МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

**ГОСТ
34638—
2020**

# Методы испытаний по воздействию химической продукции на организм человека

# РАЗЪЕДАНИЕ КОЖИ IN VITRO

## Метод мембранного барьера

(OECD 435:2015,
Guideline for the testing of chemicals. In Vitro Membrane Barrier Test Method for Skin Corrosion,
MOD)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2021

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 Республиканским унитарным предприятием «Белорусский государственный институт метрологии» (БелГИМ) на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии документа, указанного в пункте 5

2 ВНЕСЕН Государственным комитетом по стандартизации Республики Беларусь

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 30 января 2020 г. № 126-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 |
| Узбекистан | UZ | Узстандарт |

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 18 мая 2021 г. № 378-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 34638—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 435:2015 «Руководство по тестированию химической продукции. Метод определения мембранного барьера. Разъедание кожи *in vitro*» («Guideline for the testing of chemicals. *In Vitro* Membrane Barrier Test Method for Skin Corrosion», MOD) путем изменения его структуры для приведения в соответствие с правилами, установленными в ГОСТ 1.5 (подразделы 4.2 и 4.3).

Международный документ разработан Организацией экономического сотрудничества и развития OECD (Organisation for Economic Cooperation and Development).

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования указанного международного документа для увязки с наименованиями, принятыми в существующем комплексе межгосударственных стандартов.

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

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, 2021

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

Разъедание кожи согласно определению, приведенному в Согласованной на глобальном уровне системе классификации и маркировки химической продукции Организации Объединенных Наций (СГС ООН) [1], представляет собой необратимое повреждение кожи, которое проявляется видимым некрозом эпидермиса и дермы, после нанесения на кожу исследуемой химической продукции. Обновленная редакция Руководства по проведению испытаний № 435 (OECD 435), на основе которой подготовлен настоящий стандарт, устанавливает метод *in vitro*, позволяющий определить наличие или отсутствие разъедающего действия химической продукции на основе ее способности проникать сквозь мембранный барьер. Метод предусматривает использование искусственной мембраны, характеристики которой выбраны таким образом, чтобы последствия воздействия на мембрану разъедающей продукции были аналогичны последствиям ее воздействия на кожу животных в естественных условиях (*in situ*).

Определение разъедающего действия на кожу традиционно осуществляется путем нанесения исследуемой химической продукции на кожу живых животных и оценки степени повреждения тканей по истечении заданного периода времени [2]. Помимо метода испытаний, установленного в OECD 435, приняты также другие методы испытаний *in vitro* [3], [4], которые могут рассматриваться как альтернатива стандартному методу испытаний *in vivo* на коже кролика (OECD 404) для выявления разъедающих свойств химической продукции [2]. Многоуровневой стратегией СГС ООН в области испытаний и оценки, посвященной тестированию и классификации разъедающего воздействия на кожу, а также Руководящим документом OECD по интегрированным подходам к испытаниям и оценке (Integrated Approaches to Testing and Assessment (IATA)) рекомендовано применение валидированных и одобренных методов испытаний *in vitro* согласно модулям 3 и 4 [1], [5]. IATA включает в себя несколько модулей, в которых сгруппированы разнообразные источники информации и методы испытаний, и содержит необходимые указания, касающиеся: (1) обобщения и использования имеющихся данных, полученных в ходе испытаний или иным путем для оценки способности химической продукции вызывать раздражение и разъедание кожи, а также (2) выбора оптимального подхода при возникновении потребности в дополнительных испытаниях, в том числе при получении отрицательных результатов [5]. В соответствии с данным модульным подходом положительные результаты, полученные с применением методов испытаний *in vitro*, могут быть использованы для классификации химической продукции по способности вызывать разъедание кожи без проведения испытаний на подопытных животных, причиняя последним вероятные в таких обстоятельствах боль и страдания.

Исследования с целью валидации метода мембранного барьера *in vitro*, известного на рынке как Corrositex® [6]—[8], завершились успешно, продемонстрировав результирующую точность прогнозирования разъедания кожи на уровне 79 % (128/163), чувствительность — на уровне 85 % (76/89) и специфичность — на уровне 70 % (52/74) для базы данных, включающей 163 наименования веществ и смесей [7]. После получения надлежащего признания данный валидированный референтный метод (ВРМ) (validated reference test method) был рекомендован к использованию в рамках многоуровневой стратегии испытаний для оценки потенциальной опасности химической продукции вызывать разъедание кожи [5], [7]. До начала применения какого-либо подобного метода мембранного барьера *in vitro* в сфере государственного регулирования необходимо убедиться, что его надежность, релевантность (точность), а также ограничения, которые касаются условий его предполагаемого применения, аналогичны показателям ВРМ [9], исходя из требований ранее установленных стандартов эффективности (СЭ) [10]. Присоединение к системе взаимного признания данных гарантируется только при условии, что предлагаемый новый или усовершенствованный метод испытаний, удовлетворяющий требованиям СЭ для ВРМ, одобрен и включен в OECD 435.

До настоящего времени единственным таким методом испытаний *in vitro*, отраженным в настоящем стандарте, является коммерчески доступный метод Corrositex®.

Другие известные методы испытаний на разъедание кожи предусматривают использование реконструированного человеческого эпидермиса (OECD 431) [3] или образцов кожи крысы (OECD 430) [4].

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

**Методы испытаний по воздействию химической продукции на организм человека**

# РАЗЪЕДАНИЕ КОЖИ IN VITRO

**Метод мембранного барьера**

Methods for studying the effects of chemicals on the human body. In vitro skin damage. Membrane barrier method

**Дата введения —2021—07—01**

## 1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на метод испытаний с целью выявления химической продукции, обладающей разъедающим действием на кожу. Метод настоящего стандарта обеспечивает классификацию разъедающей химической продукции на три подкласса опасности, предусмотренные СГС ООН, а также для отнесения химической продукции в зависимости от опасности корродирующего воздействия к трем группам транспортной упаковки, установленным ООН.

