МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 32375— 2013

МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЯ ПО ВОЗДЕЙСТВИЮ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА

Испытания по оценке кожной сенсибилизации

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») на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии документа, указанного в пункте 4

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 18 октября 2013 г. № 60-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 22 ноября 2013 г. № 806-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 32375—2013 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 августа 2014 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному документу OECD Test № 406 «Кожная сенсибилизация» («Skin Sensitisation», IDT)

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

7 ИЗДАНИЕ (март 2019 г.) с Поправкой (ИУС 4—2015)

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, 2014, 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

Количественные зависимости «структура—активность» и методы in vitro развиты недостаточно для оценки способности вещества вызывать кожную сенсибилизацию и, следовательно, по-прежнему должны основываться на моделях in vivo.

Морская свинка в течение нескольких десятилетий использовалась в испытаниях сенсибилизирующего действия. Были разработаны два типа тестов: адъювантные тесты, в которых сенсибилизация инициируется введением полного адъюванта Фрейнда (ПАФ), и неадъювантные тесты. До недавнего времени было рекомендовано использование четырех адъювантных и трех неадъювантных тестов. В настоящее время предпочтение отдается Максимизационному тесту на морских свинках (GPMT) Магнуссона и Клигмана, который является адъювантным, и неадъювантному тесту Бюхлера. Однако при определенных обстоятельствах для получения необходимой информации о сенсибилизации использование других методов также признается возможным.

Иммунная система мыши была исследована более подробно, чем иммунная система морской свинки. Были разработаны модели для оценки сенсибилизационного потенциала на мышах, обладающие рядом преимуществ, в частности, возможностью объективной оценки конечного результата испытания, короткой продолжительностью и минимальной процедурой обработки животных. Тест на отек уха мыши (MEST) и метод локальных лимфатических узлов (LLNA) считаются перспективными. Оба метода прошли проверку в разных лабораториях, в результате было доказано, что с их помощью могут выявляться умеренные и сильные сенсибилизаторы. Методы LLNA или MEST могут использоваться в качестве первого этапа оценки сенсибилизационного потенциала. Если в обоих испытаниях получен положительный результат, исследуемое вещество может быть признано потенциальным сенсибилизатором, и для него не потребуется проведение дальнейшего испытания на морских свинках. Однако если в LLNA или MEST получают отрицательный результат, испытания на морских свинках (GPMT или тест Бюхлера) должны проводиться с использованием процедуры, приведенной в данном стандарте.

Поправка к ГОСТ 32375—2013 Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Испытания по оценке кожной сенсибилизации

В каком месте	Напечатано	Должно быть		
Предисловие. Таблица согласования	—	Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан

(ИУС № 7 2019 г.)

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЯ ПО ВОЗДЕЙСТВИЮ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА

Испытания по оценке кожной сенсибилизации

Testing of chemicals of human hazard. Skin sensitisation

Дата введения — 2014—08—01

(Поправка).

1 Область применения

Настоящий стандарт закрепляет порядок проведения испытаний кожной сенсибилизации.

2 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

2.1 **индукционная экспозиция** (induction exposure): Экспериментальное воздействие на объект исследуемым веществом с расчетом вызвать сверхчувствительное состояние.

2.2 **индукционный период** (induction period): Период, составляющий минимум неделю после индуктивной экспозиции, во время которого может развиваться сверхчувствительное состояние.

2.3 **кожная сенсибилизация** (аллергический дерматит) (skin sensitisation): Иммунологически опосредованная кожная реакция на вещество. У человека реакции могут проявляться в виде зуда, эритемы, отека, папул, нарывов, волдырей или их комбинации. У животных реакции могут отличаться или наблюдаться только эритема или отек.

2.4 **провокационная экспозиция** (challenge exposure): Следующее за индуктивным периодом экспериментальное воздействие исследуемым веществом на объект, который ранее подвергался воздействию данным веществом для определения, реагирует ли объект сверхчувствительным образом.

