浇注铺装的面层。

[来源：GB 36246-2018，3.2]

3.3

预制型面层 prefabricated surface

按一定的生产工艺流程将高分子合成材料预先制备成一定厚度的卷材或块材,至现场粘结或拼装的面层。

[来源: GB 36246-2018, 3.3]

3.4**人造草面层 artificial turf surface**

以类似天然草的合成纤维经机械编织固定于底布上形成人造草,至现场粘接并与弹性垫层等必要的其他材料装成整体的面层。

注: 如在人造草内填充石英砂和/或弹性颗粒, 成为填充式人造草面层, 反之则称为无填充式人造草面层。

[来源: GB/T 43566-2023, 3.1]。

3.5**半预制复合型面层 semi-prefabricated composite surface**

按一定的施工工艺将预制好的高分子合成材料卷材或块材作为底胶层铺装,再由聚合物胶体主料或聚合物胶体主料混合防滑颗粒作为面胶层, 整体形成的非渗水型面层。

注: 复合型面层分为全现浇复合型面层和半预制复合型面层。全现浇复合型面层是由少量聚合物胶体主料与填充颗粒混合做成渗水性底胶层, 由聚合物胶体主料做成隔离层, 再由聚合物胶体主料或聚合物胶体主料混合防滑颗粒做成面胶层, 整体形成的非渗水型面层。

[来源: GB/T 43566-2023, 3.5]。

3.6**固体原料 solid raw materials**

在铺装时以固体形式存在的合成材料。

注: 如丁苯橡胶颗粒、三元乙丙橡胶颗粒、聚氨酯橡胶颗粒、热塑性弹性体、预制卷材、人造草等。

[来源: GB 36246-2018, 3.7]。

3.7**非固体原料 non-solid raw materials**

在铺装时以非固体形式存在的合成材料。

注: 如各种胶粘剂、现浇型面层用预聚体和多元醇树脂组分等。

[来源: GB 36246-2018, 3.8]。

3.8**靶器官 target organ**

实验动物出现由受试物引起的明显毒性作用的任何器官。

4 原理

合成材料运动场地面层经高温挥发产生有毒有害物质。实验动物每天吸入暴露一定时间，连续染毒5 d/28 d，观察受试物对动物生长发育的影响，了解毒作用靶器官和可逆性，并初步评价受试物吸入的安全性。

5 实验要求

5.1 受试物制备

5.1.1 合成材料运动场地面层成品

铺装现场裁取（应在铺装完成后14 d~28 d裁取）、挖取的合成材料运动场地面层样品规格300 mm×400 mm×实际厚度，取样后装入聚乙烯或聚四氟乙烯袋密封保存，取样量2块。运动场地上挖取样品的位置按照GB 36246附录A确定。

注：成品样品应在合成材料运动场地面层铺装完毕后14 d~60 d内开始检测。对于现场挖取的样品，实验前应去除底层附着物。

5.1.2 合成材料运动场地面层原料

合成材料运动场地面层原料的数量能均匀铺设在染毒舱加热面。应在送达实验室后14 d内开始检测。

对于底胶卷材（块材），按照GB 36246规定取样。

对于面胶层防滑颗粒，应根据生产者提供的建议铺装量（kg/m²），按照240 cm²的面积计算取样量，取样量应在报告中注明。当无法获得建议铺装量时，取样量为30 g。（GB/T 43564附录B）

对于非固体原料，应根据生产者提供的建议铺装量（kg/m²）和工艺，将非固体原料均匀地涂在无味且化学惰性的基材上（如玻璃板、不锈钢板、聚四氟乙烯板等）。（GB/T 43564附录C）

5.2 实验动物

5.2.1 动物选择

实验动物的选择应符合GB 14922有关规定。选择敏感的种类和品系，一般啮齿类动物首选大鼠，也可使用其他动物。大鼠周龄推荐不超过6周，体重50 g~100 g。试验开始时每种性别动物体重的差异不应超过平均体重的±20 %。每组动物数不少于10只，雌雄各半，对照组动物性别和数量应与染毒组相同，必要时设置追踪观察组。