## 2 Термины, определения и сокращения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

2.1 **вещество** (substance): Химические элементы и их соединения, представленные в естественном состоянии или полученные при выполнении производственного процесса, включая любые добавки, необходимые для сохранения стабильности продукта, а также любые примеси, наличие которых обусловлено применяемым процессом, но исключая любые растворители, удаление которых не сказывается на стабильности вещества или на его составе.

2.2 **исследуемая химическая продукция** (test chemical): Продукция, которая подвергается испытаниям.

2.3 **IATA** (Integrated Approach on Testing and Assessment): Интегрированный подход к испытаниям и оценке.

2.4 **многокомпонентное вещество** (multi-constituent substance): Вещество, характеризуемое количественным составом, в котором две или более основные структурные составляющие содержатся в количестве ≥10 % (по массе), но <80 % (по массе). Образование многокомпонентного вещества происходит в процессе производства. Различие между смесью и многокомпонентным веществом состоит в том, что смесь образуется путем соединения двух или более веществ при отсутствии химической реакции. Многокомпонентное вещество, напротив, образуется в результате химической реакции.

2.5 **надежность** (reliability): Показатель того, что метод испытаний может быть реализован с получением воспроизводимых результатов в рамках одной или различных лабораторий, в разное время при применении одного и того же протокола. Он оценивается путем вычисления внутри и межлабораторной воспроизводимости [9].

2.6 **НР** (NC — non corrosive): Неразъедающая.

2.7 **однокомпонентное вещество** (mono-constituent substance): Вещество, характеризуемое количественным составом, в котором одна основная структурная составляющая содержится в количестве не менее чем 80 % (по массе).

2.8 **разъедание кожи *in vivo*** (skin corrosion *in vivo*): Возникновение необратимого повреждения кожи, которое проявляется видимым некрозом эпидермиса и дермы, возникающее после нанесения ис-

**Издание официальное**

следуемой химической продукции в срок до 4 ч. Разъедающее действие классифицируется по наличию язв, кровотечений, кровавых струпьев, а через 14 сут — по изменению оттенка кожи, вызванному ее обесцвечиванием, появлению участков выпадения волос (алопеции) и шрамов. В сомнительных случаях должно проводиться гистопатологическое исследование пораженных участков.

2.9 **релевантность** (relevance): Описание соответствия метода испытаний результату, полученному при исследованиях, а также его обоснованности и пригодности для определенных целей применения. Данная характеристика указывает пределы, в которых метод испытаний позволяет правильно измерить или спрогнозировать исследуемый биологический эффект. Релевантность включает рассмотрение точности (соответствия) метода испытаний [9].

2.10 **СГС (Согласованная на глобальном уровне система классификации и маркировки химической продукции)** (GHS (Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals)): Система, предусматривающая классификацию химической продукции (веществ и смесей) в зависимости от характерных видов и уровней физической опасности, опасности для здоровья человека или опасности для окружающей среды, с применением соответствующих средств информирования, таких как пиктограммы, сигнальные слова, краткая характеристика опасности, меры по предупреждению опасности и паспорта безопасности, чтобы обеспечить информацией о ее негативном воздействии с целью защиты людей (в том числе сотрудников, работников, перевозчиков, потребителей и представителей аварийных служб) и окружающей среды [1].

2.11 **система обнаружения химической продукции** (Chemical Detection System, CDS): Визуальная или электронная измерительная система, в которой используется индикаторный раствор, формирующая отклик на присутствие исследуемой химической продукции, который проявляется, например, в изменении цвета красителя или смеси красителей индикатора при изменении значения pH в случае присутствия исследуемой химической продукции либо иного рода химических или электрохимических реакций.

2.12 **смесь** (mixture): Смесь или раствор, состоящие из двух или более веществ, в которых они не вступают в реакцию друг с другом.

2.13 **согласованность** (concordance): Показатель эффективности метода испытаний, применимый к тем методам, которые позволяют получить однозначные результаты, и являющийся одним из аспектов релевантности. Данный термин, иногда применяемый взамен термина «точность», обозначает долю химической продукции, достоверно классифицированной как дающую при испытаниях положительный или отрицательный результат. Согласованность в значительной степени зависит от преобладания среди исследуемой химической продукции таких видов продукции, которая при испытании дает положительный результат [9].

2.14 **специфичность** (specificity): Доля всей дающей отрицательный результат/неактивной химической продукции, которая была правильно классифицирована с применением соответствующего метода испытаний. Этот показатель является мерой точности для метода испытаний, позволяющего получать однозначные результаты, и служит важной отправной точкой при оценке релевантности такого метода [9].

2.15 **стандарты эффективности;** СЭ (performance standards (PS)): Стандарты, основанные на применении валидированного метода испытаний и служащие для сравнительной оценки других предлагаемых методов испытаний, подобных ему с механистической и функциональной точки зрения. Стандарты устанавливают: (1) важнейшие составляющие метода испытаний, (2) минимальный перечень стандартных химических веществ, отобранных из числа веществ, которые применялись для подтверждения пригодности валидированного метода испытаний, а также (3) аналогичные уровни надежности и точности по результатам использования валидированного метода испытаний, которые предлагаемый метод испытаний должен демонстрировать при его оценке с использованием этого минимального перечня стандартных химических веществ [9].

