МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ СССР

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

ПО ИССЛЕДОВАНИЮ КАНЦЕРОГЕННЫХ СВОЙСТВ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОДУКТОВ В ХРОНИЧЕСКИХ ОПЫТАХ НА ЖИВОТНЫХ

Москва — Ленинград
1981

gost.e-ecolog.ru

Методические рекомендации предназначены для сотрудников исследовательских лабораторий медицинского и биологического профиля, занимающихся тестированием на канцерогенность.

Рекомендации составлены членами Комитета по канцерогенным веществам при Министерстве здравоохранения СССР академиком АМН СССР профессором Л. М. Шабадом, доктором мед. наук, профессором В. С. Турусовым, доктором мед. наук Л. Н. Пылевым (Всесоюзный онкологический научный центр АМН СССР), доктором мед. наук профессором Г. Б. Плиссом (Научно-исследовательский институт онкологии им. проф. Н. Н. Петрова МЗ СССР).

УТВЕРЖДАЮ
Заместитель Главного
государственного санитарного врача
СССР
А. И. ЗАИЧЕНКО
6 октября 1981 г.
№ 2453-81 от 9 октября 1981 г.

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

по исследованию канцерогенных свойств химических веществ и биологических продуктов в хронических опытах на животных

Прогресс химии и широкое использование продуктов химической промышленности в различных сферах народного хозяйства диктуют необходимость всестороннсй оценки биологического действия химических веществ, в том числе их возможной канцерогенной активности. Актуальность такой оценки особенно возросла в последние годы, когда была убедительно доказана канцерогенная опасность для человека ряда новых химических веществ. Своевременное обнаружение в опытах на животных канцерогенных свойств химических продуктов может послужить основой для принятия мер по предотвращению их действия на человека и проведению соответствующих профилактических мероприятий.

Приказом Министра здравоохранения СССР № 484 от 8 мая 1979 г. «Об организации Комитета по канцерогенным веществам при Министерстве здравоохранения СССР» установлен порядок проведения испытаний химических соединений на канцерогенную активность, согласно которому все исследования должны проводиться по единым разработанным Комитетом схемам и под его контролем. Планы экспериментов и результаты испытаний должны направляться в Комитет на согласование и заключение.

В связи с новым положением о Комитете по канцерогенным веществам и возросшими требованиями к проведению испытаний на канцерогенность возникла необходимость в пересмотре Методического письма, утвержденного МЗ СССР в 1969 г.

I. Принципы отбора веществ для исследования

В связи с невозможностью одновременного тестирования на канцерогенную активность большого числа химических веществ, что связано с длительностью и высокой стоимостью

опытов на животных, необходимо придерживаться следующих принципов отбора при установлении первоочередности испытаний. Испытанию должны быть подвергнуты вещества: (1) подозрительные в отношении их канцерогенных свойств в связи с эпидемиологическими и профпатологическими данными, свидетельствующими о появлении опухолей среди людей, имевших с ними контакт; (2) имеющие химическое структурное сходство с уже известными канцерогенными веществами; (3) получающие широкое распространение среди населения и могущие попадать в пищевые продукты, воду, воздух и почву; (4) обладающие алкилирующими гормоноподобными, ростстимулирующими или цитостатическими свойствами; (5) давшие положительные реакции в краткосрочных тестах на мутагенность, связывание с ДНК и пр. Токсичность вещества не может служить признаком наличия или отсутствия канцерогенности.

Если технический химический продукт имеет сложный состав, то проводится изучение всего продукта. В случае обнаружения канцерогенности целесообразно подвергнуть испытаниям на канцерогенность и отдельные химические компоненты, входящие в состав продукта.

II. Планирование эксперимента

В опытах по тестированию на канцерогенность должны быть созданы условия, обеспечивающие максимальное проявление канцерогенных свойств испытуемого вещества. Рекомендуется следующая схема опыта: 2 вида животных, 2 пола каждого вида, 2 пути введения, одна доза испытуемого вещества.

Лабораторные животные

Наиболее рационально для тестирования химических веществ на канцерогенность использовать мышей и крыс вследствие их относительной дешевизны, простоты их содержания и обращения с ними, а также большого опыта, накопленного экспериментаторами-онкологами при работе с этими видами животных. Испытания следует начинать на молодых (8—12-недельных) животных. Можно использовать как линейных, так и беспородных животных; желательно, чтобы животные имели низкую частоту спонтанных опухолей и были устойчивы к инфекциям и интоксикациям.

