МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 32639— 2014

МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЯ ПО ВОЗДЕЙСТВИЮ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА

Субхроническая кожная токсичность: 90-дневное исследование

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 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» Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии стандарта, указанного в пункте 5

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 30 мая 2014 г. № 67-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
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 3 октября 2014 г. № 1267-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 32639—2014 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июня 2015 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному документу OECD № 411:1981 «Субхроническая кожная токсичность: 90-дневное исследование» («Subchronic Dermal Toxicity: 90-day Study», IDT).

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования указанного международного документа 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

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.

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЯ ПО ВОЗДЕЙСТВИЮ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА

Субхроническая кожная токсичность: 90-дневное исследование

OECD guidelines for the testing of chemicals. Subchronic dermal toxicity: 90-day study

Дата введения — 2015—06—01

1 Область применения

Указанный 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 90 дней.

2 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

2.1 **доза в дермальном испытании** (dose in a dermal test): Количество исследуемого вещества, нанесенного на кожу (в субхронических испытаниях наносимого ежедневно). Доза выражается или по массе (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 **субхроническая кожная токсичность** (subchronic dermal toxicity): Вредные эффекты, возникающие в результате повторного ежедневного нанесения химического вещества на кожу экспериментальных животных в течение части (не более 10 %) продолжительности жизни.

2.4 **NOAEL** (No-effect level/No-toxic-effect level/No-adverse-effect level): Это аббревиатура уровня отсутствия наблюдаемого вредного воздействия после введения вещества, и является максимальной дозой, не вызывающей обнаруживаемого вредного воздействия на здоровье.

3 Принцип тестирования

Исследуемое вещество наносят ежедневно на кожу порциями нескольким группам экспериментальных животных, одна доза на группу, в течение 90 дней.

Необходимы следующие сведения об исследуемом веществе:

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

В течение периода применения вещества животных ежедневно обследуют для выявления признаков токсичности. Животных, которые погибают в ходе испытания, подвергают аутопсии, и после завершения испытания выживших животных 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 животные распределяются на экспериментальную и контрольную группы в произвольном порядке. Волосяной покров спинной области туловища экспериментальных животных должен быть удален незадолго до начала испытания. Шерстка может быть выбрита, но бритье следует осуществить приблизительно за 24 ч до начала испытания. Приблизительно через неделю требуются 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, чтобы обеспечить хороший контакт с кожей. При использовании растворителя следует учитывать влияние растворителя на проницаемость в кожу исследуемого вещества. Жидкие исследуемые вещества обычно не разбавляют.

4.2 Животные

4.2.1 Выбор видов животных

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

Для проведения испытания следует выбрать животных со следующей массой тела:

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

В случае, если субхроническое исследование кожной токсичности проводится перед долгосрочным исследованием, следует в обоих исследованиях использовать животных одной породы и одного и того же происхождения.

4.2.2 Количество и пол

При испытании каждой дозы следует использовать по крайней мере 20 животных (10 самок и 10 самцов) со здоровой кожей. Самки должны быть нерожавшими и небеременными. Если предполагается промежуточное умерщвление животных, их количество должно быть увеличено на количество животных, которое планируется умертвить до завершения исследования. Кроме того, вспомогательная группа из 20 животных (по 10 животных каждого пола) может обрабатываться дозой высокого уровня в течение 90 дней с последующим наблюдением за обратимостью, стойкостью изменений и появления отдельных токсических эффектов в течение, как правило, не менее 28 дней после обработки.

4.2.3 Условия содержания и кормления

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

4.3 Условия испытания

4.3.1 Уровни дозы

Следует использовать не менее трех уровней доз, и 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 привести 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) вызвать минимальные видимые токсические эффекты. Если используется более чем одна промежуточная доза, уровни дозы должны быть распределены так, чтобы можно было произвести градацию токсических

эффектов. В малых и промежуточных группах и в 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), используя процедуры, описанные для данного исследования, вызывает невидимые токсические эффекты, и если токсичность является маловероятной на основании данных, полученных для соединений, близких по структуре, то полное исследование с использованием 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 6 ч в день в течение семи дней в неделю на протяжении 90 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 последующих 28 дней после эксперимента, чтобы выявить способность к восстановлению или стойкость токсических эффектов.

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

Между нанесениями исследуемого вещества оно должно контактировать с кожей посредством пористой марлевой повязки и не вызывающей раздражения ленты. 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 испытываемое вещество. Можно использовать ограничители движения, чтобы животное не смогло слизнуть вещество, но полная иммобилизация не рекомендуется.