2.16 **точность** (accuracy): Близость результата испытаний, полученного с применением соответствующего метода испытаний, к принятому эталонному значению величины. Точность является показателем эффективности метода и одним из аспектов релевантности. Данный термин часто применяется как взаимозаменяемый термину «согласованность» (concordance) для указания доли корректных результатов, полученных с применением соответствующего метода испытаний [9].

2.17 **химическая продукция** (chemical): Вещество или смесь веществ.

2.18 **чувствительность** (sensitivity): Доля всей дающей положительный результат/активной химической продукции, которая была правильно классифицирована с применением соответствующего метода испытаний. Этот показатель является мерой точности для методов испытаний, позволяющих

получать однозначные результаты, и служит важной отправной точкой при оценке релевантности таких методов [9].

2.19 **UVCB** (unknown, of variable composition, or of biological origin): Вещества неизвестного или переменного состава, продукты комплексных реакций или вещества биологического происхождения.

## 3 Исходные положения и ограничения

3.1 Метод испытаний, установленный в настоящем стандарте, позволяет идентифицировать исследуемую химическую продукцию как разъедающую кожу и обеспечивает возможность классификации такой разъедающей продукции на подклассы опасности в соответствии с требованиями СГС ООН (таблица 1) [1]. Кроме того, в отдельных случаях применение данного метода может быть оправданным для принятия решения о наличии или отсутствии коррозионных свойств у химической продукции конкретных классов, например органических и неорганических кислот, кислотных производных[1)], а также оснований для целей правильного их транспортирования [7], [11], [12]. В настоящем стандарте описан базовый метод, аналогичный BPM [7]. Поскольку настоящий стандарт не содержит необходимой информации для определения раздражающего действия на кожу с точки зрения его влияния на здоровье человека, на исследования такого воздействия на кожу *in vitro* распространяется отдельное руководство OECD 439 [13]. Полная информация по оценке местного однократного воздействия химической продукции на кожу представлены в Руководящем документе по интегрированным подходам к испытаниям и оценке (IATA) № 203 [5].

Таблица 1 — Классы и подклассы опасности химической продукции, вызывающей разъедание кожи, согласно СГС ООН [1]

| Разъедание кожи (класс опасности) (для компетентных органов, не требующих разделения на подклассы опасности) | Подкласс опасности по разъедающему действию (только для некоторых компетентных органов) | Разъедающее действие подтверждено на ≥1 из 3 подопытных животных | |
|---|---|---|---|
| | | Время воздействия | Период наблюдений |
| Разъедающая | Подкласс 1A | ≤3 мин | ≤1 ч |
| | Подкласс 1B | >3 мин / ≤1 ч | ≤14 сут |
| | Подкласс 1C | >1 ч / ≤4 ч | ≤14 сут |

3.2 Применимость BPM испытаний [7] ограничена тем, что метод может быть непригоден для исследования многих видов не разъедающей кожу и некоторых видов разъедающей кожу химической продукции, если это следует из результатов проведенного предварительно контроля на совместимость (см. раздел 7). Химическая продукция на водной основе, имеющая значение pH в диапазоне от 4,5 до 8,5, зачастую не пригодна для испытаний описанным способом; вместе с тем 85 % исследованной химической продукции с pH в указанном диапазоне не проявляла разъедающее действие при проведении испытаний на животных [7]. Метод мембранного барьера *in vitro* может применяться для испытаний твердых продуктов (растворимых или нерастворимых в воде), жидкостей (водных или неводных), а также эмульсий. В то же время химическая продукция, которая не вызывает заметных изменений при проведении контроля на совместимость (т. е. изменений цвета индикатора в системе обнаружения химических веществ (CDS), использование которой предусмотрено BPM испытаний) не может подвергаться исследованиям с применением метода мембранного барьера и для нее должны применяться другие методы.

[1)] Термин применяется для обозначения неконкретного класса химических веществ и широко используется для веществ с кислотными свойствами, образованных из других химических веществ как непосредственно, так и в результате модификации или частичного замещения. К этому классу относят ангидриды, галогенозамещенные кислоты, соли, а также ряд других химических веществ.

## 4 Сущность метода испытаний

4.1 Испытательная система состоит из двух компонентов: синтетического макромолекулярного биобарьера и CDS. Согласно данному методу испытаний предполагается, что CDS должна обеспечивать обнаружение повреждений мембранного барьера, вызванных разъедающим действием исследуемой химической продукции после нанесения ее на поверхность синтетического макромолекулярного барьера [7], предположительно в соответствии с тем же самым механизмом (механизмами), что и при нанесении на кожу живого человека или животного.

4.2 Проницаемость (или проникновение внутрь) химической продукции через мембранный барьер может быть определена при применении ряда методов или с использованием CDS, в том числе по изменению цвета красителя индикатора, служащего для определения значения pH или иных показателей индикаторного раствора по другую сторону барьера.

4.3 Пригодность, т. е. релевантность и надежность, используемого мембранного барьера для предполагаемых целей применения должна быть подтверждена. В частности, необходимо проверить, что приготавливаемые образцы мембран обладают одинаковыми барьерными свойствами, например способностью препятствовать проникновению не разъедающей продукции, а также обеспечивают возможность проведения классификации химической продукции по разъедающему действию с разделением на предусмотренные СГС ООН [1] подклассы опасности. Разделение на подклассы опасности определяется продолжительностью времени, которое требуется для проникновения химической продукции через мембранный барьер в индикаторный раствор.

## 5 Подтверждение квалификации

До того как приступить к регулярному применению метода мембранного барьера *in vitro*, лаборатории должны подтвердить свою техническую компетентность, правильно классифицировав двенадцать специально отобранных веществ, рекомендованных в таблице 2. В случаях когда лаборатория не располагает каким-либо веществом, указанным в перечне, а также при наличии иных уважительных причин вместо него допускается использовать другое вещество, для которого имеются соответствующие справочные данные по испытаниям *in vivo* и *in vitro* (например, взятое из перечня стандартных веществ [10]), при условии что к его выбору применяются те же самые критерии, что и в таблице 1.

