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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

**ГОСТ
32378—
2013**

МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЯ ПО ВОЗДЕЙСТВИЮ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА

Испытания по оценке репродуктивной токсичности одного поколения

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 документа, указанного в пункте 5

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. № 803-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 32378—2013 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 августа 2014 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному документу OECD, Test No. 415:2007 «Исследование репродуктивной токсичности одного поколения» («One-Generation Reproduction Toxicity Study», IDT).

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования указанного международного документа для приведения в соответствие с ГОСТ 1.5 (подраздел 3.6)

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

Содержание

1 Область применения 1
2 Термины и определения 1
3 Принцип метода испытания 1
4 Описание исследования 2
4.1 Подготовка 2
4.2 Предварительные данные об изучаемом веществе 2
4.3 Животные 2
4.4 Уровень доз 2
4.5 Испытание с максимальной концентрацией вещества 3
5 Процедура испытания 3
5.1 Схема эксперимента 3
5.2 Процедура спаривания 3
5.3 Размер приплода 3
5.4 Наблюдения 3
5.5 Патология 4
6 Данные и отчет о проведении испытания 4
6.1 Данные 4
6.2 Отчет о проведении испытания 4
6.3 Интерпретация результатов 5
Библиография 6

Введение

Изучение репродуктивной токсичности является обязательным элементом токсикологической оценки химических веществ. Данный вид исследований позволяет получить предварительную информацию о воздействии вещества на эмбриональное развитие.

Целью данного метода является изучение влияния химических соединений на функцию гонад, эстральный цикл, поведение во время спаривания, зачатие, лактацию и отлучение от материнского питания.

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЯ ПО ВОЗДЕЙСТВИЮ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА

Испытания по оценке репродуктивной токсичности одного поколения

Methods for testing of chemicals of human hazard. One-generation reproduction toxicity study

Дата введения — 2014—08—01

1 Область применения

Настоящий стандарт по оценке репродуктивной токсичности предназначен для получения общей информации по воздействиям испытуемого вещества на репродуктивные показатели самцов и самок, таких как функция гонад, эстральный цикл, поведение во время спаривания, зачатие, роды, лактация и отлучение от материнского питания. Данный метод не универсален и может потребовать изменений при изучении веществ, вводимых ингаляционным путем. Исследование предназначено для получения предварительной информации о токсических воздействиях испытуемых веществ на эмбриональное развитие, таких как неонатальные заболевания, смертность, поведение и тератогенез, и может служить руководством для последующих испытаний.

2 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

2.1 **доза** (dose): Количество вводимого тестируемого вещества. Доза выражается либо по массе (г, мг), либо массой тестируемого вещества на единицу массы тела животного (г, мг/кг), либо постоянной концентрацией в пище (ppm).

2.2 **дозировка** (dosage): Основное понятие, включающее в себя дозу, частоту и продолжительность введения.

2.3 **материнская токсичность** (maternal toxicity): Неблагоприятное воздействие на беременных самок, происходящее как непосредственно (прямое воздействие), так и опосредовано (непрямое воздействие).

2.4 **репродуктивная токсичность** (reproductive toxicity): Неблагоприятное воздействие на потомство и/или ослабление мужских и женских репродуктивных функций или способностей.

3 Принцип метода испытания

Испытуемое вещество вводится нескольким группам самок и самцов. Самцам доза вводится на протяжении развития и, по меньшей мере, одного полного сперматогенного цикла (около 56 дней у мышей и 70 дней у крыс) с целью вызвать любые изменения от воздействия вещества на стадии сперматогенеза. Самкам материнского поколения (*P*) доза вводится, по меньшей мере, на протяжении двух полных эстральных циклов с целью вызвать любые изменения от воздействия вещества на эстральной стадии.

Животные затем спариваются. Испытуемое вещество вводится животным обоего пола на протяжении периода спаривания и затем только самкам в течение периода беременности и кормления. Введение вещества ингаляционно должно быть научно обосновано.

