



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 21827—2008

---

## 化学品 皮肤变态反应试验 局部淋巴结方法

Chemicals—Test method of skin sensitization—Local lymph node assay  
(LLNA)

2008-05-12 发布

2008-09-01 实施

---

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局  
中国国家标准化管理委员会 发布

中 华 人 民 共 和 国  
国 家 标 准  
化 学 品 皮 肤 变 态 反 应 试 验  
局 部 淋 巴 结 方 法  
GB/T 21827—2008

\*

中 国 标 准 出 版 社 出 版 发 行  
北 京 复 兴 门 外 三 里 河 北 街 16 号  
邮 政 编 码 : 100045

网 址 [www.spc.net.cn](http://www.spc.net.cn)

电 话 : 68523946 68517548

中 国 标 准 出 版 社 秦 皇 岛 印 刷 厂 印 刷  
各 地 新 华 书 店 经 销

\*

开 本 880×1230 1/16 印 张 0.5 字 数 10 千 字  
2008 年 8 月 第 一 版 2008 年 8 月 第 一 次 印 刷

\*

书 号 : 155066 · 1-32502

如 有 印 装 差 错 由 本 社 发 行 中 心 调 换  
版 权 专 有 侵 权 必 究  
举 报 电 话 : (010)68533533

## 前 言

本标准等同采用经济合作与发展组织(OECD)化学品测试指南 No. 429(2002 年)《皮肤变态反应试验 局部淋巴结法试验》(英文版)。

本标准做了下列编辑性修改：

- 增加了“范围”一章；
- 计量单位改为我国法定计量单位；
- 删除了 OECD 的参考文献部分。

本标准由全国危险化学品管理标准化技术委员会(SAC/TC 251)提出并归口。

本标准负责起草单位：中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所。

本标准参加起草单位：上海出入境检验检疫局、宁波出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：刘清君、邱璐、孙金秀、史晓祎、马中春。

## OECD 引言

1. OECD 试验指南立足从科学技术进步和动物福利的角度,对检测方法的建立和优化进行定期审查,从而决定是否对现有的方法进行更新或者建立新的方法指南。基于此目的,一种新的方法,即利用小鼠进行的判断皮肤变态反应的方法——局部淋巴结法(LLNA)已经得到充分的验证并被接受成为新的 OECD 指南。它是目前公布的第二个评估化学品对皮肤致敏作用的动物试验指南。另一个为利用豚鼠进行的最大反应试验和局部封闭涂皮试验的指南。

2. LLNA 的优点是既体现了科学的进步,又兼顾了动物福利的问题。它检测的是皮肤变态反应诱导阶段淋巴细胞的增殖,可以提供评估剂量-反应量化的数据。关于 LLNA 验证过程以及相关工作的综述已经发表。此外,值得注意的是,在豚鼠试验中推荐使用的轻-中强度的阳性对照致敏物,在 LLNA 试验中同样适用。

3. LLNA 是鉴别皮肤致敏化学品的可选择的方法之一,它既可以识别皮肤致敏化学品,也能够确定那些没有明显皮肤致敏活性的化学品。当然这不是说在所有的情况下 LLNA 都可以替代豚鼠试验,但这种方法具有一定的优点,是变态反应试验可选择的方法之一,通常也不需要对比阳性和阴性结果再进一步确认。

4. LLNA 是一种体内试验,不可避免要使用一定量动物,但 LLNA 可以减少动物使用的数量,而且优化了动物接触受试物的方法。LLNA 是基于化学品刺激下致敏反应的诱导阶段建立的。与豚鼠试验不同,LLNA 不需要激发皮肤的超敏反应;而且也不需要豚鼠试验中的最大反应,因此不使用佐剂,这样就减少了动物的痛苦。虽然 LLNA 比传统豚鼠试验具有这些优点,但同时必须认识到 LLNA 也有一定的缺陷(如:在某些金属物质的试验中发现假阴性的结果,在某些皮肤刺激物试验中出现假阳性结果),这时必须进行传统的豚鼠试验。

# 化学品 皮肤变态反应试验

## 局部淋巴结方法

### 1 范围

本标准规定了皮肤变态反应试验——局部淋巴结法的范围、试验基本原则、试验方法、试验数据和报告。

本标准适用于检测化学品致皮肤变态反应作用,即检测皮肤变态反应诱导阶段淋巴细胞增殖的反应,可以提供评估剂量-反应的量化数据。

### 2 试验基本原则

LLNA 的基本原则是致敏化学品在暴露后,能够诱导染毒部位的引流淋巴结内淋巴细胞的增殖。增殖反应与化学品的剂量(和致敏原的致敏力)成比例,因此可以通过简单的方法获得客观、定量的致敏试验数据。LLNA 通过比较受试样品试验组与溶剂对照组增殖的剂量-反应关系来评估增殖状况。对受试样品试验组与溶剂对照组的增殖比率即刺激指数(SI)进行比较,当该指数大于等于 3 时受试样品才能作为潜在皮肤致敏物进行进一步评估。

本文所述 LLNA 法是通过放射标记检测细胞增殖。也可以使用其他的毒性终点的检测手段评价细胞的增殖,但必须提供充足的理由和科学依据,包括完全引用和方法学的描述。

### 3 试验方法

#### 3.1 受试物

受试样品可以是液态、固体和颗粒状。

赋形剂应在考虑最大试验浓度和可溶性的基础上进行选择,使形成的溶液/悬浮液适于使用。推荐赋形剂按优先顺序为:丙酮/橄榄油(4:1,体积分数)、二甲基甲酰胺、丁酮、丙二醇和二甲基亚砷,如具备充分的科学依据,也可使用其他赋形剂。在某些情况下有必要增加受试物使用的临床赋形剂或商品化制剂作为另外的对照。特别应注意要使亲水物质分散在赋形剂系统中,这样既能湿润皮肤,又不会立即流失,但要避免使用只含水的赋形剂。

#### 3.2 实验动物和饲养环境

##### 3.2.1 动物种属

选择未生育过和未怀孕的成年雌性小鼠(CBA/Ca 或 CBA/J 品系)。试验开始时鼠龄为 8 周~12 周,体重变异应小于平均体重的 20%。选择其他种属或雄性动物时应有充足的证据表明在该试验中不存在种属和性别的差异。

##### 3.2.2 动物饲养

动物单笼饲养,实验动物房温度应为 23℃±3℃,除了清理动物房时外,其他时间的相对湿度应在 30%~70%之间,最好保持在 50%~60%。应采用人工照明,每天 12 h 明暗交替。采用常规实验室饲料,不限制饮水。

##### 3.2.3 动物数量

每一剂量组至少应有 4 只动物,受试物至少设三个剂量组,一个赋形剂阴性对照组,还应酌情考虑设立阳性对照组。收集每只动物的资料,每组动物数至少 5 只。

#### 3.3 剂量设计

剂量可以从下列浓度系列中选择:100%、50%、25%、10%、5%、2.5%、1%、0.5%等。在选择三个