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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

**ГОСТ 34722— 2021**

# МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ ПО ВОЗДЕЙСТВИЮ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА

## Метод исследований помутнения и проницаемости роговицы крупного рогатого скота для определения химической продукции, вызывающей серьезное повреждение глаз, и химической продукции, не требующей классификации опасности как вызывающей раздражение или серьезное повреждение глаз

**(OECD 437:2020, Guidelines for the testing of chemicals. Bovine Corneal Opacity and Permeability Test Method for Identifying i) Chemicals Inducing Serious Eye Damage and ii) Chemicals Not Requiring Classification for Eye Irritation or Serious Eye Damage, MOD)**

**Издание официальное**

**Москва**
**Российский институт стандартизации**
**2023**

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 апреля 2021 г. № 139-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 |
|---|---|---|
| Беларусь | BY | Госстандарт Республики Беларусь |
| Киргизия | KG | Кыргызстандарт |
| Россия | RU | Росстандарт |
| Таджикистан | TJ | Таджикстандарт |
| Узбекистан | UZ | Узстандарт |

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 16 ноября 2023 г. № 1406-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 34722—2021 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 мая 2024 г.

5 Настоящий стандарт является модифицированным по отношению к международному документу OECD 437:2020 «Руководство по тестированию химической продукции. Метод исследований помутнения и проницаемости роговицы крупного рогатого скота для определения: 1) химической продукции, вызывающей серьезное повреждение глаз, и 2) химической продукции, не требующей классификации как вызывающей раздражение или серьезное повреждение глаз» («Guidelines for the testing of chemicals. Bovine Corneal Opacity and Permeability Test Method for Identifying i) Chemicals Inducing Serious Eye Damage and ii) Chemicals Not Requiring Classification for Eye Irritation or Serious Eye Damage», MOD) путем 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 примененного международного документа приведено в дополнительном приложении ДА.

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

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

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»*

© Оформление. ФГБУ «Институт стандартизации», 2023



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 Исходные положения . . . . . 4
4 Сущность метода испытаний . . . . . 7
5 Методика испытаний . . . . . 9
6 Данные и отчеты об испытаниях . . . . . 12
Приложение А (справочное) Достоверность прогнозирования при применении метода ВСОР . . . . . 16
Приложение В (справочное) Рекомендуемая химическая продукция для проверки квалификации при применении метода ВСОР . . . . . 17
Приложение С (справочное) Держатель роговицы, используемый в методе ВСОР . . . . . 19
Приложение D (справочное) Денситометр . . . . . 21
Приложение ДА (справочное) Сопоставление структуры настоящего стандарта со структурой примененного международного документа . . . . . 23
Библиография . . . . . 25

## Введение

Метод исследования помутнения и проницаемости роговицы крупного рогатого скота (Bovine Corneal Opacity and Permeability — BCOP OP-KIT) прошел процедуру оценки Межведомственным координационным комитетом по валидации альтернативных методов (Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods — ICCVAM) при участии Европейского центра по валидации альтернативных методов (European Centre for the Validation of Alternative Methods — ECVAM) и Японского центра по валидации альтернативных методов (Japanese Center for the Validation of Alternative Methods — JaCVAM) дважды, в 2006 и 2010 гг. [1], [2]. В первом случае проводилось оценивание эффективности применения метода BCOP для определения химической продукции (веществ и смесей), способной вызывать серьезные повреждения глаз. Во втором случае проводилась оценка эффективности его применения для определения химической продукции (веществ и смесей), не классифицируемой как способной вызывать раздражение или серьезные повреждения глаз. В общей сложности базовый перечень химической продукции, применявшейся для валидации метода, насчитывал 113 наименований химических веществ и 100 смесей [2], [3]. На основании полученных данных и результатов их внешнего экспертного анализа было сделано заключение о том, что предлагаемый метод BCOP OP-KIT позволяет достоверно определять химическую продукцию (вещества и смеси), вызывающую серьезные повреждения глаз, а также химическую продукцию, не требующую классификации как вызывающую раздражение или серьезное повреждение глаз, в соответствии с требованиями Согласованной на глобальном уровне системы классификации и маркировки химической продукции (СГС) Организации Объединенных Наций (ООН) [4], а следовательно, его применение должно быть признано обоснованным с научной точки зрения в двух указанных случаях. Под серьезным повреждением глаз понимается развитие повреждений глазных тканей либо обусловленное физическими причинами существенное ухудшение зрения после воздействия на поверхность глаза исследуемой химической продукцией, которые не могут быть полностью обратимы по истечении 21 дня с момента такого воздействия. Исследуемую химическую продукцию, способную вызывать серьезные повреждения глаз, в соответствии с классификацией СГС ООН необходимо относить к классу опасности 1. Химическая продукция, которая не была классифицирована как способная вызывать раздражение или серьезное повреждение глаз, рассматривается как не отвечающая условиям для отнесения ее к классу опасности 1 или 2 (подкласс опасности 2A или 2B) согласно СГС ООН, т. е. продукция, для которой класс опасности согласно СГС ООН отсутствует. Документ OECD 437 (впервые принят в 2009 г. и актуализирован в 2013 г.) включает в себя рекомендации по надлежащему применению метода BCOP и ограничения по его применению, основанные на результатах двух этапов проведенной оценки. Основные различия между первой редакцией OECD 437, принятой в 2009 г., и его актуализированной редакцией, вышедшей в 2013 г., касаются: порядка использования метода BCOP для определения химической продукции, для которой не требуется классификация согласно СГС ООН (введение (абзац 2) и пункт 3.3); пояснений в отношении применимости метода BCOP для испытаний спиртов, кетонов и твердой продукции (см. 3.2 и 3.3), а также чистых веществ и их смесей (см. 3.4); пояснений порядка проведения испытаний поверхностно-активных веществ (сурфактантов) или смесей, содержащих такие вещества (см. 5.2.2); уточнений и пояснений по использованию положительных контрольных проб (см. 5.4.4 и 5.4.5); уточнения критериев принятия решений в ходе применения метода BCOP (см. 6.1.3); уточнения критериев приемлемости результатов исследования (см. 6.2); уточнений в части содержания отчета об испытаниях (см. 6.3); уточнения раздела 2 (определений используемых терминов); дополнения приложения A положениями, касающимися достоверности прогнозирования в рамках применения метода BCOP для различных систем классификации; уточнения приложения B в части перечня химической продукции, используемой для проверки квалификации; уточнения приложения C по использованию держателя роговицы при применении метода BCOP (см. раздел C.1), а также приложения D (см. D.1 и D.2) по использованию денситометра. В 2020 г. в OECD 437 были внесены изменения, предусматривающие возможность использования в рамках метода BCOP лазерных денситометров (laserlight-based opacitometer — LLBO), которые, как было установлено, обладают рабочими характеристиками, сопоставимыми с характеристикам денситометров OP-KIT, ранее использовавшимися при валидации метода (см. 3.2, 3.3, 5.5.1, 6.1.1, 6.2, приложения A и D). В 2020 г. был также обновлен перечень рекомендуемых химических веществ для проверки квалификации в приложении B.

Общепризнанно, что в обозримом будущем не следует ожидать появления одного-единственного метода *in vitro* для определения раздражающего действия на глаза, который смог бы заменить метод *in vivo* Дрейза [5] для прогнозирования всего диапазона раздражения для химической продук-

ции различных классов. Тем не менее выверенное сочетание нескольких альтернативных методов исследований, реализуемых в рамках единой (многоуровневой) стратегии исследования, вполне может оказаться способным заменить собой вышеупомянутый тест Дрейза [6]. Предполагается, что применение нисходящего подхода [6] уместно для случаев, когда исходя из уже имеющейся информации исследуемая химическая продукция предположительно должна обладать высокой раздражающей способностью, в то время как к восходящему подходу [6] следует прибегать в ситуациях, когда способность этой химической продукции вызывать раздражение глаз, по всей вероятности, в недостаточной степени выражена для присвоения ей конкретного класса опасности. Метод BCOP предназначен для проведения испытаний *in vitro* и может при соблюдении ряда условий и ограничений успешно применяться для классификации химической продукции по степени опасности и нанесения на нее соответствующей маркировки. Несмотря на то что данный метод не следует рассматривать в качестве полноценной альтернативы тестам *in vivo*, предусматривающим проведение испытаний на глазу кролика, его целесообразно применять на ранних этапах реализации общей стратегии исследования, таких как испытания, проводимые в соответствии с нисходящим подходом, предложенным Scott *et al*. [6], для определения химической продукции, вызывающей серьезные повреждения глаз, т. е. продукции, относящейся к классу опасности 1 согласно СГС ООН, без необходимости проведения дальнейших исследований [4]. Метод BCOP также рекомендуется применять на ранних этапах реализации общей исследовательской стратегии в соответствии с восходящим подходом [6] для определения химической продукции, которая не требует классификации как вызывающая раздражение или серьезное повреждение глаз в соответствии с требованиями СГС ООН (класс опасности согласно СГС ООН отсутствует) [4]. Тем не менее, если при исследовании химической продукции с применением метода BCOP не удается достоверно спрогнозировать ее принадлежность к химической продукции, способной вызывать серьезные повреждения глаз, либо к химической продукции, не классифицируемой как способной вызывать раздражение или серьезные повреждения глаз, то эта химическая продукция должна быть подвергнута дополнительным испытаниям (*in vitro* и/или *in vivo*) в целях ее однозначной классификации. Выбор наиболее подходящего метода исследований, а также реализация положений настоящего стандарта должны осуществляться с учетом требований Руководящего документа по интегрированным подходам к исследованиям и оценке серьезного повреждения глаз и раздражения глаз [20].

**Поправка к ГОСТ 34722—2021 Методы испытаний по воздействию химической продукции на организм человека. Метод исследований помутнения и проницаемости роговицы крупного рогатого скота для определения химической продукции, вызывающей серьезное повреждение глаз, и химической продукции, не требующей классификации опасности как вызывающей раздражение или серьезное повреждение глаз**

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

(ИУС № 6 2024 г.)

**Поправка к ГОСТ 34722—2021 Методы испытаний по воздействию химической продукции на организм человека. Метод исследований помутнения и проницаемости роговицы крупного рогатого скота для определения химической продукции, вызывающей серьезное повреждение глаз, и химической продукции, не требующей классификации опасности как вызывающей раздражение или серьезное повреждение глаз**

| В каком месте | Напечатано | Должно быть | | |
|---|---|---|---|---|
| Предисловие. Таблица согласования | — | Армения | AM | ЗАО «Национальный орган по стандартизации и метрологии» Республики Армения |

(ИУС № 7 2024 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 ИСПЫТАНИЙ ПО ВОЗДЕЙСТВИЮ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА

## Метод исследований помутнения и проницаемости роговицы крупного рогатого скота для определения химической продукции, вызывающей серьезное повреждение глаз, и химической продукции, не требующей классификации опасности как вызывающей раздражение или серьезное повреждение глаз

Methods for studying the effects of chemicals on the human body.
Bovine corneal opacity and permeability test method for identifying chemicals inducing serious eye damage and chemicals not requiring hazard classification for eye irritation or serious eye damage

**Дата введения — 2024—05—01**

## 1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на проведение испытаний по оценке потенциальной опасности для глаз исследуемой химической продукции, которая определяется по ее способности вызывать помутнение и повышать проницаемость роговицы извлеченных глаз крупного рогатого скота. Токсическое воздействие на роговицу, таким образом, определяется по: (1) снижению светопропускания (непрозрачности) и (2) увеличению количества проходящего через ее толщу красителя — флуоресцеина натрия (проницаемости). Оценки характеристик непрозрачности и проницаемости роговицы после воздействия на нее исследуемой химической продукцией объединяются, формируя значение показателя раздражающей способности *in vitro* (*In Vitro* Irritancy Score — IVIS) или показателя раздражающей способности при использовании LLBO (LLBO Irritancy Score — LIS), которое используется для классификации химической продукции в зависимости от уровня раздражающего воздействия.

## 2 Термины, определения и сокращения

2.1 **валидированный метод испытаний** (validated test method): Метод испытаний, для которого завершены валидационные исследования с целью определения его релевантности (включая точность) и надежности для конкретной цели. Важно отметить, что валидированный метод не обязательно обеспечивает достаточную результативность с точки зрения его точности и надежности для признания его пригодным для конкретной цели.

2.2 **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 [4].

2.3 **восходящий подход** (Bottom-Up Approach): Поэтапный подход, применяемый при исследовании химической продукции, предположительно не требующей классификации как вызывающей раздражение или серьезное повреждение глаз, при котором в первую очередь определяется химическая продукция, не требующая классификации (отрицательный отклик), для выделения ее из числа прочей химической продукции (положительный отклик).

2.4 **денситометр** (opacitometer): Прибор, используемый для измерений непрозрачности роговицы путем получения количественной оценки пропускания света роговицей. Денситометр OP-KIT, исполь-

**Издание официальное**

зованный в процессе валидации метода BCOP, имеет два отделения, каждое из которых оборудовано своим источником света и имеет свой светочувствительный элемент. Одно отделение предназначено для измерений обработанных образцов роговицы, в то время как другое служит для калибровки прибора и установки его на ноль. Интенсивность света галогеновой лампы, который проходит через контрольное отделение (пустую ячейку, не имеющую окошек и не содержащую жидкости) и попадает на светочувствительный элемент, сравнивается с интенсивностью света, который проходит через второе (измерительное) отделение, представляющее собой ячейку, содержащую образец роговицы, и попадает на другой светочувствительный элемент.