Издание официальное

4 Описание исследования

4.1 Подготовка

Перед испытанием животные произвольно распределяются в экспериментальную и контрольную группы. Животные проходят акклиматизацию к экспериментальным условиям и условиям питания на протяжении пяти дней до начала эксперимента. Рекомендуется введение вещества с пищей или питьевой водой. Также допустимы другие пути введения вещества. Дозирование должно проводиться одним способом в течение всего эксперимента. Если используется среда или другие вспомогательные вещества для приготовления дозы, они не должны вызывать токсический эффект. Дозирование совершается семь дней в неделю.

4.2 Предварительные данные об изучаемом веществе

- Твердое, жидкое, газо- или парообразное агрегатное состояние;
- химическая идентификация;
- чистота (примеси) испытуемого вещества;
- характеристики растворимости;
- точка плавления/кипения (если необходимо);
- pH (если необходимо).

4.3 Животные

4.3.1 Выбор вида

Предпочтительны крысы или мыши. Необходимо использовать здоровых животных, прежде не участвовавших в экспериментах. Не должны использоваться линии с низкой плодовитостью. Для исследования важны вид, линия, пол, масса и/или возраст подопытных животных.

4.3.2 Количество и пол

Каждая экспериментальная и контрольная группа должна содержать достаточное количество животных, чтобы получить не менее 20 беременных самок, близких к родам или рожающих.

Целью является производство достаточного количества беременных самок и потомства для возможности значимой оценки потенциала вещества в отношении влияния на фертильность, беременность, материнское поведение животных поколения *P* и рост и развитие потомства линии F_1 в период от оплодотворения яйцеклетки до отлучения от груди.

4.3.3 Условия содержания

Температура в лабораторном помещении должна составлять (22 ± 3) °С для грызунов и (18 ± 3) °С для кроликов. Относительная влажность должна быть, как минимум, 30 % и не превышать 70 %, за исключением времени уборки помещения, оптимальное значение составляет 50 % — 60 %. Освещение должно быть искусственным в последовательности 12 часов — свет, 12 часов — темнота. При кормлении может быть использована обычная лабораторная диета с неограниченным количеством питьевой воды.

Процедуры спаривания должны проводиться в клетках, подходящих для этой цели. Индивидуальное содержание оплодотворенных животных предпочтительно, однако содержание небольшими группами также приемлемо.

4.4 Уровень доз

Используются как минимум три экспериментальные и одна контрольная группы. Если для приготовления доз применяется растворитель или другая среда, контрольная группа должна получить раствор в наибольшем объеме. Если испытываемое вещество вызывает уменьшение потребления диетического питания или его утилизацию, может возникнуть необходимость в парной контрольной группе. В идеале, самый высокий уровень дозы, если только действие не ограничено физико-химическими свойствами испытуемого вещества или его биологическим воздействием, должен вызывать у родителей-животных *P* токсичность, но не гибель. Средняя доза должна вызывать минимальный токсический эффект, вызванный действием токсического вещества; низкий уровень дозы не должен вызывать видимых эффектов у родителей приплода.

Если вещество вводится через желудочный зонд или капсулу, то доза для каждого животного должна устанавливаться в зависимости от массы его тела и недельной динамики массы тела. При

желании, для самок на протяжении периода беременности дозировка может быть установлена в зависимости от массы тела в 0-й или 5-й день беременности.

4.5 Испытание с максимальной концентрацией вещества

В случае, если используется вещество с низкой токсичностью и уровень дозы не менее 1000 мг/кг массы тела не вызывает неблагоприятных эффектов в деятельности репродуктивной системы, дальнейшие исследования с этим уровнем дозы могут быть признаны необязательными. Если предварительное исследование с самым высоким уровнем дозы вызывает выраженные признаки материнской токсичности и не вызывает наблюдаемых воздействий на фертильность, исследования с другими уровнями доз могут быть признаны необязательными.