3 Принцип метода испытания

Обычно экспериментальные животные подвергаются воздействию исследуемого вещества путем подкожной инъекции и/или накожного нанесения (индукционная экспозиция). Животные обрабатываются провокационной дозой, в течение 10—14 дней (индукционный период) может развиться иммунная реакция. Кожная реакция на провокационную дозу у подопытного животного сравнивается с реакцией у животных, которые подвергались фиктивному воздействию в индукционный период и получили провокационную дозу вещества.

4 Подготовка

4.1 Пол животных

Используются взрослые здоровые молодые мужские особи и/или женские особи, нерожавшие или небеременные.

Издание официальное

4.2 Условия содержания и кормления

Температура лабораторной комнаты должна составлять (20 ± 3) °С, относительная влажность — от 30 % до 70 %. Используется искусственное освещение в последовательности: 12 часов — свет, 12 часов — темнота. При кормлении может применяться стандартная лабораторная диета с неограниченным количеством питьевой воды. Очень важно, чтобы животные получали необходимое количество аскорбиновой кислоты.

4.3 Подготовка животных

Акклиматизация к лабораторным условиям осуществляется в течение не менее 5 дней до начала испытания. Перед испытанием животных произвольно распределяют в тестовые группы. В зависимости от метода испытания для удаления шерсти используется срезание, бритье или химическая депиляция. Шерсть удаляют аккуратно, избегая повреждений кожного покрова. Животных взвешивают до начала и в конце испытания.

4.4 Проверка на достоверность

Чувствительность и надежность используемой экспериментальной техники должны оцениваться каждые шесть месяцев с помощью стандартных веществ, обладающих легким и умеренным сенсибилизирующим действием.

В правильно проведенном испытании для легких/умеренных сенсибилизаторов должны наблюдаться отклики: минимум 30 % для адъювантного теста и не менее 15 % для неадъювантного. В качестве стандартных веществ предпочтительно использовать гексилциннамальдегид (CAS № 101-86-0), меркаптобензотиазол (CAS № 149-30-4) и бензокаин (CAS № 94-09-7). При определенных обстоятельствах могут применяться другие контрольные вещества, удовлетворяющие приведенным критериям, с соответствующим обоснованием.

4.5 Удаление исследуемого вещества

Для удаления исследуемого вещества используют воду или растворитель, не влияющий на полученную реакцию и целостность кожного покрова.

5 Процедура испытаний

5.1 Максимизационный тест на морских свинках (GPMT)

5.1.1 Количество животных

Группа, подвергающаяся воздействию, должна содержать как минимум 10 животных, контрольная группа — 5. При использовании менее 20 тестовых и 10 контрольных морских свинок невозможно сделать вывод о том, является ли вещество сенсибилизатором, поэтому строго рекомендуется исследование дополнительных животных для получения как минимум 20 тестовых и 10 контрольных животных.

5.1.2 Уровни доз

Концентрация исследуемого вещества для индукционной экспозиции должна быть хорошо физиологически переносима и вызывать легкое/умеренное раздражение кожи. Концентрация в провокационной экспозиции не должна вызывать раздражение. Подходящие концентрации должны быть определены в предварительном испытании на 2—3 животных, если другая информация отсутствует. Для этой цели предпочтение отдают ПАФ — обработанным животным.

5.1.3 Индукционная экспозиция: подкожные инъекции

День 0 — исследуемая группа

Три пары подкожных инъекций объемом 0,1 мл должны быть введены в плечевую область, очищенную от шерсти таким образом, чтобы инъекции были по обе стороны срединной линии:

инъекция 1 — смесь 1:1 (по объему) ПАФ/вода или физиологический раствор;

инъекция 2 — исследуемое вещество в подходящем растворителе в выбранной концентрации;

инъекция 3 — исследуемое вещество в выбранной концентрации в смеси 1:1 (по объему) ПАФ/вода или физиологический раствор.

В инъекции 3 растворимые в воде вещества до смешивания с ПАФ растворяют в воде. Жирорастворимые или нерастворимые вещества до перемешивания с водой растворяют в ПАФ. Конечная концентрация исследуемого вещества должна быть равной концентрации в инъекции 2.

Инъекции 1 и 2 вводят близко друг другу и к голове животного, в то время как инъекцию 3 вводят ближе к хвостовой части тестовой области.

