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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 32373— 2013

МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ ПО ВОЗДЕЙСТВИЮ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА

Основные требования к проведению испытаний по оценке острой токсичности при накожном поступлении

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2019

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

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

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Федеральным бюджетным учреждением здравоохранения «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора), Федеральным государственным унитарным предприятием «Всероссийский научно-исследовательский центр стандартизации, информации и сертификации сырья, материалов и веществ» (ФГУП «ВНИЦСМВ») на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии стандарта, указанного в пункте 4

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 18 октября 2013 г. № 60-П)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 22 ноября 2013 г. № 797-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 32373—2013 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 августа 2014 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному документу OECD, Test № 402 «Acute Dermal Toxicity» («Острая дермальная токсичность»).

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

7 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Апрель 2019 г.

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

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

© Стандартинформ, оформление, 2014, 2019

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

Введение

В изучении и оценке токсичности вещества определение острой кожной токсичности является важным этапом в исследовании, особенно в тех случаях, когда накожный путь поступления приоритетный.

Данные об острой кожной токсичности могут служить основой для классификации и маркировки химических веществ.

Эти исследования являются первым шагом при установлении доз для подострого и других видов испытаний, а также предоставляют информацию о кожной абсорбции и токсичном воздействии вещества при данном пути поступления.

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

МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ ПО ВОЗДЕЙСТВИЮ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА

Основные требования к проведению испытаний по оценке острой токсичности при накожном поступлении

Testing of chemicals of health hazard. Basic requirements for tests for acute dermal toxicity

Дата введения — 2014—08—01

1 Область применения

Метод обеспечивает получение информации об опасных свойствах вещества при однократном накожном поступлении и позволяет оценить и классифицировать вещество в соответствии с СГС по данному виду воздействия.

До проведения эксперимента исследовательской лабораторией должна быть рассмотрена вся доступная об исследуемом веществе информация. Такая информация включает следующие данные: состав и химическое строение вещества; его физико-химические свойства; результаты токсикологических испытаний in vivo и in vitro; токсикологические данные по структурно родственным веществам; предполагаемые пути использования вещества. Эта информация необходима для подтверждения того, что испытание важно для защиты здоровья человека и способствует обоснованному выбору начальной токсичной дозы.

2 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

2.1 **дозировка** (Dosage): Общий термин, включающий дозу, его частоту и продолжительность воздействия (дозирования).

2.2 **доза-ответ** (Dose-response): Связь между дозой и степенью распространенности изучаемого эффекта в экспонируемой популяции.

2.3 **доза-эффект** (Dose-effect): Связь между дозой и степенью выраженности биологического эффекта у экспонируемой особи или популяции.

2.4 **острая дермальная токсичность** (Acute dermal toxicity): Неблагоприятные эффекты, вызванные кратковременным воздействием на кожу однократной дозы тестируемого вещества.

2.5 **DL_{50}/LD_{50} (средняя смертельная доза, наносится накожно):** Статистически установленная однократная доза вещества, которая может вызвать гибель 50 % животных, подвергшихся накожному воздействию. DL_{50}/LD_{50} выражается в отношении единицы массы испытуемого вещества к единице массы подопытного животного (мг/кг).

3 Принцип тестового метода

Несколько групп подопытных животных подвергаются воздействию исследуемого вещества через кожу в установленных дозах, на каждой группе испытывается определенная доза вещества. Затем проводятся наблюдения за биологическими эффектами. Животные, погибшие во время эксперимента, подвергаются вскрытию, по завершению эксперимента выжившие животные подвергаются умерщвлению и вскрытию.

Издание официальное

Животные, демонстрирующие признаки невыносимой боли и недомогания, должны быть умерщвлены гуманным способом. Не следует наносить испытуемое вещество, о котором заведомо известно, что оно вызовет сильную боль и тяжелые нарушения в силу своих разъедающих (коррозионных) или раздражающих свойств.

4 Описание тестового метода

4.1 Подготовка

Животные проходят подготовку к исследованию (содержание в лабораторных клетках в соответствующих условиях и специальное кормление) в течение не менее пяти дней до начала исследования. Перед тем как приступить к проведению исследования, здоровые молодые особи произвольно распределяются по группам. Приблизительно за 24 ч до начала исследования шерстка должна быть удалена — выстрижена или выбрита — со спинной части тела животного. При стрижке или бритье необходимо быть осторожным, чтобы не повредить кожу животного, так как это может повлиять на процесс всасываемости. Не менее 10 % поверхности тела должно быть очищено для нанесения испытуемого вещества. Если испытывается твердое вещество, которое можно измельчить, его надо измельчить и затем развести в воде или, при необходимости, в подходящем растворителе, чтобы обеспечить лучшее проникновение через кожу животного. При использовании растворителя необходимо учесть его влияние при воздействии испытуемого вещества на кожу. Жидкие тестируемые вещества как правило не разбавляют.

