Министерство здравоохранения Республики Беларусь

Инструкция 1.1.11-12-35-2004

# ТРЕБОВАНИЯ К ПОСТАНОВКЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ДЛЯ ПЕРВИЧНОЙ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ И ГИГИЕНИЧЕСКОЙ РЕГЛАМЕНТАЦИИ ВЕЩЕСТВ

Минск - 2004

gost.e-ecolog.ru

РЭСПУБЛІКА БЕЛАРУСЬ
Міністэрства аховы здароўя
ГАЛОЎНЫ ДЗЯРЖАЎНЫ САНІТАРНЫ ЎРАЧ РЭСПУБЛІКІ БЕЛАРУСЬ
220048, г. Мінск, вул. Мяснікова, 39
факс 220-64-59 E-mail:Vkluchenovich@belcmt.by

Телефон 222-69-97

РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ
Министерство здравоохранения
ГЛАВНЫЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ САНИТАРНЫЙ ВРАЧ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
220048, г. Минск, ул. Мясникова, 39
факс 220-64-59 E-mail:Vkluchenovich@belcmt.by

«14» декабря 2004 г. № _____

На № _____

# ПОСТАНОВЛЕНИЕ № *131*

## Об утверждении Инструкции 1.1.11-12-35-2004 «Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ»

В целях исполнения Закона Республики Беларусь «О санитарно-эпидемическом благополучии населения» в редакции от 23 мая 2000 года (Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь, 2000 г., № 52, 2/172) постановляю:

1. Утвердить прилагаемую Инструкцию 1.1.11-12-35-2004 «Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ» и ввести ее в действие на территории Республики Беларусь с 03 января 2005 г.

2. С момента введения в действие Инструкции 1.1.11-12-35-2004 «Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ» считать утратившими силу на территории Республики Беларусь Методические указания «Постановка исследований в объеме первичной токсикологической оценки веществ», утвержденные Главным государственным санитарным врачом Республики Беларусь 30 июня 1994 г., № 48-9405.

3. Главному врачу ГУ «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья» Филонову В.П., главным государственным санитарным врачам областей и г.Минска довести

данное постановление до сведения всех заинтересованных и установить контроль за его исполнением.

М.И.Римжа

УТВЕРЖДЕНО
Постановление
Главного государственного
санитарного врача
Республики Беларусь
«14» декабря 2004 № 131

# Инструкция 1.1.11-12-35-2004 «ТРЕБОВАНИЯ К ПОСТАНОВКЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ДЛЯ ПЕРВИЧНОЙ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ И ГИГИЕНИЧЕСКОЙ РЕГЛАМЕНТАЦИИ ВЕЩЕСТВ»

## ГЛАВА 1
## ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

1. Настоящая Инструкция предназначена для учреждений Министерства здравоохранения Республики Беларусь (далее – Минздрав) и других ведомств, уполномоченных на проведение исследований по токсикологической оценке и гигиенической регламентации химических веществ, материалов, изделий и продуктов (далее – веществ), независимо от области их производства и применения.

2. Первичная токсикологическая оценка, паспортизация и гигиеническая регламентация веществ осуществляется учреждениями и подразделениями токсиколого-гигиенического профиля, аккредитованными на право проведения такого рода исследований Минздравом и Госстандартом Республики Беларусь.

3. Требования положений Инструкции применяются для токсиколого-гигиенического изучения безопасности веществ.

4. Инструкция устанавливает порядок проведения, единые методические подходы, схемы, принципы и методы изучения веществ с целью обеспечения предприятий, учреждений и организаций исходными данными для составления нормативной документации, проектирования производств, разработки оздоровительных и профилактических мероприятий, выдачи гигиенического заключения для осуществления предупредительного и текущего государственного санитарного надзора (далее – госсаннадзора), а также для проведения государственной гигиенической регистрации, регламентации, сертификации веществ.

5. Токсикологические исследования в объеме первичной оценки новых веществ, которые являются или содержат в своем составе чрезвычайно опасные и высокоопасные компоненты, не имеющие токсиколого-гигиенических характеристик и гигиенических регламентов их содержания в окружающей среде, проводятся на стадии научного исследования и составления лабораторного технологического регламента производства. Результаты первичной токсикологической оценки, устанавливающие, что изучаемое вещество относится к умеренно- и малоопасным, или содержит таковые в своем составе, могут быть использованы для последующего обоснования гигиенических нормативов, разработки временных технологических регламентов и технических условий на опытную партию на стадии опытного производства с их согласованием с органами и учреждениями госсаннадзора.

6. Представление веществ для первичной токсикологической оценки и государственной гигиенической регистрации осуществляется заказчиком с соблюдением требований, изложенных в постановлении Совета Министров Республики Беларусь от 14 декабря 2001 г. №1807 «О совершенствовании системы государственной гигиенической регламентации и регистрации химических и биологических веществ, материалов, и изделий из них, продукции производственно-технического назначения, товаров для личных (бытовых) нужд, продуктов питания на территории Республики Беларусь» (Национальный Реестр правовых актов Республики Беларусь, 2002 г., №1, 5/9611), постановлении Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 13 ноября 2000 г. №54 «Об утверждении Положения о порядке осуществления государственной гигиенической регламентации и регистрации химических и биологических веществ, материалов и изделий из них, продукции производственно-технического назначения, товаров для личных (бытовых) нужд, продуктов питания на территории Республики Беларусь и перечня продукции, подлежащей государственной гигиенической регистрации» и постановлении Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 08 октября 2003 г. №44 «Об утверждении перечня химических и биологических веществ, материалов и изделий из них, продукции производственно-технического назначения, товаров для личных (бытовых) нужд, продовольственного сырья и пищевых продуктов, а также материалов и изделий, применяемых для производства, упаковки, хранения, транспортировки, продажи, иных способов отчуждения продовольственного сырья и пищевых продуктов и их использования, подлежащих государственной гигиенической регламентации и регистрации».

7. Отбор образцов на исследования для целей государственной гигиенической регламентации и регистрации производится в соответствии с

нормативной документацией (СанПиН, ГОСТ, СТБ, ОСТ, ТУ, ВМУ и другие) на конкретную продукцию организациями, уполномоченными на данный вид деятельности. Организации, разрабатывающие или представляющие вещества для исследований, несут ответственность за достоверность представленной информации о веществе (-ах) в соответствии с действующим законодательством Республики Беларусь.

## ГЛАВА 2
## ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ

8. Вещество – предмет государственной гигиенической регламентации и регистрации, которым могут быть химические и биологические вещества, материалы и изделия из них, продукция производственно-технического назначения, товары для личных (бытовых) нужд, продукты питания, производимые в Республике Беларусь или ввозимые из-за ее пределов и применяемые в народном хозяйстве и быту, а также соединения, возникающие в ходе технологических процессов производства и поступающие в окружающую среду в виде отходов производства и побочных продуктов.

Среднесмертельная концентрация ($CL_{50}$) вещества (мг/м$^3$) – концентрация, вызывающая гибель 50% мышей или крыс при соответственно 2 и 4 часовом воздействии и последующим 14-суточном периоде наблюдения.

Смертельная доза ($DL_{50}$) вещества (мг/кг) – доза, вызывающая гибель 50% мышей или крыс при однократном введении вещества и последующим 14-суточном периоде наблюдения.

Коэффициент видовой чувствительности (далее – КВЧ) – представляющий собой показатель соотношения среднесмертельных доз более устойчивого вида животных к менее резистентному (например, $DL_{50}$крысы / $DL_{50}$ мыши).

Местно-раздражающие свойства вещества – способность вещества в условиях однократного или повторного воздействия оказывать раздражающее действие на кожные покровы или слизистые.

Кожно-резорбтивные свойства вещества – способность вещества при однократном или повторном воздействии проникать через неповрежденные кожные покровы и вызывать интоксикацию организма.

Кумулятивные свойства вещества – способность вещества при повторном поступлении накапливаться в организме и оказывать неблагоприятное действие на уровне проявления смертельных эффектов или на функциональное состояние ряда органов и систем подопытных животных (функциональная и материальная кумуляция).

Коэффициент кумуляции ($K_{cum.}$) – рассчитывается отношением суммарной дозы вещества при многократном введении, вызвавшей гибель 50% животных, взятых в эксперимент, к $DL_{50,}$ установленной при однократном введении.

Потенциальная аллергенная опасность – способность вещества в условиях однократной внутрикожной сенсибилизации проявлять аллергизирующую активность.

Токсичность – мера несовместимости вещества с жизнью; величина обратная абсолютному значению среднесмертельной дозы ($1/DL_{50}$) или ($1/CL_{50}$).

## ГЛАВА 3
## ОБЪЕМ ИССЛЕДОВАНИЙ

9. Исследования предусматривают оценку токсичности и опасности веществ при воздействии на организм лабораторных животных путями, адекватными реальным условиям трудовой деятельности и обитания человека.