5 Процедура испытания

5.1 Схема эксперимента

Самцам поколения родителей (*P*) в возрасте от 5 до 9 недель вводят дозу ежедневно, затем их отлучают от матери, акклиматизационный период длится не менее пяти дней. Крысы дозируются на протяжении 10 недель до периода спаривания (для мышей период дозировки — 8 недель). Самцы должны быть умерщвлены и осмотрены либо по окончании периода спаривания, либо они могут продолжать находиться на экспериментальной диете для возможного рождения второго приплода, затем должны быть умерщвлены и осмотрены до окончания исследования. Самок поколения родителей (*P*) дозировать начинают не менее чем через пять дней после акклиматизации и продолжают дозировать на протяжении двух недель до спаривания. Самкам поколения родителей (*P*) вводят дозу ежедневно на протяжении трехнедельного периода спаривания, беременности и затем до периода завершения кормления потомства F_1. Особое внимание необходимо уделить изменениям режима введения доз, основанных на доступных данных об испытуемом веществе, например, индукции метаболизма или бионакопления.

5.2 Процедура спаривания

В исследованиях на репродуктивную токсичность используется спаривание в соотношении 1:1 (один самец к одной самке) или 1:2 (один самец к двум самкам).

При спаривании в соотношении 1:1 самку необходимо поместить с одним самцом до наступления беременности или до истечения трех недель. Каждое утро самок осматривают на предмет наличия спермы или вагинальной пробки. Нулевым днем беременности считается день появления вагинальной пробки или спермы.

В случае неудачного спаривания пара должна быть осмотрена с целью установления причины видимой нефертильности. В осмотр могут быть включены такие процедуры, как дополнительное спаривание с самцами или самками, доказавшими свою способность оплодотворять и оплодотворяться, микроскопическое исследование репродуктивных органов, наблюдения за эстральным циклом или за сперматогенезом.

5.3 Размер приплода

Животным обеспечивается возможность полноценных родов и кормления потомства до момента отлучения от груди без стандартизации потомства.

Если стандартизация размера помета выполняется, рекомендуются последующие процедуры. На 4-й день после рождения размер каждого помета может быть отрегулирован уничтожением лишних детенышей. При выборе руководствуются стремлением сохранить в приплоде четырех самцов и столько же самок.

Всякий раз, когда количество детенышей — самцов или самок не позволяет сформировать их в соотношении четыре самца/четыре самки, их можно урегулировать частично, например, пять самцов и три самки. Не регулируется размер приплода численностью менее 8 детенышей.

5.4 Наблюдения

На протяжении испытания за каждым животным необходимо наблюдать не реже чем раз в день. Соответствующие изменения в поведении, признаки трудных или длительных родов и все признаки

токсичности, включая гибель, должны быть зафиксированы. На протяжении периода перед спариванием и спаривания объем потребляемой пищи замеряется ежедневно. После родов и на протяжении периода лактации объем потребляемой пищи (и воды, если испытуемое вещество вводится с питьевой водой) измеряется в день взвешивания приплода. *P*-самцы и самки должны взвешиваться в первый день введения доз, затем еженедельно. Данные наблюдения следует фиксировать отдельно по каждой взрослой особи.

Срок беременности должен быть подсчитан, начиная с нулевого дня (0) наступления беременности. Для каждого приплода сразу после рождения необходимо установить число и пол детенышей, мертвых или живых, наличие значительных аномалий. Мертвых и умерщвленных на 4-й день детенышей следует зафиксировать и изучить на предмет выявления пороков. Живые детеныши должны быть подсчитаны, потомки взвешены наутро после рождения, на 4-й и 7-й день после рождения, и затем еженедельно до окончания эксперимента, когда животных необходимо взвесить индивидуально.

Необходимо фиксировать физические или поведенческие аномалии, наблюдаемые у самок или потомства.

5.5 Патология

5.5.1 Вскрытие

На момент умерщвления или гибели во время эксперимента животные поколения *P* должны быть исследованы макроскопически на предмет изучения структурных патологий или изменений, особое внимание при этом следует уделять органам репродуктивной системы. Погибшие или агонизирующие детеныши должны быть осмотрены на предмет обнаружения пороков.