Для тестирования могут использоваться и другие виды животных — хомяки, кролики, собаки, птицы, аквариумные рыбы или речная форель, но при этом необходимо, чтобы

одним из двух видов, на которых испытывается вещество, были бы мыши или крысы. Собак можно рекомендовать для испытания ароматических аминов, которые у этого вида животных, как и у человека, могут вызывать рак мочевого пузыря, однако вследствие чрезвычайно длительного, исчисляемого многими годами латентного периода развития опухолей мочевого пузыря у собак, опыты на них можно рекомендовать для проверки результатов испытаний на мелких лабораторных животных веществ; имеющих большое промышленное значение.

Контрольные и опытные животные должны быть одного возраста, получены одновременно из одного питомника и находиться в одинаковых условиях содержания. Наличие идентичных с опытными контрольных групп является обязательным во всех случаях, в том числе и при работе на животных с хорошо известной онкологической характеристикой (частота и спектр спонтанных опухолей могут с течением времени меняться даже у высокоинбредных линий). В каждую подопытную группу следует брать не менее 50 животных каждого пола. Таким образом, на испытание одного вещества по выше приведенной схеме требуется не менее 600 животных (300 мышей и 300 крыс).

Если испытуемое вещество вводится в специальном растворителе (растительное масло и др.), контрольные животные должны получать тот же растворитель используемыми путями введения. При одновременном испытании нескольких веществ количество животных в контрольной группе определяется по формуле $50\sqrt{n}$, где «n»— количество тестируемых веществ. Например, при одновременном испытании 4 веществ, количество животных в контрольной группе составит 100.

Пути введения испытуемого вещества

Рекомендуется использовать два пути введения испытуемого вещества, один из которых соответствовал бы имеющемуся в реальной жизни. Последнее требование не является обязательным. В качестве стандартных могут быть рекомендованы два пути введения— пероральный и подкожный. Наиболее адэкватным для большинства химических веществ является пероральный путь введения. Второй способ введения может быть согласован с Комитетом и выбирается с учетом особенностей действия вещества на организм человека в реальных условиях, физических и химических свойств вещества, степени его опасности для персонала и т. д. Например, при испытании саж, смол и других продуктов, действующих

на кожу человека, один из способов введения будет накожный. При испытании веществ, попадающих в организм человека, главным образом, через дыхательные пути, один из способов введения может быть интратрахсальный или ингаляционный. При тестировании различных образцов асбеста используют внутриплевральное введение.

Продолжительность опыта

Испытуемое вещество вводится на протяжении 24 месяцев, и опыт продолжается до естественной гибели животных. Могут быть забиты последние единичные животные, оставшиеся в отдельных группах.

Выбор дозы

При выборе дозы вещества исходят из предпосылки, что наиболее выраженный канцерогенный эффект проявится при использовании максимально переносимой дозы (МПД), то-есть той, введение которой в течение всей жизни животных не приводит к их гибели или к токсическим проявлениям. Определение МПД проводится на каждом виде животных обоего пола, при каждом методе введения. Предварительно уточняется, проводилось ли ранее исследование токсичности соединения.

Определение МПД включает 2 этапа. *

На первом этапе проводят исследование токсичности вещества в остром опыте с целью определения $ЛД_{50}$ и $ЛД_{20}$ по методу Литчфилда и Уилкоксона. При подкожном методе введения вещество вводят однократно, при скармливании с пищей или при введении зондом в желудок — ежедневно в течение 5 дней, при аппликации на кожу — 3 раза на протяжении 1 недели. За динамикой гибели животных следят в течение 10 дней с момента первого введения.

На втором этапе определяется МПД в субхроническом опыте. Он ставится на 6 группах 6—8-недельных животных обоего пола (при каждом методе введения на каждом виде животных). В каждую группу входят 3 самца и 3 самки одинакового веса. 5 групп подопытных животных получают тестируемый препарат в разных дозах, 6-я группа — контрольная. Максимальная доза находится на уровне $ЛД_{20}$, определенной в остром опыте. Следующие 4 группы животных получают более низкие дозы, каждая из которых в 1,5 раза

* **М. Л. Беленький** «Элементы количественной оценки фармакологического эффекта». Изд. Мед. литературы. Л., 1963, 150 с.

