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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 34554— 2019

МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЯ ПО ВОЗДЕЙСТВИЮ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА

Испытания по оценке репродуктивной токсичности двух поколений

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2019

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и общие правила проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Федеральным государственным унитарным предприятием «Российский научно-технический центр информации по стандартизации, метрологии и оценке соответствия» (ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ») на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии документа, указанного в пункте 4

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 30 июля 2019 г. № 120-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 8 августа 2019 г. № 472-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 34554—2019 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июня 2020 г.

5 Настоящий стандарт является модифицированным по отношению к международному документу OECD Test № 416:2001 «Руководство по испытанию химических веществ. Исследование репродуктивной токсичности на двух поколениях» («Guideline for testing of chemicals. Two-generation reproduction toxicity study», MOD), путем:

- включения в текст стандарта дополнительных фраз, выделенных курсивом;
- изменения структуры документа для приведения в соответствие с ГОСТ 1.5 (подраздел 3.1).

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

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

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»

© Стандартинформ, оформление, 2019

В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содежание

1 Область применения 1
2 Правила исследования 1
3 Описание метода/подготовка к исследованию 2
4 Процедура исследования 2
5 Процедура спаривания 5
6 Наблюдения 5
7 Гистопатологическое исследование 8
8 Данные и отчетность 9
9 Отчет об исследовании 10
10 Интерпретация полученных результатов 11
Приложение ДА (справочное) Сопоставление структуры настоящего стандарта со структурой примененного в нем международного документа 12
Библиография 14

Введение

В Копенгагене в июне 1995 г. Рабочая группа OECD по репродуктивной и эмбриональной токсичности обсуждала необходимость актуализации существующих руководств OECD по репродуктивной и эмбриональной токсичности и разработке новых руководств по конечным точкам исследования. Рабочая группа рекомендовала пересмотр руководства по исследованию репродуктивной токсичности на двух поколениях, с учетом предложений, полученных из США и Германии. Рабочая группа достигла соглашения по всем основным элементам пересмотренного варианта настоящего руководства [1].

МКС 75.080
11.020
11.120.01

Поправка к ГОСТ 34554—2019 Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Испытания по оценке репродуктивной токсичности двух поколений

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

(ИУС № 8 2020 г.)

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

МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЯ ПО ВОЗДЕЙСТВИЮ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА

Испытания по оценке репродуктивной токсичности двух поколений

Methods of testing the chemicals of human hazard.
Tests for the estimation of reproductive toxicity of two generations

Дата введения — 2020—06—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает порядок проведения исследований репродуктивной токсичности на двух поколениях лабораторных животных с целью представления общей информации по воздействию исследуемого вещества на состояние и функционирование мужской и женской репродуктивных систем, включая функцию гонад, овариальный цикл, сексуальное поведение, зачатие, беременность, роды, лактацию и вскармливание, рост и развитие потомства.

Настоящий стандарт предназначен для получения информации о влиянии исследуемого вещества на неонатальную заболеваемость, смертность и предварительных данных о токсичности при пренатальном и постнатальном развитии. Настоящий стандарт предназначен для изучения роста и развития животных поколения F1, а также для оценки сохранности и работоспособности мужской и женской репродуктивных систем, роста и развития поколения F2. Дополнительная информация по эмбриональной токсичности и функциональным нарушениям может быть получена с помощью дополнительных исследований, которые могут быть включены в рассматриваемый план исследования с учетом руководств по эмбриональной токсичности и/или эмбриональной нейротоксичности, или при отдельном изучении данных параметров с учетом соответствующих руководств.

2 Правила исследования

2.1 Исследуемое вещество вводят в ступенчато увеличиваемых дозах нескольким группам животных мужского и женского полов. Самцы поколения Р (родительское) для обнаружения какого-либо нежелательного эффекта на сперматогенез должны получать вещество в процессе роста и в течение одного полного цикла сперматогенеза (приблизительно 56 дней для мышей и 70 дней для крыс). Влияние на сперму определяется по ряду параметров спермы (например, морфология спермы и подвижность сперматозоидов) и с помощью тщательной гистопатологии препаратов ткани. Если данные по сперматогенезу получены в ранее проведенном исследовании с многократным введением вещества в течение достаточного периода времени, например при 90-дневном исследовании, то самцов поколения Р можно не включать в план данного исследования. Однако рекомендуется организовать хранение образцов или цифровых изображений спермы поколения Р для возможности последующего изучения. Самки поколения Р должны получать исследуемое вещество в процессе роста и на протяжении нескольких полных овариальных циклов, чтобы обнаружить какой-либо нежелательный эффект исследуемого вещества на нормальное течение овариального цикла. Исследуемое вещество вводится первому (родительскому Р) поколению животных во время периода спаривания, в течение последующей беременности и на протяжении вскармливания их потомства, поколения F1. После вскармливания введение исследуемого вещества продолжается у животных поколения F1 в течение их роста до взросления, спаривания, получения поколения F2 и в период вскармливания поколения F2.

Издание официальное

2.2 Клинические наблюдения и патологические исследования проводят на всех животных с признаками токсических эффектов, уделяя особое внимание обнаружению влияния на состояние и функционирование мужской и женской репродуктивных систем, росту и развитию их потомства.

3 Описание метода/подготовка к исследованию

3.1 Выбор вида животных

Наиболее подходящим видом животных для данного исследования являются крысы. При использовании других видов животных необходимо обосновать сделанный выбор и внести соответствующие изменения в план исследования. Не следует использовать в исследовании виды животных с низкой плодовитостью или хорошо известной высокой вероятностью врожденных пороков развития. На начало исследования вариабельность массы тела лабораторных животных должна быть минимальной и не превышать 20 % от средней массы тела животных обоих полов.

3.2 Условия содержания и кормления

3.2.1 Температура в помещении для содержания лабораторных животных должна составлять (22 ± 3) °С. Несмотря на то, что относительная влажность должна быть не менее 30 % и желательно не превышать 70 %, за исключением периодов уборки помещения, оптимальной является влажность от 50 % до 60 %. Освещение должно быть искусственным, с чередованием периодов — 12 ч света и 12 ч темноты. Для кормления может быть использован стандартный лабораторный корм с неограниченной подачей питьевой воды. Выбор корма зависит от возможности его приемлемого смешивания с исследуемым веществом, если введение вещества осуществляют вместе с кормом.

