Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

1.1. ОБЩИЕ ВОПРОСЫ. ГИГИЕНА, ТОКСИКОЛОГИЯ, САНИТАРИЯ

Оценка общетоксического действия парфюмерно-косметической продукции методом in vitro (на культуре подвижных клеток)

Методические рекомендации
МР 1.1.0121—18

Издание официальное

Москва • 2018

gost.e-ecolog.ru

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

1.1. ОБЩИЕ ВОПРОСЫ. ГИГИЕНА, ТОКСИКОЛОГИЯ, САНИТАРИЯ

Оценка общетоксического действия парфюмерно-косметической продукции методом in vitro (на культуре подвижных клеток)

Методические рекомендации
МР 1.1.0121—18

ББК 52.84
О93

О93 **Оценка** общетоксического действия парфюмерно-косметической продукции методом *in vitro* (на культуре подвижных клеток: Методические рекомендации.—М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2018.—10 с.

ISBN 978–5–7508–1637–8

1. Разработаны ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Москве» (Н. В. Завьялов, Е. Л. Скворцова, И. С. Шейнина), ФБУЗ «Федеральным центром гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора (А. А. Гарбузова, М. В. Кухаркина), ООО «Центр испытаний и консалтинга» (С. А. Вилкова), ООО Фирма «БМК-Инвест» (А. П. Еськов, Р. И. Каюмов).

2. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 28 февраля 2018 г.

3. МР 1.1.0121—18 введены взамен МР 29ФЦ/394 «Оценка общего токсического и кожно-раздражающего действия парфюмерно-косметической продукции методом *in vitro* (на культуре подвижных клеток)», утвержденных заместителем Главного государственного санитарного врача Российской Федерации 29.01.2003.

ББК 52.84

ISBN 978–5–7508–1637–8

© Роспотребнадзор, 2018

Содержание

I. Общие положения 4
II. Описание метода 5
III. Оборудование, химическая посуда и реактивы 6
IV. Проведение испытаний 6
V. Оценка результатов испытаний 10

УТВЕРЖДАЮ

Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации

А. Ю. Попова

28 февраля 2018 г.

1.1. ОБЩИЕ ВОПРОСЫ. ГИГИЕНА, ТОКСИКОЛОГИЯ, САНИТАРИЯ

Оценка общетоксического действия парфюмерно-косметической продукции методом *in vitro* (на культуре подвижных клеток)

Методические рекомендации МР 1.1.0121—18

I. Общие положения

1.1. Методические рекомендации содержат описание метода тестирования парфюмерно-косметической продукции (далее – ПКП) с применением кратковременной суспензионной культуры подвижных клеток (сперматозоидов быка) и определяют порядок проведения испытаний следующих видов ПКП:

– продукция косметическая гигиеническая моющая;
– жиросодержащие косметические кремы;
– дезодоранты и депиляторы, в том числе в аэрозольной упаковке;
– продукция косметическая жидкая, не содержащая спирт;
– гели косметические;
– кремы косметические для ухода за кожей лица, тела, ногтями, губами, кожей вокруг глаз;
– продукция косметическая на носителях;
– парфюмерная и косметическая спиртсодержащая продукция;
– продукция косметическая для окрашивания волос без окислителей;
– масла эфирные и косметические;
– интимная косметика;
– скрабы, маски, в том числе из глины;
– зубные пасты, зубные порошки;
– средства гигиены полости рта жидкие;

– средства для маникюра и ухода за ногтями;
– соли для ванн, сухие средства для ванн;
– продукция декоративной косметики;
– мыло туалетное твердое.

1.2. Методические рекомендации предназначены для оценки общетоксического действия вновь разрабатываемой и серийно выпускаемой ПКП.

Метод может быть применен для оценки ПКП в качестве самостоятельного экспресс-метода или в сочетании с другими токсикологогигиеническими методами.

1.3. Методические рекомендации предназначены для учреждений научно-исследовательского и практического профиля, осуществляющих разработку новой ПКП, контроль ее качества и оценку соответствия, а также для органов и организаций, осуществляющих федеральный государственный санитарно-эпидемиологический надзор.

II. Описание метода

2.1. В качестве тест-объекта используется сперма крупного рогатого скота, замороженная в парах жидкого азота. Гранулы или пайеты замороженной бычьей спермы получают на станциях искусственного осеменения и хранят в сосудах Дьюара, наполненных жидким азотом.

2.2. Критерием токсического действия является изменение двигательной активности сперматозоидов под воздействием химических соединений, содержащихся в экстрактах ПКП, по сравнению с таковой для контрольной пробы с модельной средой, не содержащей токсических веществ. Изменение двигательной активности измеряется показателем подвижности «*m*» и регистрируется анализатором изображений:

$$m = d \cdot Cn \cdot \overline{V}\text{, где}$$

d – постоянный коэффициент;

Cn – концентрация подвижных клеток;

$\overline{V}$ – средний модуль скорости клеток.

2.3. Количественная оценка параметра тест-реакции выражается индексом токсичности «I_s», представляющего собой отношение суммарной двигательной активности сперматозоидов опытной и контрольной проб, выраженное в процентах. Величина индекса токсичности, гарантирующая безопасность ПКП, находится в интервале от 70 до 120 %.