ниже предыдущей. Режим введения такой же, как в хроническом опыте. Исследуемый препарат вводят подопытным животным в течение 6 недель и затем 2 недели наблюдают за их состоянием. Контрольным животным вводят растворитель. Критерием токсического действия вещества в субхроническом опыте является вызываемое им торможение нарастания массы тела животных. Поэтому при проведении опыта следует строго следить за постоянством состава диеты животных, которая должна быть такой же, как в планируемом хроническом исследовании на канцерогенность. Взвешивание животных проводят 2 раза в неделю.

В соответствии с международными требованиями МПД определяют как максимальную дозу, не приводящую к гибели животных от токсического действия и вызывающую в субхроническом опыте торможение нарастания массы тела не более чем на 10% по сравнению с контролем. Не исключена возможность того, что МПД окажется различной у животных разного пола.

В хронический эксперимент могут быть включены выжившие животные из субхронического опыта. В ходе хронического опыта МПД может быть уменьшена в случае токсических проявлений, связанных с возможным кумулятивным действием вещества. Увеличивать МПД в ходе хронического опыта нельзя.

III. Постановка опытов при различных путях введения испытуемого вещества

1. Пероральный путь введения может считаться адэкватным для большинства веществ, испытываемых на канцерогенную активность, Введение этим путем может осуществляться с кормом, питьевой водой или через желудочный зонд. В качестве растворителей испытуемых соединений используются неактивные вещества, не обладающие раздражающим действием, такие как вода, растительные масла, крахмал. Если вещество не растворяется в этих растворителях, его можно вводить в виде эмульсий и суспензий.

Введение с кормом (или питьевой водой) является наиболее физиологичным для многих веществ и соответствующим пути их поступления в организм человека. Дозу вещества определяют в миллиграммах на килограмм (мг/кг) массы рациона или массы животного и рассчитывают на всю группу животных, которые будут его получать.

При введении с кормом химический продукт растворяется в небольшом объеме растворителя и смешивается с пи-

щей. Для сохранения пропорций и стабильности дозы при увеличении массы тела животных можно руководствоваться следующей таблицей концентраций.

Таблица 1 *

Доза	Период после отъема детенышей в 3-недельном возрасте (в неделях)	Вес принятой пищи в г/кг массы тела в день	Количество исследуемого вещества (в % от пищевого рациона)
10 мг на 1 кг	0—2	120	0,084
массы тела	2—4	100	0,100
	4—6	75	0,133
	6—8	65	0,154
	8—10	60	0,168
	>10	50	0,200

* Таблица заимствована из материалов доклада Объединенного экспертного Комитета ФАО/ВОЗ по пищевым добавкам. Серия технических докладов ВОЗ, № 220, 1961.

В случае, если исследуемое вещество может быть растворено, устойчиво взвешено или эмульгировано в воде, молоке или жидком крахмале, его можно давать животным в виде питья из автопоилок. При этом необходимо периодически определять количество воды, выпиваемой животными в сутки, с последующим пересчетом дозы вещества на кг массы животного. Количество воды, потребляемой животным в сутки, в значительной мере зависит от характера кормов (натуральные, гранулированные, смешанные).

Метод введения испытуемого вещества с кормом или питьевой водой может оказаться непригодным, если вещество придает корму или воде неприятный вкус или запах, вследствие чего животные отказываются от их приема, или если вещество вступает с пищей или водой в реакцию.

Введение испытуемого вещества в желудок через зонд производится 2—3 раза в неделю: мышам в объеме 0,1—0,2 мл, крысам — 0,5—1,0 мл. Более частое введение может вызвать нежелательные осложнения от передозировки растворителя (например, растительного масла). Зонд изготавливается из толстой иглы для инъекций. Острие иглы срезается и ее конец сгибается под углом 30°. Во избежание травмы слизистой оболочки пищевода на спиленный край иглы, напаивается небольшая олива.

2. Подкожное введение

Вещества инъецируют 1 раз в неделю как в нативном виде, так и в виде растворов и суспензий в воде, растительном масле, глицерине, крахмале, а также в виде парафиновых пилюль. В последнем случае интервал между введениями можно увеличить. Рекомендуемый объем в опыте на крысах составляет 0,5—1,0 мл, на мышах — 0,1—0,2 мл. Иглу рекомендуется направлять сверху вниз от головы к хвосту. Для предупреждения вытекания раствора иглу следует продвигать по возможности дальше под кожу.