Разница в светопропускании, улавливаемая светочувствительными элементами, оценивается как числовое значение непрозрачности, которое выводится на цифровое показывающее устройство. Данная конструкция денситометра обеспечивает получение средневзвешенного значения светопропускания путем измерения перепада напряжения, возникающего при изменении количества белого света, проходящего через роговицу. Другим примером доступного оборудования является лазерный оптический денситометр LLBO, роль источника света в котором выполняет гелий-неоновый (HeNe) зеленый лазер (класс IIa/3R) [12], [21], [23]. Преимущество использования LLBO заключается в возможности оценивать светопропускание всей площади роговицы, что в свою очередь позволяет более эффективно обнаруживать пятна помутнения, расположенные по периферии роговицы. Различная реализация принципа измерения приводит к расхождению показаний, получаемых при помощи приборов двух типов, а следовательно, несовпадению соответствующих пороговых значений, служащих для разделения химической продукции по степени ее раздражающей способности. Тем не менее такие приборы являются полностью взаимозаменяемыми без какого-либо ущерба для качества и достоверности данных.

2.5 **доля ложноположительных заключений** (false positive rate): Доля всей химической продукции, дающей отрицательный отклик, которая ошибочно идентифицирована как дающая положительный отклик. Это один из показателей результативности метода.

2.6 **доля ложноотрицательных заключений** (false negative rate): Доля всей химической продукции, дающей положительный отклик, которая ошибочно была идентифицирована как дающая отрицательный отклик. Это один из показателей результативности метода.

2.7 **исследуемая химическая продукция** (test chemical): Химическая продукция (вещества или смеси), которая подвергается испытаниям.

2.8 **класс опасности 1 согласно СГС ООН** (UN GHS Category 1): См. термин «серьезные повреждения глаз».

2.9 **класс опасности 2 согласно СГС ООН** (UN GHS Category 2): См. термин «раздражение глаз».

2.10 **класс опасности согласно СГС ООН отсутствует** (UN GHS No Category): Химическая продукция, не удовлетворяющая критериям классификации для химической продукции класса опасности 1 или 2 (подклассы опасности 2А или 2В) согласно СГС ООН. Синоним термина «не требует классификации».

2.11 **контрольная проба растворителя/вещества-носителя** (solvent/vehicle control): Ничем не обработанная проба, включающая в себя все составляющие испытательной системы, содержащая растворитель или вещество-носитель и используемая наряду с пробами, содержащими исследуемое вещество, и другими контрольными пробами для определения базового отклика для образцов, обработанных исследуемым веществом, разведенным в том же растворителе или веществе-носителе. При параллельном использовании с отрицательной контрольной пробой также позволяет выяснить, взаимодействует ли растворитель или вещество-носитель с испытательной системой.

2.12 **многоуровневая стратегия исследования** (tiered testing strategy): Стратегия, предусматривающая поэтапное проведение исследования, при котором вся существующая информация об исследуемой химической продукции анализируется в определенном порядке, с рассмотрением на каждом уровне совокупности имеющихся свидетельств с целью определения достаточности доступной информации для принятия решения о классификации по степени опасности перед переходом на следующий уровень. Если способность исследуемой химической продукции вызывать раздражение может быть подтверждена на основе существующей информации, дальнейшее исследование не требуется. Если способность химической продукции вызывать раздражение не может быть подтверждена на основе существующей информации, исследование продолжается в виде поэтапно выполняемой серии испытаний на животных до тех пор, пока исследуемая химическая продукция не будет однозначно классифицирована.

2.13 **необратимые последствия для глаз** (irreversible effects on the eye): См. «серьезные повреждения глаз».

2.14 **надежность** (reliability): Показатель того, что метод испытаний может быть реализован с получением воспроизводимых результатов в рамках одной или различных лабораторий в течение продолжительного времени при применении одного и того же протокола. Он оценивается путем вычисления внутри- и межлабораторной воспроизводимости и внутрилабораторной повторяемости.

2.15 **не требует классификации** (not classified): Химическая продукция, которая не подлежит классификации как вызывающая раздражение (класс опасности 2, подклассы опасности 2А или 2В согласно СГС ООН) или серьезное повреждение глаз (класс опасности 1 согласно СГС ООН). Синоним термина «Класс опасности согласно СГС ООН отсутствует».

2.16 **непрозрачность роговицы** (corneal opacity): Поддающаяся измерению степень помутнения роговицы после воздействия на нее исследуемой химической продукцией. Повышение непрозрачности роговицы служит убедительным признаком ее повреждения. Непрозрачность может оцениваться либо субъективно, как при проведении теста Дрейза на глазу кролика, либо объективно при использовании соответствующего прибора — денситометра.

2.17 **нисходящий подход** (top-down approach): Поэтапный подход, применяемый для исследования химической продукции, предположительно вызывающей серьезное повреждение глаз, при котором в первую очередь определяется химическая продукция, способная быть причиной серьезного повреждения глаз (положительный отклик), для выделения ее из числа прочей химической продукции (отрицательный отклик).

2.18 **обратимые последствия для глаз** (reversible effects on the eye): См. термин «раздражение глаз».

2.19 **опасность** (hazard): Изначально присутствующее свойство химической продукции или ситуации, заключающееся в их потенциальной способности вызывать деструктивные последствия в случаях, когда организм, система или субпопуляция подвергаются их воздействию.

2.20 **отрицательная контрольная проба** (negative control): Ничем не обработанная используемая параллельно проба, включающая в себя все составляющие испытательной системы. Используется наряду с пробами, обработанными исследуемой химической продукцией и другими контрольными пробами, для выяснения, взаимодействует ли используемый растворитель с испытательной системой.

2.21 **оценивание по совокупности имеющихся свидетельств** (weight-of-evidence): Процесс рассмотрения преимуществ и недостатков различной имеющейся информации при подготовке и обосновании заключения о потенциальной опасности исследуемой химической продукции.

2.22 **показатель раздражающей способности in vitro; IVIS** (*in vitro* Irritancy Score; IVIS): Значение показателя *in vitro*, применяемого в методе BCOP, вычисленное при использовании формулы, полученной экспериментальным путем, согласно которой суммируются среднее значение непрозрачности, измеренное при помощи OP-KIT, и среднее значение проницаемости для каждой обработанной группы образцов. IVIS = среднее значение непрозрачности (считываемое показание OP-KIT) + (15 × среднее значение проницаемости).

2.23 **показатель раздражающей способности при использовании LLBO; LIS** (LLBO Irritancy Score; LIS): Значение показателя *in vitro*, применяемого в методе BCOP, вычисленное при использовании формулы, полученной экспериментальным путем, согласно которой суммируются среднее значение непрозрачности, измеренное при помощи LLBO, и среднее значение проницаемости для каждой обработанной группы образцов. LIS = среднее значение непрозрачности (считываемое показание LLBO в люкс/7) + (15 × среднее значение проницаемости).

2.24 **положительная контрольная проба** (positive control): Используемая параллельно проба, содержащая все компоненты испытательной системы и обрабатываемая с использованием вещества, заведомо дающего положительный отклик. Чтобы обеспечить возможность учитывать изменчивость во времени отклика, получаемого для данной пробы, этот положительный отклик не должен быть слишком завышенным.

2.25 **проницаемость роговицы** (corneal permeability): Количественно измеряемое повреждение эпителия роговицы посредством определения количества флуоресцеина натрия, прошедшего через все клеточные слои роговицы.

2.26 **раздражение глаз** (eye irritation): Изменения, наступающие в глазах после воздействия на их поверхность исследуемой химической продукцией, которые могут быть полностью обратимы по истечении 21 дня с момента такого воздействия. Синонимы термина: «обратимые последствия для глаз» или «класс опасности 2 согласно СГС ООН» [4].

2.27 **роговица** (cornea): Прозрачная часть передней оболочки глазного яблока, закрывающая радужную оболочку и зрачок и пропускающая лучи света внутрь глаза.

2.28 **Согласованная на глобальном уровне система классификации и маркировки химической продукции (ООН); СГС** (Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (UN); GHS): 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 предпринимателей, работников, перевозчиков, потребителей и представителей аварийных служб) и окружающей среды [4].

2.29 **серьезные повреждения глаз** (serious eye damage): Развитие повреждений глазных тканей либо обусловленное физическими причинами существенное ухудшение зрения после воздействия на поверхность глаза испытуемой химической продукцией, которые не являются полностью обратимыми по истечении 21 дня с момента такого воздействия. Синонимы термина: «необратимые последствия для глаз» или «класс опасности 1 согласно СГС ООН» [4].

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

2.31 **смесь, содержащая сурфактант** (surfactant-containing mixture): В контексте настоящего стандарта — смесь, содержащая один или более сурфактантов в конечной концентрации >5 %.

2.32 **сурфактант** (surfactant): Известен также как поверхностно-активное вещество, представляет собой вещество, например, моющее средство, способное уменьшать поверхностное натяжение жидкости, позволяя ей пениться или проникать в твердые частицы; также может называться смачивающим агентом.

2.33 **точность** (accuracy): Близость результата испытаний, полученного с применением соответствующего метода испытаний, к принятому эталонному значению величины. Точность является показателем результативности 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.

2.34 **эталонная химическая продукция** (benchmark chemical): Химическая продукция, используемая как эталон для сравнения с исследуемой химической продукцией. Эталонная химическая продукция должна (1) происходить из стабильного и надежного источника (источников); обладать следующими свойствами: (2) структурным и функциональным сходством с классом исследуемой продукции; (3) хорошо изученными физико-химическими характеристиками; (4) наличием подтверждающих данных об известных воздействиях, а также (5) известным уровнем активности в диапазоне ожидаемого отклика.

## 3 Исходные положения

3.1 В основе требований настоящего стандарта используются пункты протокола исследований ICCVAM BCOP [8], [9], который изначально был разработан с учетом информации, содержащейся в протоколе, подготовленном Институтом по научным исследованиям *in vitro* (Institute for Vitro Sciences — IIVS), и протоколе INVITTOX 124 [10]. Последний из них — это протокол, использованный для организации предварительных валидационных исследований, которые проводились при финансовой поддержке Европейского союза в 1997—1998 гг. Оба упомянутых протокола базируются на методе исследования BCOP, применение которого было впервые описано Gautheron et al. [11].

3.2 Методы исследования BCOP с использованием денситометров OP-KIT и LLBO (далее — метод BCOP OP-KIT, метод BCOP LLBO) могут применяться для определения химической продукции, способной вызывать серьезные повреждения глаз в соответствии с классификацией, предусмотренной СГС ООН, т. е. химической продукции, которая в рамках этой классификации должна быть отнесена к классу опасности 1 [4]. При использовании для этой цели метод BCOP OP-KIT демонстрирует общую точность прогнозирования на уровне 79 % (n = 191), долю ложноположительных заключений — на уровне 25 % (n = 126) и долю ложноотрицательных заключений — на уровне 14 % (n = 65) относительно результатов испытаний, полученных при тестировании на глазу кролика *in vivo* при проведении классификации в соответствии с СГС ООН [3] (см. приложение А, таблица А.1). При исключении из базы данных по валидации исследуемой химической продукции, принадлежащей к определенным классам (т. е. спиртов, кетонов), или продукции соответствующего агрегатного состояния (т. е. твердой продукции) метод BCOP в рамках СГС ООН демонстрирует общую точность прогнозирования на уровне 85 % (n = 131), долю ложноположительных заключений — на уровне 20 % (n = 81) и долю ложноотрицательных заклю-