День 0 — контрольная группа

Три пары подкожных инъекций объемом 0,1 мл вводят в одно и то же место животным, не подвергшимся обработке:

инъекция 1 — смесь 1:1 (по объему) ПАФ/вода или физиологический раствор;

инъекция 2 — неразбавленный растворитель;

Инъекция 3 — 50 % растворителя в смеси 1:1 (по объему) ПАФ/вода или физиологический раствор.

5.1.4 Индукционная экспозиция: местное нанесение

День 5—7 — тестовая и контрольная группы

Примерно за 24 часа до нанесения вещества, если вещество не является раздражающим для кожи, тестовая область после стрижки или бритья обрабатывается 0,5 мл 50 % натрий-лаурилсульфатом в вазелине для того, чтобы вызвать местное раздражение.

День 6—8 — тестовая группа

С тестовой области снова удаляется шерсть. Фильтровальная бумага (2 × 4 см) полностью заполняется исследуемым веществом в подходящем растворителе и накладывается на тестовую область и находится в контакте с кожей под герметичной повязкой в течение 48 часов. Выбор растворителя должен быть обоснован. Твердые вещества измельчаются и помещаются в подходящий растворитель. Жидкости, при необходимости, можно наносить неразбавленными.

День 6—8 — контрольная группа

С тестовой области снова удаляется шерсть. На тестовую область наносится только растворитель аналогичным способом и оставляется в контакте с кожей под герметичной повязкой в течение 48 часов.

5.1.5 Провокационная экспозиция: местное нанесение

День 20—22 — тестовая и контрольная группы

С боков тестовых и контрольных животных удаляется шерсть. Пластырь, заполненный тестовым веществом, накладывается на один бок животного и, если необходимо, пластырь, заполненный растворителем, также может быть наложен на другой бок. Пластырь удерживается в контакте с кожей под герметичной повязкой в течение 24 часов.

5.1.6 Наблюдения: тестовая и контрольная группы

Примерно через 21 час после удаления пластыря контрольная область очищается, коротко остригается, бреется или, если необходимо, депилируется шерсть.

Примерно через 3 часа (через 48 часов с начала контрольного нанесения) наблюдается кожная реакция и регистрируется в соответствии с классификацией, приведенной ниже.

Примерно через 24 часа после данного наблюдения (72 часа) проводится второе наблюдение, и снова регистрируется реакция.

Желательна независимая оценка тестовых и контрольных групп.

Шкала Магнуссона—Клигмана для оценки реакций в провокационном тесте

0 — никаких видимых изменений;

1 — разрозненная или неоднородная эритема;

2 — умеренная и сплошная эритема;

3 — интенсивная эритема и отек.

5.1.7 Повторная обработка

Если необходимо проверить результаты, полученные на первом контроле, второй контроль с новой контрольной группой должен быть проведен примерно через неделю после первого. Повторный контроль также может быть проведен и с первой контрольной группой.

5.1.8 Клинические наблюдения

Все кожные реакции и другие наблюдения, включая соматические реакции, являющиеся результатом индукционных и провокационных экспозиций, должны наблюдаться и регистрироваться. Другие исследования, например гистопатологическое, измерение толщины кожных складок, могут быть проведены для проверки сомнительных результатов.

5.2 Тест Бюхлера

5.2.1 Количество животных

В тестовой группе используется как минимум 20 животных, в контрольной — как минимум 10.

5.2.2 Уровни доз

Концентрация исследуемого вещества для каждой индукционной экспозиции должна быть максимально возможной, вызывающей слабое раздражение. Концентрация, используемая в провокационной экспозиции, должна быть максимальной, не вызывающей раздражение. Подходящие концентрации определяют в предварительном тесте с использованием 2—3 животных, если другая информация отсутствует.

Для растворимых веществ необходимо использовать воду или не вызывающий раздражение раствор ПАВ в качестве растворителя. Для других исследуемых веществ используют 80 %-ную смесь этанола/воды, подходящую для индукционной экспозиции, ацетон — для провокационной пробы.