Подкожный путь введения обеспечивает точную дозировку испытуемого вещества и дает возможность изучать как местный, так и системный эффект.

3. Смазывание кожи

Этот способ весьма полезен при испытании веществ, поступающих в организм человека главным образом через кожу.

Наиболее подходящим экспериментальным животным для изучения возможной канцерогенности химических веществ путем смазывания кожи являются мыши гибриды первого поколения ($C_{57}BL \times CBA)F_1$ а также $C_{57}BL$, CBA. Возможно использование и беспородных животных. Помимо мышей, эксперименты со смазыванием кожи можно проводить и на кроликах. На крысах такие опыты проводить не следует вследствие относительной резистентности их кожи к индукции опухолей.

В качестве растворителей (при невозможности нанесения на кожу вещества в нативном состоянии, что предпочтительнее) рекомендуется использовать ацетон. Возможно в качестве растворителей использовать растительные масла или слабые разведения спирта.

Смазывание кожи следует проводить 2—3 раза в неделю. Исследуемое вещество наносится стеклянной палочкой, микропипеткой или пипеткой на кожу межлопаточной области (кроликам на кожу уха). Дозу вещества рассчитывают исходя из веса капли или числа капель в 1 мл раствора. Волосы на месте нанесения предварительно выстригают. В ходе опыта по мере отрастания шерсти проводится повторная стрижка.

4. Внутритрахеальное введение

Данный способ можно использовать в случаях, когда ингаляция является основным путем попадания вещества в организм человека.

Опыты можно проводить на крысах, хомяках и мышах. Спонтанные опухоли легких у крыс и хомяков редки, однако, крысы, в отличие от хомяков, склонны к различным воспалительным заболеваниям легочной ткани, что затрудняет проведение экспериментов. У мышей некоторых линий (А, BALB/C, C_{57} белые) довольно часто встречаются спонтанные опухоли легких (главным образом, аденомы), что необходимо учитывать при оценке результатов опытов по тестированию на канцерогенность. Инстилляцию веществ в легкие можно проводить в виде водных растворов и суспензий. Возможно использование различных коллоидных растворов белка. Для увеличения срока пребывания вещества в легочной ткани рекомендуется добавление к раствору или суспензии порошка туши или инертных пылей (графитированная сажа и др.). Во всех случаях необходима постановка соответствующих контрольных экспериментов. Вещества следует вводить 1 раз в две недели или 1 раз в месяц по 0,2—0,5 мл крысам, 0,2 мл — хомякам и 0,05—0,1 мл — мышам внутритрахеально под визуальным контролем. Введение осуществляется под легким эфирным наркозом. Животное фиксируется на столике для оперирования мелких лабораторных животных или в специальном пенале или подвешивается на штативе за передние зубы. Рот животного раскрывают пинцетом, язык вытягивается до отказа. В полость рта вставляется ушная воронка, через которую освещают вход в гортань с помощью оториноларингологического лобного рефлектора. Затупленную на конце иглу под контролем зрения вводят в трахею. Правильность введения подтверждает дыхание крысы через иглу. Изучаемый раствор набирается в туберкулиновый шприц; над необходимым для введения объемом раствора оставляют 0,1—0,2 мл воздуха. Вещество быстро вводят в легкие, а затем вводят оставшийся в шприце воздух.

Возможно проведение также ингаляционной затравки животных для чего необходимы специальные камеры.

5. Другие пути введения

При испытаниях лекарственных препаратов рекомендуется, чтобы один из путей введения был обязательно таким же, каким препарат будет вводиться больным. В том случае, если предполагаемый клинический способ введения (например, через рот) не обеспечивает поддержания в тканях животного высокой концентрации вещества, следует использовать дополнительный путь (внутрибрюшинный, внутривенный или

подкожный), который сможет гарантировать создание в организме высоких концентраций препарата.