чений — на уровне 8 % (n = 50) [3]. Метод BCOP LLBO обеспечивает общую точность прогнозирования на уровне 78 % (n = 145), долю ложноположительных заключений — на уровне 21 % (n = 89) и долю ложноотрицательных заключений — на уровне 24 % (n = 56) относительно результатов испытаний, полученных при тестировании на глазу кролика *in vivo* при проведении классификации в соответствии с СГС ООН [12] (см. приложение А, таблица А.3). Если исключить из базы данных по валидации исследуемую химическую продукцию, принадлежащую к определенным классам (т. е. спиртам, кетонам), или продукцию соответствующего агрегатного состояния (т. е. твердую продукцию), метод BCOP LLBO в рамках СГС ООН демонстрирует общую точность прогнозирования на уровне 85 % (n = 55), долю ложноположительных заключений — на уровне 17 % (n = 32) и долю ложноотрицательных заключений — на уровне 13 % (n = 23) [12]. Кроме того, при применении метода BCOP существует риск занижения оценки опасности для исследуемой химической продукции, воздействие которой приводит к менее тяжелым, но при этом устойчивым последствиям *in vivo* [13]. Потенциальным недостатком применения данного метода испытаний для определения химической продукции, способной вызывать серьезные повреждения глаз (класс опасности 1 согласно СГС ООН), является высокая доля ложноположительных заключений для спиртов и кетонов и высокая доля ложноотрицательных заключений для твердой продукции, как об этом свидетельствуют собранные ранее данные [1], [2], [3], [12]. Вместе с тем, поскольку метод BCOP может давать завышенную прогнозную оценку опасности не для всего множества спиртов и кетонов, для некоторых из них правильно определяется принадлежность к классу опасности 1 согласно СГС ООН, вопрос об исключении этих функциональных органических групп из области применения метода не рассматривается. Пользователь настоящего стандарта должен самостоятельно принимать решение о том, является ли для него вероятность переоценки опасности конкретных испытуемых спиртов или кетонов допустимой и приемлемой, или в этой ситуации будет оправдано продолжение исследований, позволяющее вынести окончательную оценку по совокупности полученных свидетельств. В отношении ложноотрицательных заключений для твердой продукции следует иметь в виду, что условия воздействия химической продукцией при проведении теста Дрейза на раздражение глаз *in vivo* могут в отдельных случаях быть охарактеризованы как нестабильные или экстремальные и явиться причиной неверного прогноза о ее действительной раздражающей способности [14]. С другой стороны, важно отметить, что ни одно из ложноотрицательных заключений, зафиксированных в базе данных по валидации ICCVAM [2], [3] или при оценочных исследованиях применения LLBO [12] при определении химической продукции, способной вызывать серьезные повреждения глаз (класс опасности 1 согласно СГС ООН), не послужило основанием для прогнозирования того, что для исследуемой химической продукции класс опасности согласно СГС ООН отсутствует. Кроме того, ложноотрицательные заключения при применении метода BCOP с учетом описанных выше обстоятельств сами по себе не играют критической роли, так как вся химическая продукция, для которой на основании имеющихся данных не представляется возможным подготовить прогноз в соответствии с требованиями СГС ООН, должна подвергаться дальнейшим исследованиям с применением других надлежащим образом валидированных методов *in vitro* либо, при отсутствии иного выбора, тестироваться на кроликах в зависимости от конкретных действующих нормативных требований и с использованием последовательной исследовательской стратегии, ориентированной на оценивание по совокупности полученных свидетельств. С учетом того факта, что отдельная химическая продукция, представляющая собой твердую продукцию, при использовании метода BCOP может быть корректно распознана как относящаяся к классу опасности 1 согласно СГС ООН, вопрос об исключении продукции в данном агрегатном состоянии из области применения метода настоящего стандарта также не рассматривается. Конечные пользователи, таким образом, могут применять данный метод для оценивания опасности любых видов химической продукции, при этом прогнозное заключение о принадлежности химической продукции к классу опасности 1 согласно СГС ООН может использоваться для классификации ее как относящейся к данному классу опасности согласно СГС ООН без проведения дальнейших испытаний. В то же время, как указывалось выше, к положительным результатам, получаемым для спиртов и кетонов, следует относиться с осторожностью, поскольку оценка их потенциальной опасности при тестировании на глазу кролика *in vivo* при проведении классификации в соответствии с СГС ООН может быть завышенной.

3.3 Метод BCOP также может применяться для определения химической продукции, не требующей классификации как вызывающей раздражение или серьезное повреждение глаз в рамках СГС ООН [4]. В этом случае метод BCOP OP-KIT демонстрирует общую точность прогнозирования на уровне 69 % (n = 196), долю ложноположительных заключений — на уровне 69 % (n = 89) и долю ложноотрицательных заключений — на уровне 0 % (n = 107) относительно результатов испытаний, полученных при тестировании на глазу кролика *in vivo* при проведении классификации в соответствии с СГС ООН [3] (см. при-

ложение А, таблица А.2). Метод BCOP LLBO обеспечивает общую точность прогнозирования на уровне 83 % (n = 145), долю ложноположительных заключений — на уровне 45 % (n = 41) и долю ложноотрицательных заключений — на уровне 6 % (n = 104) относительно результатов испытаний, полученных при тестировании на глазу кролика *in vivo* при проведении классификации в соответствии с СГС ООН [12] (см. приложение А, таблица А.4). Доля ложноположительных заключений (*in vivo* класс опасности согласно СГС ООН отсутствует, см. 6.2) сравнительно высока, однако сами по себе они не играют критической роли, так как вся химическая продукция, для которой на основании имеющихся данных не представляется возможным подготовить прогноз, должна подвергаться дальнейшим исследованиям с применением других надлежащим образом валидированных методов *in vitro* либо, при отсутствии иного выбора, тестироваться на кроликах в зависимости от действующих нормативных требований и с использованием последовательной исследовательской стратегии, ориентированной на оценивание по совокупности полученных свидетельств. Применение метода BCOP не представляет сложности при исследованиях спиртов, кетонов и твердой продукции, если целью является определение химической продукции, не требующей классификации как вызывающей раздражение или серьезное повреждение глаз в рамках СГС ООН (класс опасности согласно СГС ООН отсутствует) [3], [12]. У исследователей есть возможность применять данный метод для оценивания опасности химической продукции любых видов; при этом полученный отрицательный результат (класс опасности согласно СГС ООН отсутствует) должен восприниматься как убедительное свидетельство отсутствия необходимости для включения их в классификацию (класс опасности согласно СГС ООН отсутствует). Поскольку методы BCOP OP-KIT и BCOP LLBO позволяют корректно определить лишь 31 % и 55 % химической продукции, не требующей классификации как вызывающей раздражение или серьезное повреждение глаз, данный метод не следует рассматривать в качестве приоритетного при реализации восходящего подхода [6], если помимо него для применения доступны другие валидированные и признанные методы *in vitro*, характеризующиеся не только сопоставимой высокой чувствительностью, но и более высокой специфичностью.

3.4 Для метода BCOP OP-KIT при определении непрозрачности базовый перечень для валидации включал 113 веществ и 100 смесей [2], [3], для метода BCOP LLBO — 145 веществ [12]. До настоящего времени метод BCOP LLBO для смесей не применялся, тем не менее приборы двух типов рассматриваются пригодными для исследований как веществ, так и их смесей.

3.5 Применение метода BCOP не рекомендуется для идентификации исследуемой химической продукции, которая должна классифицироваться как вызывающая раздражение глаз (класс опасности 2 или подкласс опасности 2А согласно СГС ООН) или как обладающая слабым раздражающим воздействием на глаза (подкласс опасности 2В согласно СГС ООН), ввиду значительного количества химической продукции класса опасности 1 согласно СГС ООН, которая была отнесена к более низкому классу опасности 2 (подклассам опасности 2А или 2В), а также химической продукции, для которой класс опасности согласно СГС ООН отсутствует, но отнесенной к более высокому классу опасности 2 (подклассам опасности 2А или 2В). В данном случае может быть оправданным проведение дальнейших исследований с применением другого подходящего метода. Установлено, что применение метода BCOP приводит к получению заниженной оценки при идентификации агрохимических составов, которые должны быть отнесены к классу опасности 1 согласно СГС ООН [15].

3.6 Образцы глаз и роговицы для испытаний могут поступать со скотобоен, от коммерческих поставщиков, из научно-исследовательских учреждений, а также из других источников. Все стороны обязаны соблюдать требования действующего законодательства, придерживаться положений соответствующих правил, методик и руководств, а также располагать необходимыми разрешениями. Применительно к исследовательским лабораториям это означает, что все операции с образцами глаз и роговицы крупного рогатого скота должны выполняться с соблюдением норм и требований, принятых в соответствующих лабораториях для работы с материалами животного происхождения, в том числе тканями и тканевыми жидкостями. Рекомендуется руководствоваться универсальными положениями о мерах безопасности, установленными для всех лабораторий [16].

3.7 В методе BCOP не учитываются повреждения конъюнктивы и радужной оболочки, в нем исследуются результаты воздействия на роговицу, которые являются главным основанием для классификации *in vivo*, проводимой в рамках СГС ООН. При этом дать оценку обратимости характера повреждений роговицы с помощью метода BCOP не представляется возможным. И хотя в последнее время с учетом опыта проведения испытаний на глазу кролика появились предложения, касающиеся потенциальной возможности использования данных о глубине наносимых первичных повреждений роговицы в качестве критерия для распознавания отдельных видов необратимых деструктивных последствий [17], реализовать эту возможность на практике можно лишь обладая дополнительной научной информацией

для понимания того, каким образом развиваются необратимые последствия, напрямую не связанные с высоким уровнем первичных повреждений. Применение метода BCOP не позволяет также оценивать потенциальный уровень системной токсичности, связанной с воздействием на глаза.

3.8 Настоящий стандарт подлежит периодической актуализации с целью включения в него новой информации и данных. Например, добавление сведений из области гистологии может представлять потенциальный интерес для подготовки более развернутого описания характера повреждений роговицы. В соответствии с [18] пользователям метода настоящего стандарта должно быть рекомендовано сохранять образцы роговицы и получать из них гистологические образцы, которые впоследствии могут быть пригодны для формирования соответствующей базы данных и разработки критериев принятия решений, способствующих дальнейшему повышению точности метода.

3.9 Все лаборатории, которые впервые внедряют у себя метод настоящего стандарта, должны использовать установленный перечень химических веществ для проверки квалификации, приведенный в приложении В. Лаборатории, использующие данные вещества, должны подтвердить свою техническую компетентность для проведения испытаний по методу BCOP, прежде чем начать представлять данные, полученные с помощью этого метода, для целей официальной классификации химической продукции по степени ее опасности.

## 4 Сущность метода испытаний

Метод BCOP предусматривает использование органотипической модели, обеспечивающей кратковременное поддержание нормальных физиологических и биохимических функций образцов роговицы крупного рогатого скота *in vitro*. Согласно данному методу степень повреждений, вызываемых воздействием исследуемой химической продукции, оценивают путем выполнения измерений прозрачности роговицы и ее проницаемости с помощью денситометра и спектрофотометра видимого света соответственно. Результаты указанных измерений используют для вычисления значения показателя IVIS или LIS, которое применяют для присвоения исследуемой химической продукции класса опасности по раздражающей способности глаз *in vitro*, позволяющей спрогнозировать потенциальное раздражающее воздействие, вызываемое этими веществами *in vivo* (см. критерии принятия решений в 6.2).

Метод BCOP предусматривает проведение испытаний на извлеченных образцах роговицы глаз, отобранных у рогатого скота (телят или взрослых животных) непосредственно после его убоя. Непрозрачность роговицы измеряют количественно как величину светопропускания через роговицу. Проницаемость измеряют как количество красителя — флуоресцеина натрия, прошедшее через всю толщу роговицы и обнаруживаемое в середине задней камеры. Исследуемая химическая продукция наносится на эпителиальную поверхность роговицы путем добавления ее в переднюю камеру держателя. В приложении С приведены описание и схема держателей роговицы, которые должны использоваться при проведении исследований по методу BCOP. Такие держатели роговицы могут быть приобретены на коммерческой основе у различных поставщиков или изготовлены самостоятельно.

### 4.1 Происхождение образцов глаз крупного рогатого скота и возраст особей, используемых для отбора образцов глаз

4.1.1 Убой крупного рогатого скота, как правило, осуществляется либо с целью потребления человеком, либо в других коммерческих целях. В качестве источника образцов роговицы, необходимых для исследований по методу BCOP, могут использоваться только здоровые животные, мясо которых пригодно для включения в рацион человека. Масса животных может варьироваться в широком диапазоне в зависимости от породы, возраста и пола, однако рекомендуемая масса их тела на момент убоя отсутствует.

4.1.2 Расхождение в размерах используемых образцов роговицы возможно в случае использования глаз животных различных возрастных групп. Образцы роговицы с горизонтальным диаметром >30,5 мм и толщиной в центральной части (central corneal thickness — CCT) ≥1100 мкм обычно могут быть получены от особей крупного рогатого скота, возраст которых превышает восемь лет, тогда как образцы с горизонтальным диаметром <28,5 мм и значением CCT <900 мкм — от особей, возраст которых составляет менее пяти лет [19]. По этой причине глаза животных, достигших возраста свыше 60 мес, обычно не используют. Глаза крупного рогатого скота в возрасте менее 12 мес, как правило, также не используют, поскольку в таком возрасте развитие этих органов еще не полностью завершено и толщина роговицы, а также ее диаметр у таких животных значительно меньше, чем у взрослых особей. Тем не менее использование образцов роговицы молодых животных (в возрасте от 6 до 12 мес) считается до-

пустимым, поскольку имеется ряд преимуществ, в том числе: высокая доступность, узкий возрастной диапазон, а кроме того, меньшая потенциальная угроза заражения персонала, работающего с образцами, губчатой энцефалопатией крупного рогатого скота (КГЭ) [20]. Соответствующие практические меры по предотвращению заражения КГЭ принимаются с учетом требований национального законодательства. Поскольку влияние размера и толщины образцов роговицы на их подверженность воздействию разъедающих и раздражающих веществ требует более подробного изучения, пользователям рекомендуется указывать в отчетах примерный возраст и/или массу убитых животных, от которых были получены образцы для исследований.

### 4.2 Отбор образцов глаз и их транспортировка в лабораторию

4.2.1 Отбор образцов глаз осуществляется специально подготовленными работниками бойни, коммерческого поставщика или научно-исследовательского учреждения. Во избежание случайных механических или иного рода повреждений глаза следует извлечь из тела животного как можно быстрее после его убоя, немедленно охладить и транспортировать в дальнейшем также в охлажденном состоянии. Для исключения нежелательного воздействия на глаза веществ, потенциально обладающих раздражающими свойствами, работники бойни, обмывая голову животного, не должны использовать какие-либо моющие средства.

4.2.2 Сразу после извлечения образцы глаз должны быть полностью погружены в охлажденный сбалансированный солевой раствор Хэнкса (Hanks' Balanced Salt Solution — HBSS), налитый в емкость подходящего размера; их последующая транспортировка в лабораторию должна осуществляться таким образом, чтобы не допустить порчи и/или бактериального заражения образцов. Поскольку образцы глаз отбираются в процессе убоя, на них могут присутствовать кровь и иные биологические субстанции, в том числе бактерии и другие микроорганизмы. В этой связи важно минимизировать вероятность контаминации тканей, предназначенных для проведения исследований, в процессе отбора и транспортировки (например, хранить емкость с образцами глаз в «жидком льду» (т. е. в водо-ледяной смеси) и добавлять в раствор HBSS, в котором транспортируются образцы, антибиотики [например, пенициллин в концентрации 100 МЕ/мл и стрептомицин в концентрации 100 мкг/мл]).