3.2.2 Животные могут содержаться в отдельных клетках или небольшими группами одного пола. Процедуры спаривания следует проводить в клетках, соответствующих этой процедуре. После получения доказательства копуляции осемененные самки должны содержаться в индивидуальных клетках или клетках для беременных животных. Также животные могут содержаться небольшими группами и разделяться за один или два дня до родов. Лабораторные животные перед родами должны быть обеспечены достаточным количеством соответствующего подстилочного материала для построения гнезда.

3.3 Подготовка животных

3.3.1 В исследовании следует использовать здоровых молодых животных, которые прошли период адаптации к лабораторным условиям не менее пяти дней и ранее не подвергались другим экспериментальным процедурам. Должны быть описаны характерные признаки и особенности лабораторных животных с указанием биологического вида, породы, источника происхождения, пола, массы тела и/или возраста. Должны быть известны родственные отношения между включенными в исследование животными, чтобы исключить спаривание животных одного помета. Животных в произвольном порядке распределяют в контрольную и подопытные группы (рекомендуется метод стратификации по массе тела). Клетки должны быть размещены таким образом, чтобы свести к минимуму возможные эффекты, связанные с их расположением. Каждому животному должен быть присвоен индивидуальный идентификационный номер. Животным поколения Р номер должен быть присвоен до начала введения исследуемого вещества. Идентификацию животных поколения F1, предназначенных для последующего спаривания, проводят при отъеме особей от материнского питания. Записи о происхождении потомков должны быть сохранены для всех выбранных животных поколения F1. Дополнительно рекомендуется идентификация всех животных помета сразу после рождения, если план исследования предусматривает индивидуальное взвешивание или проведение функциональных исследований.

3.3.2 На начало исследования возраст животных поколения Р должен составлять от пяти до девяти недель. По возможности животные во всех подопытных группах должны быть одного возраста и одинаковой массы тела.

4 Процедура исследования

4.1 Число и пол животных

Каждая подопытная и контрольная группы должны содержать число животных, достаточное для получения не менее 20 беременных самок, достигших родов. При испытании веществ, вызывающих

нежелательные эффекты (например, стерилизация, повышенная токсичность при высокой дозе) это может быть недостижимо. Основная задача — получить достаточное количество беременных животных для обеспечения объективной оценки возможного влияния вещества на репродуктивную функцию, беременность, материнское поведение и вскармливание, рост и развитие поколения F1 от зачатия до полового созревания и развитие их потомства (поколения F2) до окончания грудного вскармливания. В случае невозможности получения желаемого числа беременных самок (т. е. не менее 20) не обязательно прекращать исследование, и каждый конкретный случай должен оцениваться отдельно.

4.2 Подготовка вещества для введения

4.2.1 исследуемое вещество вводится перорально (с пищей, питьевой водой или через желудочный зонд). При необходимости допустимы другие пути введения вещества (например, через кожу или ингаляционно). Пероральный путь введения вещества является предпочтительным.

4.2.2 При необходимости исследуемое вещество растворяют или суспендируют в подходящем растворителе (носителе). Рекомендуется по возможности сначала использовать водные растворы/суспензии, далее рассматривают возможность использования масляных растворов/эмульсий (например, с кукурузным маслом), а затем возможность приготовления раствора с использованием других растворителей. Для растворителей, отличных от воды, должны быть известны токсичные характеристики носителя. Должна быть подтверждена стабильность исследуемого вещества в растворителе.

4.3 Выбор дозы

4.3.1 В план исследования должны быть включены не менее трех уровней доз с параллельным контролем. При отсутствии ограничения по физико-химическому или биологическому воздействию исследуемого вещества следует выбирать максимальный уровень дозы для достижения токсического воздействия, который не должен быть летальным и не вызывать тяжелых страданий. При неожиданной гибели животных допустимыми считают исследования с уровнем смертности первого поколения P не более 10 %. Следует выбрать нисходящую последовательность уровней дозы с целью обнаружения любого эффекта, связанного с дозировкой, и уровня без наблюдаемых токсических эффектов (NOAEL) или дозы, близкие к пределу обнаружения, которые позволяют определить ориентировочную дозу. Обычно оптимальным считается 2—4-кратный интервал для установки уровней нисходящей дозы, и дополнительно для 4-й подопытной группы рекомендуется использовать бóльший интервал (например, более чем десятикратное уменьшение) между дозами. Для исследований, в которых вещество смешивают с кормом, интервал между дозами не должен превышать трехкратную дозу. Уровень доз следует выбирать с учетом имеющихся токсикологических данных, в частности, результатов исследований с многократным введением вещества. Должна быть учтена любая имеющаяся информация о метаболизме и кинетике исследуемого вещества или родственных веществ. Кроме того, такая информация также будет полезна для демонстрации адекватности выбранного режима введения доз.

4.3.2 Контрольная группа должна состоять из животных, не получающих исследуемое вещество или получающих только растворитель, если растворитель используют для введения исследуемого вещества. За исключением введения исследуемого вещества, животные контрольной группы должны подвергаться всем тем же процедурам, что и животные подопытных групп. При использовании растворителя контрольная группа должна получать растворитель в максимально используемом объеме. Если исследуемое вещество вводится вместе с кормом и вызывает снижение потребления или использования корма, то может потребоваться использование спаренной контрольной группы. Могут быть использованы альтернативные данные из контролируемых исследований, проведенных для оценки влияния снижения потребления пищи на параметры репродуктивности, вместо соответствующей спаренной контрольной группы, получающей одинаковое питание.

4.3.3 Должны быть учтены следующие свойства растворителя и других добавок: влияние на абсорбцию, распределение, метаболизм или сохранение исследуемого вещества; влияние на химические свойства исследуемого вещества, приводящее к изменению его токсикологических характеристик; влияние на потребление пищи или воды или состояние упитанности животных.

