МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 34659— 2020

МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЯ ПО ВОЗДЕЙСТВИЮ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА

Оценка хромосомных аберраций в клетках костного мозга млекопитающих

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2020

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 «Российский научно-технический центр информации по стандартизации, метрологии и оценке соответствия» (ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ») 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 30 июня 2020 г. № 131-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	ЗАО «Национальный орган по стандартизации и метрологии» Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 22 октября 2020 г. № 911-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 34659—2020 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2021 г.

5 Настоящий стандарт является модифицированным по отношению к международному документу OECD Test № 475:2016 «Руководство по испытанию химических веществ. Анализ хромосомных аберраций костного мозга млекопитающих» («Guideline for Testing of Chemicals. Mammalian Bone Marrow Chromosomal Aberration Test», MOD) путем:

- включения дополнительного раздела 1, термина 2.1.11 и сокращений (подраздел 2.2), которые выделены в тексте курсивом;
- изменения его структуры для приведения в соответствие с правилами, установленными в ГОСТ 1.5 (подразделы 4.2 и 4.3).

Сопоставление структуры настоящего стандарта со структурой указанного международного документа приведено в дополнительном приложении ДА.

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

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

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, 2020

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, определения и сокращения 1
3 Основные положения 2
4 Принцип метода испытаний 2
5 Верификация квалификации лаборатории 2
6 Описание метода 4
7 Проведение испытаний 5
8 Данные испытаний и отчет 8
Приложение А (справочное) Факторный дизайн для идентификации половых различий в хромосомных аберрациях *in vivo*. 12
Приложение ДА (справочное) Сопоставление структуры настоящего стандарта со структурой примененного в нем международного документа 13
Библиография 16

Введение

Руководства Организации экономического сотрудничества и развития (OECD) по испытаниям химических веществ периодически пересматриваются для приведения в соответствие с имеющимися научными данными, изменяющимися методами оценки и с целью защиты животных. Метод испытаний по настоящему руководству был принят в 1984 г. В 1997 г. он был пересмотрен на основе достигнутого к этому времени научно-технического прогресса. Настоящая версия руководства отражает научные достижения более чем тридцатилетнего опыта использования этого метода и интерпретации данных. Данное руководство является частью серии руководств по генетической токсикологии. В настоящее руководство были внесены изменения, включающие информацию по исследованию генетической токсикологи на основе разработанного нормативного документа, представляющего обзор результатов последних измерений[1)].

Исследование хромосомных аберраций костного мозга млекопитающих *in vivo* особенно важно для оценки генотоксичности, поскольку, несмотря на их различие, у разных видов факторы метаболизма *in vivo*, процессы фармакокинетики и репарации ДНК активны и вносят свой вклад в ответные реакции. Анализ *in vivo* также полезен для дальнейшего изучения генотоксичности, обнаруженной системой *in vitro*.

Исследования хромосомных аберраций на млекопитающих *in vivo* используются для выявления структурных хромосомных аберраций, вызванных исследуемыми химическими веществами в клетках костного мозга животных, обычно грызунов[2)]. Структурные хромосомные аберрации могут быть двух типов: хромосомные или хроматидные. Несмотря на то, что большинство генотоксических химических аберраций имеет хроматидный тип, также встречаются аберрации хромосомного типа. Хромосомное повреждение и связанные с ним изменения являются причиной многих генетических заболеваний человека. Имеются убедительные доказательства того, что все это приводит к изменениям в онкогенах и генах-супрессорах опухолей, которые в свою очередь вызывают рак в экспериментальных системах и у людей. При проведении испытаний *in vivo* при хромосомной аберрации может возникать полиплоидия (включая эндоредупликацию). Однако увеличение полиплоидии само по себе не указывает на анеугенный потенциал и может просто свидетельствовать о нарушении клеточного цикла или цитотоксичности. Это испытание не предназначено для измерения анеуплоидии. Для выявления анеуплоидии рекомендуются использовать анализ микроядер в эритроцитах млекопитающих *in vivo*[3)] или анализ микроядер на клетках млекопитающих *in vitro*[4)], являющиеся испытаниями *in vivo* или *in vitro* соответственно.

---

1) См. [1].

2) См. [2]—[5].

3) Действует ГОСТ 34660—2020 «Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Учет микроядер в эритроцитах млекопитающих» (OECD Test № 474:2016 «Guideline for Testing of Chemicals. Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test», MOD).

4) Действует ГОСТ 32635—2020 «Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Метод оценки генных мутаций на клетках млекопитающих *in vitro* (OECD Test № 487:2016 «Guideline for Testing of Chemicals. In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Test», MOD).

Поправка к ГОСТ 34659—2020 Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Оценка хромосомных аберраций в клетках костного мозга млекопитающих

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Предисловие. Таблица согласования	—	Узбекистан | UZ | Узстандарт

(ИУС № 2 2021 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

Оценка хромосомных аберраций в клетках костного мозга млекопитающих

Methods of testing the impact of chemical products on the human body.
Assessment of chromosomal aberrations in bone marrow cells mammals

Дата введения — 2021—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод оценки хромосомных аберраций, вызванных исследуемыми химическими веществами в клетках костного мозга животных при проведении испытаний in vivo на млекопитающих.

Настоящий стандарт применяют для выявления типов структурных хромосомных аберраций.

2 Термины, определения и сокращения

2.1 В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

2.1.1 **анеуплоидия** (aneuploidy): Любое отклонение от нормального диплоидного (или гаплоидного) числа хромосом на одну или несколько хромосом, но не кратное числу всего набора(ов) хромосом (см. полиплоидия).

2.1.2 **центромера** (centromere): Участок(и) хромосомы, с которым(и) связаны нити веретена деления во время клеточного деления, что позволяет дочерним (гомологичным) хромосомам двигаться к полюсам дочерних клеток.

2.1.3 **аберрация хроматидного типа** (chromatid-type aberration): Структурное повреждение хромосом, выражающееся в разрыве отдельных хроматид или разрыве и воссоединении между хроматидами.

2.1.4 **аберрация хромосомного типа** (chromosome-type aberration): Структурное повреждение хромосомы, выражающееся в разрыве или разрыве и воссоединении обеих хроматид в одном месте.

2.1.5 **эндоредупликация** (endoreduplication): Процесс, при котором после S-периода репликации ядро ДНК не входит в митоз, а начинает другой S-период. В результате образуются хромосомы с 4,8,16 ... хроматидами.

2.1.6 **гэп** (пробел) (gap): Ахроматический пробел меньше ширины одной хроматиды и с минимальным смещением хроматиды.