4.2.3 Временной интервал между отбором образцов глаз и использованием полученной роговицы для исследований по методу BCOP также должен быть минимальным (оптимально осуществлять отбор и использование в один и тот же день) и должно быть доказано, что он не оказывает влияния на результаты испытания. Результаты зависят от критериев выбора глаз, применяемых наряду с ответной реакцией на воздействие положительных и отрицательных контрольных проб. Все образцы глаз, используемые для испытаний, должны представлять одну и ту же группу образцов, отобранных в один и тот же день.

### 4.3 Критерии отбора образцов глаз, используемых в методе BCOP

4.3.1 Образцы глаз, поступившие в лабораторию, тщательно проверяют на наличие дефектов, включая повышенную непрозрачность, царапины и следы неоваскуляризации. Для исследований используют только роговицу глаз, в которых не было обнаружено перечисленных выше дефектов.

4.3.2 Состояние каждого образца роговицы оценивается также на последующих этапах проведения испытания. При использовании OP-KIT необработанные образцы роговицы, которые имеют непрозрачность более чем семь единиц или эквивалентную по истечении периода достижения равновесия продолжительностью один час (t0), должны удаляться. При использовании LLBO необработанные образцы роговицы, демонстрирующие по истечении аналогичного периода времени t0 при лазерных измерениях значения непрозрачности менее 1200 люкс или более 1850 люкс, также подлежат удалению.

Примечание — Для калибровки денситометра должны использоваться те же эталоны непрозрачности, что и для установления единиц непрозрачности, см. приложение D.

4.3.3 Каждая обрабатываемая группа образцов (исследуемая химическая продукция, параллельно используемые отрицательная и положительная контрольные пробы) должна включать не менее трех образцов глаз. При проведении исследования по методу BCOP для отрицательной контрольной пробы следует зарезервировать три образца роговицы. Поскольку используемые образцы роговицы вырезаются из цельных глазных яблок и затем устанавливаются в камеры, существует вероятность искажения после обращения с ними значений результатов измерений прозрачности и проницаемости образцов (включая и отрицательную контрольную пробу). Кроме того, значения непрозрачности и проницаемости образцов роговицы, полученные для отрицательных контрольных проб, используются для корректиров-

ки значений непрозрачности и проницаемости образцов роговицы, обработанных испытуемой химической продукцией и положительной контрольной пробой, при вычислении показателя IVIS/LIS.

## 5 Методика испытаний

### 5.1 Подготовка образцов глаз

5.1.1 Роговицу, не имеющую дефектов, вырезают, оставляя каемку склеры толщиной 2—3 мм для удобства последующей работы с образцом, и осторожно отделяют от глаза, стараясь не повредить эпителий и эндотелий роговицы. Отделенные образцы роговицы устанавливают в держатели специальной конструкции, передняя и задняя камеры которых граничат с эпителиальной и эндотелиальной поверхностями роговицы соответственно (см. приложение С). Обе камеры (вначале заднюю) доверху наполняют предварительно подогретой без фенолового красного красителя средой Игла (EMEM), следя за тем, чтобы в ней не образовывались пузырьки. Затем держатель с роговицей приводят в равновесие при температуре 32 ± 1 °С в течение не менее чем одного часа (t0), чтобы роговица достигла теплового равновесия с залитой в камеры средой и по возможности пришла в состояние нормальной метаболической активности (температура поверхности роговицы *in vivo* составляет приблизительно 32 °С).

5.1.2 По достижении равновесия обе камеры заполняют свежей подогретой без фенолового красного красителя EMEM и фиксируют исходные показатели непрозрачности для каждого образца роговицы. Все образцы роговицы, на которых обнаружены макроскопические повреждения тканей (например, царапины, области пигментации или неоваскуляризации) либо непрозрачность которых превышает семь единиц в случае использования OP-KIT, или менее 1200 люкс или более 1850 люкс в случае использования LLBO, удаляют. Для использования с отрицательной контрольной пробой (или контрольной пробой растворителя) отбирают не менее трех образцов роговицы. Оставшиеся образцы распределяют между группами, обрабатываемыми исследуемой химической продукцией и предназначенными для положительной контрольной пробы.

5.1.3 Поскольку вода имеет большую теплоемкость, чем воздух, она обеспечивает более стабильные температурные условия для инкубирования. В связи с этим для поддержания температуры держателя роговицы и его содержимого при 32 ± 1 °С рекомендуется использовать водяную баню. Вместе с тем допускается также использование воздушных инкубаторов, при условии что в этом случае будет обеспечиваться стабильная температура (например, за счет предварительного подогрева держателей и эссенциальной среды).

### 5.2 Нанесение исследуемой химической продукции

5.2.1 На данном этапе работ применяют два различных протокола: один для жидкостей и сурфактантов (твердых или жидких), другой — для твердой продукции, не являющейся сурфактантом.

5.2.2 Жидкую продукцию для проведения испытаний не разбавляют. Полутвердую, кремообразную и воскообразную продукцию обычно испытывают так же, как и жидкости. Чистые сурфактанты испытывают после разведения их до 10 % концентрации (масса/объем) в 0,9 % растворе хлорида натрия, дистиллированной воде или ином подходящем растворителе, для которого подтверждено, что он не оказывает нежелательного влияния на испытательную систему. Выбор других концентраций должен быть надлежащим образом обоснован. Смеси, содержащие сурфактанты, могут испытываться в неразбавленном или разбавленном до определенной концентрации состоянии в зависимости от предполагаемого их воздействия на человека. Выбор конкретного значения концентрации для испытаний должен быть надлежащим образом обоснован. Образцы роговицы подвергают воздействию жидкостей или сурфактантов в течение 10 мин. Использование других значений времени воздействия должно быть научно обоснованным.

5.2.3 Твердую продукцию, не являющуюся сурфактантом, испытывают в виде раствора или суспензии после разведения ее до 20 % концентрации (масса/объем) в 0,9 % растворе хлорида натрия, дистиллированной воде или ином растворителе, для которого подтверждено, что он не оказывает нежелательного влияния на испытательную систему. В отдельных случаях и при наличии убедительного научного обоснования твердая продукция может испытываться без разведения путем непосредственного нанесения ее на поверхность роговицы способом открытой камеры (см. 5.2.6). Воздействие на роговицу при испытаниях твердой продукции должно продолжаться в течение четырех часов, но как и в случае с жидкостями и сурфактантами могут использоваться альтернативные значения продолжительности воздействия при наличии соответствующего научного обоснования.

5.2.4 Возможно применение других способов обработки, исходя из физических и химических свойств исследуемой химической продукции (например, в зависимости от того, является ли данная продукция твердой или жидкой или обладает высокой вязкостью). Определяющим фактором является правильное нанесение исследуемой химической продукции на эпителиальную поверхность роговицы и ее полное удаление в процессе последующей промывки. Способ закрытой камеры, как правило, применяется для испытаний жидкостей, не обладающих или обладающих незначительной вязкостью, тогда как способ открытой камеры обычно предназначен для испытаний полувязких и вязких жидкостей, а также неразведенной твердой продукции.

5.2.5 Если применяется способ закрытой камеры, достаточное для покрытия эпителиальной поверхности роговицы количество исследуемой химической продукции (750 мкл) вводят в переднюю камеру через дозирующие отверстия, расположенные в верхней ее части, после чего отверстия укупоривают специальными пробками на время, пока химическая продукция контактирует с тканями образца. Важно, чтобы фактический период воздействия исследуемой химической продукцией на каждый образец роговицы соответствовал заданной для него продолжительности.

5.2.6 Если применяется способ открытой камеры, из передней камеры держателя перед обработкой образца удаляют стеклянное окошко с фиксирующим кольцом. Контрольную пробу или исследуемую химическую продукцию (750 мкл или количество, достаточное для того, чтобы полностью покрыть образец роговицы) наносят непосредственно на эпителиальную поверхность образца, используя микропипетку. Если нанесение исследуемой химической продукции при помощи микропипетки оказывается затруднительным, ее помещают в пипетку прямого вытеснения с регулируемым объемом, облегчающую дозирование. Наконечник пипетки прямого вытеснения с регулируемым объемом вставляют в дозирующий наконечник шприца, при этом исследуемая химическая продукция нагнетается в наконечник под давлением. По мере нажатия на шток шприца поршень пипетки поднимают. Если в наконечнике пипетки образуются пузырьки, продукцию удаляют (выдавливают наружу) и повторяют процесс заново, до тех пор пока наконечник не удастся наполнить без пузырьков. При необходимости можно использовать обычный медицинский шприц (без иглы), поскольку он позволяет точно отмерять необходимое количество исследуемой продукции и облегчает ее нанесение на эпителиальную поверхность роговицы. После дозирования стеклянное окошко снова устанавливают на переднюю камеру для возвращения ее в состояние закрытой системы.

### 5.3 Инкубирование после воздействия исследуемой химической продукцией

5.3.1 По истечении установленного периода воздействия исследуемую химическую продукцию, отрицательную контрольную пробу или положительную контрольную пробу удаляют из передней камеры и промывают эпителий роговицы не менее трех раз (либо до устранения всех видимых следов исследуемой химической продукции), используя для этого EMEM (с феноловым красным красителем). Среда, содержащая феноловый красный краситель, используется для промывания образцов по той причине, что по изменению цвета фенолового красного можно судить об эффективности смывания кислотных или щелочных продуктов. Образцы роговицы промывают более трех раз, если при последнем их промывании все еще изменялся цвет фенолового красного (на желтый или пурпурный) или все еще заметна исследуемая химическая продукция. На завершающем этапе, после того как была полностью удалена исследуемая химическая продукция, образцы роговицы ополаскивают чистой EMEM (без фенолового красного красителя). Использование неокрашенной EMEM для окончательной промывки помогает убедиться в отсутствии остатков фенолового красного внутри передней камеры перед измерениями непрозрачности образцов. При подготовке к измерениям переднюю камеру снова заполняют свежей EMEM без добавления фенолового красного красителя.

5.3.2 В случае если исследуемая химическая продукция является жидкостью или сурфактантом, образцы роговицы после промывания дополнительно инкубируют в течение двух часов при температуре 32 ± 1 °С. В отдельных случаях образцы могут выдерживаться в течение более длительного времени, однако решение об этом должно приниматься в каждом конкретном случае. Образцы роговицы, обработанные твердой продукцией, тщательно промывают по истечении четырехчасового периода, при этом дальнейшее их инкубирование не требуется.

5.3.3 По истечении установленного периода инкубирования после воздействия жидкостей и сурфактантов или четырехчасового периода воздействия твердой продукцией, не являющейся сурфактантом, фиксируют данные о непрозрачности и проницаемости каждого образца роговицы. Кроме того, каждый образец подвергают внешнему осмотру, записывая соответствующие результаты наблюдений

(например, сведения об отслаивании тканей, присутствии остатков исследуемой химической продукции, неравномерном помутнении образца). Подобного рода информация может представлять ценность, так как она помогает объяснить возможные колебания показаний денситометра.

### 5.4 Контрольные вещества

5.4.1 В каждом испытании параллельно должны использоваться отрицательная контрольная проба (либо контрольная проба растворителя/вещества-носителя) и положительная контрольная проба.

5.4.2 При испытаниях жидкого вещества (100 %) по методу BCOP параллельно следует использовать отрицательную контрольную пробу (например, 0,9 %-ный раствор хлорида натрия или дистиллированную воду) для обеспечения возможности выявления неспецифических изменений в испытательной системе и определения исходных показателей для последующего оценивания данных испытаний. Кроме того, включение такой отрицательной пробы позволяет убедиться, что наблюдаемое раздражающее действие в действительности не было связано с ненадлежащими условиями проведения испытания.

5.4.3 При испытаниях разбавленной жидкости, раствора сурфактанта или твердой продукции по методу BCOP параллельно следует использовать контрольную пробу растворителя/вещества-носителя, чтобы обеспечить возможность выявления неспецифических изменений в испытательной системе и определения исходных показателей для последующего оценивания данных испытаний. Только растворитель/вещество-носитель, для которого подтверждено отсутствие отрицательного влияния на испытательную систему, может использоваться в процессе испытаний.

5.4.4 Вещества, о которых известно, что они вызывают положительный отклик, следует включать в каждое испытание в качестве положительной контрольной пробы, позволяющей оценить целостность испытательной системы и правильность проведения опыта. Тем не менее для обеспечения возможности учета изменчивости во времени проявления раздражения, вызываемого положительной контрольной пробой, этот положительный отклик не должен быть завышенным.

5.4.5 Примерами положительных контрольных проб для жидкостей могут служить 100 %-ный этанол или 100 %-ный диметилформамид. Примером положительной контрольной пробы для твердой продукции может служить 20 %-ный (масса/объем) раствор имидазола в 0,9 %-ном растворе хлорида натрия.

5.4.6 Эталонные вещества целесообразно использовать для оценки раздражающей способности неизвестной химической продукции, представляющей определенный класс химической продукции, или для оценки относительной раздражающей способности продукции в пределах определенного диапазона раздражающего воздействия.