4.4 Испытание на предельную дозу

Если введение в желудок одной суточной дозы, эквивалентной не менее 1000 мг/кг массы тела, с кормом или питьевой водой, с использованием процедур настоящего исследования, не вызывает наблюдаемых токсических эффектов и на основании данных о структурно и/или метаболически род-

ственных соединениях токсичность не предполагается, то полное исследование с использованием нескольких уровней дозы может не считаться необходимым. Испытание на предельную дозу применяют, кроме случаев, когда воздействие на человека показывает необходимость использования более высокой дозы при внутрижелудочном введении. При использовании других способов введения, таких как ингаляция или нанесение на кожу, предельная доза часто зависит от физико-химических свойств исследуемого вещества, например растворимости.

4.5 Введение доз

4.5.1 Животные должны получать исследуемое вещество в течение семи дней в неделю. Предпочтительным является введение в желудок (с кормом, питьевой водой или желудочным зондом). Использование другого способа введения должно быть обосновано, и могут потребоваться соответствующие изменения.

Все животные должны получать вещество одинаковым способом в течение соответствующего периода проведения эксперимента. При введении исследуемого вещества через желудочный зонд следует использовать соответствующий желудочный катетер. Объем жидкости, вводимой за один раз, не должен превышать 1 мл/100 г массы тела животного (для кукурузного масла максимальный объем — 0,4 мл/100 г массы тела), за исключением водных растворов, которые могут вводиться в объеме 2 мл/100 г массы тела. Для обеспечения постоянного объема для всех уровней доз вариабельность вводимого объема должна быть сведена к минимуму путем корректировки концентраций, за исключением раздражающих или разъедающих веществ, у которых, как правило, наблюдаются выраженные токсические эффекты при повышенных концентрациях. При использовании желудочного зонда потомство обычно получает исследуемое вещество опосредованно через молоко до момента прямого введения после прекращения грудного вскармливания. При введении вещества с кормом или водой потомство, как правило, будет дополнительно получать исследуемое вещество, когда они начнут кормиться самостоятельно в последнюю неделю периода лактации.

Допускается при введении исследуемых веществ с помощью желудочного зонда ограничить животных в пище и воде (крыс не кормить с вечера и не поить за три-четыре часа перед введением). После голодания необходимо взвесить животных, затем ввести исследуемое вещество. После введения препарата крыс не кормить и не поить три-четыре часа. Если дозу вводят порционно, в зависимости от времени ее введения животным может потребоваться корм или вода.

4.5.2 При введении веществ с кормом или питьевой водой важно обеспечить отсутствие влияния количества исследуемого вещества на нормальное питание или водный баланс у животных. При введении вещества с кормом используют постоянную концентрацию вещества в корме (ppm) или постоянное соотношение уровня дозы с массой тела животных; использование альтернативных способов должно быть зафиксировано. При введении исследуемого вещества через желудочный зонд дозу следует вводить каждый день в одно время и еженедельно корректировать для обеспечения постоянного соотношения уровня дозы и массы тела животного. При расчете дозы, вводимой через зонд, по отношению к массе тела животного, необходимо учитывать информацию о плацентарном распределении.

4.6 Графики эксперимента

4.6.1 Ежедневное введение исследуемого вещества самкам и самцам первого поколения лабораторных животных P начинают в возрасте от пяти до девяти недель. Ежедневное введение самкам и самцам поколения F1 начинают после прекращения грудного вскармливания; следует помнить, что в случае введения вещества с пищей или питьевой водой прямое воздействие на потомство поколения F1 уже происходило на протяжении периода лактации. Для животных обоих полов (поколений P и F1) введение исследуемого вещества следует проводить на протяжении не менее 10 недель до начала периода спаривания. Затем введение самцам и самкам продолжают на протяжении двухнедельного периода спаривания. После этого, если самцы больше не требуются для оценки действия исследуемого вещества на репродуктивную систему, они подвергаются эвтаназии гуманным способом и патологическому исследованию. Самкам поколения P вещество продолжают вводить на протяжении периода беременности и до окончания грудного вскармливания потомства поколения F1. Следует рассмотреть необходимость внесения изменения в график дозирования на основе имеющейся информации об исследуемом веществе, включая имеющиеся токсикологические данные, данные о метаболизме или биоаккумуляции вещества. Доза, вводимая каждому животному, как правило, основана на самом последнем определении массы тела животного. Однако следует соблюдать осторожность при корректировке дозы в течение последнего триместра беременности.

4.6.2 Введение вещества животным поколений Р и F1 должно продолжаться до прекращения исследования. Все животные этих поколений должны быть умерщвлены гуманным способом после прекращения периода наблюдения за влиянием исследуемого вещества на репродуктивную функцию. Животные поколения F1, не отобранные для спаривания, и все животные поколения F2 должны быть умерщвлены гуманным способом после окончания периода грудного вскармливания.

5 Процедура спаривания

5.1 Спаривание животных поколения Р

Для каждого спаривания самку и самца с одинаковым уровнем дозы (спаривание 1:1) помещают в одну клетку до достижения копуляции или до истечения двух недель. Каждый день самок осматривают на наличие следов спермы или вагинальной пробки. День беременности нулевой определяют как день обнаружения вагинальной пробки или следов спермы. Если спаривание не произошло, можно предпринять процедуру повторного спаривания самок с выбранными самцами-производителями из той же группы. Спарившиеся пары должны быть четко идентифицированы в документации. Следует избегать спаривания животных из одного помета.

5.2 Спаривание животных поколения F1

5.2.1 Для получения потомства поколения F2 из животных поколения F1 выбирают по крайней мере одного самца и одну самку из каждого помета на момент прекращения грудного вскармливания для спаривания с потомством из другого помета, но с тем же уровнем дозы. Выбор потомства из каждого помета должен осуществляться случайным образом при отсутствии значительных различий по массе тела или внешнему виду потомства в помете. При обнаружении таких различий следует отобрать лучших представителей из каждого помета. На практике лучшим критерием отбора является масса тела, но допускается также проводить отбор по внешнему виду. Поколение F1 не следует спаривать до достижения полного полового созревания.