2.1.7 **митотический индекс** (mitotic index): Отношение числа клеток в митозе к общему числу клеток в популяции, являющееся показателем состояния пролиферации этой популяции клеток.

2.1.8 **численная аберрация** (numerical aberration): Отклонение числа хромосом от нормального набора хромосом, характерного для подопытных животных (анеуплоидия).

2.1.9 **полиплоидия** (polyploidy): Численная хромосомная аберрация, связанная с изменением числа всего набора хромосом, в отличие от количественного изменения части набора хромосом (см. анеуплоидия).

Издание официальное

2.1.10 **структурная хромосомная аберрация** (structural chromosomal aberration): Изменение структуры хромосомы, обнаруживаемое микроскопическим исследованием метафазной стадии деления клетки и наблюдаемое в виде делеций и фрагментов, внутренних изменений или взаимообменов.

2.1.11 ***скоринг*** *(scoring): Математическая или статистическая модель процедуры классификации объектов в соответствии с их измеренными характеристиками, оценивающая вероятность наступления определенного события.*

2.2 В настоящем стандарте использованы следующие сокращения:

ADME — абсорбция, распределение, метаболизм, элиминация/экскреция (выведение).

ANOVA(analysis of variation) — анализ изменчивости;

C-charts — контрольная карта числа несоответствий;

MTD — максимальная переносимая доза;

X-bar charts — гистограмма средних значений.

3 Основные положения

3.1 При проведении испытаний по настоящему стандарту обычно используют грызунов (крыс и мышей), но в некоторых случаях допускается использовать другие виды животных, если это научно обосновано. В настоящем испытании тканью-мишенью является костный мозг, поскольку он представляет собой ткань с высокой степенью васкуляризации и содержит популяцию быстро делящихся клеток, которые можно легко выделить и обработать. В отчете должно быть представлено научное обоснование использования других видов животных. При использовании животных, отличных от грызунов, рекомендуется включить измерение хромосомной аберрации костного мозга в другое соответствующее испытание на токсичность.

3.2 При наличии доказательств, что исследуемое(ые) вещество(а) или его метаболит(ы) не достигнут ткани-мишени, использование этого испытания может быть нецелесообразным.

3.3 Перед использованием настоящего стандарта для смеси веществ с целью получения данных для регулирования следует рассмотреть вопрос о том, может ли испытание дать адекватные результаты для этой цели. Такие соображения не нужны, когда существует обязательное требование для испытания смеси.

4 Принцип метода испытаний

Животных подвергают воздействию исследуемого химического вещества, используя соответствующий путь введения, и осуществляют их эвтаназию гуманным способом в соответствующее время после воздействия. Перед эвтаназией животных обрабатывают средством, блокирующим митоз клеток на стадии метафазы (например, колхицином или колцемидом®). Затем из клеток костного мозга готовят хромосомные препараты и окрашивают их, а клетки в метафазе анализируют на хромосомные аберрации.

5 Верификация квалификации лаборатории

5.1 Проверка квалификации

Для подтверждения квалификации, необходимой для повседневного и рутинного проведения испытания данного вида, лаборатория должна продемонстрировать способность воспроизводить ожидаемые результаты из опубликованных данных[1)] для частот хромосомной аберрации не менее чем для двух веществ положительного контроля (включая слабые ответы, вызванные низкими дозами веществ положительного контроля), приведенных в таблице 1, и контролем совместимого носителя/растворителя (см. 6.2.1.2). В этих экспериментах следует использовать дозы, дающие воспроизводимые и дозозависимые повышения чувствительности и динамического диапазона исследуемой системы в интересующей ткани (костный мозг), и метод скоринговой оценки, который будет использоваться в лаборатории. Это требование не применяется к квалифицированным лабораториям, т. е. лабораториям, которые имеют историческую базу данных, как установлено в 5.2.

[1)] См., например, [6].

Таблица 1 — Примеры веществ положительного контроля

Вещество	Номер CAS
Этилметансульфонат	62-50-0
Метилметансульфонат	66-27-3
Этилнитрозомочевина	759-73-9
Митомицин С	50-07-7
Циклофосфамид	50-18-0
Циклофосфамид моногидрат	6055-19-2
Триэтиленмеламин	51-18-3

5.2 Исторические контрольные данные

5.2.1 В ходе проверок квалификации лаборатория должна установить:

- исторический (статистический) диапазон положительного контроля и распределения и
- исторический (статистический) диапазон отрицательного контроля и распределения.

5.2.2 При первом получении данных для исторического (статистического) распределения отрицательного контроля данные параллельного отрицательного контроля должны соответствовать опубликованным контрольным данным, если они существуют. По мере добавления дополнительных экспериментальных данных к историческому (статистическому) распределению контрольных данных параллельные отрицательные контроли в идеале должны находиться в пределах 95 %-ного контрольного предела этого распределения. Историческая база данных отрицательного контроля лаборатории должна быть статистически устойчивой, чтобы обеспечить способность лаборатории оценивать распределение своих данных отрицательного контроля. В научной литературе предполагается, что для составления базы данных может потребоваться не менее 10 экспериментов, но предпочтительно они должны состоять не менее чем из 20 экспериментов, проводимых в сопоставимых условиях. Лаборатории должны использовать методы контроля качества, такие как контрольные карты [например, контрольная карта числа несоответствий (C-charts) или гистограмма средних значений (*X-bar charts*)[1)]], чтобы определить вариабельность данных и показать, что процедура испытаний в лаборатории находится «под контролем». Дополнительные рекомендации о сборе и использовании исторических данных (т. е. критерии включения и исключения данных из исторической базы данных и критерии их приемлемости для данного эксперимента) приведены в документе[2)].

5.2.3 Если лаборатория не выполняет достаточного количества экспериментов для установления статистически надежного распределения данных отрицательного контроля (см. 5.2.2) во время проверок квалификации по 5.1, допустимо построить распределение во время первого рутинного испытания. Этот подход должен соответствовать рекомендациям[2)], и результаты отрицательного контроля, полученные в этих экспериментах, должны соответствовать опубликованным данным отрицательного контроля.

5.2.4 Любые изменения в протоколе эксперимента следует рассматривать с точки зрения их влияния на соответствие результирующих данных существующей исторической контрольной базе данных лаборатории. Только серьезные несоответствия должны приводить к созданию новой базы данных статистического контроля, в которой экспертная оценка определяет, насколько база данных отличается от предыдущего распределения (см. 5.2.2). Во время восстановления может потребоваться неполная база данных отрицательного контроля для обеспечения проведения фактического испытания, при условии, что лаборатория может продемонстрировать, что параллельные значения отрицательного контроля остаются в соответствии с их предыдущей базой данных или соответствующими опубликованными данными.