### 5.5 Измеряемые данные

5.5.1 Непрозрачность определяют исходя из светопропускания через роговицу. Непрозрачность роговицы определяют количественно при помощи денситометра, получая величину непрозрачности по числовой шкале. В качестве стандартного устройства для целей валидации метода BCOP был выбран денситометр OP-KIT [9], [21]. К альтернативной группе приборов, используемых для измерения непрозрачности, относятся денситометры Duratec [22] и LLBO (прибор с лазерным принципом действия) [12], [21], [23] (см. приложение D). Другие аналогичные приборы также могут использоваться для измерения непрозрачности, если подтверждена их пригодность при испытаниях веществ, рекомендованных для проверки квалификации.

5.5.2 Проницаемость определяют по количеству красителя — флуоресцеина натрия, который проходит через все клеточные слои роговицы (т. е. от эпителия на наружной поверхности роговицы до эндотелия на ее внутренней поверхности). Один миллилитр раствора флуоресцеина натрия с концентрацией 4 мг/мл при испытаниях жидкостей и сурфактантов или с концентрацией 5 мг/мл при испытаниях твердой продукции, не являющейся сурфактантом, помещают в переднюю камеру держателя роговицы, которая граничит с эпителиальной поверхностью роговицы, а заднюю камеру, граничащую с эндотелиальной поверхностью роговицы, наполняют свежей EMEM. После этого держатель оставляют для инкубации в горизонтальном положении на 90 ± 5 мин при температуре 32 ± 1 °C. Количество флуоресцеина натрия, поступившего в заднюю камеру, определяют методом UV/VIS спектрофотометрии. Результаты спектрофотометрических измерений при длине волны 490 нм записывают в единицах оптической плотности ($ОП_{490}$) или поглощения, отсчитываемых по числовой шкале. Проницаемость флуоресцеина определяют на основе значений $ОП_{490}$, полученных при помощи спектрофотометра видимого света при использовании стандартной длины оптического пути 1 см [11].

5.5.3 Альтернативно может использоваться 96-луночный микропланшетный ридер при условии, что: (1) существует линейный диапазон при определении значений $ОП_{490}$ для флуоресцеина на таком планшетном ридере и (2) в 96-луночном планшете используется подходящий объем проб с флуоресцеином для получения значений $ОП_{490}$, соответствующих стандартной длине оптического пути 1 см (для этого может потребоваться полное заполнение лунок [обычно 360 мкл]).

## 6 Данные и отчеты об испытаниях

### 6.1 Оценивание данных

6.1.1 После того как в значение непрозрачности и средней проницаемости ($ОП_{490}$) были внесены поправки с учетом значений фоновой непрозрачности и значений проницаемости $ОП_{490}$ для отрицательной контрольной пробы, средние значения непрозрачности и проницаемости $ОП_{490}$ по каждой обрабатываемой группе следует объединить с помощью эмпирически полученной формулы для вычисления показателя раздражающей способности *in vitro* (IVIS). При использовании LLBO единицей измерения является люкс (единица освещенности в системе СИ) и непрозрачность роговицы определяется как среднее значение люкс/7 [23].

IVIS при использовании OP-KIT = среднее значение непрозрачности (показания OP-KIT) + (15 × × среднее значение $ОП_{490}$).

LIS при использовании LLBO = среднее значение непрозрачности (показания LLBO в люкс/7) + + (15 × среднее значение $ОП_{490}$).

6.1.2 Согласно [24] формула при использовании OP-KIT была выведена по результатам внутрилабораторных и межлабораторных исследований. Данные, полученные для серии, включающей 36 соединений, при проведении многократных лабораторных исследований, были использованы для многофакторного анализа с целью определения наилучшей согласованности между результатами *in vivo* и *in vitro*. Исследования проводились научными сотрудниками двух независимых компаний, и в обоих случаях полученные формулы были практически идентичны. Согласно [23], аналогичная формула при использовании LLBO была выведена по результатам проведения внутрилабораторных исследований при использовании химической продукции 29 наименований, ее правильность была подтверждена двумя дополнительными внутрилабораторными исследованиями, в ходе которых изучалось воздействие химической продукции 80 и 65 наименований соответственно [12], а также отдельным межлабораторным исследованием, для которого была взята химическая продукция 13 наименований, рекомендованная для проверки квалификации [25].

6.1.3 Значения непрозрачности и проницаемости следует также оценивать по отдельности для определения того, приводит ли воздействие исследуемой химической продукции к разъеданию или сильному раздражению только по одному или по обоим указанным параметрам (см. критерии принятия решений).

### 6.2 Критерии принятия решений

Модель построения прогнозов для определения исследуемой химической продукции, вызывающей серьезные повреждения глаз (класс опасности 1 согласно СГС ООН), и химической продукции, не требующей классификации как вызывающей раздражение или серьезное повреждение глаз (класс опасности согласно СГС ООН отсутствует), приведена ниже:

| Денситометр 1 OP-KIT * и Duratec | Денситометр 2 LLBO ** | Класс опасности согласно СГС ООН |
|---|---|---|
| IVIS ≤ 3 | LIS ≤ 30 | Класс опасности отсутствует |
| 3 < IVIS ≤ 55 | LIS > 30 и люкс/7 ≤ 145 и $ОП_{490}$ ≤ 2,5 | Прогнозирование на основании имеющихся данных не представляется возможным |
| IVIS > 55 | LIS > 30 и люкс/7 ≤ 145 и $ОП_{490}$ > 2,5 или LIS > 30 и люкс/7 > 145 | Класс опасности 1 |
| * По информации из базы данных ICCVAM, включающей в себя 113 веществ и 100 смесей [1], [2], [3], [22].<br>** По данным оценочных исследований 145 веществ при применении LLBO [12]. | | |

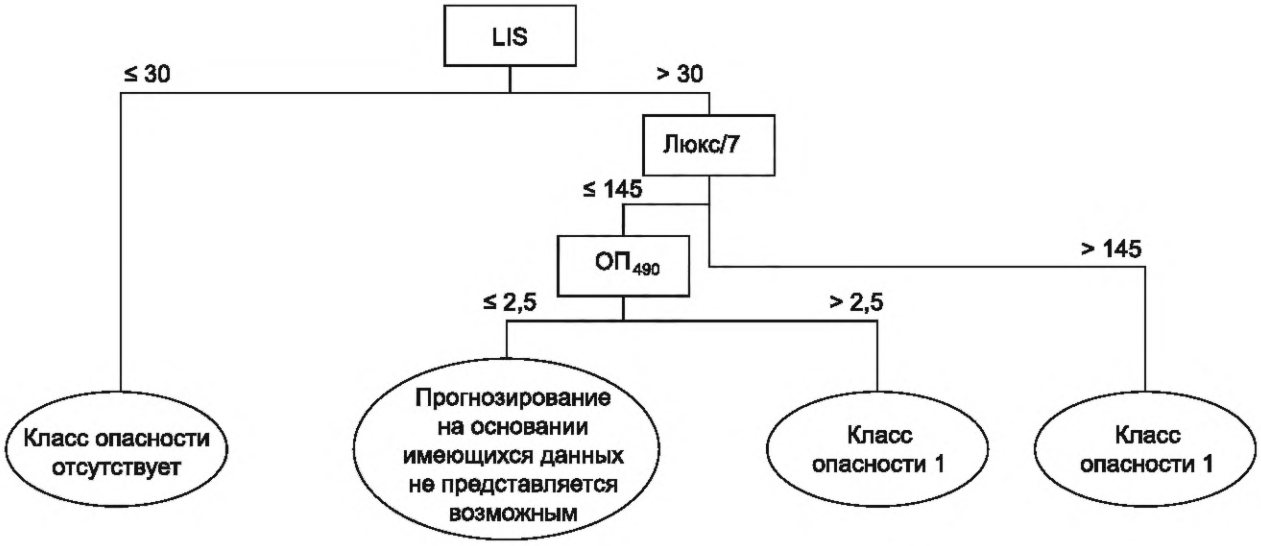


Рисунок 1 — Модель построения прогнозов для метода BCOP LLBO

### 6.3 Критерии приемлемости для результатов исследований

Результаты испытаний считают приемлемыми, если значение, полученное для положительной контрольной пробы, находится в пределах удвоенного стандартного отклонения для среднего значения показателя IVIS за истекший период для прибора OP-KIT. При использовании прибора LLBO результаты испытаний рассматривают как приемлемые, если значение, полученное для положительной контрольной пробы, находится в пределах удвоенного стандартного отклонения для среднего значения показателя непрозрачности (определяемого как люкс/7) за истекший период. Результаты испытаний положительной контрольной пробы необходимо обновлять не реже, чем через каждые три месяца, либо каждый раз при проведении подобного испытания, если такие испытания проводятся в лаборатории нерегулярно (т. е. реже одного раза в месяц). Значения непрозрачности или проницаемости при испытании отрицательных контрольных проб или контрольных проб растворителя/вещества-носителя должны быть ниже установленных верхних пределов для фоновых значений непрозрачности или проницаемости образцов роговицы крупного рогатого скота, обработанных соответствующими отрицательными контрольными пробами или контрольными пробами растворителя/вещества-носителя. Одной серии испытаний, в которой параллельно были использованы не менее трех образцов роговицы, должно быть достаточно для оценивания исследуемой химической продукции, если подготовленное прогнозное заключение обеспечивает ее однозначную классификацию. Напротив, в ситуации, когда полученные результаты носят пограничный характер, может быть (хотя и не обязательно) принято решение о проведении второй серии испытаний, а также третьей — в случае расхождения прогнозных заключений по результатам первых двух серий. Результаты в первой серии испытаний считаются пограничными, если прогнозные заключения для 3 образцов роговицы не согласуются между собой:

- для 2 из 3 образцов роговицы получены несогласующиеся результаты исходя из среднего значения для всех 3 образцов роговицы, или
- для 1 из 3 образцов роговицы получен противоречащий результат исходя из среднего значения для всех 3 образцов, и несоответствующий результат:
- при использовании OP-KIT: >10 единиц IVIS превышает предельное значение, равное 55;
- при использовании LLBO: предположение о принадлежности к классу опасности 1 согласно СГС ООН основано на значении непрозрачности (люкс/7, среднее значение непрозрачности >145), но при этом 1 из 3 образцов роговицы имеет значение непрозрачности (люкс/7) <130 [12];
- при использовании LLBO: предположение о принадлежности к классу опасности 1 согласно СГС ООН основано на значении ОП (среднее значение ОП >2,5), но при этом 1 из 3 образцов роговицы имеет значение ОП <2,0 [12];
- при использовании LLBO: предположение об отсутствии класса опасности согласно СГС ООН основано на значении LIS (среднее значение LIS ≤30), но при этом 1 из 3 образцов роговицы имеет значение LIS >40 [12].

Если результаты во второй серии испытаний подтверждают прогнозное заключение по результатам в первой серии испытаний, то для принятия окончательного решения проведения дальнейших испытаний не требуется. Если результаты второй серии испытаний не согласуются с прогнозным заключением по результатам первой серии испытаний, следует выполнить третью и окончательную серию испытаний для уточнения сомнительных данных и достоверной классификации исследуемой химической продукции. Допускается также не проводить дальнейшие испытания с целью классификации и маркировки исследуемой химической продукции в случае, если результаты, полученные в любой из серии испытаний, позволяют сделать прогнозное заключение о принадлежности продукции к классу опасности 1 согласно СГС ООН.

### 6.4 Отчет об испытаниях

Отчет об испытаниях должен включать в себя следующую информацию, если она важна для целей исследования:

- Исследуемая химическая продукция и контрольные вещества:

- однокомпонентное вещество: идентификационные данные химической продукции, а именно название (названия) по IUPAC или CAS, регистрационный номер (номера) CAS, коды SMILES или InChI, структурную формулу и/или другие отличительные признаки;

- многокомпонентное вещество, вещество с неопределенным или переменным составом (UVCB) или смесь веществ: как можно более полное описание продукции, например все доступные сведения для идентификации (см. выше), степени чистоты, о количественных долях и соответствующих физико-химических характеристиках (см. выше), его составляющих;

- сведения об агрегатном состоянии, летучести, показателе pH, значении LogP, молекулярной массе, классе химических веществ, а также, по возможности, других физико-химических характеристиках, важных для целей исследования;

- степень чистоты, химическую характеристику примесей, если подготовка такой характеристики возможна и практически целесообразна, и т. п.;

- способ обработки перед началом испытаний, если такая обработка проводилась (например, подогрев, измельчение);

- сведения об условиях хранения и о стабильности, если таковые имеются.

- Информация о лице/организации, осуществлявших финансирование, и лаборатории, проводившей испытания:

- наименование/имя и адрес организации/лица, осуществлявших финансирование, лаборатории, где проводились испытания, а также имя руководителя исследования.

- Условия испытаний:

- сведения об использованном денситометре (например, модель и характеристики согласно спецификации) и настройках, которые применялись;

- информация о калибровке приборов, использовавшихся при измерениях непрозрачности и проницаемости (например, денситометра и спектрофотометра) для подтверждения линейного характера этих измерений;

- сведения о типах использованных держателей роговицы (например, модель и характеристики согласно спецификации);

- описание прочего использованного оборудования;

- описание процедуры, применявшейся для подтверждения того, что метод испытаний обеспечивает достоверность (т. е. точность и надежность) результатов с течением времени (например, периодические испытания химических веществ согласно перечню для проверки квалификации).

- Критерии приемлемости испытаний:

- диапазоны приемлемости для параллельно используемых положительных и отрицательных контрольных проб, основанные на данных прошлых наблюдений;

- при необходимости, диапазоны приемлемости для параллельно используемых эталонных веществ, основанные на данных прошлых наблюдений.