4.2 Условия проведения эксперимента

4.2.1 Подопытные животные

Выбор животного

Испытание проводится на взрослых особях крыс, кроликов или морских свинок. Могут быть привлечены и другие виды животных, но их использование требует обоснования.

Для эксперимента необходимы животные массой:

крысы — 200—300 г;

кролики — 2—3 кг;

морские свинки — 350—450 г.

В исследованиях на острую токсичность с животными более высшего порядка, чем грызуны, целесообразно использование меньшего количества животных. Доза вводимого вещества должна быть тщательно продумана, и не превышать умеренно токсичную. В подобных экспериментах следует избегать введения испытуемого вещества в смертельных дозах.

Число животных и пол

Для каждого уровня дозировки должны быть использованы не менее пяти животных одного пола. Испытания не проводятся на рожавших и беременных самках. Испытанию должны подвергнуться животные того пола, который, по имеющейся информации, более чувствителен.

Условия содержания

Животные должны содержаться отдельно. В лабораторной комнате температура должна быть (22±3) °С для грызунов, (20±3) °С для кроликов, относительная влажность от 30 % до 70 %, искусственное освещение с последовательностью 12 часов—свет, 12 часов—темнота.

При кормлении может быть использована обычная лабораторная диета с неограниченным количеством питьевой воды.

4.2.2 Уровень вводимых доз

Доз должно быть не менее трех соответственно распределенных, чтобы продуцировать подопытную группу с диапазоном токсических воздействий и летального исхода. Данных должно быть достаточно для построения кривой зависимости смертности животных от дозы вещества и, где возможно, для определения величины DL_{50}/LD_{50}.

4.2.3 Испытание предельной (наивысшей) дозы

Испытание предельной (наивысшей) дозы с уровнем не ниже 2000 мг/кг массы тела может быть проведено в подопытной группе из пяти самцов и пяти самок. Процедуры испытания описаны ниже. В случае гибели животных вследствие воздействия вещества может понадобиться всестороннее изучение причин.

4.2.4 Период наблюдения

Период наблюдения должен составлять не менее 14 дней. Между тем, продолжительность периода наблюдения не должна быть жестко фиксированной и зависеть от токсических реакций, их ин-

тенсивности и длительности периода восстановления; при необходимости период наблюдения может быть увеличен. Очень важно время появления и исчезновения признаков токсичности, время смерти, особенно если наблюдается тенденция к замедленной смерти.

4.3 Процедура

Животные должны содержаться в одиночных клетках. Вещество равномерно наносится на поверхность тела животных, составляющую приблизительно 10 % от общей поверхности тела. При работе с высокотоксичными веществами поверхность покрытия может быть меньше, но вещество должно быть, насколько возможно, равномерно распределено тонким слоем.

Испытуемое вещество, нанесенное на марлевую повязку, зафиксированную не вызывающей раздражения лентой, должно контактировать с кожей на протяжении 24 ч. Участок тела, через который воздействует испытуемое вещество, должен быть покрыт способом, позволяющим удерживать это вещество, и не дающим возможности животному проглотить испытуемое вещество. Можно использовать ограничители движения, чтобы животное не смогло слизнуть вещество, но полная иммобилизация не рекомендуется.

Остаток испытуемого вещества по окончании периода экспозиции должен быть удален при помощи воды или другими методами очищения кожи животного.

Наблюдения должны регистрироваться систематически, особенно в первый день, а записи вестись по каждому животному в отдельности. Тщательный клинический осмотр должен проводиться ежедневно, другие наблюдения — ежедневно с выполнением соответствующих действий, направленных на минимизацию потерь животных для исследования. Среди них — вскрытие или замораживание животных, найденных мертвыми или изолированными, умерщвленными по медицинским показателям или вследствие агонии.

Необходимо наблюдать за изменениями состояния кожи и шерсти, глаз, слизистых оболочек, дыхательной, кровеносной, вегетативной и центральной нервной систем, соматомоторной деятельности и за поведением. Внимание должно фокусироваться на явлениях тремора, конвульсий, слюноотделения, диареи, летаргии, сна и комы. Время смерти должно быть зафиксировано максимально точно. Масса тела каждой особи должна измеряться до начала эксперимента, еженедельно, после периода воздействия и на момент гибели. Изменения массы должны калькулироваться и записываться.

Патологическая анатомия

Все подопытные животные необходимо подвергнуть аутопсии. Патологические изменения каждого животного регистрируются.

Микроскопические исследования органов, свидетельствующие о патологических изменениях в течение 24 и более часов после смерти, должны быть зафиксированы.

Оценка токсичности другого пола

После завершения полного изучения одного пола, группа животных другого пола (в составе не менее пяти) подвергается воздействию вещества с целью установить большую чувствительность этого пола к свойствам вещества. В отдельных случаях может быть рекомендовано использование меньшего количества животных. Если по имеющейся соответствующей информации животные этого пола более чувствительны, можно исключить тестирование вещества на животных другого пола.