5.2.2 动物准备

试验前动物在实验动物房至少应进行3 d~5 d环境适应和检疫观察。

5.2.3 动物饲养

动物饲养环境应符合GB 14925、饮用水应符合GB 5749、饲料应符合GB 14924的有关规定。试验期间动物自由饮水和摄食。大鼠按性别分笼群饲，每笼动物数（一般不超过3只）应满足实验动物最低需要的空间，以不影响动物自由活动和观察动物的体征为宜。试验期间每组动物非试验因素死亡率应小于10 %，濒死动物应尽可能进行血液生化指标检测、大体解剖以及病理组织学检查，每组生物标本损失率应小10 %。

5.3 染毒设施和环境

动物应在吸入染毒设备中进行试验。对设备基本要求：染毒装置应配备动态气流，口鼻吸入染毒过程中应使装置内保持轻度负压，全身暴露装置染毒柜内应密闭，以防止受试物泄露到外部环境中。暴露期间，维持12次-15次/小时换气，保证氧气体积分数至少为19%，保证动物在柜内不能拥挤、不能超过染毒柜容积的5%，并能最大程度的接触合成材料运动场地面层的挥发物。

在试验过程中应连续监测温度和湿度，染毒过程中温度应保持在22℃~26℃，相对湿度应保持在30%~70%。

5.4 实验步骤和观察指标

5.4.1 吸入染毒

参照GB 36246-2018附录I，设置材料/舱载荷比为0.4 m²/m³，合成材料运动场地面层成品根据上表面暴露面积计算，合成材料运动场地面层原料以环境舱容积计算。取相应面积的合成材料运动场地面层成品或原料（60±2）℃加热，降至室温（20℃-26℃）染毒。每日暴露染毒1 h，连续染毒5 d/28 d。染毒过程中，要停止喂食给水。每只动物在暴露期间应处在独立的空间，以防止动物聚集趴卧，避免影响动物吸入受试物的量。

图示见附录A。

5.4.2 一般临床观察

染毒期间每天至少进行两次临床观察，或者根据动物反应，进行更频繁观察。急性吸入染毒（5 d）后观察至14 d。染毒28 d，为观察染毒结束后的毒性效应的转归而设追踪观察组，追踪观察组至少观察14 d，以检测毒效应的持续性、可恢复性或迟发性。

每日记录动物出现中毒体征、程度和持续时间及死亡情况。观察内容包括被毛、皮肤、眼、黏膜、分泌物、排泄物、呼吸系统、神经系统、自主活动（如流泪、竖毛反应、瞳孔大小、异常呼吸）及行为表现（如步态、姿势、对处理的反应、有无强直性或阵挛性活动、刻板反应、反常行为等）。对体质弱的动物应隔离，濒死和死亡动物应及时解剖。应详细记录所有的观察结果，每个动物应该保持单独记录。

5.4.3 体重和摄食量

急性吸入染毒（5 d）暴露：每只大鼠的体重应至少在第1天、第3天、第5天、第7天和第14天，以及安乐死时进行记录。28 d吸入暴露：每周记录体重。若动物体重出现≥20%的持续递减，应该进行密切监测。

同时测定摄食量，计算食物利用率。试验结束时，计算动物体重增长量、总摄食量、总食物利用率。

5.4.4 眼部检查

试验前和试验结束时，对染毒组、对照组及追踪观察组的所有动物进行眼部（角膜、结膜、虹膜）检查。

5.4.5 血液学检查

仅28 d吸入暴露开展染毒结束及追踪观察结束进行血液学指标测定。推荐指标为白细胞计数及五分类、红细胞计数、血红蛋白浓度、红细胞压积、血小板计数、凝血酶原时间（PT）、活化部分凝血活酶时间（APTT）等。如果对血液系统有影响，应加测网织红细胞、骨髓涂片细胞学检查。