- Отбор и подготовка образцов глаз:

- сведения об источнике, из которого поступили образцы глаз (т. е. о предприятии, на котором они были отобраны);

- условия хранения и транспортировки образцов глаз (например, дата и время их отбора, продолжительность времени перед началом испытаний, среда, в которой осуществлялась транспортировка и температурные условия при транспортировке, названия использованных антибиотиков);

- сведения о процессе подготовки образцов роговицы глаза крупного рогатого скота и установки их в держатели, включая данные о качестве образцов, соответствии держателей роговицы диаметру имеющихся образцов, температуре используемых держателей и критериях выбора конкретных образцов для испытаний.

- Порядок испытаний:

- число параллельно обрабатываемых образцов;

- сведения об использованных положительных и отрицательных контрольных пробах (при необходимости требуется также о контрольных пробах растворителя и эталонных веществах);

- сведения о концентрации(ях) исследуемой химической продукции, нанесении, времени воздействия и продолжительности последующего инкубирования;

- описание применявшихся критериев оценки и принятия решений;

- описание применявшихся критериев приемлемости результатов испытаний;

- описание любых изменений, внесенных в методику испытаний;

- описание применявшихся критериев принятия решений.

- Результаты:

- представление в табличной форме данных по отдельным исследуемым образцам (например, значения непрозрачности и $ОП_{490}$, а также вычисленное значение показателей IVIS или LIS для исследуемой химической продукции, положительной и отрицательной проб и эталонных веществ (если использовались), включая данные повторных серий испытаний, и средние значения ± стандартное отклонение по каждой серии испытаний);

- описание прочих явлений, наблюдавшихся в ходе испытаний, включая окрашивание роговицы;

- присвоенный класс опасности согласно СГС ООН по итогам исследования *in vitro*, при наличии.

Рассмотрение результатов.

Заключение и выводы.

## Приложение А
## (справочное)

## Достоверность прогнозирования при применении метода BCOP

Таблица А.1 — Достоверность прогнозирования при применении метода BCOP OP-KIT для определения химической продукции, вызывающей серьезные повреждения глаз («класс опасности 1» в сравнении с «класс опасности 1 отсутствует» (класс опасности 2 + класс опасности отсутствует) согласно СГС ООН) [1], [2], [3]

| Система классификации | № | Точность | | Чувствительность | | Доля ложно-отрицательных заключений | | Специфичность | | Доля ложноположительных заключений | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | % | № | % | № | % | № | % | № | % | № |
| СГС ООН | 191 | 78,53 | 150/191 | 86,15 | 56/65 | 13,85 | 9/65 | 74,60 | 94/126 | 25,40 | 32/126 |

Таблица А.2 — Достоверность прогнозирования при применении метода BCOP OP-KIT для определения химической продукции, не требующей классификации в качестве вызывающей раздражение или серьезные повреждения глаз («нераздражающая») («класс опасности отсутствует» в сравнении с «класс опасности присвоен» (класс опасности 1 + класс опасности 2) согласно СГС ООН) [1], [2], [3]

| Система классификации | № | Точность | | Чувствительность | | Доля ложно-отрицательных заключений | | Специфичность | | Доля ложноположительных заключений | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | % | № | % | № | % | № | % | № | % | № |
| СГС ООН | 196 | 68,88 | 135/196 | 100 | 107/107 | 0 | 0/107 | 31,46 | 28/89 | 68,54 | 61/89 |

Таблица А.3 — Достоверность прогнозирования при применении метода BCOP LLBO для определения химической продукции, вызывающей серьезные повреждения глаз («класс опасности 1» в сравнении с «класс опасности 1 отсутствует» (класс опасности 2 + класс опасности отсутствует) согласно СГС ООН) [12]

| Система классификации | № | Точность | | Чувствительность | | Доля ложно-отрицательных заключений | | Специфичность | | Доля ложноположительных заключений | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | %[a)] | № | %[a)] | № | %[a)] | № | %[a)] | № | %[a)] | № |
| СГС ООН | 145 | 77.93 | 145 | 75,89 | 56 | 24,11 | 56 | 79,21 | 89 | 20,79 | 89 |

[a)] Соотношение, указанное в таблице, определено на основе вычислений с использованием взвешенных значений. Для каждой химической продукции в расчет принимались все полученные результаты, с применением к ним соответствующего поправочного коэффициента таким образом, чтобы вся химическая продукция имела одну и ту же массу (т. е. равную 1).

Таблица А.4 — Достоверность прогнозирования при применении метода BCOP LLBO для определения химической продукции, не требующей классификации в качестве вызывающей раздражение или серьезные повреждения глаз («нераздражающая») («класс опасности отсутствует» в сравнении с «класс опасности присвоен» (класс опасности 1 + класс опасности 2) согласно СГС ООН) [12]

| Система классификации | № | Точность | | Чувствительность | | Доля ложно-отрицательных заключений | | Специфичность | | Доля ложноположительных заключений | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | %[a)] | № | %[a)] | № | %[a)] | № | %[a)] | № | %[a)] | № |
| СГС ООН | 145 | 82,76 | 145 | 93,75 | 104 | 6,25 | 104 | 54,88 | 41 | 45,12 | 41 |

[a)] Соотношение, указанное в таблице, определено на основе вычислений с использованием взвешенных значений. Для каждой химической продукции в расчет принимались все полученные результаты с применением к ним соответствующего поправочного коэффициента таким образом, чтобы вся химическая продукция имела одну и ту же массу (т. е. равную 1).

## Приложение В
## (справочное)

## Рекомендуемая химическая продукция для проверки квалификации при применении метода BCOP

До того как приступить к регулярному применению метода настоящего стандарта, лаборатории должны подтвердить свою техническую компетентность, правильно классифицировав по степени опасности для глаз 13 веществ, перечисленных в таблице 1. Эти вещества были отобраны таким образом, чтобы они представляли весь диапазон степеней опасности для глаз, определяемой на основе результатов испытаний *in vivo* на глазу кролика [26] и отраженной в градации класса опасности согласно системе классификации СГС ООН (а именно: 1, 2А, 2В или класс опасности отсутствует) [4]. Дополнительными критериями отбора являются доступность соответствующих веществ для коммерческого приобретения, а также наличие для них как достоверных справочных данных, полученных *in vivo*, так и достоверных данных, полученных *in vitro* при применении метода BCOP. Справочные данные приведены в Оптимизированном обобщающем вспомогательном документе [3] и Справочном документе ICCVAM по применению метода BCOP [2], [27].

В случаях когда лаборатория не располагает веществом, приведенным в перечне, или оно не может быть использовано в силу каких-либо иных уважительных причин, вместо него допускается использовать другое вещество, в таком же агрегатном состоянии, которое относится к тому же классу опасности по итогам исследований *in vivo* и для которого имеются необходимые справочные данные по испытаниям *in vivo* и *in vitro* (например, взятое из перечня эталонных химических веществ [2], [3]) при условии, что при его выборе применяются те же самые критерии, что и в таблице В.1. Для альтернативного выбора веществ для проверки квалификации должно быть представлено соответствующее обоснование.

Таблица В.1 — Перечень рекомендуемых химических веществ для проверки квалификации при проведении исследований по методу BCOP

| Химическая продукция | Регистрационный номер CAS* | Класс химической продукции[1)] | Агрегатное состояние | Результат классификации по итогам исследований *in vivo*[2)] | Результат классификации по итогам исследований по методу BCOP |
|---|---|---|---|---|---|
| Бензалкония хлорид (5 %) | 8001-54-5 | Ониевые соединения | Жидкое | Класс опасности 1 | Класс опасности 1 |
| Хлоргексидин | 55-56-1 | Амины, амидины | Твердое | Класс опасности 1 | Класс опасности 1 |
| Бензойная кислота | 65-85-0 | Карбоновые кислоты | Твердое | Класс опасности 1 | Класс опасности 1 |
| Имидазол | 288-32-4 | Гетероциклические соединения | Твердое | Класс опасности 1 | Класс опасности 1 |
| Трихлоруксусная кислота (30 %) | 76-03-9 | Карбоновые кислоты | Жидкое | Класс опасности 1 | Класс опасности 1 |
| 2,6-Дихлорбензоил хлорид[4)] | 4659-45-4 | Ацил-галоиды | Жидкое | Подкласс опасности 2А | Прогнозирование на основании имеющихся данных не представляется возможным |
| Этил 2-метилацетоацетат | 609-14-3 | Кетоны, эфиры | Жидкое | Подкласс опасности 2В | Прогнозирование на основании имеющихся данных не представляется возможным |
| Аммония нитрат | 6484-52-2 | Неорганические соли | Твердое | Класс опасности 2[3)] | Прогнозирование на основании имеющихся данных не представляется возможным |

*Окончание таблицы В.1*

| Химическая продукция | Регистрационный номер CAS* | Класс химической продукции[1)] | Агрегатное состояние | Результат классификации по итогам исследований *in vivo*[2)] | Результат классификации по итогам исследований по методу ВСОР |
|---|---|---|---|---|---|
| ЭДТА, дикалиевая соль | 25102-12-9 | Амины, карбоновые кислоты (соли) | Твердая | Класс опасности отсутствует | Класс опасности отсутствует |
| Твин-20 | 9005-64-5 | Эфиры, полиэфиры | Жидкое | Класс опасности отсутствует | Класс опасности отсутствует |
| 2-Меркаптопиримидин | 1450-85-7 | Ацил-галоиды | Твердое | Класс опасности отсутствует | Класс опасности отсутствует |
| Фенилбутазон | 50-33-9 | Гетероциклическое соединение | Твердое | Класс опасности отсутствует | Класс опасности отсутствует |
| Полиоксиэтилена 23 лауриловый эфир (BRIJ-35) (10 %) | 9002-92-0 | Спирты | Жидкое | Класс опасности отсутствует | Класс опасности отсутствует |

* Сокращение: CAS — Реферативная служба по химии (Chemical Abstracts Service).

[1)] Соответствующий класс каждой исследуемой химической продукции присвоен на основе стандартной схемы классификации, которая реализована в системе классификации Национальной медицинской библиотеки США, принятой для медицинских предметных заголовков (Medicine Medical Subject Headings — MeSH) (доступна по адресу: gost.e-ecolog.ru ).

[2)] На основе результатов испытаний на глазу кролика *in vivo* [26] с учетом положений СГС ООН [4].

[3)] Присвоение подклассов опасности 2А или 2В зависит от интерпретации критериев согласно СГС ООН для различения этих двух подклассов опасности, т. е. от того, необходимо ли для присвоения подкласса опасности 2А подтверждать наличие деструктивных последствий на 7 день после проведения эксперимента у 1 из 3 или у 2 из 3 подопытных животных. Исследованиям *in vivo* подвергались 3 животных. Все показатели помимо покраснения конъюнктивы у одного из животных вернулись к норме на 7 день или ранее. Единственному животному, которое не смогло полностью восстановиться за 7 дней, был присвоен 1 балл по покраснению конъюнктивы (на 7 день), которое окончательно исчезло на 10 день.

[4)] При испытании 2,6-дихлорбензоила хлорида могут быть получены различающиеся результаты в разных лабораториях в зависимости от того, от какого поставщика он был получен, и их необходимо рассматривать с учетом положений сноски 2 настоящей таблицы.

**Приложение С**
**(справочное)**

## Держатель роговицы, используемый в методе BCOP

Держатели роговицы для метода BCOP изготавливаются из инертного материала (например, полипропилена). Держатель состоит из двух частей (передней и задней камеры), внутренние полости которых идентичны и имеют цилиндрическую форму. Каждая камера имеет вместимость около 5 мл, стеклянное окошко на торце, через которое выполняются измерения непрозрачности. Диаметр каждой камеры составляет 1,7 см, а глубина — 2,2 см[1)]. Уплотнительное кольцо, установленное в задней камере, предназначено для предотвращения утечек. Образцы роговицы, устанавливаемые в держатель, эндотелиальной поверхностью прилегают к уплотнительному кольцу задней камеры, в то время как эпителиальная поверхность роговицы находится в передней камере. Камеры удерживаются вместе тремя крепежными винтами из нержавеющей стали, отверстия для которых расположены на наружных краях камер. В торцевой части каждой камеры находится стеклянное окошко, которое может сниматься для обеспечения доступа к роговице. Место примыкания стеклянного окошка к камере также защищено от утечек уплотнительным кольцом. Два отверстия в верхней части каждой камеры предназначены для ввода в нее рабочей среды и исследуемой химической продукции. На время обработки и инкубации они закрываются резиновыми заглушками. Фактические условия прохождения света через держатели роговицы могут изменяться по причине старения и износа материалов держателей, в связи с накоплением во внутренних полостях камер остатков той или иной химической продукции либо за счет эффектов рассеяния и отражения в стеклянных окошках. Следствием этого может стать увеличение или уменьшение базовых значений светопропускания (а соответственно, базовых показаний при измерениях непрозрачности) при прохождении света через держатели роговицы, что может выражаться в заметном смещении результатов первичных измерений непрозрачности в некоторых камерах относительно ожидаемого базового уровня (т. е. исходные значения непрозрачности, получаемые в отдельно взятых камерах, могут систематическим образом отличаться более чем на 2 и 3 единицы непрозрачности от ожидаемых базовых значений). Каждая лаборатория должна изучить возможность разработки и реализации соответствующей программы по оцениванию изменений показателя светопропускания через держатели роговицы в зависимости от свойств исследуемой химической продукции и от интенсивности использования камер. С целью уточнения принятых базовых показателей держатели роговицы могут контролироваться перед их повседневным использованием путем измерения значений непрозрачности (или светопропускания) камер, наполненных полностью подготовленной средой, но без установленных образцов роговицы. Кроме того, держатели роговицы необходимо также контролировать на наличие изменений светопропускания периодически в процессе их эксплуатации. Каждая лаборатория может установить свой собственный график контроля состояния держателей роговицы с учетом вида исследуемой химической продукции, интенсивности эксплуатации держателей, а также результатов наблюдений за динамикой изменений исходных значений непрозрачности роговицы. При обнаружении отклонений значений светопропускания через держатели роговицы должен быть рассмотрен вопрос о тщательной очистке этих держателей и/или полировке их внутренних поверхностей или их замене.