5.2.5 Данные отрицательного контроля должны включать число клеток со структурным нарушением хромосом (исключая гэпы) у каждого животного. Предел допустимых отклонений результатов сопутствующего отрицательного контроля в идеале должен составлять 95 % от распределения базы данных исторического отрицательного контроля лаборатории. Если данные параллельного отрицательного

[1)] См. [7].

[2)] См. [8].

контроля выходят за предел допустимых отклонений — 95 %, они могут быть приемлемыми для включения в историческую базу данных контрольного распределения в том случае, если эти данные не являются экстремальными выбросами и имеются доказательства того, что система испытаний находится «под контролем» (см. 5.2.2) и отсутствуют доказательства технической ошибки или ошибки оператора.

6 Описание метода

6.1 Подготовка

6.1.1 Выбор видов животных

Обычно используются лабораторные линии здоровых, молодых, половозрелых животных. Как правило используют крыс, но можно использовать и мышей. Допускается использовать любые другие виды млекопитающих, если в отчете приведено обоснование их использования.

6.1.2 Условия содержания и кормления животных

Для грызунов температура в помещении должна быть (22 ± 3) °С. Несмотря на то, что идеальная относительная влажность должна составлять от 50 % до 60 %, она должна быть не менее 40 % и, по возможности, не превышать 70 %, за исключением времени уборки помещения. Освещение должно быть искусственным, с чередованием периодов света (12 ч) и темноты (12 ч). Для кормления можно использовать обычный лабораторный корм с неограниченной подачей питьевой воды. На выбор корма может влиять необходимость обеспечения подходящей смеси исследуемого химического вещества при введении этим путем. Грызунов содержат небольшими группами (не более пяти животных в одной клетке) одного пола и одной подопытной группы. При отсутствии агрессивного поведения предпочтительно содержать животных в клетках с твердым полом и соответствующим обогащением (улучшением) окружающей среды. Животные могут быть размещены индивидуально только в том случае, если это научно обосновано.

6.1.3 Подготовка животных

Обычно используют здоровых, молодых, половозрелых животных (для грызунов идеальный возраст — от 6 до 10 недель в начале испытания, но допускается использовать животных и старше), которых распределяют случайным образом на контрольную и подопытные группы. Животных идентифицируют индивидуально уникальным образом с использованием гуманного, минимально инвазивного метода (например, кольцевания, мечения, микрочипирования или биометрической идентификации, но не клипируют уши или пальцы) и позволяют акклиматизироваться не менее пяти дней в лабораторных условиях. Клетки должны быть расположены таким образом, чтобы возможные последствия, связанные с размещением клетки, были сведены к минимуму. Следует избегать перекрестного загрязнения вещества положительного контроля исследуемым химическим веществом. В начале исследования отклонение массы тела животных должно быть минимальным и не превышать ±20 % от средней массы тела животных каждого пола.

6.1.4 Подготовка доз

Твердые исследуемые химические вещества должны быть растворены или суспендированы в соответствующих растворителях/носителях или смешаны с пищей или питьевой водой перед введением доз животным. Жидкие исследуемые вещества могут быть введены непосредственно или могут быть разбавлены перед введением доз. При ингаляционном воздействии исследуемые химические вещества могу быть введены в виде газа, пара или твердого/жидкого аэрозоля в зависимости от их физико-химических свойств. Используют свежеприготовленные препараты исследуемого химического вещества при отсутствии данных о его стабильности при хранении или если не установлены соответствующие условия хранения.

6.1.5 Растворитель/носитель

Растворитель/носитель не должен оказывать токсического воздействия при используемых уровнях дозы и вступать в химическую реакцию с исследуемыми веществами. Если используют неизвестные растворители/носители, их включение должно сопровождаться справочными данными, указывающими на их совместимость. Рекомендуется, по возможности, сначала рассмотреть вопрос

о применении водного раствора. Примеры обычно используемых совместимых растворителей/носителей включают воду, физиологический раствор, раствор метилцеллюлозы, раствор натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы, оливковое и кукурузное масла. При отсутствии исторических или опубликованных контрольных данных, показывающих, что выбранный нетипичный растворитель/носитель не вызывает никаких структурных аберраций или других вредных воздействий, следует провести первоначальное исследование, чтобы установить приемлемость контроля растворителя/носителя.

6.2 Средства контроля

6.2.1 Положительный контроль

6.2.1.1 Обычно в каждое испытание включают группу животных, получающих вещество положительного контроля. От этого можно отказаться, если испытательная лаборатория продемонстрировала квалифицированность в проведении испытаний и установила статистический диапазон положительного контроля. Если группа положительного контроля не включена, в каждый эксперимент следует включать скоринг контроль (фиксированные и неокрашенные слайды). Они могут быть получены включением в рамках скоринга соответствующих эталонных образцов, которые были получены и сохранены из отдельного испытания с веществом положительного контроля, проводимого периодически (например, каждые 6—18 мес) во время проверки квалификации и регулярно после этого, при необходимости.

6.2.1.2 Вещества положительного контроля должны достоверно вызывать заметное увеличение частоты образования клеток со структурными хромосомными аберрациями по сравнению с самопроизвольным уровнем. Вещество положительного контроля допускается вводить путем, отличным от исследуемого химического вещества, с использованием другого графика введения вещества, но при этом отбор образцов следует проводить в один момент времени. Кроме того, при необходимости может быть рассмотрено использование веществ положительного контроля родственных классов. В таблице 1 приведены примеры веществ положительного контроля.

6.2.2 Отрицательный контроль

Животных из группы отрицательного контроля следует включать каждый раз во время отбора образцов и обращаться с ними так же, как с животными подопытных групп, за исключением того, что они не должны получать исследуемое химическое вещество. Если для введения исследуемого химического вещества используют растворитель/носитель, группа отрицательного контроля должна получать этот растворитель/носитель. Однако, если в испытательной лаборатории историческими контрольными данными продемонстрирована согласующаяся изменчивость и частота наличия клеток со структурными аберрациями между животными отрицательной контрольной группы при каждом отборе образцов, для группы отрицательного контроля может потребоваться только один отбор образцов. Если для группы отрицательного контроля используют однократный отбор образцов, это должно быть время первого отбора образцов в исследовании.

