МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 32642— 2014

МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЯ ПО ВОЗДЕЙСТВИЮ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА

Определение токсичности при повторном/ многократном накожном поступлении. 28/21-дневный тест

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2019

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и общие правила проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Федеральным бюджетным учреждением здравоохранения «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора); Федеральным государственным унитарным предприятием «Всероссийский научно-исследовательский центр стандартизации, информации и сертификации сырья, материалов и веществ» (ФГУП «ВНИЦСМВ»); Техническим комитетом по стандартизации № 339 «Безопасность сырья, материалов и веществ» на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии документа, указанного в пункте 5

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 28 марта 2014 г. № 65-П)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Азербайджан	AZ	Азстандарт
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Туркмения	TM	Главгосслужба «Туркменстандартлары»
Узбекистан	UZ	Узстандарт
Украина	UA	Минэкономразвития Украины

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 22 сентября 2014 г. № 1163-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 32642—2014 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июня 2015 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному документу OECD Test № 410:1981 «Кожная токсичность повторной дозы: 21/28-дневное исследование» («Repeated Dose Dermal Toxicity: 21/28-day Study», IDT).

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования указанного международного стандарта для приведения в соответствие с ГОСТ 1.5 (подраздел 3.6)

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

7 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Сентябрь 2019 г.

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»

© Стандартинформ, оформление, 2015, 2019

В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Область применения 1
2 Термины и определения 1
3 Принцип тестирования 1
4 Описание метода 2
5 Патология 4
6 Данные и отчет 4
Библиография 6

Введение

При оценке токсичных свойств химического вещества определение субхронической кожной токсичности может быть проведено после получения исходной информации о токсичности в ходе испытания острой токсичности. Исследование острой токсичности предоставляет информацию о возможных опасностях для здоровья, которые могут возникнуть в результате повторной экспозиции на кожу в течение ограниченного периода времени.

Принципы проведения 21-дневного или 28-дневного дермального исследования повторной дозы достаточно схожи, что позволяет в одном стандарте рассмотреть испытания и с той, и с другой продолжительностью. Основное отличие заключается во времени, в течение которого происходит дозирование.

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЯ ПО ВОЗДЕЙСТВИЮ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА

Определение токсичности при повторном/многократном накожном поступлении. 28/21-дневный тест

Guidelines for the testing of chemicals.
Repeated dose dermal toxicity: 21/28-day study

Дата введения — 2015—06—01

1 Область применения

Настоящий метод исследования предназначен для изучения субхронической кожной токсичности химических веществ в целях получения информации о воздействии на организм человека в результате повторного нанесения на кожу в течение 21/28 дней.

2 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

2.1 **доза** (dose): Количество исследуемого вещества, нанесенного на кожу. Доза выражается как масса (г, мг) или как масса исследуемого вещества на единицу массы тела экспериментального животного (например, мг/кг).

2.2 **кумулятивная токсичность** (cumulative toxicity): Вредные эффекты повторных доз, возникающие в результате длительного воздействия или повышенной концентрации введенного вещества или его метаболитов на чувствительные ткани.

2.3 **NOAEL** (no-effect level/no-toxic-effect level/no-adverse-effect level): Уровень отсутствия наблюдаемого вредного воздействия после введения вещества: является максимальной дозой, не вызывающей обнаруживаемого вредного воздействия на здоровье.

3 Принцип тестирования

Исследуемое вещество наносят ежедневно на кожу нескольким группам экспериментальных животных, одну дозу на группу в течение 21/28 дней.

Об исследуемом веществе необходимы следующие сведения:

- агрегатное состояние: твердое или жидкое;
- химическая идентификация исследуемого вещества;
- чистота (примеси) исследуемого вещества;
- характеристики растворимости;
- pH (при необходимости);
- стабильность, включая стабильность в растворителе при применении;
- точка плавления/точка кипения.

В течение периода нанесения вещества животных ежедневно обследуют для выявления признаков интоксикации. Животных, которые погибают в ходе испытания, подвергают аутопсии, выживших животных после завершения испытания умерщвляют и подвергают аутопсии.