---

[1)] Указанные размеры держателя предполагают использование образцов роговицы, отобранных у особей крупного рогатого скота в возрасте от 12 до 60 мес. В случае когда возраст подопытных животных насчитывает от 6 до 12 мес, устройство используемых держателей должно быть таким, чтобы вместимость каждой камеры составляла 4 мл, а внутренние размеры камер соответствовали 1,5 см в диаметре и 2,2 см в глубину. При необходимости разработки альтернативной конструкции держателей роговицы важно следить за тем, чтобы соотношение подвергающейся воздействию исследуемой химической продукции площади поверхности роговицы к вместимости задней камеры оставалось таким же, как и у держателей обычно используемой конструкции. Это необходимо для обеспечения правильного определения значений проницаемости, используемых для вычисления значений IVIS или LIS в соответствии с формулой, приведенной в настоящем стандарте.

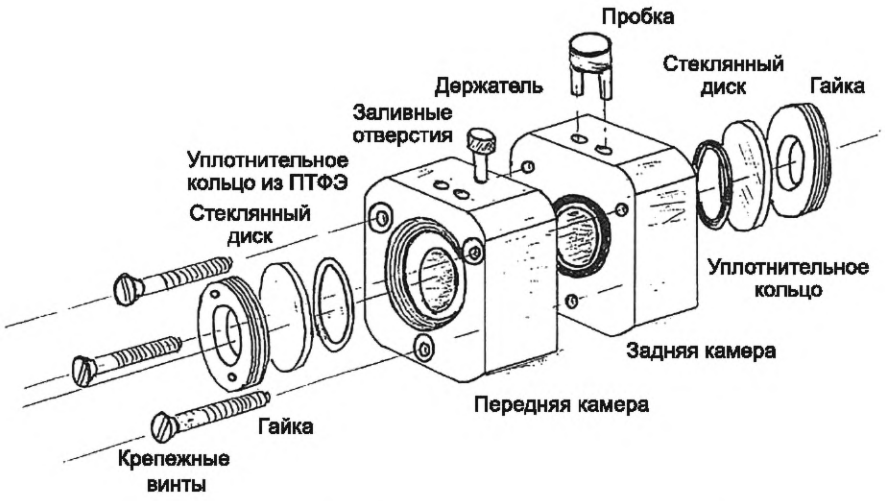


Рисунок С.1 — Держатель роговицы для метода ВСОР

## Приложение D
## (справочное)

## Денситометр

D.1 Денситометр — это прибор, служащий для измерения светопропускания. В широко распространенном приборе OP-KIT производства Electro Design (Рьом, Франция), который использовался при валидации метода BCOP, интенсивность света галогеновой лампы, проходящего через контрольное отделение (пустую ячейку, не имеющую окошек и не содержащую жидкости) и попадающего на светочувствительный элемент, сравнивается с интенсивностью света, проходящего через второе, измерительное отделение, с установленной в нем ячейкой, содержащей образец роговицы, и попадающего на другой светочувствительный элемент. Разница в светопропускании, улавливаемая светочувствительными элементами, измеряется электронным датчиком как перепад напряжения и преобразуется в числовое значение непрозрачности, которое выводится на цифровое показывающее устройство. Отсчет значений ведется в установленных единицах непрозрачности. Другой доступной разновидностью оборудования является оптический лазерный денситометр (LLBO) производства Peira Scientific Instruments (Берсе, Бельгия), который, как было установлено, обладает рабочими характеристиками, аналогичными характеристикам OP-KIT [23], [12]. В LLBO взамен источника обычного видимого света предусмотрено использование гелий-неонового зеленого лазера (HeNe) (класс IIa/3R). Лазер с рабочей длиной волны 543,5 нм и мощностью 10,0 мВт производит пучок когерентного случайным образом поляризованного излучения (0,81 мм) в зеленой области видимого спектра. Преимущество LLBO заключается в возможности оценивать светопропускание через всю поверхность роговицы, что в свою очередь позволяет более эффективно обнаруживать пятна помутнения, расположенные по периферии извлеченных образцов. Использование других типов денситометров, с иным принципом действия (например, таких, для которых не требуются параллельные измерения в контрольном и испытательном отделениях) считается допустимым, если доказано, что они обеспечивают получение результатов, аналогичных тем, которые могут быть получены на валидированном оборудовании.

D.2 Денситометр должен обеспечивать линейный отклик в диапазоне отображаемых значений непрозрачности, включающем предельные значения, предназначенные для присвоения различных классов опасности, описанных в модели построения прогнозов (т. е. вплоть до предельных значений, определяющих выраженную разъедающую/сильно раздражающую способность). В целях обеспечения линейности и точности показаний денситометра OP-KIT (Рьом, Франция) в интервале значений, достигающем 75—80 единиц непрозрачности, его подвергают калибровке с использованием ряда эталонов-калибраторов. Калибраторы помещают в калибровочную ячейку (ячейку для роговицы, в которой фиксируется калибратор) и считывают с денситометра значения их непрозрачности. Устройство калибровочной камеры должно быть таким, чтобы калибраторы в ней располагались приблизительно на таком же расстоянии от источника света и светочувствительного элемента, как и образцы роговицы при измерении их непрозрачности. Опорные значения и начальные установки выбирают исходя из типа используемого оборудования. Линейный характер измерений непрозрачности обеспечивают путем выполнения соответствующих (зависящих от конкретной модели прибора) процедур. Например, при использовании прибора OP-KIT производства Electro Design (Рьом, Франция) денситометр вначале калибруют по нулевому значению непрозрачности, используя пустую калибровочную ячейку без калибратора. После этого в калибровочную ячейку поочередно помещают три различных калибратора и измеряют их значения непрозрачности. При измерениях непрозрачности калибраторов 1, 2 и 3 должны быть получены значения, равные 75, 150 и 225 единицам непрозрачности соответственно, ±5 %. В случае прибора LLBO производства Peira Scientific Instruments (Берсе, Бельгия) его необходимо выдержать в течение 30 мин во включенном состоянии перед началом эксплуатации. Денситометр представляет собой однокамерную/однолучевую систему. Единицей измерения является люкс, единица освещенности в системе СИ. В фотометрии она используется как мера воспринимаемой интенсивности светового потока, падающего на известную поверхность или проходящего через нее, со значениями длины волны, взвешенными в соответствии с функцией освещенности стандартизованной модели восприятия яркости глазом человека [23], [12]. Исходные значения при проведении исследования устанавливают на уровне «2000 ± 20 люкс», поместив для этого пустой держатель роговицы в измерительную ячейку и наблюдая за показаниями измерителя освещенности. В дальнейшем прибор подвергают проверке каждый раз перед тем, как приступить к очередной серии измерений, чтобы убедиться в его безупречном функционировании и обеспечить получение достоверных результатов. Пригодность денситометра проверяют с использованием четырех стеклянных фильтров с нейтральной оптической плотностью (ОП 0,3; 0,6; 0,8 и 1,0), в соответствии с указаниями изготовителя. После проверки прибор готов к измерениям непрозрачности образцов роговицы, обработанных (или не обработанных) исследуемой химической продукцией. При измерениях пустой держатель заменяют держателем с закрепленным в нем образом роговицы, обработанным (или не обработанным) исследуемой химической продукцией, регистрируют измеренное значение, выраженное в люксах, затем устанавливают следующий держатель. После трехкратного выполнения измерений контролируют правильность показаний для значения «2000 люкс», используя пустой держатель роговицы, и в случае необходимости производят необходимые регулировки. После этого прибор снова готов к измерениям следующих трех образцов роговицы, установленных в держатели и обработанных (или не обработанных) исследуемой химической продукцией) [21], [23], [12].

Таблица D.1 — Характеристики денситометров OP-KIT и LLBO [11], [12], [21], [23]

| Оптический денситометр для измерений в видимой области спектра (OP-KIT) | Оптический лазерный денситометр (LLBO) |
|---|---|
| Белый (полихроматический) свет | Лазерный (монохроматический) свет |
| Два источника света с различным временем работы (двойной пучок) | Один источник света (одинарный пучок) |
| Центрально-взвешенное считывание | Анализ всей площади роговицы |
| Нелинейный характер измерений | Линейный характер измерений |
| — | Возможность регулировки ширины светового пучка |

**Приложение ДА**
**(справочное)**

## Сопоставление структуры настоящего стандарта со структурой примененного международного документа

Таблица ДА.1

| Структура настоящего стандарта | | | Структура международного документа OECD 437:2020 | |
|---|---|---|---|---|
| Разделы | Пункты | Перечисления | Пункты | Перечисления |
| Введение | | | 1, 2 | — |
| 1 | — | — | 3 | — |
| 2 | — | — | 4 | — |
| | 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 | — |
| | 2.20 | — | Приложение 1 | — |
| | 2.21 | — | Приложение 1 | — |
| | 2.22 | — | Приложение 1 | — |
| | 2.23 | — | Приложение 1 | — |
| | 2.24 | — | Приложение 1 | — |
| | 2.25 | — | Приложение 1 | — |
| | 2.26 | — | Приложение 1 | — |
| | 2.27 | — | Приложение 1 | — |
| | 2.28 | — | Приложение 1 | — |
| | 2.29 | — | Приложение 1 | — |
| | 2.30 | — | Приложение 1 | — |
| | 2.31 | — | Приложение 1 | — |
| | 2.32 | — | Приложение 1 | — |
| | 2.33 | — | Приложение 1 | — |
| | 2.34 | — | Приложение 1 | — |
| 3 | 3.1 | — | 5 | — |
| | 3.2 | — | 6 | — |
| | 3.3 | — | 7 | — |
| | 3.4 | — | 8 | — |
| | 3.5 | — | 9 | — |
| | 3.6 | — | 10 | — |
| | 3.7 | — | 11 | — |
| | 3.8 | — | 12 | — |

*Окончание таблицы ДА.1*

| Структура настоящего стандарта | | | Структура международного документа OECD 437:2020 | |
|---|---|---|---|---|
| Разделы | Пункты | Перечисления | Пункты | Перечисления |
| | 3.9 | — | 13 | — |
| 4 | | — | 14 | — |
| | | — | 15 | — |
| | 4.1.1 | — | 16 | — |
| | 4.1.2 | — | 17 | — |
| | 4.2.1 | — | 18 | — |
| | 4.2.2 | — | 19 | — |
| | 4.2.3 | — | 20 | — |
| | 4.3.1 | — | 21 | — |
| | 4.3.2 | — | 22 | — |
| | 4.3.3 | — | 23 | — |
| 5 | 5.1.1 | — | 24 | — |
| | 5.1.2 | — | 25 | — |
| | 5.1.3 | — | 26 | — |
| | 5.2.1 | — | 27 | — |
| | 5.2.2 | — | 28 | — |
| | 5.2.3 | — | 29 | — |
| | 5.2.4 | — | 30 | — |
| | 5.2.5 | — | 31 | — |
| | 5.2.6 | — | 32 | — |
| | 5.3.1 | — | 33 | — |
| | 5.3.2 | — | 34 | — |
| | 5.3.3 | — | 35 | — |
| | 5.4.1 | — | 36 | — |
| | 5.4.2 | — | 37 | — |
| | 5.4.3 | — | 38 | — |
| | 5.4.4 | — | 39 | — |
| | 5.4.5 | — | 40 | — |
| | 5.4.6 | — | 41 | — |
| | 5.5.1 | — | 42 | — |
| | 5.5.2 | — | 43 | — |
| | 5.5.3 | — | 44 | — |
| 6 | 6.1.1 | — | 45 | — |
| | 6.1.2 | — | 46 | — |
| | 6.1.3 | — | 47 | — |
| | 6.2 | — | 48 | — |
| | 6.3 | — | 49 | — |
| | 6.4 | — | 50 | — |
| | Приложение A | — | Приложение 2 | — |
| | Приложение B | — | Приложение 3 | — |
| | Приложение C | — | Приложение 4 | — |
| | Приложение D | — | Приложение 5 | — |
| Библиография | | | Литература | |

## Библиография


[1] ICCVAM (2006). Test Method Evaluation Report — In Vitro Ocular Toxicity Test Methods for Identifying Ocular Severe Irritants and Corrosives. Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (ICCVAM) and the National Toxicology Program (NTP) Interagency Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods (NICEATM). NIH Publication №:07-4517. Available: [gost.e-ecolog.ru ] (Отчет об оценке методов исследований. Методы анализа офтальмологической токсичности in vitro для определения веществ, вызывающих серьезное раздражение и разъедание глаз)