7 Проведение испытаний

7.1 Число и пол животных

7.1.1 Обычно микроядерный ответ у самцов и самок животных одинаковый[1)]. Предполагают, что это будет характерно и для структурных хромосомных аберраций, следовательно, большинство испытаний можно проводить на животных любого пола. Данные, демонстрирующие значимые различия у самцов и самок (например, различия в системной токсичности, метаболизме, биодоступности, токсичности для костного мозга и т. д., включая, например, исследования по определению диапазона доз), будут способствовать использованию животных обоих полов. В этом случае может быть целесообразным проведение исследования на животных обоих полов, например, как части исследования токсичности повторных доз. Возможно, целесообразным может быть факторный дизайн при использовании обоих полов. Подробная информация об анализе данных с использованием этого дизайна приведена в приложении А.

7.1.2 В начале испытания должен быть установлен размер групп для обеспечения не менее пяти подопытных животных одного пола или каждого пола (при использовании животных обоих полов). В тех

[1)] См. [9].

случаях, когда воздействие химических веществ на человека может зависеть от пола (как, например, в случае некоторых фармацевтических препаратов), испытание следует проводить на животных соответствующего пола. В качестве руководства по максимально требуемому количеству животных при исследовании костного мозга [случаях отбора двух проб от трех дозовых групп и одновременных групп отрицательного и положительного контроля (каждая группа состоит из пяти животных одного пола)], потребуется 45 животных.

7.2 Уровни доз

7.2.1 Если проводят предварительное исследование по подбору диапазона доз в связи с отсутствием доступных данных, подходящих для выбора дозы, его следует проводить в той же лаборатории, используя те же виды, линии, пол животных и режим введения, которые будут использовать в основном испытании[1]. Испытание должно быть направлено на выявление максимальной переносимой дозы (*MTD*), определяемой как максимальная доза, которая будет переноситься без доказательств токсичности, ограничивающей продолжительность периода испытания (например, вызывающей снижение массы тела или цитотоксичность для кроветворной системы), но не смерть или признаки боли, страдания или дистресса, требующие гуманной эвтаназии[2].

7.2.2 Максимальная доза также может быть определена как доза, которая дает некоторые признаки токсичности для костного мозга.

7.2.3 Вещества, проявляющие свойства токсикокинетического насыщения или вызывающие детоксикацию, которые могут привести к снижению воздействия после длительного введения вещества, могут быть исключениями из критериев установления уровня дозы и должны быть оценены в каждом конкретном случае.

7.2.4 Для получения информации о зависимости доза — ответ полное исследование должно включать группу отрицательного контроля и не менее трех групп животных с уровнями доз, как правило, различающимися на коэффициент 2, но не более 4. Если исследуемое химическое вещество не вызывает токсичности в исследовании по подбору диапазона или на основе существующих данных, самая высокая доза для однократного введения должна составлять 2000 мг/кг массы тела. Однако, если исследуемое химическое вещество вызывает токсичность, *MTD* должна быть самой высокой вводимой дозой, и используемые уровни дозы должны предпочтительно охватывать диапазон от максимальной дозы до дозы, вызывающей небольшую токсичность или не вызывающей ее. Когда наблюдают токсическое действие на ткани-мишени (костный мозг) при всех исследованных уровнях дозы, рекомендуется провести дальнейшее исследование при уровнях доз, не вызывающих токсических эффектов. Исследования, предназначенные для более полного определения количественных данных о зависимости доза — ответ, могут потребовать дополнительных дозовых групп. Для конкретных видов исследуемых химических веществ (например, фармацевтических препаратов для людей), на которые распространяются особые требования, эти границы могут варьироваться.

7.3 Определение предельных значений

Если испытания по определению диапазона доз или имеющиеся данные по родственным линиям животных указывают на то, что метод воздействия с предельной дозой (приведенный ниже) не дает наблюдаемых токсических эффектов (включая отсутствие подавления пролиферации костного мозга или другого доказательства цитотоксичности для ткани-мишени), и если генотоксичность не ожидается на основании исследований генотоксичности in vitro или данных о структурно родственных веществах, то полное исследование с использованием трех уровней доз может не считаться необходимым [если при этом было продемонстрировано, что исследуемое(ые) химическое(ие) вещество(а) достигает(ют) целевой ткани (костного мозга)]. В таких случаях может быть достаточно одного уровня дозы — предельной дозы. Для периода введения более 14 дней, предельная доза составляет 1000 мг/кг массы тела в день. Для периодов введения 14 дней или менее предельная доза составляет 2000 мг/кг массы тела в день.

7.4 Введение доз

При планировании исследования должен учитываться предполагаемый путь воздействия на человека. Поэтому может быть оправдан выбор таких путей воздействия, как: поступление с пищей, питьевой водой, местное подкожное, внутривенное, пероральное (через желудочный зонд),

---

[1] См. [10].

[2] См. [11].

ингаляционное, эндотрахеальное или имплантационное. В любом случае путь введения должен быть выбран для обеспечения адекватного воздействия на ткань(и)-мишень(и). Внутрибрюшинную инъекцию, как правило, не рекомендуется использовать, поскольку она не является предполагаемым путем воздействия на человека, и ее следует использовать только при определенно научном обосновании. Если исследуемое химическое вещество смешано с пищей или питьевой водой (особенно в случае однократного введения) следует проследить, чтобы отсрочка между приемом пищи, воды и отбором проб была достаточной для проявления воздействия (см. 7.5.3, 7.5.4). Максимальный объем жидкости, который можно ввести через зонд или с инъекцией за один раз, зависит от размера подопытного животного. Объем обычно не должен превышать 1 $см^3$/100 г массы тела, за исключением случаев, когда используют водные растворы, для которых можно использовать не более 2 $см^3$/100 г. Использование объемов более указанных выше должно быть обосновано. Исключение составляют химические вещества, вызывающие раздражение или разъедание, воздействие которых, как правило, усугубляется при более высоких концентрациях. Вариабельность вводимого объема следует минимизировать, регулируя концентрацию, для обеспечения введения постоянного объема по отношению к массе тела на всех уровнях дозы.

7.5 Режим введения доз

7.5.1 Исследуемые химические вещества обычно вводят однократной дозой, но для облегчения введения большого объема их можно вводить методом дробления дозы (т. е. двух или более введений в один день с интервалом не более 2—3 ч). Время отбора образцов в этих условиях или при введении исследуемого химического вещества ингаляцией следует планировать с учетом времени последнего введения дозы или окончания воздействия.