5 Данные

Все данные на каждую подопытную группу должны быть оформлены в виде таблиц, содержащих сведения о количестве животных на начало эксперимента, времени смерти каждого животного, количестве животных, демонстрирующих признаки токсичности, описание токсического действия, результаты вскрытия. Индивидуальная масса тела каждого животного должна быть установлена и зафиксирована незадолго до нанесения тестируемого вещества, затем неделю спустя и после гибели. Если животное выжило и прожило более одного дня, колебания в массе тела должны быть вычислены и зафиксированы. Животные, умерщвленные гуманным способом вследствие острой боли или сложных случаев недомогания, должны быть отмечены как случаи сложной смерти. DL_{50}/LD_{50} должна быть установлена известным методом.

Значение DL_{50}/LD_{50} следует рассматривать в сочетании с токсическим эффектом и результатами вскрытия. Значение DL_{50}/LD_{50} является относительно грубым и рекомендуется в качестве справочного значения для классификации и маркировки и для выражения летального потенциала тестируемого вещества.

Всегда должна делаться ссылка на вид экспериментального животного, для которого определялось значение DL_{50}/LD_{50}.

Оценка данных должна включать в себя сведения, если они имеются, о воздействии испытуемого вещества на животное, объем и интенсивность аномальных проявлений, включая поведенческие и клинические отклонения, значительные поражения органов, колебания массы тела, смертельный исход и другие токсические эффекты.

6 Отчет

Отчет об испытании должен содержать, по возможности, следующие данные о животных:

- вид, род, происхождение, условия содержания, питание и пр.;
- условия тестирования, включая метод очищения кожи и вид нанесения (закрытый защитный или нет);
- уровень дозировки с наполнителем, если таковой использовался, и концентратами;
- пол животных, подвергшихся воздействию вещества;
- сведение в таблицу данных о реакции полов и уровень экспозиции (т.е. количество погибших или умерщвленных во время исследования животных, количество животных с симптомами токсичности, количество животных, подвергшихся воздействию вещества);
- время смерти после приема вещества, причины и критерии гуманного умерщвления животных;
- все данные наблюдений;
- величина DL_{50}/LD_{50}, установленная по окончании наблюдения для каждого пола (вычисленная установленным методом);
- 95 %-ный доверительный интервал для DL_{50}/LD_{50} (если таковой возможно предусмотреть);
- график и кривая взаимосвязи доза/летальный исход (в рамках метода определения);
- результаты вскрытия;
- все результаты гистопатологического исследования;
- результаты любых испытаний с животными другого пола;
- обсуждение результатов (уделить особое внимание тому, что по вычислению величины DL_{50}/LD_{50} может понадобиться прибегнуть к гуманному умерщвлению животных).

Интерпретация результатов

Исследование острой токсичности кожного (подкожного) пути поступления веществ и определение величины DL_{50}/LD_{50} позволяет оценить относительную токсичность вещества по воздействию на кожу.

Экстраполяция результатов острой кожной токсичности и кожной DL_{50}/LD_{50} животных на человека справедлива только в ограниченной степени. Результаты исследования острой кожной токсичности следует рассматривать в сочетании с данными исследований острой токсичности по другим путям поступления вещества.

Библиография

[1] Руководящий документ ОЭСР Test № 402 «Acute Dermal Toxicity»
[2] WHO Publication: Environmental Health Criteria 6, Principles and Methods for Evaluating the T oxicity of Chemicals. Part I, Geneva, 1978
[3] National Academy of Sciences, Committee for the Revision of NAS Publication 1138, Principles and Procedures for Evaluating the T oxicity of Household S ubstances, Washington, 1977
[4] Litchfield, J.T. and Wilcoxon, F., J. Pharm acol., Exp. T her., 96, 99—113, 1949
[5] Bliss, C.I., Quart. J. Pharm. Pharm acol., 11, 192—216, 1938
[6] Finney, D.G., Probit Analysis. (3rd Ed.) London, Cambridge University Press, 1971
[7] Weil, C.S., Biometrics, 8, 249—263, 1952
[8] Thompson, W., Bact. Rev., 11, 115—141, 1947
[9] Miller, L.C. and Tainter, M.L., Proc. S oc. Exp. Biol. Med. NY, 57, 261—264, 1944

УДК 661:615.099 МКС 71.100.01

Ключевые слова: химическая продукция, воздействие на организм человека, метод испытаний, острая токсичность, накожное поступление

Редактор *Н.Е. Рагузина*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *М.С. Кабашова*
Компьютерная верстка *А.А. Ворониной*

Сдано в набор 29.03.2019. Подписано в печать 11.04.2019. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 1,12.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

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

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

gost.e-ecolog.ru