10. Объем исследований при первичной токсикологической оценке и гигиенической регламентации вещества включает:

проведение литературно-информационного поиска сведений, отражающих биологические свойства и токсиколого-гигиеническую характеристику изучаемого вещества и его аналогов;

установление параметров острой токсичности и потенциальной опасности острого отравления при различных путях поступления (в желудок, внутрибрюшинно, накожно, ингаляционно) в организм животных с учетом половой и видовой чувствительности;

определение способности оказывать местное раздражающее действие на слизистые оболочки глаз;

оценку местно-раздражающих и кожно-резорбтивных свойств при однократном и повторном воздействии;

выявление возможных кумулятивных свойств и получение сведений о преимущественно поражаемых органах и системах организма подопытных животных;

изучение сенсибилизирующей способности при однократном внутрикожном введении.

11. Объем исследований при наличии достаточных сведений о токсикологической характеристике вещества, его содержания в рецептурах в незначительных количествах может быть сокращен в части, касающейся

трудоемких и длительных экспериментов по оценке кумулятивной и сенсибилизирующей активности.

12. Для веществ, в процессе первичной токсикологической оценки которых установлены параметры токсикометрии, классифицирующие их как чрезвычайно- или высокоопасные (1, 2 классы опасности согласно ГОСТ 12.1.007-76 «ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности»), а также обладающих аллергенной активностью или имеющих обоснованные литературные сведения о существовании аналогов, проявляющих канцерогенные или мутагенные свойства, результаты исследований являются недостаточными для выдачи гигиенического заключения о возможности их безопасного применения и служат основанием для продолжения экспериментов по токсиколого-гигиенической регламентации.

13. Исследования проводят на следующих видах половозрелых лабораторных животных: белые мыши (масса 18-22 г); белые крысы (масса 180-220 г); морские свинки (масса 250-400 г); кролики (масса 2000-4000 г). Подбор животных и формирование из них однородных опытных и контрольных групп осуществляют с учетом одинаковой массы тела (среди животных одной группы максимальная разница в массе не должна превышать 10%), отсутствия различий в поведении и общем состоянии.

Содержание животных должно соответствовать требованиям «Санитарных правил по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» №1045-73, утвержденных Главным государственным врачом СССР 06 апреля 1973 года.

14. К выполнению токсикологических экспериментов допускаются лица, имеющие среднее или высшее медицинское (биологическое) образование, изучившие требования безопасности и прошедшие подготовку для работы с лабораторными животными согласно «Правилам проведения работ с использованием лабораторных животных», утвержденным Приказом МЗ СССР от 12 августа 1977 г. №755.

## ГЛАВА 4
## ИССЛЕДОВАНИЯ ПО УСТАНОВЛЕНИЮ ПАРАМЕТРОВ ТОКСИЧНОСТИ И ОЦЕНКЕ ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ ОПАСНОСТИ ОСТРОГО ОТРАВЛЕНИЯ

15. Задачей данного этапа исследований является определение токсичности и потенциальной опасности веществ и, в первую очередь, установление величины среднесмертельной дозы ($DL_{50}$), которая выражается отношением миллиграммов вещества, введенного в желудок экспери-

ментальных животных с помощью иглы-зонда ($DL_{50\ per\ os}$) или нанесением на неповрежденные кожные покровы ($DL_{50\ cut}$), к их массе тела в килограммах (мг/кг).

16. В условиях острого опыта представляется возможным:

определить степень токсичности и опасности, диапазон токсического действия и получить первичную информацию о токсикодинамике вещества;

оценить видовую и половую чувствительность лабораторных животных к действию вещества.

Если неизвестна степень токсичности изучаемого вещества, острые опыты рекомендуется начинать с предварительных экспериментов, в ходе которых устанавливаются ориентировочные уровни смертельных доз. С этой целью на 2-3 белых мышах или крысах испытываются дозы, отличающиеся на порядок (например: 10, 100, 1000 мг/кг и т.д.). Наименьшая доза, после введения которой животное погибло, может рассматриваться как ориентировочная среднесмертельная.

17. После нахождения ориентировочной среднесмертельной дозы ставится развернутый опыт на белых крысах и белых мышах. Учитывая возможную индивидуальную чувствительность животных к действию токсического вещества, нужно подобрать шкалу испытуемых доз с таким расчетом, чтобы предварительно найденная ориентировочная среднесмертельная доза занимала в ней по возможности среднее положение. Каждая выбранная доза испытывается на 6-10 животных. Число животных в группе, а также интервал между дозами в значительной степени зависит от используемого в дальнейшем метода статистического расчета.

18. При обработке результатов острого опыта предпочтение нужно отдавать менее трудоемким методам, в первую очередь, методу Беренса и Беренса-Шлоссера (М.Л.Беленький, 1963), методу Б.В.Прозоровского (1978), компьютерной программе RTGIC «Toxi» производства Copyright (1995). В случаях необходимости проведения сравнительной оценки токсичности нескольких близких по механизму своего действия веществ, более рационально применение метода пробит-анализа Литчфильда и Уилкоксона (М.Л.Беленький, 1963). Этот метод позволяет математически оценивать сравнительную токсичность веществ при параллельности прямых «доза-эффект».

19. Для определения сравнительной видовой чувствительности лабораторных животных к действию вещества в целях экономии количества животных (особенно таких, как морские свинки, кролики) рекомендуется пользоваться методами Deichman a. Le Blanc (1943), а также методом «одной точки» Wan der Warden (1940), сущность которых и техника проведения

расчета описана в литературе (В.Б.Прозоровский с соавт., 1978).

20. Выяснение возможных различий в половой резистентности животных к изучаемому веществу достигается путем формирования в процессе экспериментов (предварительного и развернутого) равновеликих по содержанию в них самцов и самок экспериментальных групп. Если в процессе опыта выявлена тенденция к увеличению смертности особей одного пола суммарно во всех группах более чем на 20%, то различия считают существенными. В таком случае проводят дополнительные исследования по установлению параметров острой токсичности вещества отдельно для самок и самцов. Для получения сопоставимых результатов и нивелирования возрастной чувствительности в опыт следует брать половозрелых животных.

21. Исследуемые вещества вводятся в желудок лабораторных животных натощак в нативном виде, в водном растворе, растительном масле, индифферентных растворителях и эмульгаторах (полиэтиленгликоле, Твин, диметилсульфоксид и т.д.), а также в виде водных вытяжек, масляных эмульсий или крахмальных суспензий. При этом разные дозы вещества следует вводить животным в растворах одинаковой концентрации и оптимальных объемах, составляющих 1-1,5% от массы тела, т.е. 0,2-0,3 мл для мышей (допустимый – 1,0 мл); 2,0-3,0 мл для крыс (допустимый – 5,0 мл) и 4,0-6,0 мл для морских свинок. Кормление животных производится не ранее чем через 3 часа после введения вещества. В опытах следует избегать введения веществ или их растворов, обладающих выраженными раздражающими свойствами, в том числе, кислотными или щелочными. Это может привести к ошибкам в трактовке результатов. Такого рода вещества целесообразно вводить в виде масляных растворов или на 1,0-2,0% крахмальном клейстере.

При отсутствии летальных исходов от воздействия максимально возможных объемов вещества допускается применение теста «накопления».

Вещество вводится в максимально возможной концентрации в объеме, составляющем до 5% массы тела (масляных растворов – до 2%), с интервалом между введениями 1,5-2,0 часа в течение 6-12 часов. При таком дробном введении можно в течение одного дня ввести вещество в количестве нескольких десятков грамм на килограмм массы животного.

Срок наблюдения за животными в остром опыте при наличии единичной гибели должен составлять не менее 14 суток. Однако период наблюдений зависит от степени проявления токсических реакций, начала и длительности периода восстановления и может быть укорочен или продлен.

При наблюдении за подопытными животными необходимо регистрировать их поведение, состояние, внешний вид, наличие аппетита, уровень водопотребления, степень проявления реакции на внешние раздражители.

Регистрируются наличие рвоты, видимые кровоизлияния, частота дыхания, мышечные подергивания, тремор, судороги, парезы, параличи, температура тела, окраска ушей, конечностей, глаз, развитие наркотического или коматозного состояния и других симптомов интоксикации. Особое внимание обращают на сроки гибели животных. Погибших и выживших животных следует подвергать макроскопическому и/или патоморфологическому исследованию. При этом для вскрытия отбираются только те особи, гибель которых наступила не позже чем за 3-5 часов до патоморфологического исследования.

22. Классификацию веществ по степени их опасности в условиях однократного внутрижелудочного воздействия проводят согласно приложению 1 настоящей Инструкции. При отнесении изучаемого вещества к I-II классам опасности (чрезвычайно- или высокоопасные химические соединения) дальнейшие исследования проводят не в объеме первичной токсикологической оценки, а по программе гигиенического нормирования соединения в окружающей среде (воздух рабочей зоны, атмосферный воздух, вода водоемов и т.д.).

23. Оценку особенностей проявления видовой резистентности животных к токсическому действию вещества осуществляют с использованием показателя КВЧ. Интерпретацию результатов исследования видовой чувствительности проводят согласно приложению 2 настоящей Инструкции.

При определении величины КВЧ от 3,1-9,0 необходимо установить среднесмертельную дозу вещества на третьем виде животных (целесообразно методом «одной точки»), а все дальнейшие исследования, в первую очередь подострые эксперименты, проводить на наиболее чувствительном к данному веществу виду лабораторных животных.