Трансплацентарный путь введения вследствие технических трудностей можно использовать лишь в отдельных случаях — например, при испытании веществ, практическое применение которых предполагает контакт с ними беременных женщин. Он должен сочетаться с обязательным последующим введением вещества родившимся животным по обычной схеме. Испытуемое вещество вводится беременным самкам начиная с 15-го дня беременности, введение продолжается кормящим самкам на протяжении периода лактации, а после отъема начинается введение молодым животным, продолжающееся в течение 24 месяцев.

IV. Проведение экспериментов и их документация

На каждое испытуемое вещество заводится рабочая тетрадь, в которой указывается фамилия экспериментатора, название лаборатории и учреждения и следующие **сведения об испытуемом соединении:** название, синонимы, формула, источник поступления, дата изготовления и поступления, физические и химические свойства (точка плавления, растворимость, наличие примесей и т. д.).

Данные о растворителях, концентрациях испытуемого соединения, методах приготовления раствора (взвеси), количестве раствора, изготавливаемого каждый раз, pH раствора, его устойчивость, дата приготовления раствора и др.

Данные о животных и их содержании: виды, линии, количество животных, взятых в опыт, дата рождения или поступления из питомника, источник поступления (собственная разводка, питомник), инбредность, распределение по группам (случайное, рандомизированное по специальным таблицам и др.), материал, из которого сделаны клетки, количество животных на клетку, характер пищи (состав, возможность загрязнения химическими веществами, натуральные корма, гранулированные, смешанные), подстилки, данные о контрольных животных.

Введение испытуемого вещества: пути введения, частота, доза вещества на введение и объем раствора, общее количество доз, суммарная доза, дата первого и последнего введения, были ли перерывы во введении и изменения дозировки.

Наблюдение за животными: возраст и вес животных в начале опыта, общая продолжительность эксперимента (от начала введения испытуемого вещества до смерти животных), частота взвешивания, измерение количества потребляемой пи-

щи (воды). В рабочей тетради даются сведения по каждой клетке с указанием индивидуальных номеров животных (животные метятся ампутацией пальцев, причем задние лапы используются для обозначения первых 10 цифр, а передние— для десятков и сотен, возможно использование и других способов нанесения метки), результатов индивидуального взвешивания и наблюдения за животными с указанием обнаруженных изменений, внешнего вида, опухолей и т. д., даты гибели или забоя каждого животного. Взвешивание животных проводится перед первым введением испытуемого вещества, сженедельно в течение первого месяца, один раз в две недели в течение второго месяца и затем ежемесячно. Все животные (экспериментальные и контрольные) подвергаются ежедневному осмотру. При накожном нанесении вещества раз в две недели регистрируются вновь появившиеся опухоли.

Вскрытие животных и гистологическое исследование

Все павшие или забитые животные — опытные и контрольные — подвергаются патологоанатомическому исследованию. Забой животных в ходе опыта производится лишь в тех случаях, когда, по мнению экспериментатора, мышь (крыса) не проживут более одних суток. Следует предостеречь против излишнего забоя животных, что может привести к искусственному сокращению продолжительности эксперимента.

На каждое павшее (забитое) животное заводится протокол вскрытия (см. приложение 1), в котором приводятся паспортные данные (номер опыта или название испытуемого вещества, группа, путь введения, вид, линия, пол животного, возраст в момент смерти, продолжительность воздействия испытуемого вещества, общая продолжительность опыта от начала введения до смерти животного), результаты вскрытия. После вырезки фиксированного материала перечисляются органы, взятые для гистологического исследования; результаты гистологического исследования с приведением диагнозов обнаруженных опухолей и неопухолевых процессов.

При вскрытии осмотру подвергаются все внутренние органы, включая головной мозг. Спинной мозг вскрывается при наличии клинических симптомов его поражения (например, параличи конечностей). В 10% нейтральном формалине фиксируются головной мозг, гипофиз, легкие, печень, почки с надпочечниками, селезенка, гортань со щитовидной железой, гонады, а также все ткани с найденными при вскрытии изменениями.

Для гистологического исследования берутся кусочки опухолей, органов и тканей с макроскопическими изменениями и во всех случаях кусочки печени и почек. Архивный материал (фиксированные органы, блоки, гистологические стекла) должен храниться не менее 3 лет после представления отчета по результатам испытаний.