7.5.2 Имеется мало данных о пригодности протокола повторных доз для этого исследования. Однако при необходимости, когда целесообразно объединить это исследование с исследованием токсичности при повторных дозах, следует позаботиться о том, чтобы избежать потери поврежденных клеток митотических хромосом, которые могут происходить при токсических дозах. Такая интеграция является приемлемой, когда максимальная доза больше или равна предельной дозе (см. 7.3) и подопытной группе вводят предельную дозу в течение периода исследования. Микроядерный анализ[1)] следует рассматривать как исследование *in vivo* для определения хромосомных аберраций, когда требуется интеграция с другими исследованиями.

7.5.3 Образцы костного мозга отбирают два раза после однократного воздействия. Для грызунов первый интервал перед отбором проб должен быть временем, необходимым для завершения продолжительности 1,5 нормального клеточного цикла (который обычно составляет 12—18 ч после введения вещества). Поскольку время, необходимое для поглощения и метаболизма исследуемых химических веществ, а также воздействие химических веществ на кинетику клеточного цикла могут повлиять на время, оптимальное для обнаружения хромосомной аберрации, рекомендуется провести повторный отбор образцов через 24 ч после первого отбора. При первом отборе образцов должны быть собраны для анализа пробы всех подвергнутых воздействию дозовых групп. Однако в более позднее время отбора образцов необходимо получить пробы только для группы с максимальной дозой. При использовании схемы введения доз более одного дня на основе научных обоснований обычно отбор образцов проводят один раз приблизительно через 1,5 нормальных клеточных цикла после последнего воздействия.

7.5.4 После воздействия и перед отбором образцов животным внутрибрюшинно вводят соответствующую дозу агента, блокирующего метафазу (например, Colcemid® или колхицин), и затем отбирают образцы через соответствующие интервалы времени. Для мышей этот интервал составляет примерно от 3 до 5 ч до отбора, а для крыс — от 2 до 5 ч. Клетки отбирают из костного мозга, обрабатывают гипотоническим раствором для набухания, фиксируют, окрашивают и анализируют на хромосомные аберрации[2)].

7.6 Наблюдения

Следует проводить общие клинические наблюдения за подопытными животными и регистрировать клинические признаки не менее одного раза в день (предпочтительно в одно и то же время) с учетом

[1)] Действует ГОСТ 34660—2020 «Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Учет микроядер в эритроцитах млекопитающих» (OECD Test № 474:2016 «Guideline for Testing of Chemicals. Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test», MOD).

[2)] См. [12].

пикового периода ожидаемых эффектов после введения дозы. Не менее двух раз в день в течение периода введения доз следует наблюдать всех животных на предмет заболеваемости и смертности. Всех животных взвешивают в начале исследований и не менее одного раза в неделю во время повторных введений дозы и при эвтаназии. В исследованиях продолжительностью более одной недели определяют потребление пищи не менее одного раза в неделю. Если исследуемое химическое вещество вводят с питьевой водой, измеряют потребление воды при каждой замене воды или не менее одного раза в неделю. Животные, демонстрирующие несмертельные признаки повышенной токсичности, должны быть умерщвлены гуманным способом до завершения испытаний[1)].

7.7 Воздействие на ткани-мишени

Образец крови должен быть взят через соответствующее время (сроки), чтобы можно было определить уровни исследуемых веществ в плазме для подтверждения того, что произошло воздействие на костный мозг (в обоснованных случаях) и другие данные о воздействии вещества отсутствуют (см. 8.3.2).

7.8 Препараты костного мозга и хромосом

Сразу после гуманной эвтаназии животных клетки костного мозга, полученные из бедренной или большеберцовой кости, подвергают воздействию гипотонического раствора и фиксируют. Затем клетки в метафазе наносят на предметные стекла и окрашивают, используя установленные методы[2)].

7.9 Анализ

7.9.1 Все слайды, в том числе положительного и отрицательного контролей, перед анализом должны быть независимо закодированы и рандомизированы, чтобы оператор не знал об условиях воздействия.

7.9.2 Определяют митотический индекс как меру цитотоксичности (не мене чем для 1000 клеток на животное) для всех животных, подвергнутых воздействию (включая группу положительного контроля), и животных группы отрицательного контроля, подвергнутых воздействию только носителя/растворителя.

7.9.3 Для каждого животного должны быть проанализированы структурные хромосомные аберрации не менее чем для 200 метафаз, включая и исключая гэпы[3)]. Однако если в исторической базе данных отрицательного контроля испытательной лаборатории указана средняя частота фоновой структурной хромосомной аберрации менее 1 %, следует рассмотреть возможность оценки дополнительных клеток. Хроматидные и хромосомные аберрации следует регистрировать отдельно и классифицировать по подтипам (разрыв, обмен). Процедуры, используемые в лаборатории, должны обеспечить выполнение анализа хромосомных аберраций квалифицированными специалистами и, при необходимости, экспертную оценку. Установлено, что процедуры подготовки слайдов часто приводят к нарушению доли клеток в метафазе с последующей потерей хромосом. Подсчитанные клетки должны, следовательно, содержать количество центромер не менее $2n \pm 2$, где n — гаплоидное число хромосом для этого вида.

8 Данные испытаний и отчет

8.1 Обработка результатов

Данные по отдельным животным должны быть представлены в табличной форме. Митотический индекс, число клеток в метафазе, число аберраций на клетку в метафазе и процент клеток со структурной хромосомной аберрацией оценивают для каждого животного. Должны быть перечислены типы структурных хромосомных аберраций, их количество и частота для подопытных и контрольных групп. Гэпы, а также полиплоидные клетки и клетки с эндоредуплицированными хромосомами регистрируют отдельно. Сообщают частоту гэпов, но, как правило, не учитывают при анализе общей частоты структурных аберраций. При отсутствии доказательств о различии в ответах между полами данные могут быть объединены для статистического анализа. Также следует сообщать данные о токсичности для животных и клинических признаках.

[1)] См. [11].

[2)] См. [3], [12].

[3)] См. [6].

8.2 Критерии приемлемости

Определяют следующие критерии приемлемости результатов испытаний:

a) данные для параллельных групп отрицательного контроля считают приемлемыми для добавления в базу данных исторического контроля лаборатории (см. 5.2.2—5.2.5);

b) группы параллельного положительного контроля или группы скоринг контроля должны индуцировать ответные реакции, согласующиеся с ответами, приведенными в исторической базе данных положительного контроля, и вызывать статистически значимое увеличение по сравнению с параллельными группами отрицательного контроля (см. 6.2);

c) было проанализировано соответствующее число доз и клеток;

d) критерии выбора максимальной дозы соответствуют критериям, приведенным в 7.2.