5.4.6 血生化检查

仅28 d吸入暴露开展染毒结束及追踪观察结束进行血液生化指标测定，应空腹采血。测定指标应包括电解质平衡、糖、脂肪和蛋白质代谢、肝（细胞、胆管）肾功能等方面。至少包含钠、钾、氯、钙、磷、血糖（Glu）、丙氨酸氨基转移酶（ALT）、门冬氨酸氨基转移酶（AST）、碱性磷酸酶（ALP）、尿素（Urea）、白蛋白（Alb）、肌酐（Cre）、总胆红素（TBIL）、总蛋白（TP）、总胆固醇（TC）、甘油三酯（TG）、尿酸（UA）等指标。必要时可根据所观察到的毒性作用进行其他更大范围的临床生化检查，以便进行全面的毒性评价，检测指标可包括胆碱酯酶、脂质、激素、酸碱平衡、甲基苯丙胺或亨氏体、肌酸激酶、骨髓细胞学、肌钙蛋白、乳酸脱氢酶、谷氨酸脱氢酶或 γ 谷氨酰转肽等。

5.4.7 尿液检查

一般不需要进行，只有当怀疑存在或观察到相关毒性作用时方需进行尿液检查。仅28 d吸入暴露开展，包括外观、尿液量、尿蛋白、相对密度、pH、葡萄糖和潜血等。若预期有毒反应指征，应增加尿液检查的有关项目如尿沉渣镜检、细胞分析等。

5.4.8 病理检查

所有实验的动物，包括在实验中死亡的，或者出于动物福利原因被安乐死以及从试验中撤离的，应该进行大体解剖。如果动物被发现死亡后，应尽可能快地进行尸体解剖，通常在1 d~2 d内，如不能被立即进行尸体解剖，动物应该被冷藏，以减少自溶。记录每个动物的大体病理变化，并特别注意呼吸道改变。其他附加检查可为研究提供更为深入的解释价值，例如测量存活大鼠肺的重量，和/或提供呼吸道刺激性的显微镜检查证据，对死亡和存活24 h及24 h以上的动物中存在大体病理改变的器官进行组织病理学检查。如受试物对水有反应（如酸和吸湿性受试物），可开展整个呼吸道的显微镜检查。

28 d吸入暴露试验结束时必须称取所有动物心脏、胸腺、肺、肝、肾、肾上腺、脾、睾丸/卵巢/子宫的绝对重量，计算相对重量（脏/体比值）。并开展组织病理学检查。记录每个动物的大体病理变化，并特别注意呼吸道改变。检测脏器应包括大体异常的器官、脑（含嗅球）、眼（视网膜、视神经）及眼睑、鼻咽组织（至少4层，1层包括鼻咽管和鼻腔相关淋巴组织）、喉（包括会厌基底层在内的3层）、气管（至少2层，包括1个通过肺外支气管分叉处隆凸的纵切面和1个横切面）、甲状腺、胸腺、心脏、肺、肝、脾、肾、肾上腺、卵巢、子宫、睾丸，必要时可加测胃、十二指肠、空肠、回肠、盲肠、结肠、直肠、胰肠系膜淋巴结、脊髓（颈、胸、腰）、垂体、食道、唾液腺、颈淋巴结、动脉、乳腺、附睾、前列腺、骨和骨髓、坐骨神经和肌肉、皮肤和眼球、膀胱等组织器官。对肉眼可见的病变或可疑病变组织进行病理组织学检查，出具组织病理学检查报告，病变组织给出病理组织学照片。对附加组的组织病理学检查应重点检查染毒组有病变的器官和组织。

其他附加检查可为研究提供更为深入的解释价值，例如测量存活大鼠肺的重量，和/或提供呼吸道刺激性的显微镜检查证据，对死亡和存活24 h及24 h以上的动物中存在大体病理改变的器官进行组织病理学检查。