Таблица 2 — Перечень рекомендованных веществ для проверки квалификации [1)]

| Вещество [2)] | Регистрационный номер CAS | Класс химических веществ | Подкласс опасности согласно СГС ООН *in vivo* [3)] | Подкласс опасности согласно СГС ООН *in vitro* [3)] |
|---|---|---|---|---|
| Бора трифторид дигидрат | 13319-75-0 | Неорганические кислоты | 1A | 1A |
| Азотная кислота | 7697-37-2 | Неорганические кислоты | 1A | 1A |
| Фосфора пентахлорид | 10026-13-8 | Прекурсоры неорганических кислот | 1A | 1A |
| Хлорангидрид валериановой кислоты | 638-29-9 | Хлорангидриды кислот | 1B | 1B |
| Натрия гидроксид | 1310-73-2 | Неорганические основания | 1B | 1B |
| 1-(2-Аминоэтил) пиперазин | 140-31-8 | Алифатические амины | 1B | 1B |
| Бензолсульфонил хлорид | 98-09-9 | Хлорангидриды кислот | 1C | 1C |
| N,N-Диметил бензиламин | 103-83-3 | Анилины | 1C | 1C |
| Тетраэтиленпентамин | 112-57-2 | Алифатические амины | 1C | 1C |
| Эвгенол | 97-53-0 | Фенолы | НР | НР |

*Окончание таблицы 2*

| Вещество [2] | Регистрационный номер CAS | Класс химических веществ | Подкласс опасности согласно СГС ООН *in vivo* [3] | Подкласс опасности согласно СГС ООН *in vitro* [3] |
|---|---|---|---|---|
| Нонил акрилат | 2664-55-3 | Акрилаты/ метилакрилаты | HP | HP |
| Натрия бикарбонат | 144-55-8 | Неорганические соли | HP | HP |

[1] Двенадцать веществ, перечисленных выше, включают по три вещества, обладающие разъедающим действием для каждого из трех подклассов опасности согласно СГС ООН, а также три вещества, не обладающие разъедающим действием. Все они доступны для приобретения у коммерческих поставщиков. Их принадлежность к соответствующим подклассам опасности согласно СГС ООН была определена по результатам проведенных на высоком профессиональном уровне испытаний *in vivo*. Данные вещества были отобраны из сокращенного перечня стандартных веществ, насчитывающего 40 наименований и предназначенного для подтверждения точности и надежности методов испытаний, структурно и функционально близких к ВРМ испытаний, который в свою очередь был сформирован на основе полного перечня из 163 наименований стандартных веществ, первоначально использовавшихся при валидации данного ВРМ (Corrositex®) [7], [10], [14]. Целью этого отбора являлось включение в перечень, по возможности, таких химических веществ, которые: представляли бы градации разъедающего действия (т. е., например, не обладающие разъедающим действием вещества, вещества, относящиеся к группам упаковки I, II, и III по классификации ООН соответственно), для оценки или прогнозирования которых адаптирован ВРМ испытаний; относились бы к классам химических веществ, использованных в валидационных исследованиях, обладали бы хорошо изученной химической структурой; обеспечивали бы получение воспроизводимых результатов при использовании ВРМ; позволяли бы получать однозначные результаты при использовании соответствующего референтного метода испытаний *in vivo*; были бы доступны для коммерческого приобретения; не требовали бы неоправданных затрат на их последующую утилизацию [14].

[2] Испытаниям подлежали вещества без примесей или со степенью чистоты ≥ 90 %.

[3] Подклассы опасности 1A, 1B и 1C согласно СГС ООН соответствуют группам I, II и III по классификации ООН соответственно.

HP — Неразъедающая.

## 6 Описание метода

В настоящем стандарте приведено описание основных компонентов и операций метода испытаний с использованием искусственного мембранного барьера для оценки разъедающего действия химической продукции [7], [15] на основе существующего ВРМ, а именно коммерчески доступного метода Corrositex®. Разработка, производство и поставка искусственных мембран, которые должны выступать в роли такого барьера, а также индикаторных растворов для контроля совместимости химической продукции с применяемым методом и ее последующей классификации могут осуществляться на коммерческой основе, как в случае с ВРМ Corrositex®. Пользователям доступен для ознакомления типовой протокол выполнения исследований в соответствии с ВРМ [7]. Испытания должны проводиться при температуре окружающего воздуха (17 °С — 25 °С), а все основные компоненты должны отвечать требованиям, изложенным ниже.

## 7 Контроль на совместимость

До начала испытаний по методу мембранного барьера проводится контроль на совместимость исследуемой химической продукции с CDS. Если исследуемая химическая продукция не поддается обнаружению при использовании CDS, метод мембранного барьера считают непригодным для оценки предполагаемого разъедающего действия данной конкретной химической продукции, и для ее испытаний должен применяться другой метод испытаний. CDS и условия, в которых происходит воздействие химической продукции, выбирают таким образом, чтобы они отражали фактические условия воздействия при испытаниях по методу мембранного барьера.

## 8 Тестирование для определения продолжительности воздействия

В случае необходимости исследуемую химическую продукцию, успешно прошедшую контроль на совместимость, подвергают испытаниям с целью определения продолжительности воздействия, т. е. скрининговым испытаниям для различения слабых и сильных кислот или оснований. Например, в рамках применения испытаний ВРМ подобного рода разделение веществ позволяет принять решение о том, какой интервал времени следует выбрать с учетом их резервной кислотности или щелочности. В зависимости от резервной кислотности или щелочности исследуемой химической продукции определение ее разъедающего действия, а также отнесение к тому или иному подклассу опасности согласно классификации СГС ООН следует использовать две различные временные шкалы, требуемые для прорыва веществ через мембранный барьер.