5.2.2 Пары без потомства следует исследовать для определения причин бесплодия. Оценка может включать в себя такие процедуры, как дополнительные возможности для спаривания с другими проверенными самцами-производителями или плодовитыми самками, микроскопическое исследование репродуктивных органов, изучение овариальных циклов или сперматогенеза.

5.3 Второе спаривание

В некоторых случаях, например при связанном с действием исследуемого вещества изменении размера помета или наблюдении непонятного эффекта при первом спаривании, рекомендуется провести второе спаривание животных поколения Р или F1 для получения второго помета. Для второго спаривания рекомендуется использовать самок или самцов, у которых не было помета с проверенными производителями противоположного пола. Если получение второго помета признано необходимым в любом из поколений, то животных следует спаривать приблизительно через неделю после прекращения грудного вскармливания последнего помета.

5.4 Размер помета

Допускается сохранять у животных весь помет и уход за потомством до окончания грудного вскармливания. Стандартизация размера помета не является необходимой. При проведении стандартизации используемый метод должен быть подробно описан.

6 Наблюдения

6.1 Клинические наблюдения

Общее клиническое наблюдение за животными проводят каждый день, при использовании желудочного зонда и при выборе времени проведения процедуры должен учитываться ожидаемый пиковый период эффекта после введения исследуемого вещества. Следует регистрировать изменения поведенческих реакций, признаки тяжелых или затяжных родов и все проявления токсических эффектов. Дополнительно более детальный осмотр каждого животного следует проводить не реже одного раза в неделю и его удобно совмещать с процедурой взвешивания. Дважды в день в рабочие дни и один раз в

день в выходные дни, если возможно, все животные должны быть проверены на наличие заболеваний или гибель.

Животных, обнаруженных в предсмертном состоянии и/или демонстрирующих сильные боли и признаки тяжелых мучений (в том числе не способных потреблять корм и воду), с резким снижением массы тела (более 10 % в сутки), следует умерщвлять гуманным способом.

6.2 Масса тела и потребление корма/воды животными, приносящими потомство

Животных, приносящих потомство (поколения Р и F1), следует взвешивать в первый день начала введения исследуемого вещества и не менее одного раза в неделю в течение всего исследования. Самок этих поколений животных следует взвешивать как минимум в следующие дни беременности — 7, 14 и 20 или 21, а также в течение периода лактации одновременно со взвешиванием потомства и в день эвтаназии. Данные наблюдений следует регистрировать индивидуально для каждого взрослого животного. Во время спаривания и беременности измеряют потребление корма не менее одного раза в неделю. Потребление воды измеряют не менее одного раза в неделю, если исследуемое вещество вводят вместе с водой.

При введении исследуемого вещества с кормом или водой следует отслеживать их потребление ежедневно. При других способах введения во время спаривания и в период беременности потребление корма и воды измеряют не реже одного раза в неделю.

6.3 Овариальный цикл

Длительность и нормальность овариального цикла оценивают у самок поколений Р и F1 по вагинальному мазку до начала спаривания, и при необходимости, во время спаривания, до получения признаков спаривания. При получении образцов клеток вагины/шейки матки необходимо соблюдать осторожность для предотвращения повреждения слизистой и, как следствие, вызывания ложной беременности [2].

6.4 Характеристики спермы

6.4.1 У всех самцов поколений Р и F1 после эвтаназии должна быть зарегистрирована масса яичек и эпидидимиса, один из органов сохраняют для гистопатологического исследования (см. 6.7.1, 7.1.1, 7.1.3). Из подгруппы числом не менее 10 мужских особей от каждой опытной группы самцов поколений Р и F1 оставшиеся яички и придатки яичек (эпидидимис) должны быть использованы для подсчета устойчивых к гомогенизации сперматидов и резервов спермы хвоста придатка яичка соответственно. У этого количества самцов должна быть отобрана сперма из хвоста придатка яичка или семявыводящего канала для оценки подвижности и морфологии сперматозоидов. Если обнаружены токсические эффекты исследуемого вещества или имеются данные других исследований о его возможном влиянии на сперматогенез, то оценка сперматозоидов должна быть проведена у всех самцов во всех подопытных группах; в других случаях количественные оценки могут быть проведены только у самцов поколений Р и F1 контрольной группы и группы, получившей самую высокую дозу.

6.4.2 Должно быть вычислено общее количество устойчивых к гомогенизации сперматидов яичек и сперматозоидов хвоста придатка яичка [3], [4]. Резервы сперматозоидов хвоста придатка яичка могут быть определены по концентрации и объему сперматозоидов в суспензии, использованной для качественных оценок, и количеству сперматозоидов, полученных при последующем измельчении и/или гомогенизации оставшейся ткани хвоста придатка. Количественный подсчет следует проводить на отобранной подгруппе животных из всех опытных групп непосредственно после эвтаназии животных, если не проводится видео- или цифровая запись или если образцы не подвергаются заморозке для последующего анализа. В этих случаях в первую очередь могут быть изучены образцы от животных из контрольной группы и группы, получавшей наивысшую дозу исследуемого вещества. Если не обнаружено связанных с веществом воздействий на сперму (например, влияние на количество сперматозоидов, их подвижность или морфологию), то исследование образцов тканей животных других групп проводить не обязательно. Если выявлены воздействия у животных, получавших максимальную дозу, то животные с более низкими дозами также должны быть изучены.

6.4.3 Подвижность сперматозоидов придатка яичка (или спермовыводящего канала) следует оценивать или фиксировать на видео непосредственно после эвтаназии. Процедура получения сперматозоидов должна обеспечивать их минимальное повреждение, для анализа подвижности ее разбавляют с помощью приемлемых методов [5]. Процент прогрессивно-подвижных сперматозоидов следует опреде-

лять субъективно или объективно. При проведении анализа движения компьютеризированными методами [6]—[11] определение прогрессивной подвижности основано на определяемой оператором норме для средней скорости пробега и индекса линейности или прямого движения.