24. Для оценки потенциальной опасности развития острого отравления веществ (строительные и отделочные материалы, лакокрасочные изделия, изделия хозяйственно-бытового назначения, одорирующие вещества, косметические отдушки, посуда, изделия детского обихода, изделия медицинского назначения и др.) для целей их гигиенической регистрации или сертификации рекомендуются следующие методы исследований:

статическая ингаляционная затравка;

метод свободного выпаивания и/или однократного введения в желудок белых крыс водных вытяжек из изделий;

метод оценки однократной внутрибрюшинной токсичности;

25. Определение вероятности развития острого отравления возможно с использованием экспресс-методик на клеточных тест-объектах (бычья сперма и др.). При положительных результатах таких экспериментов обяза-

тельным условием является использование теплокровных животных (белые крысы, белые мыши и др.).

26. Задачей статической ингаляционной затравки является установление способности веществ (химических соединений, мигрирующих из них) вызывать гибель или клинические симптомы интоксикации лабораторных животных, что позволит судить о степени их потенциальной опасности в плане возможности развития острого отравления. Статическая ингаляционная затравка проводится однократно с использованием половозрелых белых мышей или крыс. Количество животных в опыте не менее 6 штук. Продолжительность статической затравки – 2 часа (для мышей) и 4 часа (для крыс).

Основные требования к устройствам для затравки:

инертность конструктивного материала (предпочтительно стекло или неокрашенная нержавеющая сталь);

отсутствие прямого контакта испытуемого вещества с кожными покровами экспериментальных животных (оборудование специальной подставки и домиков для размещения животных);

возможность визуального наблюдения во время затравки (оборудование смотровых окон в конструкциях из нержавеющей стали);

доступность тщательной уборки устройства после проведения эксперимента;

достаточность воздухообмена (наличие воздушно-отводного патрубка, температура внутри устройства не должна превышать 25-27°С);

герметичность основных конструктивных узлов устройств;

наличие приспособления для отбора проб воздуха (при необходимости) из затравочных устройств при проведении эксперимента.

Наиболее приемлемыми и доступными устройствами для статической ингаляционной затравки являются эксикаторы, стеклянные бутыли (емкостью от 20 л). Возможны другие конструкции устройств, отвечающие вышеуказанным требованиям.

Вещество (изделия) помещают в затравочное устройство с животными из расчета:

1 $м^2/м^3$ (обои, панели, пластики и пр.; лакокрасочные материалы, после их высыхания на стеклянной или металлической пластине);

косметические отдушки, деодоранты, дезинфектанты, антисептики и прочие изделия бытовой химии (при наличии сведений о летучести) наливаются в чашки Петри для свободного испарения (максимально насыщающие концентрации), а вещества в аэрозольной упаковке распыляются в течение времени, соответствующему инструкции по применению для конкретной продукции.

27. Для оценки потенциальной опасности развития острого внутрижелудочного и внутрибрюшинного отравления (общетоксическое действие) используются водные вытяжки из изделий. Условия приготовления вытяжек аналогичны таковым при проведении санитарно-химических исследований, зависят от вида изделий, их назначения.

Эксперименты проводятся на здоровых половозрелых белых крысах обоего пола (в группе должно быть не менее 3-5 животных).

Метод свободного выпаивания заключается в том, что животным, лишенным корма в течение суток, дают пить вытяжки из изделий, которые заливают в поилки вместо питьевой воды. Отмечается количество выпитой вытяжки. Отказ животного от приема вытяжки является неблагоприятным прогностическим признаком.

28. Вместо свободного выпаивания можно применять метод однократного введения вытяжек в желудок белых крыс (натощак) с помощью иглы-зонда в объеме 3 мл/200 грамм массы животного или брюшную полость белых мышей (натощак) в объеме 1 мл/ 20 грамм массы животного. Кормление животных необходимо осуществлять через сутки после манипуляций.

Визуально оценивается общее состояние животных, клинические симптомы интоксикации, регистрируется возможная гибель в период затравок и в течение суток после них. При отсутствии сведений о химическом составе изделий в затравочных устройствах можно проводить замеры концентраций веществ, потенциально способных мигрировать из изделий. Дополнительно (при необходимости) осуществляются лабораторные исследования животных после затравок.

## ГЛАВА 5
## ИССЛЕДОВАНИЯ РАЗДРАЖАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ НА СЛИЗИСТЫЕ ГЛАЗ

29. Для проведения испытаний берут не менее 3-х кроликов или морских свинок, в нижний конъюнктивальный свод правый глаз которых однократно вносится исследуемое вещество в нативном виде в количестве 50-100 мкл (для жидких, в т.ч. вытяжек) и 50-100 мкг (порошок), левый глаз при этом служит в качестве контрольного (закапывается 1-2 капли дистиллированной воды).

30. В случаях невозможности использования веществ в нативном виде допускается их применение в разбавленном виде. В качестве растворителей/разбавителей следует применять индифферентные вещества,

перечень которых указан в главе 4 настоящей Инструкции. При этом растворитель вносится в контрольный глаз кроликов в эквивалентных количествах.

31. Вещества, обладающие выраженными кислотными (pH < 2,5 ед.) и щелочными (pH > 12,5 ед.) свойствами, а также вызывающие раздражение кожных покровов (1 балл) исследованию раздражающих эффектов на слизистую глаз не подвергаются.

Визуальное наблюдение за состоянием слизистой и конъюнктивы глаз подопытных животных проводится на протяжении 24 часов – при отсутствии раздражения и инстиляции вытяжек (через 1 и 24 часа после воздействия) и в течение двух недель (для веществ, обладающих выраженным раздражающим действием). Регистрируются признаки раздражения слизистой оболочки (слезотечение, птоз, блефароспазм, инъецирование сосудов, набухание век и т.д.), их выраженность и длительность.

32. Оценку степени выраженности раздражающего действия веществ (вытяжек) на слизистые оболочки глаз и их классификационную оценку по данному признаку проводят согласно приложениям 3 и 4 настоящей Инструкции.

## ГЛАВА 6
## ОЦЕНКА МЕСТНО-РАЗДРАЖАЮЩИХ И КОЖНО-РЕЗОРБТИВНЫХ СВОЙСТВ

33. Задачей исследований по изучению особенностей эпикутанного воздействия веществ является оценка степени проявления их кожно-раздражающих и кожно-резорбтивных свойств при однократных и повторных аппликациях экспериментальным животным.

В результате проведения опытов представляется возможным:

получить данные по оценке реальной опасности возникновения острых и подострых проявлений воздействия веществ на кожные покровы;

обосновать необходимость технологических и специальных защитных мероприятий, направленных на полное или максимальное исключение контакта кожных покровов работающих с вредными веществами.

34. Изучение местно-раздражающих и кожно-резорбтивных свойств веществ проводят путем их однократных и повторных аппликаций на кожу спины или хвосты экспериментальных животных. Количество животных в группе не менее 6 особей.

Участок аппликации должен составлять 5% общей поверхности кожи животных, что соответствует поверхности 2/3 хвоста у крыс или участку

кожи на спине крыс 4 х 4 см, морских свинок 5 х 5 см, кроликов 7 х 8 см. За сутки до эксперимента тщательно выстригают ножницами или электромашинкой шерсть на боковой поверхности или спине. Применение депиляторов недопустимо. В опыт пригодны животные с чистой здоровой кожей без механических повреждений. Для изучения местного действия шерсть выстригают на симметричных участках спины по обе стороны от позвоночника, оставляя шерстяной покров между ними в 1-2 см. Правый бок служит для аппликации изучаемого вещества, левый – для контроля.

На время экспозиции, для исключения слизывания вещества с кожи и поступления его через органы дыхания, животных фиксируют в специальных индивидуальных домиках.

Вещество наносят на кожные покровы лабораторных животных, как правило, в нативном виде. В случае невозможности нанесения вещества per se, а также при наличии выраженного раздражающего либо токсического эффекта при проведении подострого эксперимента применяют разведение вещества. При этом в опыте используют недействующую концентрацию. В качестве растворителей и разбавителей следует использовать дистиллированную воду, допускается применение растительного и вазелинового масел, разбавленных растворов этилового спирта и ацетона. Нанесение вещества осуществляется открытым способом при температуре окружающей среды 18-24$^0$С. Для летучих веществ (температура кипения до 160$^0$С) следует использовать закрытый способ: компрессный метод, метод наклейки капсул и часовых стекол. Контрольные животные должны находиться в одинаковых условиях. На соответствующие участки кожи им наносится растворитель/разбавитель, используемый в опыте. При изучении местного действия контролем служит противоположный участок кожи того же животного.

По окончании аппликаций необходимо остатки вещества удалить теплой водой с мылом или растворителем, избегая грубых приемов и манипуляций, способных вызывать повреждение кожи. Жидкость, применяемая для смыва, должна обладать способностью растворять исследуемое вещество и быть безвредной как для кожи, так и для целостного организма. Ватным тампоном, смоченным в жидкости, проводится смыв с участка кожи, на котором проводили аппликацию вещества. Манипуляцию повторяют не менее 2-х раз, последним сухим – промокают участок кожи.