## 9 Компоненты мембранного барьера

### 9.1 Мембранный барьер

9.1.1 Мембранный барьер состоит из белковоподобного макромолекулярного водного геля и проницаемой поддерживающей мембраны. Белковоподобный гель должен быть непроницаемым для жидкостей и твердых продуктов, но может подвергаться разъеданию, вследствие чего становится проницаемым. Полностью подготовленные образцы мембранного барьера должны храниться в заранее определенных условиях, чтобы предотвратить порчу гелевого слоя, например высыхание, размножение микроорганизмов, расползание или образование трещин, которые приводят к ухудшению его функциональных характеристик. Должен быть определен допустимый предельный срок такого хранения, по истечении которого дальнейшее использование образцов мембранного барьера считается неприемлемым.

9.1.2 Мембрана является механической опорой для белковоподобного геля в процессе его структурирования и далее при воздействии исследуемой химической продукции. Такая поддерживающая мембрана должна препятствовать провисанию или расползанию гелевого слоя, но при этом она должна быть полностью проницаема для всей исследуемой химической продукции.

9.1.3 Белковоподобный гель, в состав которого входят белки, например, такие как кератин, коллаген или смеси различных белков, формирующих его матрицу, выступает в роли мишени для исследуемой химической продукции. Белковоподобный материал наносят на поверхность поддерживающей мембраны и дожидаются гелеобразования, после чего готовый мембранный барьер располагают поверх индикаторного раствора. Слой белковоподобного геля по всей своей площади должен иметь одинаковую толщину и плотность, и в нем не должно быть пузырьков воздуха или иных дефектов, способных отрицательно повлиять на его функциональную целостность.

## 10 Система обнаружения химической продукции (CDS)

10.1 Для обнаружения исследуемой продукции используют индикаторный раствор — тот же самый раствор, который использовался при проведении контроля на совместимость. Для его приготовления должен использоваться краситель индикатора pH или смесь таких красителей, например крезолового красного или метилового оранжевого, которые изменяют свой цвет в присутствии соответствующей исследуемой продукции. Измерительная система может быть визуальной или электронной.

10.2 Системы обнаружения, назначением которых является выявление прохождения исследуемой химической продукции через мембранный барьер, должны подлежать оценке с точки зрения обеспечиваемой ими релевантности и надежности для подтверждения заявленного диапазона обнаруживаемой с их помощью химической продукции и количественных пределов обнаружения.

## 11 Проведение испытаний

### 11.1 Сборка компонентов для выполнения метода испытаний

Мембранный барьер помещают во флакон (или пробирку), содержащий индикаторный раствор, таким образом, чтобы нижняя поверхность поддерживающей мембраны полностью соприкасалась

с индикаторным раствором и в растворе отсутствовали пузырьки воздуха. Особое внимание уделяют тому, чтобы обеспечить целостность мембранного барьера.

### 11.2 Нанесение исследуемой химической продукции

Соответствующее количество исследуемой химической продукции, например 500 мм$^3$ жидкости или 500 мг тонкоизмельченного твердого продукта [7], осторожно наносят на верхнюю поверхность мембранного барьера и равномерно распределяют. Для каждой исследуемой химической продукции и соответствующих ей контрольных проб (см. 11.4.1—11.4.3) подготавливают необходимое количество образцов мембранного барьера для параллельных испытаний, например четыре [7]. Фиксируют время нанесения исследуемой химической продукции на мембранный барьер. Для обеспечения точного определения продолжительности быстро протекающего повреждающего воздействия исследуемую химическую продукцию при параллельных испытаниях во флаконы добавляют не сразу, а по очереди.

### 11.3 Определение времени проникновения через мембранный барьер

Каждый флакон соответствующим образом контролируется, при этом фиксируется время появления первых признаков изменений в индикаторном растворе, т. е. проникновения через мембранный барьер, и таким образом определяется время, прошедшее между нанесением продукции и потерей целостности барьера.

### 11.4 Контрольные пробы

11.4.1 Если испытаниям подлежит химическая продукция с веществом-носителем или растворителем, такое вещество-носитель или растворитель должны быть совместимы с системой мембранного барьера, т. е. не должны нарушать целостность системы барьера и не должны оказывать влияния на разъедающее действие исследуемой химической продукции.

11.4.2 В таком случае контрольные пробы растворителя (или носителя) должны испытываться параллельно с исследуемой химической продукцией для подтверждения совместимости данного растворителя с применяемой системой мембранного барьера.