8.3 Оценка и интерпретация результатов

8.3.1 При условии, что все критерии приемлемости выполнены, исследуемое химическое вещество считается однозначно положительным, если:

a) не менее чем в одной из подопытных групп наблюдается статистически значимое увеличение частоты клеток со структурными хромосомными аберрациями (исключая гэпы) по сравнению с группой параллельного отрицательного контроля;

b) увеличение зависит от дозы в одно время отбора проб при оценке с использованием соответствующего тренд-теста и

c) любой из этих результатов находится за пределами распределения исторической базы данных отрицательного контроля (например, 95 %-ного контрольного предела на основе распределения Пуассона).

Если в конкретное время отбора образцов исследуют только максимальную дозу, исследуемое химическое вещество считается явно положительным (токсичным) при наличии статистически значимого увеличения по сравнению с параллельной группой отрицательного контроля, результаты находятся вне предела распределения базы данных исторического отрицательного контроля (например, 95 %-ного контрольного предела на основе распределения Пуассона). Рекомендации по использованию наиболее подходящих статистических методов приведены в документе[1)]. При проведении анализа доза — ответ следует проанализировать не менее трех групп, подвергнутых воздействию доз. Статистические исследования должны использовать животное в качестве экспериментальной единицы.

Положительные результаты в анализе хромосомных аберраций указывают на то, что исследуемое химическое вещество индуцирует структурные хромосомные аберрации в костном мозге испытуемых животных.

8.3.2 При условии, что все критерии приемлемости соблюдены, исследуемое химическое вещество считается явно отрицательным, если во всех исследованных условиях эксперимента:

a) ни в одной из подопытных групп не наблюдается статистически значимого увеличения частоты появления клеток со структурными хромосомными аберрациями (исключая гэпы) по сравнению с параллельной группой отрицательного контроля;

b) отсутствует связанное с дозой увеличение (в любое время отбора образцов) при оценке с использованием соответствующего тренд-теста;

c) все результаты находятся в пределах распределения исторической базы данных отрицательного контроля (например, 95 %-ного контрольного предела на основе распределения Пуассона);

d) произошло воздействие исследуемого(ых) веществ(а) на костный мозг.

Рекомендации по наиболее подходящим статистическим методам приведены в документе[1)]. Доказательством воздействия исследуемого вещества на костный мозг могут быть снижение митотического индекса или измерение уровней исследуемого вещества в плазме или крови. При внутривенном введении исследуемого вещества доказательство воздействия не требуется. Альтернативно, данные *ADME*, полученные в независимом исследовании с использованием того же пути введения и тех же видов животных, могут быть использованы для демонстрации воздействия на костный мозг. Отрицательные результаты указывают на то, что в условиях испытания исследуемое химическое вещество не вызывает структурных хромосомных аберраций в костном мозге у испытуемых видов подопытных животных.

[1)] См. [13].

8.3.3 Требования для верификации явно положительного или явно отрицательного ответа отсутствуют.

8.3.4 В случаях, когда ответ не является явно отрицательным или явно положительным, и для того, чтобы помочь в установлении биологической значимости результата (например, слабого или пограничного увеличения), результаты должны быть подтверждены экспертной оценкой и/или дальнейшими исследованиями данных имеющихся экспериментов. В некоторых случаях может быть полезным анализ большего количества клеток или выполнение повторного эксперимента с использованием модифицированных условий эксперимента.

8.3.5 В редких случаях (даже после проведения дальнейших исследований) исследуемое химическое вещество дает неоднозначные положительные или отрицательные результаты, и поэтому результаты исследования будут считаться сомнительными.

8.3.6 Частоты полиплоидных и эндоредуплицированных метафаз среди общего количества метафаз должны регистрироваться отдельно. Увеличение числа полиплоидных/эндоредуплицированных клеток может указывать на то, что исследуемое химическое вещество обладает потенциалом ингибировать митотические процессы или прогрессию клеточного цикла (см. Введение).

8.4 Отчет об испытании

Отчет об испытании должен включать следующую информацию:

8.4.1 Краткие сведения.

8.4.2 Исследуемое химическое вещество:

- поставщик, номер партии, предельная дата использования (при наличии);
- стабильность исследуемого химического вещества, если известна.

8.4.2.1 Однокомпонентное вещество:

- внешний вид, растворимость в воде и дополнительные важные физико-химические свойства;
- химическая идентификация, например наименование по IUPAC или CAS, номер CAS, код спецификации упрощенного представления молекул в строке ввода (SMILES) или международного химического идентификатора (InChI), структурная формула, чистота, идентификация химических примесей (при необходимости и практической возможности) и т. д.

8.4.2.2 Многокомпонентное вещество, UVBC (вещество неизвестного или переменного состава, продукты сложных реакций или биологические материалы) и смеси:

- характеризуется по возможности химическим наименованием (см. выше), количественным содержанием и соответствующими физико-химическими свойствами компонентов.

8.4.3 Подготовка химического вещества к исследованию:

- обоснование выбора носителя (растворителя);
- растворимость и стабильность исследуемого химического вещества в растворителе/носителе, если известны;
- приготовление пищи, питьевой воды или составов для ингаляции;
- аналитические определения составов (например, стабильность, однородность, номинальные концентрации), при проведении.

8.4.4 Подопытные животные:

- используемый вид/линия и обоснование использования;
- число, возраст и пол животных;
- источник, условия содержания, кормления и т. д.;
- способ уникальной идентификации животных;
- для краткосрочных исследований: индивидуальная масса тела животных в начале и в конце испытания; для исследований более одной недели: индивидуальная масса тела животных во время исследования и потребление пищи. Должны быть включены диапазон массы тела, среднее значение и стандартное отклонение для каждой группы.