35. Исследования по оценке местно-раздражающих свойств вещества проводят в однократных и повторных (20-кратные аппликации по 5 раз в неделю) опытах. На кожные покровы лабораторных животных равномерно наносится вещество в дозе 20 мг/см$^2$. Ежедневная экспозиция составляет 4 часа. Период наблюдений за клиническими проявлениями интоксикации и

состоянием кожных покровов, включая инструментальные исследования, проводят через 1 и 16 часов после аппликации и смыва остатков вещества. Расчет ведется по каждому животному и затем вычисляется среднегрупповой показатель.

Функциональные нарушения кожи характеризуются появлением различной степени выраженности эритемы, отека, трещин, изъязвлений, изменением ее температуры и уменьшением нейтрализующей способности. Оценка в баллах функционального состояния кожи по выраженности эритемы и величины отека и классификация выраженности раздражающих свойств веществ, приведены в приложениях 5, 6 настоящей Инструкции.

Вещества, относящиеся к 5 классу, дальнейшему изучению кожно-резорбтивного действия не подлежат. Для веществ, относящихся к 4-5 классам раздражающего действия на кожу, ставится пометка «опасно при контакте с кожными покровами».

36. Определение степени опасности острого отравления при чрезкожном поступлении веществ ($DL_{50\ cut}$).

Для определения $DL_{50\ cut}$ на выстриженный участок спины опытных лабораторных животных (4х5 см для белых крыс, 5х6 см для морских свинок, 7х9 см для кроликов) наносят исследуемое вещество из расчета 100-2500 мг/кг веса животного и втирают его в кожу стеклянной или деревянной палочкой легкими массирующими движениями. Для предотвращения слизывания животных фиксируют в специальных домиках до высыхания вещества, но не менее чем на 4 часа. Сухие вещества целесообразно растворять либо увлажнять индифферентными жидкостями (дистиллированная вода, глицерин, растительное масло, полиэтиленгликоль и др.), расчет дозы при этом рассчитывают по действующему (исследуемому) веществу.

В качестве контроля выступает группа животных, которым аппликируется растворитель.

Наблюдение за состоянием животных в первые 8 часов после нанесения проводится ежечасно, в последующие 2 недели – ежесуточно с регистрацией поведения, особенностей клинической картины отравления, сроков гибели животных. Возможно сокращение сроков наблюдения в зависимости от наличия симптомов интоксикации.

Классификацию веществ по степени опасности острого отравления ими проводят согласно приложению 1 настоящей Инструкции.

37. Задачей этапа исследований по оценке кожно-резорбтивного действия является получение альтернативного ответа о возможности вещества проникать через неповрежденную кожу и вызывать интоксикацию организма при многократном воздействии.

Наиболее приемлемым способом оценки кожно-резорбтивных эффектов является «пробирочный», ибо с его помощью возможно оценить воздействие на кожу максимальных количеств вещества. Проведение опытов на белых крысах является обязательным, т.к. гистологическая структура кожи их хвостов близка к коже человека. Животные помещаются в специальные домики (изолированно друг от друга) с отверстиями для хвоста. Хвост погружается в нативное вещество или его раствор в индифферентных растворителях, который не оказывает раздражающего действия в однократных опытах при аппликациях на кожные покровы, на 2/3 длины в пробирку. Необходимо при этом создавать герметичность для исключения возможности ингаляционного воздействия вещества (испарение из пробирки) на подопытных животных. Хвосты контрольных животных погружают в пробирки с дистиллированной водой или соответствующий растворитель.

Оценка резорбтивного эффекта проводится через 1 и 16 часов после каждого эпикутанного воздействия, а также в конце субхронического эксперимента (20-кратные повторные аппликации по 5 раз в неделю). При этом регистрируют смертельные эффекты, клинические симптомы интоксикации и признаки раздражения кожи хвостов, проводятся исследования (физиологические, общеклинические, биохимические, патоморфологические и пр.) общего состояния животных.

38. При гигиенической регистрации и сертификации изделий, непосредственно контактирующих с кожными покровами человека, вследствие чего для оценки раздражающих и кожно-резорбтивных свойств используются водные вытяжки из образцов. При этом применяется следующий методический прием: нативные вытяжки (условия приготовления аналогичны таковым при проведении санитарно-химических исследований, зависят от вида изделий, их назначения) апплицируются трехкратно с интервалом 1 сутки по 4 часа в день на лишенную шерстного покрова (за сутки до начала эксперимента) кожу спины белых крыс, морских свинок или кроликов (не менее 3 шт. в группе). Площадь нанесения зависит от вида животных и указана выше. Объем апплицируемой вытяжки составляет 20 мкл/см$^2$. На время экспозиции для исключения слизывания вытяжек с кожи животных фиксируют в специальных индивидуальных домиках. О степени выраженности раздражающего и резорбтивного эффектов вытяжек судят по наличию клинических симптомов на протяжении всего эксперимента и по величине среднего общесуммарного балла кожно-раздражающего действия через 24 часа после последней аппликации.

# ГЛАВА 7
# ИССЛЕДОВАНИЯ КУМУЛЯТИВНЫХ СВОЙСТВ

39. Целью изучения кумулятивных свойств вещества является определение в эксперименте способности ксенобиотика накапливаться в организме и оказывать неблагоприятное действие на уровне проявления смертельных эффектов или на функциональное состояние ряда органов и систем подопытных животных (функциональная и материальная кумуляция). При повторном воздействии вещества на организм животных представляется возможным:

изучить выраженность кумулятивных свойств;

выявить наиболее поражаемые веществом функции, органы и системы организма, а также уточнить некоторые механизмы его токсического действия.

40. Первым этапом исследований, позволяющим получить первичную информацию о кумулятивных свойствах веществ, является прием, предложенный Б.М.Штабским (1973). Для этого по результатам острого опыта дважды рассчитывается $DL_{50}$: – по результатам гибели животных в течение 1-х суток ($Д_1$); – по результатам гибели животных в течение всего опыта ($Д_2$). Исходя из этих показателей рассчитывается индекс кумуляции ($I_k$): $I_k = 1 - (Д_2/Д_1)$. При $I_k > 0,5$ можно считать, что вещество обладает сверхкумулятивностью; при $0,5 > I_k > 0$ – сильной кумулятивностью; при $I_k = 0$ – средней кумулятивностью. Если гибель животных в острых опытах вообще не имеет место или же наступает в пределах первого часа после введения вещества, то изучаемое вещество обладает слабой кумуляцией. При этом $I_k$ также будет равняться нулю.

Наиболее приемлемым способом оценки кумулятивных свойств веществ является метод Ю.С.Кагана и В.В.Станкевича (1964), с помощью которого возможно рассчитать коэффициент кумуляции (по смертельным эффектам) и в динамике проследить изменения, возникающие в органах и системах организма в ответ на действие интоксиканта. Опыты проводят на белых крысах, которым внутрижелудочно вводят испытуемое вещество в дозе 0,1 $DL_{50}$ в течение 1,0-1,5 месяцев (по 5 раз в неделю), контрольные животные получают в эквивалентных количествах растворитель. В случае если $DL_{50}$ не установлена, то в подостром эксперименте следует использовать дозу, кратную 0,1 от максимально введенной в остром опыте. В тех случаях, когда подлежит изучению новое химическое соединение и о характере его токсического действия из литературы практически не известно, то длительность подострого эксперимента может быть увеличена до 2 месяцев.

В ходе эксперимента регистрируют гибель животных, сроки ее наступления, клинические симптомы интоксикации и по летальным эффектам рассчитывают среднесмертельную дозу вещества при субхроническом воздействии и коэффициент кумуляции по общепринятому методу.

По степени выраженности кумулятивного эффекта – величине коэффициента кумуляции ($К_к$) вещества можно классифицировать на четыре группы (Л.И.Медведь, 1965):

1. Сверхкумулятивные – $К_к < 1,0$;
2. С выраженной кумулятивной активностью – $1,1 < К_к < 3,0$;
3. Со средней кумулятивной активностью – $3,1 < К_к < 5,0$;
4. Со слабой кумулятивной активностью – $К_к > 5,1$

Наряду с выявлением кумулятивности веществ, путем использования большого количества и разнообразия изучаемых тестов удается в значительной мере выяснить особенности токсикодинамики изучаемого вещества. Выбор тестов в подостром эксперименте производят на основании литературных данных о токсикодинамике близких к изучаемому веществу по физико-химическим свойствам соединениям, с ориентацией на данные острого опыта (картина интоксикации, результаты патоморфологического исследования и т.д.). С учетом возможностей токсикологических лабораторий рекомендуется использовать показатели, отражающие функциональное состояние ряда систем и органов животных, перечень которых приведен в приложении 6 Инструкции. Рекомендуемый алгоритм изучения морфофункциональных показателей животных в экспериментах по моделированию повторного воздействия вещества приведен в приложении 7 Инструкции.