2.4. Основанием для выбора эталонных разведений различных видов ПКП с учетом допустимого интервала индекса токсичности послужила сравнительная оценка результатов исследования общей токсично-

сти настоящим методом и кожно-раздражающего действия различных видов ПКП в эксперименте на лабораторных животных.

III. Оборудование, химическая посуда и реактивы

3.1. Анализатор изображений[1] диапазоном измерений расстояний от 2 до 100 мкм и пределом допустимого значения среднего квадратичного отклонения при измерении расстояний 1 мкм.

3.2. Сосуд Дьюара типа СДС объемом не менее 25 л и диаметром горла не менее 50 мм.

3.3. Термостат электрический суховоздушный с автоматическим терморегуляторм (диапазон рабочих температур 28—55 °С, погрешность стабилизации температуры в опорной точке рабочей камеры и установившемся режиме в пределах ± 1 °С).

3.4. Весы лабораторные по ГОСТ OIML R76-1 с погрешностью взвешивания не более 1 мг.

3.5. Пробирки с притертыми пробками П4-5-10/19 по ГОСТ 25336 и внешним диаметром не более 12 мм.

3.6. Дозаторы медицинские лабораторные по ГОСТ 28311 на объемы 1,0; 0,5; 0,2 и 0,1 мл.

3.7. Колбы конические с притертыми пробками, Кн-1-250-29/32 ХС, Кн-1-500-29/32 ХС, Кн-1-1000-29/32 ХС по ГОСТ 25336.

3.8. Цилиндр мерный 1-250-1 по ГОСТ 1770.

3.9. Пинцет медицинский по ГОСТ 21241, длиной 250 мм.

3.10. Фильтры бумажные беззольные «синяя лента».

3.11. Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

3.12. D-глюкоза, химически чистая по ГОСТ 6038.

3.13. Натрий лимоннокислый 5,5-водный 3-замещенный, химически чистый по ГОСТ 22280.

3.14. Сперма быка, замороженная в жидком азоте по ГОСТ 26030.

Допускается применение аналогичного оборудования, химической посуды и реактивов с техническими и метрологическими характеристиками не хуже указанных в пункте 3.

IV. Проведение испытаний

4.1. *Условия выполнения токсикологических испытаний.*

При проведении испытаний в лаборатории должны быть соблюдены следующие условия:

---

[1] Примером подходящего средства измерений служит «Анализатор изображений АТ-05» (номер в Госреестре СИ 26830–04). Данная информация является рекомендуемой и приведена для удобства пользователей настоящих методических рекомендаций.

– температура воздуха от 18 °С до 25 °С;
– относительная влажность воздуха не более 80 %.

4.2. *Отбор проб* проводится по ГОСТ 29188.0.

4.3. *Приготовление экстрактов из образцов ПКП*:

4.3.1. Из образцов одной партии (не менее двух) путем смешивания готовят объединенную пробу. Экстракты из испытуемых образцов готовят в модельной среде (дистиллированная вода). Соотношение веса образца и объема модельной среды, а также продолжительность экстракции приведены в таблице. Навески ПК-продукции взвешивают в сухой чистой колбе, куда затем добавляют требуемый объем модельной среды. В другую колбу наливают такой же объем модельной среды (контрольная проба) и обе колбы помещают в термостат на 24 часа при температуре (37 ± 1) °С.

4.3.2. После окончания экстракции экстракт и контрольную пробу охлаждают до комнатной температуры и подвергают фильтрации через бумажный фильтр с целью удаления взвешенных частиц.

4.3.3. Из профильтрованных экстрактов опытной и контрольной проб готовят изотонические растворы, добавляя в них сухие реактивы глюкозы и цитрата натрия из расчета: глюкоза – 4 г, цитрат натрия – 1 г, фильтрат – 100 мл.

Таблица

Условия приготовления экстрактов

Вид ПК-продукции	Масса образца, г	Объем модельной среды, мл	Степень разведения образца	Продолжительность экстракции, ч
1	2	3	4	5
Продукция косметическая гигиеническая моющая (шампуни и бальзамы для волос, жидкое туалетное мыло, пена для ванн, гель для душа и др.)	0,1	250	1 : 2 500	24
Дезодоранты и депилятории, в том числе в аэрозольной упаковке	1,0	300	1 : 300	1
Парфюмерная и косметическая спиртосодержащая продукция (туалетная и парфюмерная вода, духи, одеколон, душистая вода и др.)	1,0	700	1 : 700	1

Продолжение табл.