5.2.3 Индукционная экспозиция: местное нанесение

День 0 — тестовая группа

С одного бока животного удаляется (коротко остригается) шерсть. Тестовый пластырь должен быть полностью заполнен исследуемым веществом в подходящем растворителе (выбор растворителя должен быть обоснован, жидкие исследуемые вещества можно наносить неразбавленными, если возможно). Исследуемое вещество накладывается на тестовую область и удерживается в контакте с кожей герметичной повязкой или пластырем в течение 6 часов.

Тестовая система должна быть герметичной. Подходит ватный диск, круглый или квадратный, размером примерно 4—6 $см^2$. Для гарантии герметичности предпочтительно использовать фиксацию подходящей повязкой. Если используется манжета, то может потребоваться дополнительная экспозиция.

День 0 — контрольная группа

На одном боку животного удаляется (коротко остригается) шерсть. На кожу тем же путем, что и для тестовой группы, наносится только растворитель. Тестовая система удерживается в контакте с кожей герметичным пластырем или подходящей повязкой в течение 6 часов. Если будет показано, что фиктивная контрольная группа не нужна, могут использоваться животные, не подвергавшиеся обработке.

День 6—8 и 13—15 — тестовая и контрольная группы

На 6—8, а потом на 13—15 дни та же тестовая область того же бока животного (шерсть удаляется, если необходимо) обрабатывается тем же способом, что и в 0 день.

5.2.4 Провокационная экспозиция

День 27—29 — тестовая и контрольная группы

С необработанного бока животных тестовой и контрольной групп удаляется (коротко остригается) шерсть. На заднюю часть остриженного бока животных тестовой и контрольной групп накладывается повязка, содержащая необходимое количество исследуемого вещества в максимально возможной концентрации, не вызывающей раздражение. Если необходимо, то повязка или пластырь с растворителем также накладываются на переднюю часть бока животных тестовой и контрольной групп. Пластырь удерживается герметичной повязкой в контакте с кожей в течение 6 часов.

5.2.5 Наблюдения: тестовая и контрольная группы

Примерно через 21 час после удаления пластыря с контрольной области удаляется шерсть.

Примерно через 3 часа (через 30 часов после наложения контрольного пластыря) наблюдаются кожные реакции и регистрируются в соответствии с классификацией, приведенной для максимизационного теста.

Примерно через 24 часа после осмотра на 30 часе (через 54 часа после наложения контрольного пластыря) кожные реакции вновь наблюдаются и регистрируются.

Желательна независимая оценка тестовых и контрольных групп.

5.2.6 Повторная обработка

Если необходимо проверить результаты, полученные на первом контроле, второй контроль с новой контрольной группой должен быть проведен примерно через неделю после первого. Повторный контроль также может быть проведен и с первой контрольной группой.

5.2.7 Клинические наблюдения

Все кожные реакции и другие наблюдения, включая соматические реакции, являющиеся результатом индукционных и провокационных экспозиций, должны наблюдаться и регистрироваться. Другие

исследования, например гистопатологическое, измерение толщины кожных складок, могут быть проведены для проверки сомнительных результатов.

6 Данные и отчет о проведении испытания (GPMT и тест Бюхлера)

6.1 Данные

Данные должны быть представлены в табличной форме с указанием кожных реакций для каждого животного в каждом наблюдении.

6.2 Отчет о проведении испытания

Отчет о проведении испытания должен содержать следующую информацию.

Исследуемое вещество:

- физическая природа и, при необходимости, физико-химические свойства;
- данные идентификации.

Растворитель:

- обоснование выбора растворителя.

Экспериментальные животные:

- группа/вид используемых морских свинок;
- количество, возраст и пол животных;
- источник животных, условия содержания, диета и т. д.;
- индивидуальная масса тела животных в начале эксперимента.

Условия проведения испытания:

- процедура подготовки тестовой области;
- процедура подготовки и нанесения пластыря;
- результаты предварительного исследования с заключением об индукционной и провокационной концентрациях, которые необходимо использовать в тесте;
- подробности приготовления тестового вещества, его нанесения и удаления;
- концентрация растворителя и исследуемого вещества, которые используются в индукционном и контрольном тестах, и общее количество вещества, нанесенного на стадии эксперимента и контроля.