Кроме этого, возможно исследование кумулятивных свойств вещества в тесте «субхронической токсичности» (метод P.Lim e.a., 1961), который проводят на двух группах экспериментальных животных (крысы или мыши): контрольной или опытной по 10-15 особей в каждой. Суть метода «субхронической токсичности» заключается в моделировании режима постоянного увеличения в полтора раза через каждые 4 дня дозы вводимого в желудок вещества в течение 24-28 суток. В течение первых четырех суток эксперимента вводят животным по 0,1 $DL_{50}$, в течение 5-8 суток ежедневно вводят по 0,15 $DL_{50}$, на девятые-двенадцатые сутки – по 0,225 $DL_{50}$, на тринадцатые-шестнадцатые сутки – по 0,33 $DL_{50}$, на семнадцатые – двадцатые сутки – по 0,50 $DL_{50}$, на 21-24 сутки – по 0,75 $DL_{50}$ и на 24-28 сутки – по 1,125 $DL_{50}$. Введение производят ежедневно, без выходных, контрольные животные в адекватных объемах получают растворитель. Недостатком метода P.Lim e.a. является применение массивных доз вещества и оценка кумулятивного эффекта только с учетом грубого альтернативного показателя – гибели

животных без анализа токсикодинамики повторного воздействия и морфофункциональных изменений, происшедших в организме животных.

## ГЛАВА 8
## ОЦЕНКА СЕНСИБИЛИЗИРУЮЩИХ СВОЙСТВ

41. Задачей исследований является изучение потенциальной аллергенной способности веществ экспрессными методами путем однократной внутрикожной сенсибилизации, которая исключает влияние факторов, связанных с физико-химическими свойствами вещества и особенностями путей поступления в организм и позволяет в короткие сроки получить доказательство аллергизирующих свойств и ориентировочно оценить опасность аллергена по силе специфического действия.

42. Экспресс-сенсибилизация осуществляется на модели воспроизведения гиперчувствительности замедленного типа (далее – ГЗТ) на белых мышах. В опытную и контрольную группы берут по 10-12 беспородных белых мышей. Животных сенсибилизируют 10 мМоль или 100 мкл изучаемого вещества однократно внутрикожно в основание хвоста туберкулиновым или микрошприцом. Нативное вещество растворяют в растворе Хенкса (pH 7,5) или стерильном физиологическом растворе таким образом, что бы сенсибилизирующая доза на 1 животное содержалась в 30 мкл (целесообразно использовать 0,35% рабочую концентрацию). Для водонерастворимых веществ в качестве растворителей используют диметилсульфоксид, этиловый спирт, ацетон в конечной концентрации не более 20%, а также автоклавированное вазелиновое или растительное масло. Из рабочей концентрации вещества готовится в соотношении 1:1 смесь с иммуностимулятором – полным адъювантом Фрейнда (далее – ПАФ) при их тщательном совместном эмульгировании (интенсивном перемешивании на магнитной мешалке. Опытным животным вводится по 60 мкл сенсибилизирующей дозы в ПАФ, контрольным – 60 мкл смеси ПАФ с растворителем (без изучаемого вещества).

При изучении сенсибилизирующей активности изделий из них готовят вытяжки (модельные среды – раствор Хенкса или физиологический раствор). Условия приготовления вытяжек («Насыщенность») аналогичны таковым при проведении санитарно-химических исследований. Термостатирование при 37°С в течение 3 суток. Для внутрикожного введения применяют смесь испытуемой вытяжки (70 мкл) и ПАФ (30 мкл) на 1 животное.

Выявление сенсибилизации проводят на 6-е сутки опыта провокационными пробами – по тесту опухания лапы мыши (далее – ТОЛМ) и/или тесту

опухания уха (далее – ТОУМ), а также с использованием лабораторных методик аллергодиагностики, из которых наиболее технически проста в постановке и воспроизводима реакция специфического лейколизиса (приложение 8 настоящей Инструкции). Воспроизведение ГЗТ на мышах позволяет выявлять аллергенность не только растворимых, но и нерастворимых твердых и пастообразных, а также красящих веществ.

При оценке сенсибилизирующей способности вещества следует учитывать, что экспериментальная модель воспроизведения сенсибилизации на мышах недостаточно чувствительна даже при использовании ПАФ, поэтому при сомнительных результатах аллергологического тестирования и затруднении их оценки следует провести исследования на модели внутрикожной сенсибилизации морских свинок-альбиносов в ухо по методу Алексеевой-Петкевич согласно Методическим указаниям «Требования к постановке экспериментальных исследований по изучению аллергенных свойств и обоснованию гигиенических регламентов химических аллергенов в воздухе рабочей зоны» №10-53-97, утвержденных Главным государственным санитарным врачом Республики Беларусь 01 октября 1997 года.

## ГЛАВА 9
## ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

43. Результаты первичной токсикологической оценки веществ приводятся в гигиеническом заключении, отражающем:

характеристику токсичности и опасности вещества;

рекомендации о приемлемости с гигиенических позиций использования вещества в той или иной сфере (заявляемой разработчиком);

рекомендуемые технологические, санитарно-технические и медицинские профилактические меры, направленные на предупреждение вредного влияния вещества на здоровье человека и состояние окружающей среды.

44. Целесообразно представление результатов первичной токсикологической оценки веществ в форме соответствующего заключения. С целью унификации, стандартизации и сопоставимости полученных данных рекомендуется соответствующая форма заключения (приложение 10 настоящей Инструкции). Следует отметить, что данная форма отражает только минимальный объем информации и может быть расширена по усмотрению исполнителей.

45. В заключении по результатам первичной токсикологической оценки веществ (далее – заключение) отражается в обязательном порядке

следующая информация:

полное наименование организации, проводившей исследования, с указанием ее ведомственной подчиненности;

сведения об аккредитации Минздравом и Госстандартом Республики Беларусь на право проведения исследований веществ в объеме первичной токсикологической оценки.

Заключение должно быть подписано исполнителями органов и учреждений госсаннадзора (научными сотрудниками, врачами-токсикологами, врачами-лаборантами, врачами-гигиенистами) с указанием их должностей, ученых званий. Заключение утверждает руководитель организации, где проводились исследования, его подпись должна быть заверена гербовой печатью учреждения. Заключение регистрируется в соответствующем журнале. Организация-исполнитель несет ответственность за достоверность приведенных в документе сведений.

46. Физико-химическая характеристика изученного вещества отражается в первом разделе заключения на основании официально представленной заказчиком информации. Если в процессе работы исполнитель получил дополнительные данные по физико-химическим константам вещества, то результаты также приводятся в данном разделе документа с указанием методики и исследовательской аппаратуры.

47. Во втором разделе заключения на основании физико-химических свойств вещества, возможной сферы его использования, проектов технологического регламента, ТУ и другой нормативно-технической документации, представленной заказчиком, делается прогноз о потенциальной возможности загрязнения производственных помещений и окружающей среды веществом с указанием наиболее вероятного при этом его агрегатного состояния (пар, газ, аэрозоль и т.д.).

48. Третий раздел заключения по результатам первичной токсикологической оценки веществ посвящен аналитическому обзору справочной, научной, информативно-технической литературы о биологических свойствах вещества, компонентов и ингредиентов изучаемых продуктов и рецептур, а также близких к ним химических соединений (аналогов, гомологов). При этом основной упор делается на освещение токсиколого-гигиенических характеристик (общетоксические аспекты действия при различных путях поступления, гигиенические стандарты содержания в различных средах, возможность индукции отдаленных последствий действия – канцерогенеза, мутагенеза, сенсибилизации, эмбрио- и гонадотоксичности, тератогенеза и т.д.).

В случае выявления по данным литературы близких по структуре

изучаемому веществу соединений, проявляющих отдаленные эффекты, то объем первичной токсикологической оценки должен быть расширен проведением альтернативных экспресс-исследований (например, тест Эймса для изучения мутагенности, тест О.Г.Алексеевой и А.И.Петкевич для оценки аллергоопасности и т.д.).

Информационно-литературный поиск проводят, как правило, до начала экспериментальных работ с ретроспективным анализом как периодической научной литературы, соответствующих справочников и обзоров, так и данных международных и национальных регистров потенциально токсичных химических веществ, информаций токсиколого-гигиенических информационных центров.