Издание официальное

4 Описание метода

4.1 Подготовка

Здоровых молодых половозрелых животных акклиматизируют к лабораторным условиям по крайней мере в течение пяти дней до испытания. Перед испытанием животных распределяют на экспериментальную и контрольную группы в произвольном порядке. Волосяной покров спинной области туловища экспериментальных животных должен быть удален. Шерстка может быть выбрита, но бритье следует осуществить приблизительно за 24 ч до начала испытания. Приблизительно через неделю требуется повторная стрижка или бритье. При стрижке или бритье волосяного покрова необходимо соблюдать осторожность, чтобы не повредить кожу, что может повлиять на ее проницаемость, если только это не предусмотрено методикой испытания. Для применения исследуемого вещества должно быть очищено не менее 10 % площади поверхности тела. Решая, какая площадь должна быть очищена и каковы должны быть размеры участка для нанесения вещества, следует учитывать массу животного. При тестировании твердых веществ, которые можно растереть в порошок, исследуемое вещество должно быть достаточно увлажнено водой или подходящим растворителем для обеспечения хорошего контакта с кожей. При применении растворителя следует учитывать влияние растворителя на проницаемость в кожу исследуемого вещества. Жидкие исследуемые вещества, как правило, не разбавляют.

4.2 Животные

4.2.1 Выбор видов животных

Могут быть применены: половозрелая крыса, кролик или морская свинка. Могут быть применены другие виды, но их применение требует обоснования.

Для проведения испытания следует выбрать животных с массой тела:

- 200—300 г — крысы;
- 2,0—3,0 кг — кролики;
- 350—450 г — морские свинки.

Если субхроническое исследование кожной токсичности проводят перед долгосрочным исследованием, следует применять животных одной породы и одного и того же происхождения.

4.2.2 Число и пол

При испытании каждой дозы следует использовать по крайней мере 10 животных (по пять животных каждого пола) со здоровой кожей. Самки должны быть нерожавшими и небеременными. Если предполагается промежуточное умерщвление животных, их число должно быть увеличено на число животных, которое планируется умертвить до завершения исследования. Кроме того, вспомогательную группу из 10 животных (по пять животных каждого пола) можно обрабатывать дозой высокого уровня в течение 21/28 дней с последующим наблюдением за обратимостью и стойкостью изменений появления отдаленных токсических эффектов в течение 14 дней после завершения нанесения вещества.

4.2.3 Условия содержания и кормления

Животных следует содержать в отдельных клетках. Температура в комнате с подопытными животными должна быть (22 ± 3) °С для грызунов или (20 ± 3) °С для кроликов с относительной влажностью от 30 % до 70 %. При искусственном освещении должна быть последовательность: 12 ч — свет и 12 ч — темнота. При кормлении могут быть применены стандартные лабораторные диеты с неограниченным количеством питьевой воды.

4.3 Условия испытания

4.3.1 Уровни доз

Следует применять не менее трех уровней доз, контрольную группу и при необходимости контрольную группу с нанесением растворителя. С животными контрольной группы следует обращаться так же, как и с животными экспериментальной группы, но не обрабатывать исследуемым веществом. Самый высокий уровень дозы должен приводить к токсическим эффектам, но не вызывать смертельных исходов, которые могут препятствовать обоснованной оценке. Самый низкий уровень дозы не должен вызывать никаких признаков интоксикации. Там, где есть приемлемая оценка воздействия на человека, самый низкий уровень должен превышать ее. В идеале средний уровень(ни) дозы должен(ны) вызывать минимальные видимые токсические эффекты. Если применяют более одной промежуточной дозы, уровни дозы должны быть распределены так, чтобы можно было провести градацию токсических

эффектов. В малых, промежуточных и контрольных группах число смертельных исходов должно быть низким, чтобы обеспечить значимую оценку результатов.

Если при нанесении исследуемое вещество вызывает сильное раздражение кожи, его концентрация может быть уменьшена, хотя это может привести к снижению или отсутствию других токсических эффектов при дозе высокого уровня. Однако при сильном повреждении кожи в начале исследования может возникнуть необходимость прекратить испытание и провести новое исследование при более низких концентрациях.

4.3.2 Испытание предельной дозы

Если испытание при одном уровне дозы, равном не менее 1000 мг/кг массы тела (но ожидаемое воздействие на человека может указывать на необходимость дозы более высокого уровня), применяя процедуры для настоящего исследования, вызывает невидимые токсические эффекты и если токсичность является маловероятной на основании данных, полученных для соединений, близких по структуре, то полное исследование с применением трех уровней доз не требуется.