Если во время вскрытия образцы снимают на видео [12] или регистрируют изображение другими методами, далее может быть проведен анализ тканей самцов поколений P и F1 только контрольной группы и группы с максимальной дозой, если токсическое влияние исследуемого вещества не обнаружено; в противном случае также должны быть исследованы образцы из групп с более низкой дозой. При отсутствии видеозаписи или цифрового изображения все образцы из всех опытных групп должны быть исследованы при вскрытии.

6.4.4 Должно быть проведено морфологическое исследование образцов сперматозоидов придатка яичка (или семявыводящего протока). Сперматозоиды (не менее 200 на образец) должны быть исследованы в виде фиксированных влажных препаратов [13] и оценены как нормальные или с наличием патологий. Примеры морфологических патологий спермы могут включать слияние, отдельные головки, деформированные головки и/или хвосты. Исследование следует проводить на отобранной подгруппе животных из всех опытных групп непосредственно после эвтаназии животных, если не проводится видео- или цифровая запись, которая может быть проанализирована впоследствии. Мазки после их фиксации также могут быть изучены позже. В этих случаях первыми могут быть проанализированы образцы от животных из контрольной группы и группы, получавшей максимальную дозу исследуемого вещества. Если не обнаружены воздействия, обусловленные веществом (например, влияние на морфологию сперматозоидов), то исследование образцов тканей животных с другими дозовыми группами проводить не обязательно. Если эффекты, связанные с исследуемым веществом, выявлены у животных, получавших максимальную дозу, то животные с более низкими дозами также должны быть изучены.

6.4.5 Если любой из вышеописанных параметров оценки сперматозоидов уже был изучен в рамках исследования системного токсического действия продолжительностью не менее 90 дней, то повторения этих исследований в данном эксперименте не требуется. Однако рекомендуется провести видео- или цифровую регистрацию изображения образцов сперматозоидов животных поколения P для обеспечения при необходимости последующей оценки.

6.5 Потомство

6.5.1 Каждый помет после родов (день лактации — нулевой) должен быть исследован по возможности быстро для установления количества и пола животных, мертворожденных и живорожденных и наличия врожденных аномалий. Потомство, обнаруженное мертвым в нулевой день периода лактации, при отсутствии признаков мацерации, по возможности должно быть осмотрено на наличие возможных дефектов развития и причин смерти и законсервировано. Живое потомство должно быть подсчитано и индивидуально взвешено при рождении (день лактации — нулевой) или на следующий день (1-й день), а также должно регулярно взвешиваться в определенные дни, например в 4, 7, 14 и 21-й дни лактации. Должны регистрироваться физические отклонения или изменения поведения, наблюдаемые у самок и потомства.

6.5.2 Физическое развитие потомства должно оцениваться, как правило, по увеличению массы тела. Другие физические параметры (например, открытие ушей и глаз, прорезывание зубов, рост шерсти) могут представлять дополнительную информацию, но эти данные, как правило, оцениваются в отношении данных о половом созревании (возраст и масса тела при открытии вагины или отделение крайней плоти от головки пениса) [14]. Функциональные параметры (моторная функция, сенсорная функция, развитие рефлексов) рекомендуется оценивать у детенышей поколения F1 до и/или после прекращения грудного вскармливания *(в одном возрасте для всех групп, в зависимости от проявлений токсического действия исследуемого вещества),* особенно функции, связанные с половым созреванием, если такие анализы не включены в отдельные токсикологические исследования. Возраст открытия вагины и отделения крайней плоти должен быть установлен для животных поколения F1, выбранных для спаривания. У новорожденных поколения F2 в день родов должно быть измерено аногенитальное расстояние, если в поколении F1 произошло изменение отношения попов или длительности полового созревания.

6.5.3 Определение функциональных характеристик животных можно не проводить, если в группе наблюдаются выраженные токсические эффекты (например, значительное отставание в прибавке массы тела и др.). Функциональное обследование не проводят на потомстве, выбранном для спаривания.

6.6 Общее патологическое обследование

6.6.1 На момент эвтаназии или гибели в ходе исследования все взрослые животные (поколений P и F1), все потомство с внешними дефектами развития или клиническими проявлениями, а также не менее одного случайно выбранного животного — потомство/пол/помет из обоих поколений F1 и F2, должны быть подвергнуты общему патологическому макроскопическому исследованию на наличие структурных нарушений или патологических изменений. Особое внимание следует обращать на органы репродуктивной системы. Потомки, подвергнутые эвтаназии и погибшие, при отсутствии мацерации, должны быть исследованы на наличие возможных дефектов и/или причин смерти и законсервированы.

6.6.2 Должны быть исследованы матки всех впервые рожающих самок с использованием процедуры, предупреждающей негативное влияние на последующее гистологическое исследование, на наличие и количество мест имплантации.

6.7 Взвешивание органов

6.7.1 На момент эвтаназии должна быть определена масса тела и масса ниже приведенных органов всех родительских животных поколений P и F1 (парные органы взвешиваются индивидуально):

- матка, яичники;
- яички, придаток яичка (тело и хвост);
- предстательная железа;
- семенные пузырьки с коагулирующими железами и их жидкость (как одно целое);
- головной мозг, печень, почки, селезенка, гипофиз, щитовидная железа, надпочечники и известные органы-мишени.

6.7.2 Массу тела на момент смерти определяют у потомков поколений F1 и F2, отобранных для патологического исследования. Также у одного случайно выбранного животного — потомок/пол/помет (см. 6.6.1) определяют массу следующих органов: головной мозг, селезенка и тимус.

6.7.3 Данные общего патологического исследования и результаты взвешивания органов следует оценивать в совокупности с наблюдениями других исследований с многократным введением исследуемого вещества, при возможности.