49. Результаты экспериментальных работ по первичной токсикологической оценке и их гигиеническая интерпретация излагаются в четвертом разделе заключения в следующей последовательности:

характеристика использованных в экспериментах животных (количество, вид, исходная масса, пол и т.д.);

характеристика токсичности и опасности при однократном внутрижелудочном введении: указывают испытанные дозы вещества и концентрации его растворов, растворитель, количество животных в экспериментальных группах, метод расчета смертельных доз. Описывают Клиническую картину интоксикации с указанием сроков гибели, продолжительности тех или иных симптомов отравления, результаты патоморфологического исследования. Указывают класс опасности вещества, величину КВЧ и т.д.;

при оценке повреждающего действия веществ на слизистые оболочки глаз кроликов используются приведенные в приложении 3 настоящей Инструкции градации. При этом указывают количество животных, дозу и агрегатное состояние внесенного вещества, описывают в динамике манифестацию признаков местного действия, результаты исследования целостности эпителия конъюнктивы, сроки завершения местного воспалительного процесса, его патофизиологическую характеристику (преимущественно кератит, конъюнктивит, блефарит), а также форму течения (серозный, гнойный и т.д.). При суммарной оценке выраженности симптомов повреждения до 3 баллов и сроках завершения местного воспалительного процесса в течение первых суток изучаемое вещество следует отнести к малоопасным, в плане индукции повреждений слизистых оболочек, веществам;

характеристика особенностей действия вещества при однократном и повторном воздействии на неповрежденные кожные покровы: при описании раздражающих кожу свойств вещества указывают вид и количество

использованных животных, способ аппликаций, испытанные дозы и концентрации вещества. Приводят результаты изучения в виде таблиц, содержащих среднегрупповые значения показателей опытных и контрольных животных по степени выраженности эритематозной и отечной реакций кожи (оценка согласно приложению 4 настоящей Инструкции), а также описание признаков интоксикации, местных проявлений эпикутанного действия (повышенная складчатость кожи, сухость, трещины, язвенные и некротические проявления, шелушение и т.д.). Оценку веществ по степени выраженности их раздражающих кожу свойств проводят по приведенной в приложении 5 классификации;

При изучении кожно-резорбтивных свойств вещества указывают количество белых крыс, использованных в эксперименте, испытанные концентрации, в табличном варианте приводят данные изучения тех или иных гематологических, биохимических, физиологических и других тестов, освещают клиническую картину интоксикации, а также оценивают проявления общерезорбтивного действия вещества. В случае получения в результате проведения однократного «пробирочного» теста сведений, указывающих на наличие у вещества способности к трансдермальной резорбции или в случае отнесения изучаемого вещества к I-III класса веществ по величине $DL_{50\ cut}$, проводят дополнительные эксперименты по установлению параметров токсикометрии при эпикутанном воздействии согласно Методическим указаниям «Оценка воздействия вредных химических соединений на кожные покровы и обоснование предельно допустимых уровней загрязнения кожи» №2102-79, утвержденным Главным государственным санитарным врачом СССР.

50. В разделе характеристики кумулятивных свойств вещества и особенностей его влияния на организм в условиях повторного внутрижелудочного воздействия приводят данные о количестве животных, методике моделирования подострой токсичности, испытанных дозах, концентрациях и объемах вещества и контрольного растворителя (разбавителя), описывают симптоматику развития подострой интоксикации, указывают количество и сроки гибели животных, представляют значения среднесмертельной дозы при хроническом воздействии и указывают величину коэффициента кумуляции и/или индекса кумуляции. Результаты определения кумулятивности по экспресс-методу Б.М.Штабского (1973) или в тесте «субхронической токсичности» по P.Lim e.a. (1961) не могут быть оценены в рамках какой-либо классификации. Поэтому предпочтение отдают методике Ю.С.Кагана и В.В.Станкевича (1964), ибо полученные в рамках этой модели результаты позволяют оценить степень выраженности

кумулятивного эффекта по величине коэффициента кумуляции ($К_к$). Отнесение изученного вещества к первой-второй группе по кумулятивному эффекту определяет необходимость его токсикологического исследования в объеме методических схем гигиенической регламентации вещества в одной из сред.

В данном разделе необходимо осветить вопросы, касающиеся характера токсического действия вещества на организм, т.е. представить в виде фактического материала (статистически обработанного и сведенного в таблицы) результаты изучения морфо-функционального статуса организма в целом, его отдельных органов и систем с указанием методов исследования. При этом оценивается характер токсического действия вещества, например, нейротропный, гепатотропный, политропный и т.д.

51. Характеристика сенсибилизирующей способности: в данном разделе приводят сведения о количестве животных, методиках моделирования сенсибилизации и выявления аллергизации, применяемых дозах и концентрациях вещества, растворителя, описываются результаты провокационных и лабораторных тестов аллергодиагностики с их оценкой, в таблице приводятся среднегрупповые значения показателей опытной и контрольной групп, частота положительных реакций в группах, статистические показатели.

При отнесении изучаемого вещества к 3-4 классам аллергенной активности или сомнительных результатах экспериментов проводят дополнительные исследования на морских свинках-альбиносах по методу Алексеевой-Петкевич, а в случае оценки вещества как сильный или выраженный аллерген (1-2 класс) необходимо проведение развернутых исследований по его гигиенической регламентации согласно Методическим указаниям №10-53-97.

52. Заключительный раздел документа по результатам первичной токсикологической оценки веществ состоит из трех подразделов:

в первом – в форме выводов приводят токсикологическую характеристику вещества (острая токсичность, раздражающая и резорбтивная активность, кумулятивные эффекты и характер токсического действия, сенсибилизирующая способность).

во втором – делают заключение о возможности (или невозможности) рекомендовать органам и учреждениям госсаннадзора Республики Беларусь принять решение о согласовании производства и применения вещества в народном хозяйстве.

в третьем – перечисляют необходимые санитарно-гигиенические меры, в том числе: по организации технологических процессов производства и

применения веществ, указываются санитарные правила и другие нормативные документы, регламентирующие получение и использование подобных соединений; указываются меры личной гигиены и производственной санитарии, дается перечень рекомендуемых средств индивидуальной защиты работающих; на основании действующих нормативных документов Министерства здравоохранения Республики Беларусь о медицинских осмотрах работающих вносятся предложения по их периодичности, объему лабораторно-клинической диагностики.

53. Результаты токсиколого-гигиенических исследований вещества для государственной гигиенической регламентации и регистрации представляются по утвержденной постановлением Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 13 ноября 2000г. № 54 форме «Акт гигиенической экспертизы безопасности вещества».

Приложение 1
к Инструкции 1.1.11-12-35-2004
«Требования к постановке
экспериментальных исследований
для первичной токсикологической
оценки и гигиенической
регламентации веществ»

## КЛАССИФИКАЦИЯ ОПАСНОСТИ ВЕЩЕСТВ ПО СТЕПЕНИ ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ОРГАНИЗМ (по ГОСТ 12.1.007-76 «ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности»)

| Наименование показателя | Класс опасности | | | |
|---|---|---|---|---|
| | I | II | III | IV |
| Предельно допустимая концентрация (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны, мг/м$^3$ | Менее 0,1 | 0.1-1.0 | 1.1-10.0 | Более 10,0 |
| Средняя смертельная доза при введении в желудок, мг/кг | Менее 15 | 15-150 | 151-5000 | Более 5000 |
| Средняя смертельная доза при нанесении на кожу, мг/кг | Менее 100 | 101-500 | 501-2500 | Более 2500 |
| Средняя смертельная концентрация в воздухе, мг/м$^3$ | Менее 500 | 501-5000 | 5001-50000 | Более 50000 |
| Коэффициент возможного ингаляционного отравления (КВИО) | Более 300 | 300-30 | 29-3 | Более 3 |
| Зона острого действия (Zac) | Менее 6,0 | 6,0-18,1 | 18,1-54,0 | Более 54,0 |
| Зона хронического действия (Zch) | Более 10,0 | 10,0-5,0 | 4,9-2,5 | Менее 2,5 |

Примечание.

I класс - вещества чрезвычайно опасные;
II класс - вещества высокоопасные;
III класс - вещества умеренно опасные;
IY класс - вещества малоопасные.

Приложение 2
к Инструкции 1.1.11-12-35-2004
«Требования к постановке
экспериментальных исследований
для первичной токсикологической
оценки и гигиенической
регламентации веществ»

## ЗАВИСИМОСТЬ ХАРАКТЕРА ВИДОВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЖИВОТНЫХ ОТ ВЕЛИЧИНЫ КОЭФФИЦИЕНТА ВИДОВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

| Ранги КВЧ | Величины КВЧ | Характеристика видовой резистентности |
|---|---|---|
| I | менее 3,0 | не выражена |
| II | 3,1-9,0 | выражена |
| III | более 9,1 | резко выражена |

Приложение 3
к Инструкции 1.1.11-12-35-2004
«Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ»

# ОЦЕНКА РАЗДРАЖАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ НА СЛИЗИСТЫЕ ОБОЛОЧКИ ГЛАЗ КРОЛИКОВ

| Симптомы повреждения | | Характеристика выраженности симптомов | Оценка, балл |
|---|---|---|---|
| А | Гиперемия конъюнктивы | Отсутствие гиперемии | 0 |
| | | Сосуды инъецированы | 1 |
| | | Отдельные сосуды трудно различить | 2 |
| | | Диффузное глубокое покраснение | 3 |
| Б | Отек век | Отсутствие отека | 0 |
| | | Слабый отек | 1 |
| | | Выраженный отек с частичным выворачиванием век | 2 |
| | | В результате отека глаз закрыт наполовину | 3 |
| | | В результате отека глаз закрыт полностью | 4 |
| В | Выделения из глаза | Отсутствие выделений | 0 |
| | | Минимальное количество в углу глаза | 1 |
| | | Количество выделений увлажняет веки | 2 |
| | | Количество выделений увлажняет веки и окружающие ткани | 3 |

Примечание.

Для оценки степени повреждающего действия проводят суммацию баллов интенсивности каждого из симптомов для каждого взятого в эксперимент животного. При сумме баллов 10 (максимальное количество) наблюдается резко выраженное повреждение.