1	2	3	4	5
Продукция косметическая жидкая, не содержащая спирт (лосьоны, тоники, средства для завивки и укладки волос, дезодоранты, антиперспиранты и др.)	1,0	700	1 : 700	1
Интимная косметика	0,1	250	1 : 2 500	24
Продукция косметическая на носителях	0,1	250	1 : 2 500	24
Жиросодержащие косметические кремы, гели косметические	0,1	250	1 : 2 500	24
Кремы косметические для ухода за кожей лица, тела, ногтями, губами, кожей вокруг глаз	0,1	250	1 : 2 500	24
Продукция косметическая для окрашивания волос без окислителей (хна, басма и т. п.)	0,1	250	1 : 2 500	24
Масла эфирные и косметические	0,1	250	1 : 2 500	24
Зубная паста, зубные порошки	0,1	100	1 : 1 000	24
Средства гигиены полости рта жидкие (ополаскиватели для рта и др.)	1,0	1 000	1 : 1 000	1
Лаки для ногтей	0,1	50	1 : 500	24
Жидкость для снятия лака	0,1	250	1 : 2 500	24
Скрабы, маски для лица, в т. ч. на основе глины	0,1	250	1 : 2 500	24
Соли для ванн, сухие средства для ванн	0,1	250	1 : 2 500	24
Продукция декоративной косметики	0,1	50	1 : 500	24
Мыло туалетное твердое	0,1	250	1 : 3 000	1

4.4. *Проведение измерений*:

4.4.1. Для определения индекса токсичности изотонического фильтрата экстракта (далее опытного раствора) необходимо сравнить его с изотоническим фильтратом модельной среды.

4.4.2. Контрольный и опытный изотонические экстракты по 0,4 мл помещают в пробирки с притертыми пробками и ставят в блок подготовки проб анализатора изображений при температуре (40 ± 1,5) °С.

4.4.3. Приготовление суспензии сперматозоидов. Оттаивают замороженную сперму в разбавителе. Состав разбавителя: глюкоза – 4 г, цитрат натрия – 1 г, дистиллированная вода – 100 мл. В чистую сухую

пробирку наливают 0,4 мл разбавителя (или объем согласно паспорту на замороженную сперму быка) и ставят ее в блок пробоподготовки анализатора изображений при температуре (40 ± 1,5) °С. Охлажденным до температуры жидкого азота анатомическим пинцетом извлекают из сосуда Дьюара гранулу спермы и быстро опускают в нагретый раствор. При использовании пайет размороженную сперму из пайеты выливают в пробирку с нагретым разбавителем.

4.4.4. Приготовление тест-системы. В каждую пробирку с модельной средой и опытным экстрактом из ПКП приливают по 0,1 мл суспензии сперматозоидов. Содержимое каждой пробирки переносят в капилляры (по 5 капилляров на один образец) и устанавливают в каретку прибора. Проводят измерения согласно инструкции на прибор.

4.5. *Математическая обработка результатов измерений*:

4.5.1. Обработка экспериментальных данных осуществляется Анализатором изображений автоматически.

4.5.2. Для каждого образца вычисляют суммарную двигательную активность *S*:

$$S = \sum_i m_i \text{, где}$$

m_i – *i*-е значение показателя подвижности;

i – текущий номер оценки показателя подвижности.

4.5.3. Для контрольной и опытной выборок образцов вычисляют среднее арифметическое значение и среднеквадратичное отклонение, по которым в свою очередь вычисляют для каждой выборки коэффициент вариации *C*:

$$C = \frac{\delta}{\overline{x}} \cdot 100 \text{, где}$$

δ – среднеквадратичное отклонение;

$\overline{x}$ – среднее арифметическое значение.

В случае получения значения коэффициента вариации более 15 % хотя бы для одной из выборок, эксперимент повторяют, начиная с п. 4.4.1. Если значения коэффициентов вариации для каждой из выборок меньше или равно 15 %, то результаты считают статистически значимыми.

4.5.4. Затем вычисляют величину индекса токсичности «I_s»:

$$I_s = \frac{S^o_{ср}}{S^к_{ср}} \cdot 100 \text{, где}$$

S^{o}_{cp} и $S^{к}_{cp}$ – величины суммарной двигательной активности сперматозоидов, усредненные по нескольким опытным и контрольным образцам (капиллярам) соответственно.

V. Оценка результатов испытаний

5.1. Общетоксическое действие ПКП оценивают по индексу токсичности, который анализатор изображений регистрирует автоматически по изменению интенсивности светового потока при движении сперматозоидов через оптический зонд прибора.

Если полученный индекс токсичности находится в пределах 70—120 %, то испытуемую ПКП относят к 4-му классу опасности малоопасных соединений согласно ГОСТ 12.1.007 и делают заключение, что ПКП не обладает общетоксическим действием при соблюдении условий применения согласно инструкции. В этих случаях испытуемую ПКП направляют на проведение клинических испытаний.

Если полученный индекс токсичности выходит за указанные пределы, то окончательный вывод о токсикологической безопасности продукции должен быть сделан после испытаний методами *in vivo*.

Оценка общетоксического действия парфюмерно-косметической продукции методом in vitro (на культуре подвижных клеток)

Методические рекомендации
МР 1.1.0121—18

Редактор Л. С. Кучурова
Компьютерная верстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 18.09.18

Формат 60x84/16

Печ. л. 0,75
Тираж 100 экз.
Заказ 41

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18, стр. 5, 7

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а

Реализация печатных изданий, тел./факс: 8 (495) 952-50-89

gost.e-ecolog.ru