8.4.5 Условия испытаний:

- данные положительного контроля и группы отрицательного контроля (носитель/растворитель);
- данные исследования по подбору диапазона доз, если проводили;
- обоснование выбора уровня дозы;
- детали подготовки исследуемого химического вещества;
- подробности введения исследуемого химического вещества;
- обоснование способа и продолжительности введения химического вещества;

- методы проверки того, что испытуемое(ые) вещество(а) достигло общего кровотока или костного мозга;
- фактическая доза (мг/кг массы тела в сутки), рассчитанная на основе концентрации химического вещества в пище/питьевой воде (ppm) и потребления (при применении);
- данные о качестве пищи и воды;
- метод эвтаназии;
- метод анестезии (при использовании);
- подробное описание графиков введения вещества и отбора образцов и обоснование выбора,
- методы подготовки слайдов препаратов;
- методы измерения токсичности;
- идентификация химического вещества, останавливающего метафазу, его концентрация, доза и время введения до отбора проб;
- процедуры выделения и сохранения образцов;
- критерии оценки аберраций;
- количество анализируемых метафазных клеток на одно животное и количество анализируемых клеток для определения митотического индекса;
- критерии приемлемости результатов исследования;
- критерии для рассмотрения исследований как положительных, отрицательных или незавершенных.

8.4.6 Результаты

- состояние животного перед испытаниями и в течение всего периода испытаний, включая признаки токсичности;
- тип и число аберраций и аберрантных клеток, данные приводят отдельно для каждого животного;
- общее число аберраций на группу со средними и стандартными отклонениями;
- число клеток с аберрациями на группу со средними и стандартными отклонениями;
- изменения плоидности, если они видны, включая частоты полиплоидных и/или эндоредуплицированных клеток;
- соотношение доза — ответ, где это возможно;
- статистический анализ и используемый метод;
- данные, подтверждающие воздействие на костный мозг;
- данные параллельного отрицательного контроля и положительного контроля с диапазонами, средними значениями и стандартными отклонениями;
- исторические данные групп отрицательного и положительного контроля с диапазонами, средними значениями, стандартными отклонениями и 95 %-ным контрольным пределом на основе распределения, а также охватываемый период времени и количество наблюдений;
- критерии, соответствующие положительному или отрицательному ответу.

8.4.7 Обсуждение результатов

8.4.8 Заключение

8.4.9 Литературные источники

Приложение А
(справочное)

Факторный дизайн для идентификации половых различий в хромосомных аберрациях *in vivo*

Факторный дизайн и его анализ

По этой схеме исследования проводят не менее чем на пяти самцах и пяти самках для каждого уровня концентрации, что предполагает использование не менее 40 животных (20 самцов, 20 самок) и соответствующих групп положительного контроля.

Дизайн, который является одним из более простых факторных дизайнов, эквивалентен двухфакторному дисперсионному анализу влияния основных эффектов — пола и уровня концентрации. Данные могут быть проанализированы с использованием разных стандартных программных пакетов для статистической обработки данных, таких как SPSS, SAS, STATA, Genstat, а также R.

Метод расчета распределяет вариабельность набора данных на разницу между полами, между концентрациями и взаимосвязь между полами и концентрациями. Каждое из условий проверяют на основании представленных данных предварительной оценки вариабельности между животными параллельных групп одного пола при одинаковой концентрации. Полная информация о базовой методологии доступна во многих стандартных статистических учебниках[1)] и в справочных средствах, представляемых со статистическими пакетами.

Анализ проводят путем проверки взаимосвязи пол — концентрация в таблице *ANOVA*[2)]. При отсутствии взаимосвязи, значимой с точки зрения совокупных значений между полом или между уровнями концентрации, обеспечиваются достоверные критерии значимости между уровнями, рассчитанными для объединенной в рамках группы изменчивости в терминах *ANOVA*.

Анализ продолжают распределением оценки между вариабельностью концентрации в отношении отклика, обеспечивающего статистический критерий для исследования диапазонов линейных и квадратических откликов по уровням концентрации. При наличии выраженной взаимосвязи между полом и концентрацией этот параметр также можно разделить на линейный и квадратический отклики между полами. Эти параметры представляют примеры того, являются ли ответы на концентрации параллельными для обоих полов или существует дифференцированный ответ между разными полами.

Оценку суммарной внутригрупповой вариабельности можно использовать для обеспечения попарных критериев расхождения между средними значениями. Эти сравнения могут быть сделаны между средними значениями для обоих полов и между средними значениями для разных уровней концентрации, например для сравнения с уровнями группы отрицательного контроля. В тех случаях, когда существуют сопоставимые значимые взаимодействия, можно провести сравнение между средними значениями для разных концентраций для одного пола или между средними значениями одной концентрации для разных полов.

Имеется большое количество статистических учебников, в которых обсуждаются теория, дизайн, методология, анализ и интерпретация факторных планов, начиная от простейших двухфакторных анализов и заканчивая более сложными формами, используемыми в методологии проектирования эксперимента.

В некоторых учебниках представлены рабочие примеры сопоставимых конструкций и коды для выполнения анализа с использованием разных пакетов программного обеспечения.

---

1) См. [14]—[19].

2) Статистики, использующие для моделирования метод общих линейных моделей (GLM), имеющие возможность подходить к анализу другим, но сопоставимым способом, не обязательно выведут традиционную таблицу *ANOVA*, которая основана на алгоритмическом подходе к вычислению статистических данных, разработанных в докомпьютерную эпоху.

Приложение ДА
(справочное)

Сопоставление структуры настоящего стандарта со структурой примененного в нем международного документа

Таблица ДА.1

Структура настоящего стандарта	Структура международного документа OECD Test № 475:2016
Введение (1—4)	Введение 1 2 3 4
1 Область применения (2)	
2 Термины и определения (приложение 1)	
3 Основные положения (5—7) 3.1 3.2 3.3	Основные положения 5 6 7
4 Принцип метода испытаний (8)	Принцип метода испытаний 8
5 Верификация квалификации лаборатории (9—14) 5.1 Проверка квалификации 5.2 Исторические контрольные данные 5.2.1 5.2.2 5.2.3 5.2.4 5.2.5	Верификация квалификации лаборатории Проверка квалификации 9 Исторические контрольные данные 10 11 12 13 14
6 Описание метода (15—22) 6.1 Подготовка 6.1.1 Выбор вида животных 6.1.2 Условия содержания и кормления 6.1.3 Подготовка животных 6.1.4 Подготовка доз 6.1.5 Растворитель/носитель 6.2 Средства контроля 6.2.1 Положительный контроль 6.2.1.1 6.2.1.2	Описание метода Подготовка Выбор вида животных 15 Условия содержания и кормления 16 Подготовка животных 17 Подготовка доз 18 Растворитель/носитель 19 Средства контроля Положительный контроль 20 21
6.2.2 Отрицательный контроль	Отрицательный контроль 22