11.4.3 Положительная (с разъедающим действием) контрольная проба, обладающая средним уровнем разъедающей активности, например навеска 110 ± 15 мг натрия гидроксида (подкласс опасности 1В по разъедающему действию согласно СГС ООН) [7], должна испытываться параллельно с исследуемой химической продукцией для того, чтобы убедиться в соответствии рабочих характеристик испытательной системы. Вторая положительная контрольная проба, которая является представителем того же класса химических веществ, что и исследуемая химическая продукция, может быть полезна для оценки относительной повреждающей способности данной продукции с разъедающим действием. В качестве положительной(ых) контрольной(ых) пробы (проб) желательно выбирать вещества со средним уровнем разъедающего действия (например, подкласса 1В согласно СГС ООН), чтобы иметь возможность отслеживать расхождение во времени проникновения разъедающей продукции сквозь барьер, которое может оказаться неприемлемо долгим или коротким по сравнению с установленным номинальным значением, указывая тем самым на ненадлежащее функционирование испытательной системы. Использование для этих целей чрезвычайно разъедающих веществ (подкласс 1А согласно СГС ООН) или веществ, не обладающих разъедающим действием, ограничено. Химическая продукция с разъедающим действием, соответствующая подклассу 1В согласно СГС ООН, напротив, позволяет определять как слишком короткое, так и слишком долгое время проникновения. В свою очередь, продукция со слабым разъедающим действием (подкласс 1С согласно СГС ООН) может использоваться в качестве положительной контрольной пробы для определения способности метода на сопоставимой основе дифференцировать продукцию со слабым разъедающим действием от продукции, не обладающей разъедающим действием. Независимо от выбранного подхода должен быть определен диапазон допустимых значений отклика для положительной контрольной пробы на основании полученных ранее данных времени проникновения контрольной пробы (проб) через мембранный барьер, например: среднее значение ± удвоенное-утроенное значение стандартного отклонения. При проведении каждого исследования должно точно определяться время проникновения контрольной пробы через барьер для того, чтобы выявить отклонения от диапазона приемлемых значений.

11.4.4 Отрицательная (не обладающая разъедающим действием) контрольная проба, например 10 %-ный раствор лимонной кислоты или 6 %-ный раствор пропионовой кислоты [7], также должна ис-

пытываться параллельно с исследуемой химической продукцией как еще один показатель контроля качества для подтверждения функциональной целостности мембранного барьера.

**11.5 Критерии приемлемости при проведении испытаний**

В соответствии с установленными временными параметрами для каждого из подклассов опасности согласно СГС ООН промежуток времени (в минутах) между нанесением исследуемой химической продукции на мембранный барьер и ее проникновением через этот барьер используется для прогнозирования разъедающего действия данной продукции. Результаты исследований рассматривают как достоверные при условии, что параллельно испытываемая положительная контрольная проба обеспечивает получение отклика в виде ожидаемого времени ее проникновения через мембранный барьер (например, время проникновения натрия гидроксида при использовании его в качестве положительной контрольной пробы должно составлять 8—16 мин), параллельно испытываемая отрицательная контрольная проба не вызывает признаков повреждения, а параллельно испытываемая контрольная проба растворителя (если он используется) не только сама по себе не вызывает признаков повреждения, но и не оказывает влияния на разъедающую способность исследуемой химической продукции. До того как приступить к регулярному применению метода настоящего стандарта лаборатории должны подтвердить свою техническую компетентность путем выполнения исследований двенадцати веществ, рекомендованных в таблице 2. В отношении новых методов, которые разрабатываются по аналогии с приведенным в настоящем стандарте методом, структурно и функционально близких к испытаниям ВРМ [14], должны действовать ранее установленные СЭ, предназначенные для подтверждения надежности и точности любого нового метода до начала его применения в сфере государственного регулирования [10].

**11.6 Интерпретация результатов и классификация исследуемой химической продукции по разъедающему действию**

Промежуток времени (в минутах) между нанесением исследуемой химической продукции на мембранный барьер и ее проникновением через этот барьер используется для классификации данной исследуемой химической продукции по разъедающему действию на кожу с разделением ее на подклассы опасности согласно СГС ООН [1], а также, при необходимости, для отнесения к группам упаковки согласно требованиям ООН [16]. Пороговые значения времени для каждого из трех подклассов опасности по разъедающему действию установлены применительно к предлагаемому методу испытаний. Окончательное решение об использовании тех или иных пороговых значений должны приниматься с учетом необходимости свести к минимуму вероятность заниженной оценки повреждающей опасности (т.е. получения ложноотрицательных результатов). В случае применения метода настоящего стандарта должны использоваться пороговые значения времени, установленные для метода Corrositex® согласно таблице 3, поскольку на сегодняшний день это единственный метод подобного рода [7].

Таблица 3 — Модель прогнозирования для Corrositex®

| Среднее арифметическое значение времени проникновения через барьер, мин | | Предполагаемый подкласс опасности согласно СГС ООН [3] |
|---|---|---|
| Исследуемая химическая продукция класса опасности 1 [1] (определение экспериментальным путем для целей классификации предусмотренным методом) | Исследуемая химическая продукция класса опасности 2 [2] (определение экспериментальным путем для целей классификации предусмотренным методом) | |
| 0—3 мин | 0—3 мин | Обладает разъедающим действием, подкласс опасности 1А |
| >3 до 60 мин | >3 до 30 мин | Обладает разъедающим действием, подкласс опасности 1В |
| >60 до 240 мин | >30 до 60 мин | Обладает разъедающим действием, подкласс опасности 1С |
| >240 мин | >60 мин | Не обладает разъедающим действием |

[1] Исследуемая химическая продукция с высокой резервной кислотностью/щелочностью [6].
[2] Исследуемая химическая продукция с низкой резервной кислотностью/щелочностью [6].
[3] Подклассы опасности 1А, 1В и 1С согласно СГС ООН соответствуют группам I, II и III по классификации ООН соответственно.

## 12 Данные и отчеты об испытаниях

**Данные**

В табличной форме представляют как отдельные результаты параллельных определений времени (в минутах) от нанесения исследуемой химической продукции, положительной контрольной пробы на мембранный барьер до их проникновения через этот барьер, так и средние арифметические значения ± стандартное отклонение для каждой серии испытаний.

## 13 Отчет об испытаниях

Отчет об испытаниях должен включать в себя следующую информацию.