Если наблюдаются признаки токсичности, они должны быть зарегистрированы включая время начала, степень и продолжительность. Наблюдения за животными должны включать: 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. Измерения 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 использованием всех животных:

- офтальмологический осмотр с помощью офтальмоскопа или соответствующего эквивалентного оборудования должен быть проведен до начала воздействия исследуемого вещества и по завершении исследования, предпочтительно для всех животных, но по крайней мере в группах с высоким уровнем доз и контрольной группе. При обнаружении изменений в глазах все животные должны быть обследованы;

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

- клинические биохимические анализы крови следует проводить при завершении исследования. Области исследований, которые считаются подходящими для всех исследований, электролитный баланс, углеводный метаболизм (обмен веществ), функции печени и почек. Выбор особых исследований будет зависеть от наблюдения за механизмом действия вещества. Предполагаемые исследования — измерения кальция, фосфора, хлора, натрия, калия, уровня глюкозы натощак (с периодами голодания для соответствующих видов), глутаминовой пировиноградной трансаминазы сыворотки[1)], глутаминовой щавелевоуксусной трансаминазы сыворотки[2)], орнитиндекарбоксилазы, гамма-глутамилтранспептидазы, азота мочевины, белка, креатинина крови, общего билирубина и общего белка сыворотки. Другие исследования, которые могут потребоваться для адекватной токсикологической оценки, включают анализ липидов, гормонов, кислотно-щелочного баланса, метгемоглобина, активности холинэстеразы. Дополнительный клинический анализ биохимии может быть проведен при необходимости расширить исследования наблюдаемых эффектов;

- анализ мочи не требуется, лишь только тогда, когда есть показание, основанное на ожидаемой или наблюдаемой токсичности.

Если исторических исходных данных недостаточно, то перед началом дозирования следует уделить 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 как можно скорее после вскрытия, чтобы избежать высыхания. Следующие органы и ткани должны быть сохранены в подходящей среде для дальнейшего проведения возможной гистопатологической экспертизы: все макроскопические поражения, мозг, в том числе участки костного мозга/моста, коры мозжечка и коры головного мозга, гипофиза, щитовидная/паращитовидная железы, вилочковая железа, (трахеи), легкие, сердце, аорта, слюнные железы, печень, селезенка, почки, надпочечники, поджелудочная железа, половые железы, придаточные половые органы, желчный пузырь (при наличии), пищевод, желудок, двенадцатиперстная кишка, тощая кишка, подвздошная кишка, слепая кишка, толстая кишка, прямая кишка, мочевой пузырь, лимфатические узлы, (женские молочные железы), (скелетные мышцы), периферичесткие нервы, (глаза), (грудина с костным мозгом), (бедренные кости с суставами), (спинной мозг на трех уровнях — шейном, среднем грудном и поясничном) и (орбитальные слезные железы). (Ткани, указанные в скобках, нужны только для изучения признаков токсичности или поражения органов-мишеней.)

5.2 Гистопатология

Полная гистопатология должна проводиться на нормальной и обработанной коже, органах и тканях всех животных контрольной группы и группы с высоким уровнем дозы.

Все макроскопические поражения подлежат изучению.

Органы-мишени в группах с другим уровнем дозы подлежат изучению.

При использовании крыс легкие животных в группах с малым и среднем уровнем дозы подлежат гистопатологическому исследованию для выявления инфекции, так как исследование обеспечивает соответствующую оценку состояния здоровья животных. Для животных этих групп дальнейшее гистопатологическое исследование не обязательно, но необходимо в группах с высоким уровнем дозы для всех органов, в которых выявлены патологические изменения.

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

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

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

6 Данные и отчет

6.1 Обработка результатов

Данные могут быть представлены в табличной форме с указанием для каждой экспериментальной группы количества животных на начало испытания; количества 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 использован любой общепринятый статистический метод. Статистические методы должны быть выбраны в ходе планирования исследования.

6.2 Оценка результатов

Результаты исследования кожной токсичности повторной дозы следует рассматривать с точки зрения наблюдаемых токсических эффектов, аутопсии и гистопатологических данных. Оценка будет включать 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.

Соответствующим образом проведенное 90-дневное исследование должно обеспечить определение неэффективного уровня воздействия.

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 количество 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;
- статистическая обработка результатов в случае необходимости.

6.4 Интерпретация результатов

Субхроническое кожное исследование предоставляет информацию о последствиях повторной дермальной экспозиции того или иного вещества. Экстраполяция результатов исследования на человека действует в ограниченной степени, но она может дать полезную информацию о степени кожной резорбции вещества, уровне, не оказывающем влияния, и допустимом уровне воздействия на человека.

Библиография

[1] Руководящий документ OECD Test 411 «Subchronic Dermal Toxicity: 90-day Study»
[2] WHO Publications: 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, субхроническая кожная токсичность

Редактор *Н.Е. Рагузина*
Технические редакторы *В.Н. Прусакова, И.Е. Черепкова*
Корректор *Е.Ю. Каболова*
Компьютерная верстка *Л.В. Софейчук*

Сдано в набор 23.09.2019. Подписано в печать 30.09.2019. Формат $60 \times 84^1/_8$. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 1,20.

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