5.5.2 Гистопатология

Микроскопическому исследованию подвергаются яичники, матка, шейка матки, вагина, тестикулы, придатки яичников, семенной пузырек, простата, свертывающая железа, гипофиз и орган(ы)—мишень(и) всех животных потомства родителей (*P*). Если перечисленные органы не были исследованы в опытах с многократными дозами, они должны быть изучены микроскопически в группах с высокой дозой и в контрольной группе, а также в группе животных, погибших во время эксперимента.

Если у животных наблюдаются органы с патологиями, эти органы должны быть осмотрены у всех животных *P*. В этом случае все ткани со значительными патологиями необходимо подвергнуть микроскопическому исследованию. Как предлагается при процедурах спаривания, репродуктивные органы с ожидаемой бесплодностью могут также подвергнуться микроскопическому исследованию.

6 Данные и отчет о проведении испытания

6.1 Данные

Данные должны быть сведены в таблицы с указанием количества животных на начало эксперимента в каждой группе, числа фертильных самцов, числа беременных самок, типов изменений и процентного соотношения животных, демонстрирующих каждый тип изменений.

По возможности численные результаты должны быть обработаны статистическим методом. Может использоваться любой общепринятый метод статистической обработки данных.

6.2 Отчет о проведении испытания

Отчет о проведении испытания должен содержать следующую информацию:

- используемые виды/линии;
- токсические реакции с указанием пола и дозы, включая фертильность, беременность и жизнестойкость;
- время гибели во время эксперимента; если животное выжило, время запланированного умерщвления или факт умерщвления по окончанию эксперимента;
- таблицы, демонстрирующие массу каждого потомка, значения: средней массы новорожденных и индивидуальной массы новорожденных на окончание испытания;
- токсические или другие воздействия на репродуктивную функцию, потомство и постнатальное развитие;
- даты наблюдения за каждым аномальным случаем и его последующее течение;
- масса тела животных линии *P*;

- данные аутопсии;
- подробное описание данных микроскопического исследования;
- статистическая обработка результатов, если необходимо;
- обсуждение результатов;
- интерпретация результатов.

6.3 Интерпретация результатов

Исследование репродуктивной токсичности дает информацию об эффектах повторного орального воздействия вещества. Результаты исследования должны рассматриваться совместно с результатами субхронического, тератогенного и других исследований. Экстраполяция результатов на людей действительна до определенной степени, результаты исследования могут дать полезную информацию о недействующих и допустимых уровнях воздействия на организм человека.

Библиография

[1] Руководящий документ ОЭСР Test № 415 «One-Generation Reproduction Toxicity Study»

[2] E.I. Goldenthal, Guidelines for Reproduction Studies for S afety Evaluation of Drugs for Human Use. Drug Review Branch, Division of Toxicological Evaluation, Bureau of Science, Federal Drug Administration, Washington, D.C. (1966)

[3] T. Hasegawa, M. Hayashi, F.J.G. Ebling and I.W. Henderson, Fertility and Sterility. Elsevier, New York (1973)

[4] E.F. Oakberg, Am. J. Anat. 99, 507—516 (1956)

[5] E.C. Roosen-Runge, Biol. Rev. 37, 343—377 (1962)

[6] R.D. Yates and M. Gordon, Male Reproductive System. Masson, New York (1977)

[7] National Academy of Sciences, Principles and Procedures for Evaluating the Toxicity of Household S ubstances (Washington, 1977)

[8] A.K. Palmer, in Handbook of Teratology, Vol. 4 (edited by J.G. Wilson and F. Clarke Graser) Plenum Press, New York (1978)

[9] A.K. Palmer, in Developmental Toxicology (edited by C.A. Kimmel and J. Buelke-Sam) Raven Press, New York (1981)

УДК 661:615.099:006.354 МКС 1.100.01

Ключевые слова: химическая продукция, воздействие на организм человека, метод испытаний, репродуктивная токсичность, одно поколение

Редактор *Е.И. Мосур*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *Р.А. Ментова*
Компьютерная верстка *Л.А. Круговой*

Сдано в набор 05.04.2019. Подписано в печать 29.04.2019. 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