Исследуемая химическая продукция и контрольные вещества:

- однокомпонентное вещество: химическое наименование, а именно по IUPAC или CAS, номер CAS, код SMILES или InChI, структурная формула, степень чистоты, химическое наименование примесей, в случае возможности и практической целесообразности, и т. п.;
- многокомпонентное вещество, вещества неопределенного или переменного состава (UVCB) или смесь веществ: как можно более полное химическое описание (см. выше), количественное содержание и соответствующие физико-химические характеристики составляющих компонентов;
- наблюдаемые физические свойства, растворимость в воде, а также другие значимые физико-химические характеристики;
- происхождение, номер серии (при наличии сведений);
- способ обработки исследуемой химической продукции/контрольного вещества перед началом испытаний, если такая обработка проводилась (например, подогрев, измельчение);
- стабильность исследуемой химической продукции, предельные сроки использования или сроки проведения повторного анализа, если они известны;
- условия хранения.

Вещество-носитель:

- наименование, концентрация (при необходимости), использованный объем;
- обоснование выбора вещества-носителя.

Использованные модель мембранного барьера и протокол выполнения исследований *in vitro*, включая сведения о подтвержденных точности и надежности

Условия испытаний:

- описание использованных оборудования и подготовительных операций;
- происхождение и состав мембранного барьера для испытаний *in vitro*;
- состав и характеристики индикаторного раствора;
- метод обнаружения;
- использованные количества исследуемой химической продукции и контрольных проб;
- количество параллельных определений;
- описание и обоснование проведенного тестирования для определения продолжительности воздействия;
- способ нанесения исследуемой химической продукции;
- время наблюдений;
- описание примененных критериев оценки и классификации;
- сведения о подтверждении квалификации перед началом регулярного применения данного метода испытаний путем проведения испытаний специально отобранных для этого химических веществ.

Результаты:

- таблица индивидуальных необработанных данных для отдельно взятых исследуемой химической продукции и контрольных проб для каждого параллельного определения;
- описание других явлений, наблюдавшихся в ходе испытаний;
- результаты классификации со ссылкой на применявшуюся модель построения прогнозов/критерии принятия решений.

Анализ результатов

Выводы

## Приложение ДА
## (справочное)

### Сравнение структуры настоящего стандарта со структурой примененного в нем международного документа

Таблица ДА.1

| Структура настоящего стандарта | | | Структура международного документа OECD 435:2015 | |
|---|---|---|---|---|
| Разделы | Подразделы | Перечисления | Разделы | Перечисления |
| Введение | | | 1, 2, 3 | — |
| 1 | — | — | 4 | — |
| | — | — | 5 | — |
| 2 | 2.1 | — | Приложение 1 | — |
| | 2.2 | — | Приложение 1 | — |
| | 2.3 | — | Приложение 1 | — |
| | 2.4 | — | Приложение 1 | — |
| | 2.5 | — | Приложение 1 | — |
| | 2.6 | — | Приложение 1 | — |
| | 2.7 | — | Приложение 1 | — |
| | 2.8 | — | Приложение 1 | — |
| | 2.9 | — | Приложение 1 | — |
| | 2.10 | — | Приложение 1 | — |
| | 2.11 | — | Приложение 1 | — |
| | 2.12 | — | Приложение 1 | — |
| | 2.13 | — | Приложение 1 | — |
| | 2.14 | — | Приложение 1 | — |
| | 2.15 | — | Приложение 1 | — |
| | 2.16 | — | Приложение 1 | — |
| | 2.17 | — | Приложение 1 | — |
| | 2.18 | — | Приложение 1 | — |
| | 2.19 | — | Приложение 1 | — |
| 3 | 3.1 | — | 6 | — |
| | 3.2 | — | 7 | — |
| 4 | 4.1 | — | 8 | — |
| | 4.2 | — | 9 | — |
| | 4.3 | — | 10 | — |
| 5 | — | — | 11 | — |
| 6 | — | — | 12 | — |
| 7 | — | — | 13 | — |
| 8 | — | — | 14 | — |
| 9 | 9.1.1 | — | 15 | — |
| | 9.1.2 | - | 16 | — |
| | 9.1.3 | — | 17 | — |
| 10 | 10.1 | — | 18 | — |
| | 10.2 | — | 19 | — |
| 11 | 11.1 | — | 20 | — |
| | 11.2 | — | 21 | — |
| | 11.3 | — | 22 | — |
| | 11.4.1 | — | 23 | — |
| | 11.4.2 | — | 24 | — |
| | 11.4.3 | — | 25 | — |

*Окончание таблицы ДА.1*

| Структура настоящего стандарта | | | Структура международного документа OECD 435:2015 | |
|---|---|---|---|---|
| Разделы | Подразделы | Перечисления | Разделы | Перечисления |
| | 11.4.4 | — | 26 | — |
| | 11.5 | — | 27 | — |
| | 11.6 | — | 28 | — |
| 12 | — | — | 29 | — |
| 13 | — | — | 30 | — |
| Библиография | | | Литература | |

## Библиография


[1] United Nations (UN). (2013). Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS), First Revised Edition, UN New York and Geneva, 2013. Available at: [gost.e-ecolog.ru rev05/05files e.html] (Согласованная на глобальном уровне система классификации и маркировки химической продукции (СГС). Первое пересмотренное издание)

[2] OECD. (2015).Guideline for Testing of Chemicals. (No. 404.): Acute Dermal Irritation, Corrosion. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris (Руководство по проведению испытаний химической продукции. (№ 404). Острое раздражение, разъедание кожи. Организация экономического сотрудничества и развития, Париж)

[3] OECD. (2015). Guideline for the Testing of Chemicals (No. 431.): *In Vitro* Skin Model. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris (Руководство по проведению испытаний химической продукции. (№ 431). Модель кожи *in vitro*. Организация экономического сотрудничества и развития, Париж)