7 Гистопатологическое исследование

7.1 Животные, приносящие потомство

7.1.1 У животных, давших потомство (поколения P и F1), фиксируют и хранят в соответствующей среде указанные ниже органы и ткани или их представительные образцы для последующего гистопатологического исследования:

- вагина, матка с шейкой матки и яичники (сохраняют в соответствующей фиксирующей смеси);
- одно яичко (сохраняют в фиксирующей смеси Буэна или аналогичной), один эпидидимис, семенные пузырьки, простату и коагулирующие железы;
- ранее установленные как органы-мишени из всех животных поколений P и F1, выбранных для спаривания.

7.1.2 Полное гистологическое исследование зафиксированных органов и тканей, перечисленных в 7.1.1, следует проводить для животных, получавших высокие дозы исследуемого вещества, и контрольной группы поколений P и F1, выбранных для спаривания. Обследование яичников животных поколения P не обязательно. Для получения дополнительных данных для определения уровня отсутствия наблюдаемого вредного воздействия (NOAFL) следует провести гистологическое исследование органов животных, получавших низкие и средние дозы исследуемого вещества. Дополнительно гистологическому исследованию должны быть подвергнуты органы репродуктивной системы животных из групп с низкими и средними дозами исследуемого вещества, у которых подозревают снижение фертильности, то есть животных, которые не смогли спариться, зачать или стать производителями, получить жизнеспособное потомство, или животных, у которых были обнаружены нарушения овариального цикла, числа сперматозоидов, их подвижность или морфология. Должны быть исследованы все физические повреждения органов, такие как атрофия или развитие опухолей.

7.1.3 Для определения признаков фертильной токсичности, таких как неразвитые сперматиды, отсутствие типов или слоев зародышевых клеток, наличие многоядерных гигантских клеток или присутствие сперматогенных клеток в полости, должно быть проведено тщательное гистологическое иссле-

дование (с использованием фиксирующей смеси Буэна, приготовлением препаратов в парафине и поперечных срезов толщиной 4—5 мкм) [15]. Изучение неповрежденного эпидидимиса должно включать оценку продольного сечения головки, тела и хвоста. Эпидидимис следует изучить на наличие инфильтрации лейкоцитами, изменения в распространенности типов клеток, наличие клеток аберрантного типа и фагоцитоза сперматозоидов. Для исследования мужских половых органов можно использовать метод окрашивания PAS и гематоксилином.

7.1.4 Яичники после периода лактации должны содержать примордиальные и растущие фолликулы, а также большое желтое тело лактации. При гистологическом исследовании следует оценить качественное уменьшение популяции примордиальных фолликулов. Количественный подсчет примордиальных фолликулов должен быть проведен для самок поколения F1; количество животных, выбор секции яичника и выбор количества секций должны быть статистически обоснованы с учетом используемой процедуры оценки. Исследование должно включать подсчет количества примордиальных фолликулов, которое может быть скомбинировано с небольшими растущими фолликулами для сравнения яичников животных контрольной и подопытных групп [16]—[20].

7.2 Потомство после окончания грудного вскармливания (отъемыши)

Фиксируют и хранят в подходящей среде для гистологического исследования ткани с видимой патологией и органы-мишени всех потомков/полов/пометов всех групп поколений F1 и F2, не отобранных для спаривания (см. 6.6.1), у которых были обнаружены внешние дефекты или клинические симптомы. Должно быть проведено полное гистопатологическое исследование зафиксированных тканей, особое внимание обращают на органы репродуктивной системы.

8 Данные и отчетность

8.1 Данные

8.1.1 Данные следует указывать индивидуально и суммировать в табличной форме. Для каждой опытной группы и каждого поколения указывают число животных в начале исследования, число погибших животных и животных, подвергшихся эвтаназии для прекращения страданий; время смерти каждого животного, число фертильных животных, число беременных самок, число животных с симптомами токсических ответов, описание наблюдавшихся симптомов токсических ответов, включая время обнаружения, продолжительность и тяжесть симптомов, типы гистопатологических изменений и все соответствующие данные по помету.

8.1.2 Численные результаты оценивают с помощью соответствующего общепринятого статистического метода; статистические методы следует рассматривать как часть плана исследования. Для анализа данных можно использовать статистические модели зависимости между дозой и ответом на исследуемое вещество. Отчет должен содержать достаточную информацию о методе анализа и использованных компьютерных программах, чтобы независимый специалист/статистик мог провести повторную оценку и воспроизвести анализ.

8.2 Оценка результатов

8.2.1 Результаты исследования репродуктивной токсичности на двух поколениях следует оценивать по наблюдаемым ответам, включая результаты некропсии и микроскопического анализа. Оценка должна включать зависимость или ее отсутствие от уровня дозы исследуемого вещества: заболеваемости и серьезности отклонений, включая дефекты развития, идентифицированные органы-мишени, нарушения фертильности, клинические симптомы токсичности, нарушения поведенческих реакций у половозрелых животных и помета, изменения массы тела, влияния на смертность и любые другие токсические эффекты. При оценке результатов испытаний следует учитывать физико-химические свойства исследуемого вещества и токсикокинетические данные при наличии.

8.2.2 Проведенное надлежащим образом исследование репродуктивной токсичности должно обеспечивать адекватную оценку уровня, не вызывающего отрицательных ответов и понимание нежелательного воздействия исследуемого вещества на репродуктивную функцию, роды, лактацию, постнатальное развитие, включая рост и половое созревание.

9 Отчет об исследовании

Отчет об исследовании должен содержать следующую информацию:

9.1 Исследуемое вещество

Для исследуемого вещества приводят:
- физические свойства и при необходимости физико-химические характеристики;
- идентификационные данные;
- чистоту.

9.2 Растворитель (при необходимости)

Для растворителя приводят:
- обоснование выбора растворителя, если используется не вода.

9.3 Лабораторные животные

Для лабораторных животных приводят:
- использованные в исследовании виды/линии;
- число, возраст и пол животных;
- источник происхождения, условия содержания, корм, материал для гнезда и др.;
- индивидуальные массы тела животных на начало исследования.