4.3.3 Наблюдения

По крайней мере один раз в день должен быть проведен тщательный клинический осмотр. Дополнительные наблюдения следует проводить ежедневно, принимая необходимые меры для минимизации потери животных при исследовании, например аутопсию или охлаждение животных, найденных мертвыми, и изоляцию или умерщвление слабых или умирающих животных.

4.4 Основное испытание

Животных обрабатывают исследуемым веществом не менее шести часов в день в течение семи дней в неделю на протяжении 21/28 дней. Однако, исходя прежде всего из практических соображений, считается приемлемым нанесение вещества пять дней в неделю. Животных вспомогательной группы, предусмотренной для последующих наблюдений, выдерживают в течение 14 дней после эксперимента, чтобы выявить способность к восстановлению или стойкость токсических эффектов.

Исследуемое вещество следует наносить равномерно на участок, составляющий примерно 10 % общей площади поверхности тела. При применении высокотоксичных веществ поверхность участка для нанесения вещества может быть меньше, но большая часть его должна быть покрыта тонкой и равномерной пленкой испытуемого вещества, насколько это возможно.

Между нанесениями исследуемого вещества оно должно контактировать с кожей посредством пористой марлевой повязки и не вызывающей раздражения лентой. Участок тела, через который воздействует исследуемое вещество, должен быть покрыт способом, позволяющим удерживать испытуемое вещество, на которое сверху наложена марлевая повязка, и не позволяющим животным проглотить испытуемое вещество. Можно применять ограничители движения, чтобы животное не могло слизнуть вещество, но полная иммобилизация не рекомендуется.

Если наблюдаются признаки токсичности, они должны быть зарегистрированы: время начала, степень и продолжительность. Наблюдения за животными должны включать в себя: изменения кожи и волосяного покрова, глаз и слизистых оболочек, а также органов дыхания, кровообращения, вегетативной и центральной нервной системы, соматомоторной деятельности и модели поведения, но не ограничиваться только этим. Измерение потребления пищи и взвешивание животных следует проводить еженедельно. Регулярное наблюдение за животными необходимо, чтобы гарантировать, что животное не выбыло из исследования по причине каннибализма, аутолиза тканей или дистопии. При завершении исследования всех выживших животных невспомогательных экспериментальных групп умерщвляют. При обнаружении умирающих животных они должны быть удалены и умерщвлены.

4.5 Клинические наблюдения

Все следующие исследования должны быть выполнены с применением всех задействованных животных:

- гематология, включая гематокрит, концентрацию гемоглобина, число эритроцитов, общее и дифференциальное число лейкоцитов, а также значения потенциала свертывания, таких как время свертывания крови, протромбиновое время, тромбопластиновое время или число тромбоцитов, должна быть проведена при завершении исследования;

- клиническое определение биохимии крови проводят при завершении исследования. Достаточны параметры крови, характеризующие функции печени и почек. Выбор специальных исследований зависит

от механизма действия вещества. Предполагаемые исследования — измерения кальция, фосфора, хлора, натрия, калия, уровня глюкозы натощак (с периодами голодания для соответствующих видов);

- определение глутаминовой пировиноградной трансаминазы сыворотки[1)], глутаминовой щавелевоуксусной трансаминазы сыворотки[2)], орнитиндекарбоксилазы, гамма-глутамилтранслептидазы, азота мочевины, белка, креатинина крови, общего билирубина и общего белка сыворотки. Другие исследования, которые могут потребоваться для адекватной токсикологической оценки, включают в себя анализ липидов, гормонов, кислотно-щелочного баланса, метгемоглобина, активности холинэстеразы. Дополнительный клинический биохимический анализ может быть проведен при необходимости для расширения исследования наблюдаемых эффектов;

- если есть показание, основанное на ожидаемой или наблюдаемой токсичности, делают анализ мочи.

Если исходных данных недостаточно, то перед началом дозирования следует уделять внимание определению гематологических и клинических биохимических показателей.

5 Патология

5.1 Макроскопическая аутопсия

Все животные в исследовании должны быть подвергнуты полной макроскопической аутопсии, которая включает в себя осмотр внешней поверхности тела, всех отверстий, черепа, грудной и брюшной полостей и их содержимого. Печень, почки, надпочечники и яички должны быть взвешены влажными, сразу после вскрытия, чтобы избежать высыхания. Следующие органы и ткани должны быть сохранены в подходящей среде для дальнейшего проведения возможной гистопатологической экспертизы: нормальная и обработанная кожа, печень, почки и органы-мишени, то есть те органы, которые показывают макроскопические повреждения или изменения в размерах.