[2] ICCVAM (2010). ICCVAM Test Method Evaluation Report: Current Validation Status of In Vitro Test Methods Proposed for Identifying Eye Injury Hazard Potential of Chemicals and Products. NIH Publication № 10-7553. Research Triangle Park, NC:National Institute of Environmental Health Sciences. Available: [gost.e-ecolog.ru nih.gov/methods/ocutox/MildMod-TMER.htm] (Отчет об оценке методов исследований. Текущий статус валидации предлагаемых методов исследований in vitro для определения потенциальной опасности повреждения глаз при воздействии химическими веществами и продукцией

[3] OECD (2013). Streamlined Summary Document supporting the Test Guideline 437 for eye irritation/corrosion. Series on Testing and Assessment, No.189, OECD, Paris (Оптимизированный обобщающий вспомогательный документ к Руководству по проведению испытаний 437 для определения раздражающего/разъедающего воздействия на глаза)

[4] UN (2011). United Nations Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS), ST/SG/AC.10/30 Rev 4, New York and Geneva: United Nations. Available: [gost.e-ecolog.ru ghs/ghs_rev04/04files_e.html] (Согласованная на глобальном уровне система классификации и маркировки химической продукции (СГС) Организации Объединенных Наций. Четвертое издание)

[5] OECD (2002). Test Guideline 405. OECD Guideline for Testing of Chemicals. Acute eye irritation/corrosion. Available: [gost.e-ecolog.ru ] (Руководство по проведению испытаний 405. Руководство по проведению испытаний химической продукции. Острое раздражение/разъедание глаз)

[6] Scott, L., Eskes, C., Hoffmann, S., Adriaens, E., Alépée, N., Bufo, M., Clothier, R., Facchini, D., Faller, C., Guest, R., Harbell, J., Hartung, T., Kamp, H., Le Varlet, B., Meloni, M., McNamee, P., Osborne, R., Pape, W., Pfannenbecker, U., Prinsen, M., Seaman, C., Spielman, H., Stokes, W., Trouba, K., Van den Berghe, C., Van Goethem, F., Vassallo, M., Vinardell, P., and Zuang, V. (2010). A proposed eye irritation testing strategy to reduce and replace in vivo studies using Bottom-Up and Top-Down approaches. Toxicol. in Vitro 24:1-9 (Предлагаемая стратегия проведения испытаний на раздражение глаз, позволяющая ограничить или исключить необходимость исследований in vivo и предусматривающая реализацию восходящего и нисходящего подходов)

[7] OECD (2017). Guidance Document on an Integrated Approaches on Testing and Assessment for Serious Eye Damage and Eye irritation. Series on Testing and Assessment No.263. ENV Publications, Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris (Руководящий документ по интегрированным подходам к испытаниям и оценке серьезного повреждения глаз и раздражения глаз. Серия по испытаниям и оценке № 263)

[8] ICCVAM (2006). ICCVAM Recommended BCOP Test Method Protocol. In: ICCVAM Test Method Evaluation Report — In Vitro Ocular Toxicity Test Methods for Identifying Ocular Severe Irritants and Corrosives. Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (ICCVAM) and the National Toxicology Program (NTP) Interagency Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods (NICEATM). NIH Publication №.: 07-4517. Available: [gost.e-ecolog.ru ] (Рекомендованный ICCVAM протокол проведения исследования по методу BCOP. Опубликовано в: Отчет об оценке методов исследований. Методы анализа офтальмологической токсичности in vitro для определения веществ, вызывающих серьезное раздражение и разъедание глаз)

[9] ICCVAM (2010). ICCVAM Recommended BCOP Test Method Protocol. In: ICCVAM Test Method Evaluation Report — Current Validation Status of In Vitro Test Methods Proposed for Identifying Eye Injury Hazard Potential of Chemicals and Products. Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (ICCVAM) and the National Toxicology Program (NTP) Interagency Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods (NICEATM). NIH Publication №.: 10-7553A. Available: [gost.e-ecolog.ru MildMod-TMER.htm] (Рекомендованный ICCVAM протокол проведения исследований по методу BCOP. Опубликовано в: Отчет об оценке методов исследований. Текущий статус валидации предлагаемых методов исследований in vitro для определения потенциальной опасности повреждения глаз при воздействии химическими веществами и продукцией)

[10] INVITTOX (1999). Protocol 124: Bovine Corneal Opacity and Permeability Assay — SOP of Microbiological Associates Ltd. Ispra, Italy: European Centre for the Validation of Alternative Methods (ECVAM) (Протокол 124. Анализ помутнения и проницаемости роговицы глаз крупного рогатого скота)

[11] Gautheron, P., Dukic, M., Alix, D. and Sina, J.F. (1992). Bovine corneal opacity and permeability test: An in vitro assay of ocular irritancy. Fundam. Appl. Toxicol. 18:442-449 (Исследование помутнения и проницаемости роговицы глаз крупного рогатого скота. Анализ способности вызывать раздражение глаз in vitro)

[12] Adriaens, E., Verstraelen, S., et al Van Rompay, A.R., (2020). Overall performance of Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP) Laser Light-Based Opacitometer (LLBO) test method with regard to solid and liquid chemicals testing, Manuscript under preparation (Общая эффективность применения метода исследования помутнения и проницаемости роговицы глаз крупного рогатого скота (BCOP) при использовании лазерного оптического денситометра (LLBO) при испытаниях жидкой и твердой химической продукции. Рукопись готовится к публикации)

[13] Barroso J., Pfannenbecker U., Adriaens E., Alépée N., Cluzel M., De Smedt A., Hibatallah J., Klaric M., Mewes K.R., Millet M., Templier M., McNamee P. (2017). Cosmetics Europe compilation of historical serious eye damage/eye irritation in vivo data analysed by drivers of classification to support the selection of chemicals for development and evaluation of alternative methods/strategies: the Draize eye test Reference Database (DRD). Archives of Toxicology 91, 521-547 (Подборка данных Cosmetics Europe за истекший период, посвященная серьезному повреждению/раздражению глаз in vivo и подготовленная по итогам анализа, проведенного разработчиками системы классификации с целью выбора химических веществ, используемых при разработке и оценивании альтернативных методов/стратегий. Эталонная база данных для глазного теста Дрейза (DRD))

[14] Prinsen, M.K. (2006). The Draize Eye Test and in vitro alternatives; a left-handed marriage? Toxicol. in Vitro 20:78-81 (Глазной тест Дрейза и его альтернативы in vitro. Неравные преимущества?)

[15] Kolle S.N., Moreno, M.C.R., Mayer, W., van Cott, A., van Ravenzwaay, B., Landsiedel, R. (2015). The EpiOcular™ Eye Irritation Test is the Method of Choice for In vitro Eye Irritation Testing of Agrochemical Formulations: Correlation Analysis of EpiOcular™ Eye Irritation Test and BCOP Test Data to UN GHS, US EPA and Brazil ANIVSA Classifications. ATLA 43, 1-18 (Метод испытаний EpiOcular™ как предпочтительный метод исследования агрохимической продукции на способность оказывать раздражающее действие на глаза. Корреляционный анализ данных, полученных с применением метода EpiOcular™ и метода BCOP, при проведении классификации в соответствии с требованиями СГС ООН, US EPA и Brazil ANIVSA)

[16] Siegel, J.D., Rhinehart, E., Jackson, M., Chiarello, L., and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (2019). Guideline for Isolation Precautions: Preventing Transmission of Infectious Agents in Healthcare Settings. Available: [gost.e-ecolog.ru ] (Руководство по мерам предосторожности при отборе образцов. Предотвращение переноса возбудителей инфекционных заболеваний в медицинских учреждениях)

[17] Maurer, J.K., Parker, R.D. and Jester, J.V. (2002). Extent of corneal injury as the mechanistic basis for ocular irritation: key findings and recommendations for the development of alternative assays. Reg. Tox. Pharmacol. 36:106-117 (Степень повреждения роговицы как механистическая основа раздражения глаз. Ключевые наблюдения и рекомендации для разработки альтернативных методов испытаний)

[18] OECD (2011). Guidance Document on The Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP) and Isolated Chicken Eye (ICE) Test Methods: Collection of Tissues for Histological Evaluation and Collection of Data on Non-severe Irritants. Series on Testing and Assessment, №. 160. Adopted October 25, 2011. Paris: Organisation for Economic Co-operation and Development (Руководящий документ по применению метода исследования помутнения и проницаемости роговицы глаза (BCOP) и метода исследования на извлеченных образцах глаз курицы (ICE))

[19] Doughty, M.J., Petrou, S. and Macmillan, H. (1995). Anatomy and morphology of the cornea of bovine eyes from a slaughterhouse. Can. J. Zool. 73:2159-2165 (Анатомия и морфология образцов роговицы глаз крупного рогатого скота, отбираемых на бойне)

[20] Collee, J. and Bradley, R. (1997). BSE: A decade on — Part I. The Lancet 349: 636-641 (КГЭ: десятилетие спустя. Часть I)

[21] Van Goethem, F., Hansen, E., Sysmans, M., De Smedt, A., Vanparys, P., Van Gompel, J. (2010). Development of a new opacitometer for the bovine corneal opacity and permeability (BCOP) assay. Toxicol. In Vitro 24:1854-1861 (Разработка нового оптического денситометра для определения непрозрачности и проницаемости роговицы глаз крупного рогатого скота (BCOP))

[22] Verstraelen, S., Jacobs, A., De Wever, B., Vanparys, P. (2013). Improvement of the Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP) assay as an in vitro alternative to the Draize rabbit eye irritation test. Toxicol. In Vitro 27: 1298-1311 (Усовершенствование метода исследования непрозрачности и проницаемости роговицы глаз крупного рогатого скота in vitro в качестве альтернативы тесту Дрейза на раздражение глаз у кроликов)

[23] Schrage, A., Kolle, S. N., Moreno, M. C. R., Norman, K., Raabe, H., Curren, R., Landsiedel, R. (2011). The Bovine Corneal Opacity and Permeability Test in Routine Ocular Irritation Testing and its Improvement within the Limits of OECD Test Guideline 437. Alternatives to Laboratory Animals, 39(1), 37-53. gost.e-ecolog.ru org/10.1177/026119291103900119 (Применение метода исследования непрозрачности и проницаемости роговицы глаз крупного рогатого скота при проведении регулярных испытаний на раздражение глаз и его усовершенствование в соответствии с положениями Руководства ОЭСР по проведению испытаний 437)

[24] Sina, J.F., Galer, D.M., Sussman, R.S., Gautheron, P.D., Sargent, E.V., Leong, B., Shah, P.V., Curren, R.D., and Miller, K. (1995). A collaborative evaluation of seven alternatives to the Draize eye irritation test using pharmaceutical intermediates. Fundam. Appl. Toxicol. 26:20-31 (Совместная оценка семи методов исследований, альтернативных тесту Дрейза на раздражение глаз, с использованием промежуточных фармацевтических материалов)

[25] Van Rompay, A.R, Adriaens, E.,., et al., Verstraelen, S. (2019). Multi-laboratory validation of Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP) Laser Light-Based Opacitometer (LLBO) test method regarding solid and liquid chemicals testing, Manuscript under preparation (Межлабораторная валидация метода исследования помутнения и проницаемости роговицы глаз крупного рогатого скота (BCOP) с применением лазерного оптического денситометра (LLBO) при испытаниях жидкой и твердой химической продукции. Рукопись готовится к публикации)

[26] OECD (2017). Test Guideline 405. OECD Guideline for Testing of Chemicals. Acute eye irritation/corrosion. Available: [gost.e-ecolog.ru ] (Руководство по проведению испытаний 405. Руководство по проведению испытаний химической продукции. Острое раздражение/разъедание глаз)

[27] ICCVAM (2006). Current Status of In Vitro Test Methods for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants: Bovine Corneal Opacity and Permeability Test Method. NIH Publication No.: 06-4512. Research Triangle Park: National Toxicology Program. Available: [gost.e-ecolog.ru htm] (Текущий статус методов исследований in vitro для определения веществ, вызывающих разъедание и серьезное раздражение глаз. Метод исследования помутнения и проницаемости роговицы глаз крупного рогатого скота)

УДК 661:615.099:006.354 МКС 71.040.10; 13.020.01 MOD

Ключевые слова: химическая продукция, роговица глаза крупного рогатого скота, токсическое воздействие на роговицу, раздражающая способность *in vitro*

Редактор *Г.Н. Симонова*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *О.В. Лазарева*
Компьютерная верстка *М.В. Малеевой*

Сдано в набор 17.11.2023. Подписано в печать 29.11.2023. Формат 60×84⅛. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 4,18. Уч.-изд. л. 3,55.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении в ФГБУ «Институт стандартизации»
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 34722—2021 Методы испытаний по воздействию химической продукции на организм человека. Метод исследований помутнения и проницаемости роговицы крупного рогатого скота для определения химической продукции, вызывающей серьезное повреждение глаз, и химической продукции, не требующей классификации опасности как вызывающей раздражение или серьезное повреждение глаз**

| В каком месте | Напечатано | Должно быть | | |
|---|---|---|---|---|
| Предисловие. Таблица согласования | — | Армения | AM | ЗАО «Национальный орган по стандартизации и метрологии» Республики Армения |

(ИУС № 7 2024 г.)

**Поправка к ГОСТ 34722—2021 Методы испытаний по воздействию химической продукции на организм человека. Метод исследований помутнения и проницаемости роговицы крупного рогатого скота для определения химической продукции, вызывающей серьезное повреждение глаз, и химической продукции, не требующей классификации опасности как вызывающей раздражение или серьезное повреждение глаз**

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

(ИУС № 6 2024 г.)

gost.e-ecolog.ru