[4] OECD. (2015). Guideline for the Testing of Chemicals (No. 430.): *In Vitro* Skin Corrosion: Transcutaneous Electrical Resistance (TER). Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris (Руководство по проведению испытаний химической продукции. (№ 430). Разъедание кожи *in vitro*. Чрескожное электрическое сопротивление (TER) Организация экономического сотрудничества и развития, Париж)

[5] Guidance Document on Integrated Approaches to Testing and Assessment of Skin Irritation/Corrosion. Environment, Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment, (No. 203.). Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris (Руководящий документ по интегрированным подходам к испытаниям и оценке раздражения/разъедания кожи. Публикации по охране труда, окружающей среды и технике безопасности. Серия по испытаниям и оценке (№ 203) Организация экономического сотрудничества и развития, Париж)

[6] Fentem, J.H., Archer, G.E.B., Balls, M., Botham, P.A., Curren, R.D., Earl, L.K., Esdaile, D.J., Holzhutter, H.-G. and Liebsch, M. (1998). The ECVAM International Validation Study on In Vitro Tests for Skin Corrosivity. 2. Results and Evaluation by the Management Team. Toxicology *In Vitro* 12, 483524 (Международное исследование ECVAM по вопросам валидации методов испытаний на разъедание кожи *in vitro*. 2. Результаты и оценка руководящей группы)

[7] ICCVAM. (1999). Corrositex®. An *In Vitro* Test Method for Assessing Dermal Corrosivity Potential of Chemicals. The Results of an Independent Peer Review Evaluation Coordinated by ICCVAM, NTP and NICEATM. NIEHS, NIH Publication (No. 99-4495.) (Corrositex®. Метод испытаний *in vitro* для оценки способности химической продукции вызывать разъедание кожных покровов. Результаты независимой внешней оценки при координации со стороны ICCVAM, NTP и NICEATM)

[8] Gordon V.C., Harvell J.D. and Maibach H.I. (1994). Dermal Corrosion, the Corrositex® System: A DOT Accepted Method to Predict Corrosivity Potential of Test Materials. *In vitro* Skin Toxicology- Irritation, Phototoxicity, Sensitization. Alternative Methods in Toxicology 10, 37-45 (Разъедание кожи. Система Corrositex®. Принятый Министерством транспорта США метод прогнозирования повреждающего потенциала испытуемых материалов. Кожная токсикология *in vitro*. Раздражение, фототоксичность, сенсибилизация)

[9] OECD. (2005). Guidance Document on the Validation and International Acceptance of New or Updated Test Methods for Hazard Assessment. Environmental, Health and Safety Publications. Series on testing and Assessment (No. 34.) (Руководящий документ по валидации и международному признанию новых или актуализированных методов испытаний для оценки опасностей. Публикации по охране труда, окружающей среды и технике безопасности. Серия по испытаниям и оценке (№ 34))

[10] Performance Standards for the Assessment of Proposed Similar or Modified *In Vitro* Membrane Barrier Test Method for Skin Corrosion in Relation to TG 435. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris (Стандарты эффективности для оценки предлагаемых аналогичных или модифицированных методов испытаний на разъедание кожи *in vitro* с применением мембранного барьера согласно TG 435). Организация экономического сотрудничества и развития, Париж

[11] ECVAM. (2001). Statement on the Application of the CORROSITEX® Assay for Skin Corrosivity Testing. 15th Meeting of ECVAM Scientific Advisory Committee (ESAC), Ispra, Italy. ATLA 29, 96-97 (Заключение о пригодности метода CORROSITEX® для проведения испытаний на разъедание кожи)

[12] U.S. DOT. (2002). Exemption DOT-E-10904 (Fifth Revision). (September 20, 2002). Washington, D.C., U.S. DOT. Available at: [gost.e-ecolog.ru ] (Разрешение DOT-E-10904. (пятая редакция))

[13] OECD. (2015). OECD Guideline for the Testing of Chemicals (No. 439). In Vitro Skin Irritation: Reconstructed Human Epidermis Test Method. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris (Руководство по проведению испытаний химической продукции (No. 439). Раздражение кожи *in vitro*. Метод испытаний на реконструированном человеческом эпидермисе) Организация экономического сотрудничества и развития, Париж

[14] ICCVAM. (2004). ICCVAM Recommended Performance Standards for *In Vitro* Test Methods for Skin Corrosion. NIEHS, NIH Publication No. 04-4510. Available at: [gost.e-ecolog.ru ı.gov/iccvam/docs/dermal_docs/ps/ps044510.pdf] (Рекомендованные стандарты эффективности для методов испытаний на разъедание кожи *in vitro*)

[15] U.S. EPA. (1996). Method 1120, Dermal Corrosion. Available at: [http://www.epa.gov/osw/hazard/testmethods/sw846/pdfs/1120.pdf] (Метод 1120. Разъедание кожи)

[16] United Nations (UN). (2013). UN Recommendations on the Transport of Dangerous Goods, Model Regulations, 18th Revised Edition (Part, Chapter 2.8), UN, 2013. Available at: [gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru ıglish/Rev18 Volume1 Part2.pdf] (Рекомендация ООН по транспортировке опасных материалов. Модельный регламент. 18-е пересмотренное издание)

УДК 613.63.086.4:611.771(083.74)(476) МКС 71.040.10; 13.020.01 MOD

Ключевые слова: химическая продукция, воздействие на организм человека, разъедание кожи *in vitro*, метод мембранного барьера

Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *М.И. Першина*
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Сдано в набор 19.05.2021. Подписано в печать 27.05.2021. Формат 60×84⅛ Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,32. Уч.-изд. л. 2,10.

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

gost.e-ecolog.ru