Приложение 4
к Инструкции 1.1.11-12-35-2004
«Требования к постановке
экспериментальных исследований
для первичной токсикологической
оценки и гигиенической
регламентации веществ»

## КЛАССИФИКАЦИОННАЯ ОЦЕНКА ВЕЩЕСТВ ПО ВЫРАЖЕННОСТИ ИРРИТАТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ

| Выраженность раздражающего действия | Средний суммарный балл выраженности ирритативного действия | Классы |
|---|---|---|
| Отсутствие | 0 | 0 |
| Слабое | 1-3 | 1 |
| Умеренное | 4-6 | 2 |
| Выраженное | 7-10 | 3 |
| Резко выраженное | Более 10 | 4 |

Приложение 5
к Инструкции 1.1.11-12-35-2004
«Требования к постановке
экспериментальных исследований
для первичной токсикологической
оценки и гигиенической
регламентации веществ»

# ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ КОЖИ ПРИ ИЗУЧЕНИИ МЕСТНОГО ДЕЙСТВИЯ ВЕЩЕСТВ

I. Оценка степени эритемы

| Интенсивность эритемы визуально | Оценка в баллах |
|---|---|
| Отсутствие эритемы | 0 |
| Слабая (розовый тон) | 1 |
| Умеренно выраженная (розово-красный тон) | 2 |
| Выраженная (красный тон) | 3 |
| Резко выраженная (ярко-красный тон) | 4 |

II. Оценка отека кожи животных

| Интенсивность отека (нарастание толщины кожной складки животных, измеряемой толщиномером ТР-1-10, по сравнению с фоном, мм) | | | Оценка отека в баллах |
|---|---|---|---|
| градации интенсивности | эксперимент. животные | | |
| | кролики | морские свинки, белые крысы | |
| Отсутствие реакции | 0-0,09 | 0-0,9 | 0 |
| Слабая реакция | 0,1-0,59 | 0,1-0,39 | 1 |
| Умеренная реакция | 0,6-1,0 | 0,4-0,69 | 2 |
| Выраженная реакция | 1,1-2,01 | 0,7-1,01 | 3 |
| Резко выраженная реакция | >2,1 | >1,1 | 4 |

III. Обработка данных: количественная оценка степени индукции эритемы и отека (в баллах) суммируются для каждого подопытного животного в отдельности, после чего вычисляется средняя оценка выраженности местно-раздражающих свойств вещества для группы экспериментальных животных.

Приложение 6
к Инструкции 1.1.11-12-35-2004
«Требования к постановке
экспериментальных исследований
для первичной токсикологической
оценки и гигиенической
регламентации веществ»

## КЛАССИФИКАЦИЯ ВЫРАЖЕННОСТИ КОЖНО-РАЗДРАЖАЮЩИХ СВОЙСТВ ВЕЩЕСТВ ПРИ ИХ ОДНОКРАТНОМ МЕСТНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

(стандартные условия эксперимента: доза - 20 мг/см$^2$ кожи спины крыс, кроликов или морских свинок, экспозиция - 4 часа)

| Классы | Среднегрупповой суммарный балл выраженности отека и эритемы | Выраженность местного раздражающего действия |
|---|---|---|
| 0 | 0 | Отсутствие раздражающего действия |
| 1 | 0,1-2,0 | Слабо раздражающее действие |
| 2 | 2,1-4,0 | Умеренно раздражающее действие |
| 3 | 4,1-6,0 | Выраженное раздражающее действие |
| 4 | 6,1-8,0 | Резко выраженное раздражающее действие |
| 5 | Некроз | Относятся вещества, оказывающие чрезвычайно сильное раздражающее действие, когда в стандартных условиях неразбавленное химическое соединение и его растворы вызывают некроз кожи |

Приложение 7
к Инструкции 1.1.11-12-35-2004
«Требования к постановке
экспериментальных исследований
для первичной токсикологической
оценки и гигиенической
регламентации веществ»

## РЕКОМЕНДУЕМЫЕ СРОКИ ИЗУЧЕНИЯ МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОРГАНИЗМА ЖИВОТНЫХ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ПОДОСТРОГО ЭКСПЕРИМЕНТА

| Показатели | Сроки исследования |
|---|---|
| Масса тела (перерасчет доз), физиологические показатели | Один раз в неделю |
| Гематологические показатели, анализ мочи | Один раз в две недели |
| Биохимические и морфологические показатели, нагрузочные тесты | По окончании эксперимента или один раз в месяц |

Приложение 8
к Инструкции 1.1.11-12-35-2004
«Требования к постановке
экспериментальных исследований
для первичной токсикологической
оценки и гигиенической
регламентации веществ»

# ОРИЕНТИРОВОЧНЫЙ ПЕРЕЧЕНЬ МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОРГАНИЗМА ЖИВОТНЫХ, РЕКОМЕНДУЕМЫЙ К ИЗУЧЕНИЮ В ПОДОСТРОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

| ХАРАКТЕРИСТИКА ТЕСТОВ | РЕГИСТРИРУЕМЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ |
|---|---|
| Физиологические исследования (интегральные и специфические тесты) | Выживаемость, прирост массы тела, потребление пищи и воды, общее поведение, результаты осмотра, пальпации, интенсивность ответных реакций на внешние раздражители. Поведенческие реакции: открытое поле, спонтанная двигательная активность, исследовательский рефлекс, рефлекс пассивного и активного избегания, суммационно-пороговый показатель, температура тела, электрокардиография, измерение кровяного давления и частоты дыхания, потребление кислорода и выделение углекислого газа. |
| Гематологические показатели | Гематокрит, гемоглобин, количество эритроцитов, цветной показатель, скорость оседания эритроцитов, средний объем эритроцитов, количество лейкоцитов, лейкограмма, количество тромбоцитов, ретикулоцитов. |
| Биохимические показатели сыворотки и плазмы крови | Активность: аспартат- и аланинаминотрансфераз, щелочной фосфатазы, лактатдегидрогеназы, альдолазы, содержание: билирубина, глюкозы, плазмы атрия и калия, общего белка, мочевины, креатинина, общих липидов, холестерина и пр. |
| Исследования мочи | Суточный диурез, pH мочи, содержание и суточная экскреция белка, мочевины, глюкозы, ионов калия и натрия, концентрация билирубина, уробилиногена, кетоновых тел и пр. |

| ХАРАКТЕРИСТИКА ТЕСТОВ | РЕГИСТРИРУЕМЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ |
|---|---|
| Нагрузочные пробы | Бромсульфалеиновая, длительность гексеналового сна, оценка секреторной функции почек по экскреции фенолкрасного |
| Патоморфологические исследования | Макроскопическая картина состояния внутренних органов (по необходимости гистологические исследования), коэффициенты массы внутренних органов. |

Приложение 9
к Инструкции 1.1.11-12-35-2004
«Требования к постановке
экспериментальных исследований
для первичной токсикологической
оценки и гигиенической
регламентации веществ»

# МЕТОДИЧЕСКИЕ ПРИЕМЫ ВЫЯВЛЕНИЯ СЕНСИБИЛИЗИРУЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ ВЕЩЕСТВА

## Тест опухания лапы мыши

В подушечку задней лапы (под апоневроз) контрольных и опытных животных вводят разрешающую дозу изучаемого вещества (100-150 мкг). При этом целесообразно для тестирования применять рабочие концентрации вещества, используемые для сенсибилизации, в объеме 40 мкл. Вытяжки из изделий вводят в объеме 100 мкл. О величине отека (показатель ТОЛМ), т.е. о развитии ГЗТ, судят по разнице в толщине лапы, измеряемой до и через 24 часа после перкутанного тестирования инженерным микрометром в мм. У контрольных животных показатель ТОЛМ, как правило, не должен превышать 10. Для исключения неспецифического токсико-раздражающего эффекта (для веществ 3-5 классов раздражающего действия обязательно) разрешающую дозу вещества предварительно испытывают на 3-х интактных животных. При установлении запредельного неспецифического эффекта концентрацию вещества снижают при увеличении вводимого объема (до 50-100 мкл).

Сравнивают среднегрупповые показатели ТОЛМ опытных и контрольных животных в абсолютных (мм) и относительных (балл) единицах. Оценку ТОЛМ в баллах проводят по следующей шкале: 0 баллов – ТОЛМ до 0,1 мм; 1 балл – 0,11-0,20 мм; 2 балла – 0,21-0,30 мм; 3 балла – 0,31-0,40 мм; 4 балла – 0,41-0,50 мм; 5 баллов – 0,51 мм и более.

## Тест опухания уха мыши

Разрешающую дозу вещества в оптимальной концентрации наносят пипеточным дозатором по 25 мкл на кожу обеих сторон уха, фиксированного у основания глазным пинцетом. Показатель ТОУМ определяют по разнице в толщине уха, измеряемой микрометром до и через 24 часа после эпикутанного тестирования. Оптимальная концентрация вещества не должна вызывать неспецифического раздражения кожи (абс. показатель ТОУМ не более 3 мкм) и предварительно подбирается на 3-х интактных мышах. Чаще всего применяются для эпикутанного тестирования 0,1-10% концентрации, а

в качестве растворителей используют ацетон, 70% спирт, диметилсульфоксид, петролейный эфир.

Оценивают ГЗТ по абсолютному (мкм) и относительному (балл) показателю ТОУМ по специальной шкале. Относительный показатель ТОУМ (балл) соответствует величине отека уха (мкм): 0 баллов – 1-2 мкм, 1 балл – 3-7 мкм, 2 балла – 8-12 мкм, 3 балла – 13-17 мкм, 4 балла – 18-22 мкм, 5 баллов – 23 и более мкм и/или наличие геморрагий, некроза. Сравнивают среднегрупповые абсолютные и относительные показатели ТОУМ (по таблице) контрольных и опытных животных. Причем последний показатель более жесткий и объективный, позволяет проводить ориентировочную оценку аллергенной активности вещества по частоте (%) животных с положительными реакциями ГЗТ в баллах.

Реакция специфического лейколизиса (далее – РСЛЛ)

Применяется для аллергодиагностики только с веществами, растворимыми в воде, диметилсульфоксиде, растворах этилового спирта и ацетона.

В контрольный ряд видалевских или центрифужных пробирок (по количеству животных контрольной и опытной группы) вносится пипеточным дозиметром по 20 мкл стерильного физиологического раствора или растворителя, в пробирки опытного ряда 20 мкл испытуемого вещества в рабочей концентрации. Затем в парные пробирки разливают по 50,0 мкл крови соответствующего животного с гепарином, цитратом натрия или 1,5% Трилоном Б. Пробирки встряхивают и помещают на 2-х часовую инкубацию в термостат при 37 град. С. Пробирки при термостатировании периодическим встряхиваются. После инкубации содержимое пробирок перемешивается и в каждую вносится по 300 мкл 3% водного раствора уксусной кислоты, подкрашенного раствором метиленового синего. Подсчет абсолютного количества лейкоцитов в парных пробах проводят в счетной камере (Горяева или Фукса-Розенталя) и рассчитывают показатель реакции в процентах:

$$РСЛЛ = \frac{Л_{контроль} - Л_{опыт}}{Л_{контроль}} \times 100,$$ где:

Л – количество лейкоцитов в контрольной и опытной пробах.

Сравнивают среднегрупповые показатели РСЛЛ контрольной и опытной группы, отдельно учитывая удельный вес животных с показателем РСЛЛ 10% и выше.

Рабочая доза вещества предварительно подбирается с кровью 3-х интактных животных по методике, выбирая такую, при добавлении которой показатель РСЛЛ не должен превышать 9,9%. Для большинства химических аллергенов рабочие концентрации составляют 0,5-0,01%. Конечная концентрация органических растворителей в рабочей дозе не должна превышать 5%, за исключением диметилсульфоксида.

Оценка сенсибилизирующей способности вещества

По результатам модельных опытов на мышах по внутрикожному воспроизведению сенсибилизации можно судить о потенциальной аллергенной активности и в определенной степени об аллергоопасности химического вещества с учетом статистической значимости возрастания среднегрупповых показателей аллергологического тестирования в опыте по сравнению с контролем по критерию X или t, а также по частоте положительных тестов аллергодиагностики. Для этого следует руководствоваться следующими критериями оценки:

| Критерии | Классы аллергенной активности | | | |
|---|---|---|---|---|
| | I | II | III | IV |
| Частота положительных кожных тестов у подопытных животных, % | >75 | >50 | <50 | <25 |
| Статистическая значимость различий показателей кожных реакций в опытной и контрольной группах (1-2 классы по критерию X; 3-4 классы по критерию t) | <0,01 | <0,05 | <0,05 | >0,05 |

Примечание.

I-сильные;
II-выраженные;
III-умеренные;
IV-слабые аллергены

Приложение 10
к Инструкции 1.1.11-12-35-2004
«Требования к постановке
экспериментальных исследований
для первичной токсикологической
оценки и гигиенической
регламентации веществ»

# РЕКОМЕНДУЕМАЯ ФОРМА ПРЕДСТАВЛЕНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ПЕРВИЧНОЙ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

_____

Полное наименование организации, проводившей исследования с указанием ведомственной подчиненности, сведений об аккредитации на право проведения подобных исследований

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель организации,
проводившей исследования
_____ Ф.И.О.
м.п. подпись
«___» _____

## З А К Л Ю Ч Е Н И Е №_____

по результатам первичной токсикологической оценки
(название вещества, изделия и т.д.)

Заказчик
Полное название вещества (химическое, товарное, синонимы)

## I. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

1.1. Структурная и эмпирическая формулы
1.2. Агрегатное состояние при 20°С и 760 мм.рт.ст.
1.3. Цвет, запах, прозрачность
1.4. Молекулярная и удельная масса при 20°С
1.5. Температура кипения при 760 мм.рт.ст. или при др.усл.
1.6. Температура плавления
1.7. Растворимость в воде, маслах, спиртах, других растворителях
1.8. Упругость пара в мм.рт.ст. при 20°С
1.9. Химическая реакционная способность (класс соединений, стойкость, гидролиз, окисляемость; способность к полимеризации, разложению и т.д.).

1.10. Содержание примесей с их полным наименованием (указываются примеси при их содержании до 0,01 масс.%).

1.11. Для смесей – полный состав ингредиентов с количественной характеристикой до 0,001 масс.%.

1.12. Для полимерных материалов [количество остаточного мономера; характеристика добавок (наименование, содержание до 0,01 масс.% каждой); характеристика продуктов термоокислительной деструкции при различных температурах].

1.13. Условия хранения, срок годности.

## II. ВОЗМОЖНОСТЬ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОЗДУХА РАБОЧЕЙ ЗОНЫ

2.1. Загрязнение воздуха рабочей зоны в виде пара, газа, аэрозоля.

2.2. Загрязнение кожных покровов работающих.

## III. ЛИТЕРАТУРНАЯ СПРАВКА О БИОЛОГИЧЕСКИХ И ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКИХ СВОЙСТВАХ ВЕЩЕСТВА

## IV. РЕЗУЛЬТАТЫ ПЕРВИЧНОЙ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ

4.1. Токсичность при однократном введении.

4.2. Действие на слизистые оболочки глаз.

4.3. Кожно-раздражающие и резорбтивные свойства при однократном и повторном воздействии.

4.4. Кумулятивные свойства и характер действия вещества на организм в условиях повторного воздействия.

4.5. Сенсибилизирующая способность при однократном внутрикожном введении.

## V. ВЫВОДЫ И РЕКОМЕНДАЦИИ

В форме выводов дается характеристика токсичности и опасности изученного соединения; в форме рекомендации – необходимые гигиенические меры предосторожности.

Должность, ученая степень (подпись) Ф.И.О.

## ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

1. Разработана Государственным учреждением «Республиканский научно-практический центр гигиены» Министерства здравоохранения Республики Беларусь: к.м.н. Половинкин Л.В., д.м.н., профессор Шевляков В.В., к.м.н. Юркевич Е.С., к.б.н. Эрм Г.И., Соболь Ю.А., Половинкина Т.И.

Рецензенты: и.о. заведующего кафедры гигиены и медицинской экологии БелМАПО, профессор, доктор медицинских наук В.И. Тернов, заместитель главного врача ГУ «Гомельский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья» Л.А. Тирещенко, врач-лаборант лаборатории профилактической токсикологии ГУ «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья» Н.Е. Боровская.

2. Утверждена постановлением Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 14 декабря 2004 г. №131.

3. Введена взамен Методических указаний «Постановка исследований в объеме первичной токсикологической оценки веществ» № 48-9405, утвержденных Главным государственным санитарным врачом Республики Беларусь 30 июня 1994 г.

# ОГЛАВЛЕНИЕ

стр.
Глава 1 Область применения ..... 4
Глава 2 Термины и определения ..... 6
Глава 3 Объем исследований ..... 7
Глава 4 Исследования по установлению параметров токсичности и оценке потенциальной опасности острого отравления ..... 8
Глава 5 Исследования раздражающего действия на слизистые глаз ..... 13
Глава 6 Оценка местно-раздражающих и кожно-резорбтивных свойств... 14
Глава 7 Исследования кумуляционных свойств ..... 18
Глава 8 Оценка сенсибилизирующих свойств ..... 20
Глава 9 Токсиколого-гигиеническая интерпретация результатов экспериментальных исследований ..... 21
Приложение 1 Классификация опасности веществ по степени воздействия на организм (по ГОСТ 12.1.007-76 «ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности») ..... 27
Приложение 2 Зависимость характера видовой чувствительности животных от величины коэффициента видовой чувствительности ..... 28
Приложение 3 Оценка раздражающего действия химических соединений на слизистые оболочки глаз кроликов ..... 29
Приложение 4 Классификационная оценка веществ по выраженности ирритативного действия ..... 30
Приложение 5 Оценка состояния кожи при изучении местного действия веществ ..... 31
Приложение 6 Классификация выраженности кожно-раздражающих свойств веществ при их однократном местном воздействии ..... 32
Приложение 7 Рекомендуемые сроки изучения морфофункциональных показателей организма животных при проведении подострого эксперимента ..... 33
Приложение 8 Ориентировочный перечень морфофункциональных показателей организма животных, рекомендуемый к изучению в подостром эксперименте ..... 34
Приложение 9 Методические приемы выявления сенсибилизирующей способности вещества ..... 36
Приложение 10 Рекомендуемая форма представления результатов первичной токсикологической оценки химических веществ ..... 39
Информационные данные ..... 41

gost.e-ecolog.ru