V. Оценка результатов исследования

Результаты гистологического исследования по всему опыту суммируются в таблице (приложение 2). Кроме этого, составляются таблицы выживаемости (приложение 3) и средних латентных периодов возникновения опухолей (времени обнаружения) — приложение 4. При необходимости составляются дополнительные таблицы: например, количество опухолей кожи на одно животное при накожном нанесении, количество аденом легких на одно животное и т. д.

Вещество признается канцерогенным, если даже в одной из опытных групп имеется статистически существенное превышение частоты опухолей по сравнению с соответствующим контролем.

При этом необходимо учитывать общий процент опухолей, процент опухолей по отдельным локализациям, величину среднего латентного периода опухолей кожи, среднюю продолжительность жизни животных с опухолями.

К слабым канцерогенам могут быть отнесены вещества, при введении которых у животных имеет место учащение возникновения спонтанных опухолей, или соединения, при которых процент опухолей мало отличается от контроля, но средний латентный период их возникновения существенно меньше.

При оценке и публикации результатов исследования на канцерогенность необходимо отмечать, что они получены в данных экспериментах при введении данным животным.

Окончательное заключение о канцерогенности изученного соединения дается Комитетом по канцерогенным веществам МЗ СССР после изучения представленных ему материалов.

При необходимости нормирования соединения по канцерогенности проводятся специальные эксперименты.

Приложение 1

ПРОТОКОЛ ВСКРЫТИЯ

Опыт	Группа, серия	Вид, линия	Пол	№ клетки	№ животного
	Продолжительность				Возраст
	Воздействия		Опыта		
Пала ☐	Дата смерти		Посмертные изменения		Гистологический номер
Забита ☐	____ день ____ месяц 198 г.		— + ++ +++		

Данные вскрытия	Гистологическое исследование 1. Опухоли:
Органы, взятые для гистологии	2. Прочие изменения:
	См. на обороте

Приложение 2

Частота опухолей у мышей (крыс) при пероральном и подкожном введении испытуемого вещества

Группа	Способ введения	Пол	Эффективное число животных (а)	Число животных с опухолями		Количество опухолей (в)		Животные с опухолями					
								легких		печени		...	прочих органов
				абс.	% (б)	всего	на 1 животное (б)	абс.	% (б)	абс.	% (б)		
Контроль	пероральный	самки											(г)
		самцы											(д)
Опыт	пероральный	самки											(е)
		самцы											...
Контроль	подкожный	самки											...
		самцы											...
Опыт	подкожный	самки											...
		самцы											...

Примечания:

(а) — число животных, переживших время обнаружения первой опухоли в любой из групп при данном методе введения. Например, при пероральном введении первая опухоль обнаружена в опытной группе через 10 мес. после начала эксперимента. Эффективное число животных в контрольной группе при этом пути введения также рассчитывается на этот срок.

(б) — по отношению к эффективному числу.

(в) — количество гистологических типов опухолей всех локализаций, т. е. сумма всех опухолей, указанных в последующих графах.

(г), (д), (е) и т. д.— указывается число животных с опухолями прочих органов, а в примечании — какие конкретно найдены опухоли. Например, 3 (г) — аденома гардеровой железы; саркома матки; рак клиторальной железы.

Приложение 3

Частота опухолей у мышей (крыс) при пероральном и подкожном введении препарата

Группа	Способ введения	Исходное число животных	Число животных (павших/выживших) к концу указанного срока						
			0—3 мес.	4—6 мес.	7—9 мес.	10—12 мес.	. . .	21—24 мес.	26—28 мес.
Контроль	пероральный	50	2/48	8/42	10/40	10/40	. . .	43/7	48/2
Опыт	пероральный	50					. . .		
Контроль	подкожный	50							
Опыт	подкожный	50							

Приложение 4

Средняя продолжительность жизни мышей (крыс) при пероральном и подкожном введении вещества (мес.)

Группа	Способ введения	Пол	Средняя продолжительность жизни		Средняя продолжительность жизни животных с опухолями						Срок обнаружения первой опухоли
			всех животных	животных с опухолями	печени	легких	почки	кроветворной ткани	молочной железы	др.	
Контроль	пероральный	самки									
		самцы									
Опыт	пероральный	самки									
		самцы									
Контроль	подкожный	самки									
		самцы									
Опыт	подкожный	самки									
		самцы									

Л-112717 от 23/XI-81 г. Зак. 49 Тир. 1000

типография Министерства здравоохранения СССР

gost.e-ecolog.ru