9.4 Условия исследования

Для условий исследования приводят:
- обоснование выбора уровней доз;
- описание подготовки исследуемого вещества для введения/приготовления корма, получаемые концентрации;
- стабильность и однородность вводимой смеси;
- подробности процедуры введения исследуемого вещества;
- отклонение концентрации вещества в корме/питьевой воде (ppm) от достигнутой дозы (мг/кг массы тела/в день), при применении;
- описание качества корма и воды.

9.5 Результаты

Результаты исследования должны содержать:
- количество потребляемого корма и воды, при наличии, динамику изменения массы тела животного на грамм потребляемого корма и вводимого исследуемого вещества для животных поколений P и F1 (*индивидуально и в среднем по группе*), за исключением периода спаривания и последнего триместра лактации;
- данные по абсорбции (при наличии);
- данные по массе тела животных поколений P и F1, выбранных для спаривания;
- данные о массе тела помета и детенышей;
- масса тела при эвтаназии и абсолютные и относительные данные о массе органов для животных (*поколений P и F1*), приносящих потомство;
- характер, тяжесть и продолжительность клинических проявлений (независимо от обратимости);
- время смерти животных во время исследования или доживших до эвтаназии;
- данные о токсических проявлениях с учетом пола и дозы, включая показатели спаривания, фертильности, беременности, рождения, жизнеспособности потомства и лактации; отчет должен содержать число особей, использованных для вычисления этих показателей;
- токсические или другие воздействия на репродуктивную функцию, потомство, постнатальный рост и др.;
- результаты вскрытия;
- подробное описание всех результатов гистопатологических исследований;
- число самок поколений P и F1 с нормальным овариальным циклом и его продолжительность;
- общее количество сперматозоидов в хвосте придатка яичка, процент прогрессивно-подвижных сперматозоидов, процент морфологически нормальных сперматозоидов, процент сперматозоидов с каждой выявленной патологией;

- время спаривания, включая количество дней до спаривания;
- продолжительность беременности;
- число имплантаций, желтых тел, размер помета;
- число живорожденных и погибших после имплантации;
- число потомства с видимыми аномалиями развития, должно быть указано число недоразвитых детенышей, при выявлении;
- данные о физических параметрах потомства и другие данные постнатального развития; оценка физических параметров должна быть обоснована;
- данные функциональных исследований потомства и взрослых особей, в зависимости от требований:
- статистическая обработка результатов, с учетом конкретных обстоятельств.

9.6 Обсуждение результатов

Заключение о результатах исследований, выводы, включающие значение NOAEL для животных и их потомства.

10 Интерпретация полученных результатов

Исследование репродуктивной токсичности на двух поколениях обеспечивает получение информации о влиянии исследуемого вещества при многократном введении на всех этапах репродуктивного цикла. В частности, исследование обеспечивает получение информации о параметрах репродуктивности, а также о развитии, росте и выживаемости потомства. Результаты исследования следует интерпретировать вместе с данными исследования субхронической токсичности, пренатального развития, токсикокинетических и других имеющихся исследований. Результаты исследования могут быть использованы для оценки необходимости дальнейшего исследования химического вещества. Экстраполяция результатов исследования на воздействие на человека допустима в ограниченной степени. Наиболее приемлемым является использование данных по уровню безопасного воздействия и допустимого воздействия на человека [21]—[24].

Приложение ДА
(справочное)

Сопоставление структуры настоящего стандарта со структурой примененного в нем международного документа

Таблица ДА.1

Структура настоящего стандарта	Структура международного документа OECD Test № 416:2001
1 Область применения (2)	Основные аспекты 2
2 Правила исследования (3, 4) 2.1 2.2	Правила исследования 3 4
3 Описание метода/подготовка к исследованию (5—9) 3.1 Выбор вида животных 3.2 Условия содержания и кормления 3.2.1 3.2.2 3.3 Подготовка животных 3.3.1 3.3.2	Описание метода/подготовка к исследованию Выбор вида животных 5 Условия содержания и кормления 6 7 Подготовка животных 8 9
4 Процедура исследования (10—25) 4.1 Число и пол животных 4.2 Подготовка вещества для введения 4.2.1 4.2.2 4.3 Выбор дозы 4.3.1 4.3.2 4.3.3 4.4 Испытание на предельную дозу 4.5 Введение доз 4.5.1 4.5.2 4.6 Графики эксперимента 4.6.1 4.6.2	Процедура исследования Число и пол животных 10 4.2 Подготовка вещества для введения 11 12 Выбор дозы 13 14 15 Испытание на предельную дозу 16 Введение доз 17 18 Графики эксперимента 19 20
5 Процедура спаривания (21—25) 5.1 Спаривание животных поколения P 5.2 Спаривание животных поколения F1	Процедура спаривания Спаривание животных поколения P 21 Спаривание животных поколения F1
5.2.1 5.2.2 5.3 Второе спаривание 5.4 Размер помета	22 23 Второе спаривание 24 Размер помета 25
6 Наблюдения (26—41) 6.1 Клинические наблюдения 6.2 Масса тела и потребление корма/воды животными, приносящими потомство	Наблюдения Клинические наблюдения 26 Масса тела и потребление корма/воды животными, приносящими потомство 27

Окончание таблицы ДА.1

Структура настоящего стандарта	Структура международного документа OECD Test № 416:2001
6.3 Овариальный цикл 6.4 Характеристики спермы 6.4.1 6.4.2 6.4.3 6.4.4 6.4.5 6.5 Потомство 6.5.1 6.5.2 6.5.3 6.6 Общее патологическое обследование 6.6.1 6.6.2 6.7 Взвешивание органов 6.7.1 6.7.2 6.7.3	Овариальный цикл 28 Характеристики спермы 29 30 31 32 33 Потомство 34 35 36 Общее патологическое обследование 37 38 Взвешивание органов 39 40 41
7 Гистопатологическое исследование (42—46) 7.1 Животные, приносящие потомство 7.1.1 7.1.2 7.1.3 7.1.4 7.2 Потомство после окончания грудного вскармливания (отъемыши)	Гистопатологическое исследование Животные, приносящие потомство 42 43 44 45 Потомство после окончания грудного вскармливания (отъемыши) 46
8 Данные и отчетность (47—51) 8.1 Данные 8.1.1 8.1.2 8.2 Оценка результатов 8.2.1 8.2.2	Данные и отчетность Данные 47 48 Оценка результатов 49 50
9 Отчет об исследовании 9.1 Исследуемое вещество 9.2 Растворитель 9.3 Лабораторные животные 9.4 Условия исследования 9.5 Результаты 9.6 Обсуждение результатов	Отчет об исследовании 51
10 Интерпретация полученных результатов (52)	Интерпретация полученных результатов 52
Приложение ДА Сопоставление структуры настоящего стандарта со структурой примененного в нем международного документа	—
Библиография	Литература
—	Приложение
Примечание — После заголовков разделов настоящего стандарта приведены в скобках номера аналогичных им разделов международного документа. Приведено также соответствие подразделов настоящего стандарта параграфам международного документа.	