Проверка достоверности:

- обзор результатов последней проверки достоверности, включая информацию об исследуемом веществе, концентрации и растворителе.

Результаты:

- результаты по каждому животному в соответствии с классификацией;
- описание природы и степени наблюдаемых реакций;
- любые результаты гистопатологических исследований.

Обсуждение результатов.

Если перед проведением исследований предварительное испытание выполнялось на морских свинках, то должны быть предоставлены описание или ссылка на него, включая сведения о тестовой процедуре и результаты, полученные для исследуемого и стандартного веществ.

Библиография

[1] Руководящий документ ОЭСР Test № 406 «Skin Sensitisation»

[2] Magnusson B. and Kligman A.M. (1969). The identification of contact allergens by animal assay. The guinea pig maximisation test. J. Invest. Dermatol., 52, 268

[3] Magnusson B. and Kligman A.M. (1970). Allergic Contact Dermatitis in the Guinea Pig. Charles G. Thomas; Springfield, Illinois

[4] Magnusson B. (1980). Identification of contact sensitizers by animal assay. Cont. Derm., 6, 46.

[5] Magnusson B., Fregert S. and Wahlberg J. (1979). Determination of skin sensitization potential of chemicals. Predictive testing in guinea pigs. Arbete och Hälsa, 26(E)

[6] Buehler E.V. (1965). Delayed contact hypersensitivity in the guinea pig. Arch. Dermatol., 91, 171

[7] Ritz H.L. and Buehler E.V. (1980). Procedure for conducting the guinea pig assay. Current Concepts in Dermatology, Drill V.A. and Lazar P. (eds), Academic Press, New York, N.Y., 25—40

[8] Kimber I., Hilton J. and Weisenberger C. (1989). The murine local lymph mode assay for identification of contact allergens: a preliminary evaluation of in situ measurement of lymphocyte proliferation Contact Dermatitis, 21, 215—220

[9] Kimber I., Hilton J. and Botham P.A. (1990). Identification of contact allergens using the murine local lymph node assay: comparisons with the Buehler Occluded Patch Test in guinea pigs. Journal of Applied Toxicology, 10(3), 173—180

[10] Kimber I., Hilton J., Botham P.A., Basketter D.A., Scholes E.W., Miller K., Robbins M.C., Harrison P.T.C., Gray T.J.B. and Waite S.J. (1991). The murine local lymph node assay: results of an inter-laboratory trial. Toxicology Letters, 55, 203—213

[11] Basketter D.A., Scholes E.W., Kimber I., Botham P.A., Hilton J., Miller K., Robbins M.C., Harrison P.T.C. and Waite S.J. (1991). Interlaboratory evaluation of the local lymph node assay with 25 chemicals and comparison with guinea pig test data. Toxicology Methods, 1, 30—43

[12] Gad S.C., Dunn B.J., Dobbs D.W., Reilly C. and Walsh R.D. (1986). Development and validation of an alternative dermal sensitisation test: the mouse ear swelling test (MEST). Toxicol. Appl. Pharmacol., 84, 93—114

УДК 661:615.099:006.354 МКС 71.100.01

Ключевые слова: химическая продукция, воздействие на организм человека, метод испытаний, кожная сенсабилизация

Редактор *Н.Н. Кузьмина*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *М.И. Першина*
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Сдано в набор 29.03.2019. Подписано в печать 05.04.2019. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40 Уч.-изд. л. 1,12.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

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

Поправка к ГОСТ 32375—2013 Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Испытания по оценке кожной сенсибилизации

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Первая страница стандарта. Наименование стандарта	**МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ ПО ВОЗДЕЙСТВИЮ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА Испытания по оценке кожной сенсибилизации**	**МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЯ ПО ВОЗДЕЙСТВИЮ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА Испытания по оценке кожной сенсибилизации**

(ИУС № 4 2015 г.)

Поправка к ГОСТ 32375—2013 Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Испытания по оценке кожной сенсибилизации

В каком месте	Напечатано	Должно быть		
Предисловие. Таблица согласования	—	Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан

(ИУС № 7 2019 г.)

gost.e-ecolog.ru