5.4.9 其他指标

必要时，根据所观察的毒性反应，增加其他指标（如神经毒性、免疫毒性、内分泌毒性指标）。对雄性动物进行精子形态、数量以及活动能力的观察和评价。

6 数据处理和结果评价

6.1 数据处理

应将所有的数据和结果以表格形式进行总结，列出各组开始前的动物数、试验期间动物死亡数及死亡时间、出现毒性反应的动物数，列出所见的毒性反应，包括出现毒效应的时间、持续时间及程度。对计量资料给出均数、标准差。对动物体重、摄食量、食物利用率、血液学检查、血生化检查、尿液检查、脏器重量和脏体比值、病理检查等结果应以适当的方法进行统计学分析。一般情况，计量资料采用方差分析，进行多个试验组与对照组之间均数比较，分类资料采用Fisher精确分布检验、卡方检验、秩和检验，等级资料采用Ridit分析、秩和检验等。

6.2 结果评价

急性吸入染毒（5 d）：若染毒组大鼠在吸入暴露期间未死亡，且体重无下降或体重虽有下降，但观察期结束与对照组差异无统计学意义，则判定该运动场地合成材料面层吸入毒性合格。

28 d吸入暴露：综合考虑临床观察、生长发育情况、血液学检查、血生化检查、尿液检查、大体解剖、脏器重量和脏体比值、病理组织学检查等各项结果，评价短期重复剂量吸入染毒的毒性，初步判断合成材料运动场地面层成品或原料的毒作用特点、程度、靶器官、剂量效应、剂量反应关系，如设有追踪观察组，还可判断合成材料运动场地面层成品或原料毒作用的可逆性。

7 试验结果的解释

急性、短期重复吸入毒性试验能提供合成材料运动场地面层在较短时间内重复给予引起的毒性效应，毒性作用特征及靶器官等有关资料。由于动物和人存在物种差异，试验结果外推到人有一定的局限性，但能提供经吸入途径接触合成材料面层可能引起的毒性效应及其作用特征。

附 录 A
(资料性附录)
吸入染毒装置示例

染毒装置由动物染毒舱组成。动物染毒舱由空气温湿度监控系统、温度和湿度传感器、实验动物放置台、排气口等部分组成。如下图所示。

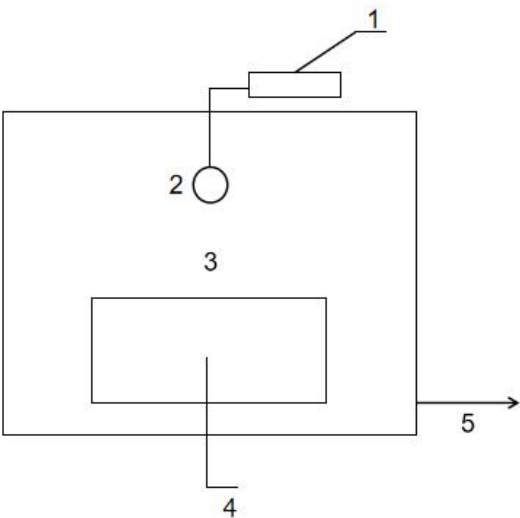


图 A.1 吸入染毒装置示意图

说明：

- 1——温度和湿度的监测系统；
- 2——温度和湿度传感器；
- 3——实验动物放置台；
- 4——动物染毒舱；
- 5——排气口；

动物染毒舱内试验条件：温度应保持在22℃~26℃，相对湿度应保持在40%~70%。12次-15次/小时换气，保证氧气体积分数至少为19%，应维持轻微负压。

试样准备按照GB 36246-2018附录I进行。

参 考 文 献

- [1] GB/T 20001.5-2017 标准编写规则 第5部分：规范标准
 - [2] GB/T 21605-2008 化学品急性吸入毒性试验方法
 - [3] GB/T 21754-2008 化学品 28天/14天重复剂量吸入毒性试验方法
 - [4] 国家药品监督管理局2024年第12号通告附件9 28天重复剂量吸入毒性
 - [5] DB44/T 2461-2024 地方标准编制指南
-