Библиография

[1] Draft Report of the OECD Ad Hoc Working Group on Reproduction and Developmental Toxicity. Copenhagen, Denmark, 13th-14th June 1995

[2] Sadleir, R.M.F.S. (1979). Cycles and Seasons, In: Reproduction in Mammals: I. Germ Cells and Fertilization, C.R. Auston and R.V. Short (eds.), Cambridge, New York

[3] Gray, L.E. et al., (1989). A Dose-Response Analysis of Methoxychlor-Induced Alterations of Reproductive Development and Function in the Rat. Fundamental and Applied Toxicology 12: 92—108

[4] Robb, G.W. et al., (1978). Daily Sperm Production and Epididymal Sperm Reserves of Pubertal and Adult Rats. Journal of Reproduction and Fertility 54:103—107

[5] Klinefelter, G.R. et al., (1991). The Method of Sperm Collection Significantly Influences Sperm Motion Parameters Following Ethane Dimethanesulfonate Administration in the Rat. Reproductive Toxicology 5: 39—44

[6] Seed, J. et al., (1996). Methods for Assessing Sperm Motility, Morphology, and Counts in the Rat, Rabbit, and Dog: a Consensus Report. Reproductive Toxicology 10: 237—244

[7] Chapin, R.E. et al., (1992). Methods for Assessing Rat Sperm Motility. Reproductive Toxicology 6: 267—273

[8] Klinefelter, G.R. et al., (1992). Direct Effects of Ethane Dimethanesulphonate on Epididymal Function in Adult Rats: an In Vitro Demonstration. Journal of Andrology 13: 409—421

[9] Slott, V.L. et al., (1991). Rat Sperm Motility Analysis: Methodologic Considerations. Reproductive Toxicology 5: 449—458

[10] Slott, V.L. and Perreault, S.D., (1993). Computer-Assisted Sperm Analysis of Rodent Epididymal Sperm Motility Using the Hamilton-Thorn Motility Analyzer. In: Methods in Toxicology, Part A., Academic, Orlando, Florida, pp. 319—333

[11] Toth, G.P. et al., (1989). The Automated Analysis of Rat Sperm Motility Following Subchronic Epichlorhydrin Administration: Methodologic and Statistical Considerations. Journal of Andrology 10: 401—415

[12] Working, P.K. and M. Hurtt, (1987). Computerized Videomicrographic Analysis of Rat Sperm Motility. Journal of Andrology 8: 330—337

[13] Linder, R.E. et al., (1992). Endpoints of Spermatoxicity in the Rat After Short Duration Exposures to Fourteen Reproductive Toxicants. Reproductive Toxicology 6: 491—505

[14] Korenbrot, C.C. et al., (1977). Preputial Separation as an External Sign of Pubertal Development in the Male Rat. Biological Reproduction 17: 298—303

[15] Russell, L.D. et al., (1990). Histological and Histopathological Evaluation of the Testis, Cache River Press, Clearwater, Florida

[16] Heindel, J.J. and R.E. Chapin, (eds.) (1993). Part B. Female Reproductive Systems, Methods in Toxicology, Academic, Orlando, Florida

[17] Heindel, J.J. et al., (1989) Histological Assessment of Ovarian Follicle Number in Mice As a Screen of Ovarian Toxicity. In: Growth Factors and the Ovary, A.N. Hirshfield (ed.), Plenum, New York, pp. 421—426

[18] Manson, J.M. and Y.J. Kang, (1989). Test Methods for Assessing Female Reproductive and Developmental Toxicology. In: Principles and Methods of Toxicology, A.W. Hayes (ed.), Raven, New York

[19] Smith, B.J. et al., (1991). Comparison of Random and Serial Sections in Assessment of Ovarian Toxicity. Reproductive Toxicology 5: 379—383

[20] Heindel, J.J. (1999). Oocyte Quantitation and Ovarian Histology. In: An Evaluation and Interpretation of Reproductive Endpoints for Human Health Risk Assessment, G. Daston, and C.A. Kimmel, (eds.), ILSI Press, Washington, DC

[21] Thomas, J. A. (1991). Toxic Responses of the Reproductive System. In: Casarett and Doull's Toxicology, M.O. Amdur, J. Doull, and C.D. Klaassen (eds.), Pergamon, New York

[22] Zenick, H. and E.D. Clegg, (1989). Assessment of Male Reproductive Toxicity: A Risk Assessment Approach. In: Principles and Methods of Toxicology, A.W. Hayes (ed.), Raven Press, New York

[23] Palmer, A.K. (1981). In: Developmental Toxicology, Kimmel, C.A. and J. Buelke-Sam (eds.), Raven Press, New York

[24] Palmer, A.K. (1978). In Handbook of Teratology, Vol. 4, J.G. Wilson and F.C. Fraser (eds.), Plenum Press, New York

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

Ключевые слова: методы испытания, воздействие химической продукции на организм человека, изучение репродуктивной токсичности на двух поколениях лабораторных животных

БЗ 7—2019/95

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *О.В. Лазарева*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 16.08.2019. Подписано в печать 28.08.2019. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,32. Уч.-изд. л. 1,97.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» для комплектования Федерального информационного фонда стандартов, 117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru