МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ СССР

УПРАВЛЕНИЕ ПО ВНЕДРЕНИЮ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

ВСЕСОЮЗНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ И ИСПЫТАТЕЛЬНЫЙ ИНСТИТУТ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

СБОРНИК РУКОВОДЯЩИХ МЕТОДИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ ПО ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКИМ ИССЛЕДОВАНИЯМ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ И ИЗДЕЛИЙ НА ИХ ОСНОВЕ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ

Москва 1987

gost.e-ecolog.ru

Утверждено начальником Управления
по внедрению новых лекарственных средств
и медицинской техники
Э. А. Бабаяном от 27 ноября 1985 года

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Э. А. Бабаян, В. Г. Лаппо, С. Я. Ланина, Т. И. Носкова, В. И. Тимохина.

Научно-методические документы разработаны и внедрены в практику токсиколого-гигиенической оценки материалов и изделий медицинского назначения сотрудниками ВНИИИ медицинской техники Минздрава СССР — **В. Г. Лаппо** (зав. отделом токсикологии), **В. И. Тимохиной, Н. М. Перовой, С. Я. Ланиной, В. И. Долгополовым, Н. М. Каминской, Н. Г. Тышковской, Р. И. Каюмовым, Л. А. Самариной, Н. Б. Емельяновой, Т. М. Винокурской, Т. В. Селаври**; сотрудниками Института органической химии АН УССР — **Г. А. Пхакадзе, Н. А. Галатенко**; Киевского медицинского института — **В. П. Яценко**; сотрудниками Московского медицинского стоматологического института им. Н. А. Семашко — **В. П. Марковым, И. Ю. Лебеденко.**

ОГЛАВЛЕНИЕ

Часть I. **Научно-методические документы по токсиколого-гигиеническим исследованиям новых полимерных, других материалов и изделий на их основе для медицины.**

1. Общие методические указания к токсиколого-гигиенической оценке полимерных материалов и изделий на их основе для медицины . 7
2. Методические указания к токсиколого-гигиеническому исследованию полимерных материалов и изделий для эндопротезирования 18
3. Методические указания к токсиколого-гигиеническому исследованию медицинских клеев, предназначенных для соединения мягких и костной тканей организма 25
4. Методические указания к токсиколого-гигиеническому исследованию материалов, узлов и аппаратов по замене функций внутренних органов 29
5. Методические указания к токсиколого-гигиеническому исследованию шовных хирургических нитей и перевязочных материалов . . 34
6. Методические указания к токсиколого-гигиеническому исследованию полимерных пломбировочных материалов стоматологического назначения 46
7. Методические указания к токсиколого-гигиеническому исследованию металлических сплавов для протезирования в ортопедической стоматологии 58

Часть II. **Унифицированная методика контроля токсичности серийно выпускаемых полимерных изделий медицинского назначения однократного применения**

1.1. Общие положения 62
1.2. Порядок отбора изделий 63
1.3. Условия приготовления экстрактов из изделий 63
1.4. Санитарно-химические испытания изделий 70
1.5. Гемолитический тест 73
1.6. Токсикологические испытания на мышах 73
1.7. Оценка результатов 74

Часть III. **Экспресс-методы определения токсичности полимерных материалов и изделий медицинского назначения**

1. Методика определения токсического действия вытяжек из материалов на культуре тканей 77

2. Методика определения гемолитического действия вытяжек из материалов и изделий «ин витро» 83
3. Методика определения токсического действия вытяжек из материалов и изделий на изолированном сердце лягушки 86
4. Методика определения биосовместимости полимерных материалов и изделий для эндопротезирования по их влиянию на лимфоидную ткань 88
5. Методика определения токсического действия вытяжек из материалов и изделий на половых клетках крупного рогатого скота . 94
Перечень литературы и справочных источников 96

ЧАСТЬ III

ЭКСПРЕСС-МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТОКСИЧНОСТИ МАТЕРИАЛОВ И ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ

4. МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ БИОСОВМЕСТИМОСТИ МАТЕРИАЛОВ И ИЗДЕЛИЙ ДЛЯ ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ ПО ИХ ВЛИЯНИЮ НА ЛИМФОИДНУЮ ТКАНЬ

4.1. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

При непосредственном введении материалов во внутреннюю среду организма способность их вызывать состояние сенсибилизации иммунокомпетентных систем во многом определяет степень совместимости материала с организмом (биосовместимость).

Современная неинфекционная иммунология располагает методами, позволяющими оценить степень биосовместимости вживляемых материалов по характеру их влияния на органы иммунитета, представляемые в организме лимфоидной тканью.

Настоящая методика предполагает комплекс методов оценки состояния лимфоидной ткани при имплантации синтетических материалов. Эти методы апробированы и адаптированы к задачам токсикологической оценки полимеров медицинского назначения.

Комплекс предлагаемых методов предназначается для использования в качестве экспресс-метода оценки биосовместимости при отборе перспективных для медицины полимерных материалов, а также в качестве этапа токсикологического изучения при гигиенической оценке материалов и изделий, длительно контактирующих с внутренними средами организма.

4.2. ПЕРЕЧЕНЬ МАТЕРИАЛОВ И ИЗДЕЛИЙ, ПОДЛЕЖАЩИХ ОЦЕНКЕ НА БИОСОВМЕСТИМОСТЬ

4.2.1. Материалы для пластики тканей, изготовления эндопротезов или частей и деталей к ним.

4.2.2. Клеи медицинского назначения.

4.2.3. Шовные и перевязочные материалы.

4.2.4 Материалы для микрокапсулирования лекарственных средств.

4.2.5. Крове- и плазмозаменители.

4.3. ПОДГОТОВКА МАТЕРИАЛОВ К ИССЛЕДОВАНИЮ

4.3.1. Твердые материалы должны иметь форму, удобную

для имплантации. Предпочтительна форма в виде бруска, имеющего размеры 6×4×2 мм (грани бруска и углы не должны быть острыми).

4.3.2. Жидкие, порошкообразные и вспенивающиеся материалы готовятся для имплантации в виде порций по 0,5 $см^3$ (0,5 мл).

4.3.3. Тканые и пленочные материалы должны иметь размеры 10 × 10 $мм^2$.

4.3.4. Все материалы, подлежащие оценке на биосовместимость должны быть стерильны. Способ стерилизации должен соответствовать ОСТ 42-21-2-85 «Стерилизация и дезинфекция изделий медицинского назначения», отобранному для данного вида изделий.

4.4. УСЛОВИЯ ПРОВЕДЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

4.4.1. Вид животных: белые крысы самцы линии Вистор или беспородные.

4.4.2. Количество групп животных в эксперименте должно быть не менее четырех: а) подопытная; б) контроль интактный; в) контроль ложнооперированный; г) контрольная имплантация традиционного биосовместимого материала.

4.4.2.1. В качестве традиционного биосовместимого материала при оценке нерассасывающихся имплантатов следует применять тефлон, для рассасывающихся — кетгут, для кровезаменителей — поливинилпирролидон мол. массы — 12600, для порошкообразных — порошок тефлона или кетгута, для сплавов — сплав КХС.

4.4.3. Количество животных в группе — не менее 6 голов.

4.4.4. Продолжительность эксперимента — 1 месяц.

4.4.5. Сроки взятия лимфоидных органов — через 2 недели и через 4 недели после имплантации.

4.4.6. Техника операции: под нембуталовым наркозом (доза 40 мг/кг) на наружной поверхности верхней трети бедра крысы делается разрез кожи длиной около 1 см. Анатомическим глазным пинцетом расчленяется бедренная мышца (вдоль волокон), в которой при помощи того же пинцета формируется карман. Изучаемый материал помещается в этот карман. На мышцу накладывается один шов, на кожу два шва. Применяется хирургический шелк высоких номеров.

Одной из контрольных групп животных имплантируется биосовместимый материал, другой — производится ложная операция (те же манипуляции без имплантации материала).

4.4.6.1. В случае изучения жидких или вспенивающихся материалов имплантация производится инъекционным способом.

4.5. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ

4.5.1. Патоморфологический анализ отпечатков лимфатических узлов.

4.5.1.1. Взятие материала и приготовление отпечатков.

Животные забиваются методом декапитации. При вскрытии извлекается правый (регионарный к месту имплантации) и левый (отдаленный) лимфоузлы, освобождаются от жировой ткани и острым лезвием перерезаются поперек. При помощи пинцета половинка узла прикладывается несколько раз к обезжиренному предметному стеклу поверхностью среза.

Отпечатки высушиваются на воздухе при комнатной температуре, затем фиксируются метанолом в течение двух минут (или спиртом ректификатом в течение 15 мин) и промывают проточной водой. Окраска отпечатков производится стандартными растворами красителей Май-Грюнвальд (в течение 4 мин) и азур-эозиновой смесью (10 мл красителя на 100 мл дистиллированной воды); окрашивать в течение 45-60 мин.

4.5.1.2. Проведение анализа отпечатков и техника оформления получаемых результатов.

Отпечатки изучаются под микроскопом с применением иммерсии. В отпечатках производится подсчет иммунокомпетентных клеток: малых лимфоцитов, бластов, зрелых плазматических клеток и ретикулярных клеток, а также количество делящихся клеток (митозов).

Подсчет клеток производится в 10 полях зрения и в дальнейшем принимаются во внимание средние (М) из 10 полей зрения показатели для каждого из видов клеток. Поля зрения берутся в разных частях отпечатков, преимущественно в парокортикальных зонах и у основания мозговых тяжей.

Запись протокола подсчета клеток производится по ниже приведенному образцу (табл. 4.1).

Таблица 4.1

Образец записи протокола подсчета видов клеток

Виды клеток	Поля зрения										M
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Малые лимфоциты	25	20	36	21	30	20	18	26	27	22	24,5
Бласты	8	7	10	4	5	3	6	7	12	4	6,6
Плазматические клетки	—	—	1	2	—	—	1	—	—	1	0,5
Ретикулярные клетки	—	1	—	1	—	2	—	1	—	—	0,5
Митозы	—	—	—	—	—	—	1	—	—	1	0,2

4.5.2.1. Взятие материала и приготовление мазков.

Взятие материала. Забой животных и взятие материала производится так же, как в п. 5.1.1. Можно использовать лимфоузлы, из которых готовились отпечатки.

Приготовление мазков. На предметное стекло в каплю физиологического раствора помещается лимфоузел. Затем при помощи двух инъекционных игл ткань органа размельчается в этой капле до получения гомогенной взвеси. Из капли обычным образом готовится мазок, который высушивается на воздухе при комнатной температуре.

Фиксация мазков. Приготовление фиксатора: готовится 60% раствор ацетона (60 мл ацетона и 40 мл дистиллированной воды), куда добавляется трилон (250 мг на 100 мл 60% раствора ацетона); pH раствора 4,8—5,0 (доводить pH 0,1 раствором HCl).

Высушенные мазки фиксируются в ацетоновом фиксаторе в течение 30 с, затем промываются в проточной воде и высушиваются на воздухе.

4.5.2.2. Выявление сукцинатдегидрогеназы и β-глицерофосфат-дегидрогеназы.

Приготовление фосфатного буфера:

а) приготовить раствор калия фосфорнокислого однозамещенного с мол. весом 136,09 (3,78 г растворяют в 100 мл воды);

б) приготовить раствор калия фосфорнокислого двузамещенного (4,56 г растворить в 100 мл воды);

в) оба раствора слить для получения pH=7,0—7,4 (30 мл раствора калия однозамещенного и 70 мл раствора калия двузамещенного).

Буфер хранить в холодильнике.

Приготовление инкубационной среды для выявления сукцинатдегидрогеназы (СДГ):

а) 10 мг трилона Б; б) 540 мг сукцината натрия; в) 10 мг паранитротетразолия фиолетового; г) 40 мл фосфатного буфера.

Приготовление инкубационной среды для выявления β-глицерофосфатдегидрогеназы (β-ГДГ):

а) 10 мг трилона Б; б) 650 мг β-глицерофосфата; в) 10 мг паранитротетразолия фиолетового; г) 10 мг фосфатного буфера.

Примечание: п-нитротетразолий лучше добавить после того, как pH среды будет доведен до рабочего.

Приготовление красителя метилового зеленого: 2,7 г уксуснокислого натрия растворить в 100 мл дистиллированной воды, довести ледяной кислотой до pH 4,8-5,0 (1,5 мл) 500 мг метилового зеленого растворить в 100 мл шуфера из уксуснокислого натрия. Смесь очищают при помощи делительной воронки хлороформом до тех пор, пока хлороформ не станет чистым.

Выявление ферментов и окраска мазков. Зафиксированные мазки помещают в одну из инкубационных сред (в зависимости от того, какая дегидрогеназа выявляется) и нагревают до

38-39° С, после чего помещают в термостат (37° С) на 60 минут. После инкубации мазки промывают в проточной воде и окрашивают метиловым зеленым в течение 60 минут. Затем следует отмывка препаратов.

4.5.2.3. Проведение анализа мазков и техника оформления полученных результатов.

Подсчет гранул ферментов в клетках производится под микроскопом с применением иммерсии. В окрашенном препарате лимфоциты и прочие клетки лимфоидного ряда имеют бледно-зеленую окраску. Гранулы фермента располагаются в ядре и цитоплазме, имеют округлую сферическую форму и темно-фиолетовый (почти черный цвет). Техника анализа мазка предполагает подсчет количества гранул в 50 клетках, последние считают в разных полях зрения, в разных участках мазка.

Активность фермента в клетке выражается средним количеством гранул в одной клетке (общее количество гранул в 50 клетках, деленное на 50). Запись протокола подсчета гранул фермента производится по нижеприведенному образцу («0» обозначает отсутствие фермента в клетке).

Таблица 42

Образец записи протокола подсчета гранул фермента

1	5	6	0	0	10	6	0	1	4
0	3	0	0	8	12	15	4	6	0
4	3	2	0	0	8	9	0	6	0
0	5	5	4	0	0	0	8	10	11
4	1	1	2	4	6	0	5	10	0

Коэффициент активности фермента в этом случае равен $\frac{158}{50}$ =3,74.

4.5.3. Гистохимическое выявление рибонуклеиновой кислоты в ткани селезенки по методу Браше.

4.5.4. Гистохимическое выявление щелочной фосфатазы в лимфоузлах по методу Гомори.

4.5.5. Определение весовых коэффициентов тимуса и селезенки.

4.5.6. Оценка результатов экспериментов.

Для оценки степени совместимости материала главное значение имеют данные цитоморфологического анализа лимфоузлов. Эти данные должны получить подтверждение в результате гистохимического исследования селезенки и анализа весовых коэффициентов лимфоидных органов.

Цитохимическое определение сукцинатдегидрогеназы и β-глицерофосфатдегидрогеназы проводится факультативно, но обязательно в совокупности с гистохимическим определением щелочной фосфатазы в лимфоузлах.

Материал следует считать биологически несовместимым, если через 1 месяц, после имплантации материалов, не наблюдается нормализации показателей или выраженной тенденции к таковой и отличия их от контроля существенны (статистически достоверны).

В случае, если показатели состояния лимфоидной ткани подопытных животных отличаются от контроля менее существенно (носят характер тенденции к изменению P равном или меньше 0,1), вопрос о биологической совместимости исследуемого материала должен решаться с учетом всей совокупности данных токсикологического эксперимента.

4.5.6.1. Статистическая обработка данных.

Для цифровых показателей, получаемых методами, указанными в пп. 4.5.1.; 4.5.2.3.; 4.5.5.— статистическая обработка обязательна. Она проводится с использованием критерия «t» по Стьюденту. Для результатов цитохимических исследований (п. 4.5.2 3.) предпочтительнее метод Уилкоксона-Манна-Уитна.

Результаты, полученные в опытной группе животных, сравниваются с контролем, которому вживлялся «инертный материал». Если этот контроль не имеет достоверных отличий от ложнооперированного контроля, опытная группа может быть сравнена непосредственно с интактным контролем.

ПЕРЕЧЕНЬ ЛИТЕРАТУРНЫХ И СПРАВОЧНЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Алексеева О. Г., Петкевич А. И. и др. Оценка некоторых методов «ин витро» для выявления аллергии к химическим веществам // Гигиена и санитария, 1975, № 7.

2. Алексеева О. Г., Дуева Л. А. Аллергия к промышленным химическим соединениям.— М.: Медицина, 1978.

3. Бернет Ф. Клеточная иммунология.— М.: Мир, 1971.

4. Брауде Н. И. Феномен трансформации малых лимфоцитов в бласты как иммунологическая проблема // Успехи современной биологии, 1969, т. 67, вып. 3.

5. Быховская М. С., Гинзбург С. Л. и др. Методы определения вредных веществ в воздухе и других средах.— М.: Медицина, 1961.

6. Ветеринарное акушерство и гинекология.— М.: Колос, 1977.

7. Вопросы гигиенического нормирования и изучения отдаленных последствий воздействия промышленных веществ.— М.: Медицина, 1972.

8. Вильямс Д. Ф., Роуд Р. Имплантаты в хирургии.— М.: Медицина, 1978.

9. ГОСТ 12.1.007—76 Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности.

10. Гадаскина И. Д., Филов В. А. Превращение и определение промышленных органических ядов в организме.— Л.: Медицина, 1971.

11. Гадаскина И. Д., Гадаскина Н. Д., Филов В. А. Определение промышленных неорганических ядов в организме.— Л.: Медицина, 1975.

12. Тезисы докладов V Всесоюзной конференции «Гигиена и токсикология высокомолекулярных соединений и химического сырья, используемого для их синтеза».— Л., 1975

13. Тезисы докладов VI Всесоюзной конференции «Гигиена и токсикология высокомолекулярных соединений и химического сырья, используемого для их синтеза».— Киев, 1976.

14. Гигиеническая оценка медицинских полимерных материалов и изделий различного назначения // Научный обзор ВНИИМИ.— М., 1983.

15. Гублер Е. В., Генкин А. А. Применение методов непараметрической статистики для оценки различий двух групп наблюдений в медико-биологических исследованиях.— М.: Медицина, 1978.

16. Зауголышков С. Д., Качанов М. М. и др. Экспрессные методы определения токсичности и опасности химических веществ.— М.: Медицина, 1978.

17. Измеров М. Ф., Саноцкий И. В., Сидоров К. К. Параметры токсикометрии промышленных ядов при однократном воздействии.— М.: Медицина, 1977.

18. Комиссарова И. А., Сура В. В. Цитохимические изменения лейкоцитов в периферической крови при иммунологической стимуляции в эксперименте // Бюл. экспрес экспер. биологии и медицины, 1969, т. 68, № 11.

19. Кисели Д. **Практическая микротехника и гистохимия.**— Будапешт: Изд-во Академии наук Венгрии, 1963.

20. Луппа Х. **Основы гистохимии.**— М.: Мир, 1980.

21. Мартынова А. П. **Гигиена труда в производстве и переработке синтетических волокон.**— М.: Медицина, 1977.

22. Меркулов Г. А. **Курс патогистологической техники.**— М.: Медицина, 1961.

23. **Методические указания по санитарно-химическому исследованию детских резиновых и латексных сосок.**— М., Минздрав СССР, 1974.

24. **Методические указания по санитарно-гигиенической оценке полимерных строительных материалов, предназначенных для применения в строительстве жилых и общественных зданий.**— М.: Минздрав СССР, 1976.

25. **Методы определения токсичности и опасности химических веществ.**— М.: Медицина, 1970.

26. **Методические указания к постановке исследований по гигиеническому нормированию промышленных аллергенов.**— М.: Минздрав СССР, 1978.

27. **Методические указания по гигиенической оценке одежды и обуви из полимерных материалов.**— М.: Минздрав СССР, 1977.

28. **Методические указания к постановке исследований по выявлению сенсибилизирующих свойств и установлению порогов аллергенов действия промышленных химических веществ.**— М.: Минздрав СССР, 1975.

29. **Методические и методологические вопросы гигиены и токсикологии полимерных материалов и изделий медицинского назначения** // Научный обзор ВНИИМИ.— М., 1982.

30. Мороз В. Г. **Влияние малых концентраций некоторых веществ на время переживания сперматозоидов «ин витро» и их энергетический обмен.**— Автореф. канд. дисс.— Л., 1969.

31. Новиков Ю. В., Ласточкина К. О., Болдина З. Н. **Методы определения вредных веществ в воде водоемов.**— М.: Медицина, 1981.

32. **Оценка воздействия вредных химических соединений на кожные покровы и обоснование предельно допустимых уровней загрязнения кожи** // Методические указания. Минздрав СССР — М., 1980.

33. Нарциссов Р. П. **Цитохимия ферментов лейкоцитов в педиатрии.**— Автореф. дисс.— М., 1970.

34. Перегуд Е. А. **Санитарная химия полимеров.**— М., 1967.

35. Пирс З. **Гистохимия.**— М.: Медицина, 1967.

36. Пиотровский Е. **Использование кинетики метаболизма и выведение токсичных веществ в решении проблем промышленной токсикологии.**— М.: Медицина, 1976.

37. Покровская М. И., Макарова М. С. **Цитология раневого экссудата как показатель процесса заживления ран.**— М.: Медгиз, 1962.

38. **Предельно допустимые концентрации вредных веществ в воздухе и воде.**— Л.: Химия, 1972.

39. **Принципы предельно допустимых концентраций.**— М.: Медицина, 1970.

40. **Профилактическая токсикология** // Сб. учебно-методических материалов. Программа ООН по окружающей среде. Центр международных проектов ГКНТ.— М., 1984, т. I и т. II.

41. Левицкая Л. А., Лаппо В. Г. **Экспресс-метод сравнительной оценки полимерных материалов для изделий, контактирующих с кровью, по их гемолитическому действию «ин витро».**— Рационализаторское предложение № 19 от 20.02.81 г.

42. Ромейс В. **Микроскопическая техника.**— М.: Иностранная литература, 1953.

43. Рылова М. Л. Методы исследования хронического действия вредных факторов среды в эксперименте.— М.; Л.: Медицина, 1964.

44. Синтетические полимеры медицинского назначения // Сб. лекций и материалов I Всесоюзной школы-семинара по медицинским полимерам.— Ташкент: Изд-во «Фан» УзССР, 1984.

45. Саноцкий И. В., Уланова И. П. Критерии вредности в гигиене и токсикологии при оценке опасности химических соединений.— М.: Медицина, 1975.

46. Соколов В. В., Нарциссов Р. П., Иванова Л. А. Цитохимия ферментов в профпатологии.— М.: Медицина, 1975.

47. Сосонкин И. Е. Агглюмерация лейкоцитов при диагностике аллергии, вызванной химическими и лекарственными соединениями // Лабораторное дело.— 1968.— № 12, С. 707.

48. Саноцкий И. В., Фоменко В. Н. Отдаленные последствия влияния химических соединений на организм.— М.: Медицина, 1979.

49. Трахтенберг И. И., Сова Р. Е., Шефтель В. О. Показатели нормы у лабораторных животных в токсикологическом эксперименте.— М.: Медицина, 1978.

50. Токсикология новых промышленных веществ.— М.: Медицина, 1961—1975, вып. 2—14.

51. Шевченко М. Г., Генель С. В., Феофанов В. Д. Гигиенические требования к полимерным материалам, применяемым в пищевой промышленности.— М.: Медицина. 1972.

52. Шефтель В. О. Полимерные материалы. Токсические свойства: Справочник.— Л.: Химия, 1982.

53. Экспрессные методы определения токсичности и опасности химических веществ.— М.: Медицина, 1978.

Редактор Галахова В. И.
Технический редактор Передерий С. П.

П-57177 Подписано к печати 11.08.86
Тираж 500. Зак. 27.

Типография Академии МВД СССР, Москва

gost.e-ecolog.ru