Продолжение таблицы ДА.1

Структура настоящего стандарта	Структура международного документа OECD Test № 475:2016
7 Проведение испытаний (23—40) 7.1 Число и пол животных 7.1.1 7.1.2 7.2 Уровни доз 7.2.1 7.2.2 7.2.3 7.2.4 7.3 Определение предельных значений 7.4 Введение доз 7.5 Режим введения доз 7.5.1 7.5.2 7.5.3 7.5.4 7.6 Наблюдения 7.7 Воздействие на ткани-мишени 7.8 Препараты костного мозга и хромосом 7.9 Анализ 7.9.1 7.9.2 7.9.3	Проведение испытаний Число и пол животных 23 24 Уровни доз 25 26 27 28 Определение предельных значений 29 Введение доз 30 Режим введения доз 31 32 33 34 Наблюдения 35 Воздействие на ткани-мишени 36 Препараты костного мозга и хромосом 37 Анализ 38 39 40
8 Данные испытаний и отчет (41—49) 8.1 Обработка результатов 8.2 Критерии приемлемости 8.3 Оценка и интерпретация результатов 8.3.1 8.3.2 8.3.3 8.3.4	Данные испытаний и отчет Обработка результатов 41 Критерии приемлемости 42 Оценка и интерпретация результатов 43 44 45 46
8.3.5 8.3.6 8.4 Отчет об испытании	47 48 Отчет об испытании 49
*	Библиография
**	Приложение 1 Термины и определения
Приложение А Факторный дизайн для идентификации половых различий в хромосомных аберрациях *in vivo*	Приложение 2 Факторный дизайн для идентификации половых различий в хромосомных аберрациях *in vivo*
Приложение ДА Сопоставление структуры настоящего стандарта со структурой примененного в нем международного документа	

Окончание таблицы ДА.1

Структура настоящего стандарта	Структура международного документа OECD Test № 475:2016
Библиография	

* Библиография размещена в конце настоящего стандарта.
** Приложение 1 размещено в разделе 2 настоящего стандарта.

Примечание — После заголовков разделов настоящего стандарта приведены в скобках номера аналогичных им параграфов международного документа.

Библиография

[1] OECD (2016). Overview of the set of OECD Genetic Toxicology Test Guidelines and updates performed in 2014-2015. ENV Publications. Series on Testing and Assessment, No. 234, OECD, Paris

[2] Adler, I.D. (1984), Mutagenicity Testing: A Practical Approach, Venittand, S., J.M. Parry (eds.), IRL Press, Washington, DC, pp. 275—306

[3] (3) Preston, R.J. et al. (1987), Mammalian *in vivo* cytogenetic assays. Analysis of chromosome aberrations in bone marrow cells, Mutation Research, Vol. 189/2, pp. 157—165

[4] Richold, M. et al. (1990), *In Vivo* Basic Mutagenicity Tests, UKEMS Recommended Procedures. UKEMS Subcommittee on Guidelines for Mutagenicity Testing. Report. Part I revised, Kirkland, D.J. (ed.), Cambridge University Press, Cambridge, pp. 115—141

[5] Tice, R.R. et al. (1994), Report from the working group on the *in vivo* mammalian bone marrow chromosomal aberration test, Mutation Research, Vol. 312/3, pp. 305—312

[6] Adler, I.D. et al. (1998), Recommendations for statistical designs of *in vivo* mutagenicity tests with regard to subsequent statistical analysis, Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, Vol. 417/1, pp. 19—30

[7] Ryan, T.P. (2000), Statistical Methods for Quality Improvement, 2nd ed., John Wiley and Sons, New York

[8] (8) Hayashi, M. et al. (2011), Compilation and use of genetic toxicity historical control data, Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, Vol. 723/2, pp. 87—90

[9] Hayashi, M. et al. (1994), *In vivo* rodent erythrocyte micronucleus assay, Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects, Vol. 312/3, pp. 293—304

[10] Fielder, R.J. et al. (1992), Report of British Toxicology Society/UK Environmental Mutagen Society Working Group. Dose setting in *in vivo* mutagenicity assays, Mutagenesis, Vol. 7/5, pp. 313—319

[11] OECD (2000), Guidance Document on the Recognition, Assessment and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation, OECD Environment, Health and Safety Publications (EHS), Series on Testing and Assessment, N°19, OECD Publishing, Paris

[12] Pacchierotti, F., V. Stocchi (2013), Analysis of chromosome aberrations in somatic and germ cells of the mouse, Methods in Molecular Biology, Vol. 1044, pp. 147—163

[13] (13) Lovell, D.P. et al. (1989), Statistical Analysis of *In Vivo* Cytogenetic Assays Statistical Evaluation of Mutagenicity Test Data. UKEMS SubCommittee on Guidelines for Mutagenicity Testing, Report, Part III, Kirkland, D.J. (ed.), Cambridge University Press, Cambridge, pp. 184—232

[14] Box, G.E.P, Hunter, W.G. and Hunter, J.S. (1978). Statistics for Experimenters. An Introduction to Design, Data Analysis, and Model Building. New York: John Wiley & Sons

[15] Box G.E.P. & Draper, N.R. (1987) Empirical model-building and response sur-faces. John Wiley & Sons Inc

[16] Doncaster, C.P. & Davey, A.J.H. (2007) Analysis of Variance and Covariance: How to Choose and Construct Models for the Life Sciences. Cambridge University Press

[17] Mead, R. (1990) The Design of Experiments. Statistical principles for practical application. Cambridge University Press

[18] Montgomery D.C. (1997) Design and Analysis of Experiments. John Wiley & Sons Inc. Winer, B.J. (1971) Statistical Principles in Experimental Design. McGraw Hill

[19] Wu, C.F.J & Hamada, M.S. (2009) Experiments: Planning, Analysis and Optimization. John Wiley & Sons Inc

УДК 615.038/615.012/615.014/615.2:006.354 МКС 75.080
11.020
11.120.01 MOD

Ключевые слова: методы испытания, воздействие химической продукции, организм человека, тест, хромосомные аберрации, костный мозг млекопитающих

БЗ 11—2020/253

Редактор *Г.Н. Симонова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *М.В. Бучная*
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Сдано в набор 23.10.2020. Подписано в печать 12.11.2020. Формат 60×84 $^{1}/_{8}$. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,79 Уч.-изд. л. 2,24.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

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

Поправка к ГОСТ 34659—2020 Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Оценка хромосомных аберраций в клетках костного мозга млекопитающих

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Предисловие. Таблица согласования	—	Узбекистан | UZ | Уэстандарт

(ИУС № 2 2021 г.)

gost.e-ecolog.ru