5.2 Гистопатология

Гистологическое исследование должно быть выполнено на сохранившихся органах и тканях животных группы с высоким уровнем дозы и контрольной группы. Эти исследования могут быть распространены на животных групп с другими дозами при необходимости, чтобы исследовать изменения, наблюдаемые в группах с высоким уровнем дозы.

Животных вспомогательной группы следует обследовать гистологически, особо обращая внимание на те органы и ткани, в которых выявлены эффекты воздействия вещества в других экспериментальных группах.

6 Данные и отчет

6.1 Обработка результатов

Данные могут быть представлены в табличной форме с указанием для каждой экспериментальной группы числа животных на начало испытания; числа животных, имеющих поражения; тип поражений и процент животных с каждым видом поражения.

Все наблюдаемые результаты, количественные и случайные, должны быть оценены соответствующим статистическим методом. Может быть применен любой общепринятый статистический метод. Статистические методы должны быть выбраны в ходе планирования исследования.

6.2 Оценка результатов

Результаты исследования кожной токсичности после воздействия повторной дозы следует рассматривать с точки зрения наблюдаемых токсических эффектов, аутопсии и гистопатологических данных. Оценка включает в себя отношение между дозой исследуемого вещества и наличием или отсутствием, частотой и тяжестью нарушений, в том числе поведенческих и клинических нарушений, макроскопических поражений, идентифицированных органов-мишеней, изменениями массы тела, влияниями на смертность и любыми другими общими или специфическими токсическими эффектами. Надлежащим

[1)] В настоящее время известна как аланин аминотрансфераза сыворотки.

[2)] В настоящее время известна как аспартат аминотрансфераза сыворотки.

образом проведенное 21/28-дневное исследование предоставляет информацию о последствиях повторного попадания на кожу вещества и может показать необходимость дальнейшего продолжительного исследования. Исследование также может предоставлять информацию о выборе доз для более продолжительных исследований.

6.3 Отчет об испытании

Отчет об испытании должен содержать следующую информацию:

- используемые виды/линии;
- данные о токсической реакции в зависимости от пола и дозы;
- время смерти в ходе исследования или число животных, доживших до окончания эксперимента;
- токсические или другие эффекты;
- время наблюдения за каждым признаком нарушения и его последующее развитие;
- данные о питании и массе тела;
- выполненные гематологические испытания и результаты в сравнении с исходными данными;
- выполненные клинические биохимические испытания и результаты в сравнении с исходными данными;
- данные аутопсии;
- подробное описание всех гистологических данных;
- статистическую обработку результатов при необходимости.

6.4 Интерпретация результатов

Исследование кожной токсичности повторной дозы предоставляет информацию о последствиях повторного попадания на кожу того или иного вещества. Экстраполяция результатов исследования на человека действует в ограниченной степени, но она может дать полезную информацию о степени кожной резорбции вещества.

Библиография

[1] Руководящий документ OECD Test 410 «Repeated Dose Dermal Toxicity: 21/28-day Study»

[2] WHO Publication: Environmental Health Criteria. No. 6, Principles and Methods for Evaluating the Toxicity of Chemicals. Part I. Geneva, 1978

[3] United States National Academy of Sciences, Committee for the Revision of NAS Publication 1138. Principles and Procedures for Evaluating the Toxicity of Household Substances. Washington, 1977

[4] Draize J.H. The Appraisal of Chemicals in Food, Drugs and Cosmetics, 26—30. Association of Food and Drug Officials of the United States, Austin, Texas, 1959

[5] Hagan E.G. Appraisal of the Safety of Chemicals. Appraisal of Chemicals in Foods, Drugs and Cosmetics, 17—25. Association of Food and Drug Officials of the United States, Topeka, Kansas, 1965

УДК 661:615.099:006.354 МКС 13.020.01

Ключевые слова: химическая продукция, воздействие на организм человека, метод испытаний, кожная токсичность, повторная доза, 21/28-дневный тест

Редактор *Н.Е. Рагузина*
Технические редакторы *В.Н. Прусакова, И.Е. Черепкова*
Корректор *Е.Р. Ароян*
Компьютерная верстка *А.В. Софейчук*

Сдано в набор 23.09.2019. Подписано в печать 30.09.2019. Формат 60 × 84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 1,10.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ИД «Юриспруденция», 115419, Москва, ул. Орджоникидзе, 11.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

Создано в единичном исполнении во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,
117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru