	ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России ЛАБОРАТОРИЯ ТОКСИКОЛОГИИ НАУЧНОГО ЦЕНТРА ИННОВАЦИОННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ С ОПЫТНО-ПРОМЫШЛЕННЫМ ПРОИЗВОДСТВОМ

СОП №:	Номер версии:	Число страниц:
III/1П-003-2024/5	5	42
	Дата начала действия версии СОП:	Дата окончания действия версии СОП:
	28.03.2024	28.03.2026

Наименование СОП:	**Острая пероральная токсичность – метод определения класса острой токсичности (ГОСТ 32644-2014, ОЭСР Тест № 423)**

Составление, утверждение и пересмотр СОП			
Составлено/ Пересмотрено:	_____ подпись	11.06.2020/ 15.03.2024 дата	В.В. Багметова
Проверено: Руководитель СОК	_____ подпись	22.03.2024 дата	Т.Д. Денисова
Утверждено: Руководитель лаборатории	_____ подпись	25.03.2024 дата	Л.И. Бугаева

Форма обучения:	чтение ✓	практические занятия ✓

1. НАЗНАЧЕНИЕ СОП

1.1. ЦЕЛЬ: описать процедуру изучения острой пероральной токсичности методом определения класса острой токсичности по ГОСТ 32644-2014 (ОЭСР Тест № 423).

1.2. ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

СОП предназначена сотрудникам, выполняющим экспериментальное исследование по изучению острой токсичности фармакологических веществ.

Сотрудники, работающие с этой методикой, должны руководствоваться данной СОП и грамотно вести соответствующую документацию.

2. НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

1. Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств» от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ, статьи 4, 11 (в ред. от 02.08.2019 N 297-ФЗ).
2. Национальный стандарт РФ ГОСТ Р 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики» (Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 20 ноября 2014 г. № 1700-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 33044—2014 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 августа 2015 г. Настоящий стандарт идентичен международному документу OECD Guide 1:1998 OECD Principles of good laboratory practice).
3. Межгосударственный стандарт ГОСТ 32296-2013 «Методы испытаний по воздействию химической продукции на организм человека. Основные требования к проведению испытаний по оценке острой токсичности при внутрижелудочном поступлении методом фиксированной дозы» (Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 22 ноября 2013 г. № 795-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 32296—2013 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 августа 2014 г. Настоящий стандарт идентичен международному документу OECD Test № 420 «Acute Oral Toxicity - Fixed Dose Procedure»). – М.: Стандартинформ, 2014. – 15 с.
4. Межгосударственный стандарт ГОСТ 32644-2014 «Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Острая пероральная токсичность – метод определения класса острой токсичности» (Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 24 сентября 2014 г. №1214-ст введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 01 июня 2015 г. Настоящий стандарт идентичен международному документу OECD Test № 423:2001 Acute Oral Toxicity - Acute Toxic Class Method). – М.: Стандартинформ, 2015. – 15 с.
5. Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р 56700-2015 «Лекарственные средства для медицинского применения. Доклинические фармакологические исследования безопасности» (Утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 11 ноября 2015 г. № 1761-ст. Настоящий стандарт идентичен международному документу ICH S7A:2001 «Доклинические фармакологические исследования безопасности лекарственных средств для медицинского применения» (ICH S7A:2001 «Safety Pharmacology studies for human pharmaceuticals»). - М.: Стандартинформ, 2016. – 11 с.
6. Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р 56701-2015 Лекарственные средства для медицинского применения. Руководство по планированию доклинических исследований безопасности с целью последующего проведения клинических исследований и регистрации лекарственных средств (Утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 11

ноября 2015 г. № 1762-ст. Настоящий стандарт идентичен международному документу ICH M3(R2):2009 «Руководство по планированию доклинических исследований безопасности с целью последующего проведения клинических исследований и регистрации лекарственных средств»). - М.: Стандартинформ, 2016. – 27 с.

3. ОТВЕТСТВЕННОСТЬ

Все сотрудники, которым предназначена СОП, должны следовать описанным в ней правилам и знать методику оценки острой токсичности фармакологических веществ при внутрижелудочном поступлении методом фиксированной дозы.

Сотрудники, принимающие участие в проведении токсикологических исследований фармакологических веществ, обязаны соблюдать конфиденциальность в отношении любых данных, полученных в ходе исследования, в соответствии с законодательством Российской Федерации. Организация, проводящая исследования токсических свойств фармакологических веществ, должна обеспечить конфиденциальность результатов исследований в рамках принятых ею обязательств и в соответствии с законодательством Российской Федерации.

4. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Метод обеспечивает получение информации об острой токсичности вещества при его внутрижелудочном введении и позволяет оценить и классифицировать его в соответствии с СГС. Проведению испытания должен предшествовать анализ информации об исследуемом веществе. Такая информация включает сведения о составе и химическом строении вещества; его физико-химических свойствах; результатах токсикологических испытаний *in vivo* и *in vitro*, а также токсикологические данные по структурно родственным веществам и предполагаемые пути использования вещества. Эта информация нужна для подтверждения того, что испытание является необходимым для защиты здоровья человека и способствует выбору подходящей начальной дозы.

5. ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Следующие термины и определения приведены в редакции ГОСТ 32296-2013 и ГОСТ 32644-2014:

Агония (Moribund status): Предсмертное состояние либо неспособность выжить, даже при лечении.

Доза (Dose): количество вводимого тестируемого вещества. Доза выражается как отношение массы тестируемого вещества к единице массы подопытного животного (например, мг/кг).

Замедленная смерть (Delayed death): Означает, что животное не умирает или не агонизирует в течение 48 часов, а умирает позже, в течение 14-дневного периода наблюдения.

Острая оральная токсичность (Acute oral toxicity): неблагоприятные явления, которые возникают после приема внутрь однократной дозы вещества или нескольких доз в течение 24 часов.

Отложенная смерть (Delayed death): животное не умерло или не находится при смерти в течение 48 часов, но умирает позже, во время 14-дневного периода наблюдения.

Очевидная токсичность (Evident toxicity): Это общий термин, характеризующий признаки токсичности, наблюдаемые после введения исследуемого вещества.

Предельная доза (Limit dose): доза, являющаяся самой большой при тестировании (2000 или 5000 мг/кг).

Прогнозируемая смерть (Impending death:): определённые клинические признаки, свидетельствующие о смерти в будущем, до запланированного конца эксперимента, например: неспособность добраться до воды или пищи.

СГС (GHS): Согласованная на глобальном уровне система классификации опасности и маркировки химической продукции. Совместная деятельность ОЭСР (Организация экономического сотрудничества и развития), Комитета экспертов ООН по перевозке опасных грузов (физико-химические свойства) и МОТ (информирование об использовании опасных материалов), координируемая Межорганизационной программой по рациональному регулированию химических веществ (МПРРХВ).

Угроза смерти (Predictable death): предсмертное состояние или смерть до следующей запланированной даты наблюдения. У грызунов указывающими на это знаками являются конвульсии, боковое положение, лежачее положение и тремор.

Умирающий (Moribund status): находящийся в состоянии смерти или неспособности выжить даже при лечении.

DL_{50}/LD_{50} (средняя смертельная доза, перорально): одиночная статистически полученная доза вещества, которая предположительно в 50 % случаев может вызвать смерть животного. При введении перорально, DL_{50}/LD_{50} выражается в отношении единицы массы испытываемого вещества к единице массы подопытного животного мг/кг.

6. СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

СОП - стандартная операционная процедура
GLP - Good Laboratory Practice
СОК – служба обеспечения качества

7. ПРИМЕНЯЕМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ / ИНСТРУМЕНТЫ /РЕАКТИВЫ

- журналы для заполнения первичных данных;
- салфетки для протирания рабочей поверхности;
- зонд для перорального введения;
- стерильные одноразовые пластиковые шприцы разных объемов;
- перманентный маркер;
- электронные весы;
- секундомер;
- вода очищенная;
- стеллажи для содержания животных;
- клетки для содержания животных;
- плексигласовые индивидуальные камеры для мышей и крыс;
- средства индивидуальной защиты (шапка, маска, перчатки, халат).

8. ПРОЦЕДУРА ВЫПОЛНЕНИЯ

8.1. Принцип тестирования. Принцип исследования состоит в том, что, основываясь на поэтапной процедуре с использованием минимального количества животных на каждом этапе, появляется достаточное количество информации по острой токсичности исследуемого вещества для того, чтобы эту информацию классифицировать. Вещество вводится перорально каждой группе подопытных животных в одной из заданных доз. Вещество тестируется с помощью поэтапной процедуры, с использованием на каждом этапе трех животных одного пола (обычно самок). Отсутствие или наличие связанной с веществом смертности животных, дозируемых на одном этапе, будет определять следующий этап, т.е.:

- нет необходимости в дальнейшем исследовании,
- дозирование трех дополнительных животных такой же дозой,
- дозирование трех дополнительных животных следующим, по возрастающей или по нисходящей, уровнем дозы.

Методика позволит сделать вывод относительно классификации исследуемого вещества с отнесением его к одному из разрядов классов токсичности, определяемых фиксированным DL_{50}/LD_{50} пороговых значений. Не нужно вводить тестируемые вещества в дозах, про которые известно, что они могут вызывать явную боль или недомогание из-за своего разъедающего или тяжелого раздражающего действия. Агонизирующие животные или животные, явно испытывающие боль или демонстрирующие признаки тяжелого и длительного недомогания, должны быть гуманным образом умерщвлены. Их следует учитывать в интерпретации результатов тестирования, так же, как и животных, умерших во время исследования.

Метод использует заранее установленные дозы и его результаты позволяют ранжировать и классифицировать вещество согласно Согласованной на глобальном уровне системе классификации опасности и маркировки химической продукции, вызывающей острую токсичность.

В принципе, метод не предназначен для подсчета точной DL_{50}/LD_{50}, но позволяет определить заданный интервал воздействия, когда предполагается летальный исход, так как смертность относительно количества животных остается главным ожидаемым результатом такого исследования.

8.2. Выбор животных тест-систем. Предпочтительным видом грызунов являются крысы, но могут использоваться и другие виды грызунов. Как правило, используются самки. Это объясняется тем, что по стандартным исследованиям DL_{50}/LD_{50} самки демонстрируют большую восприимчивость (хотя, по литературным сведениям, существует лишь небольшое различие между полами). Тем не менее, если имеющаяся информация о токсикологических или токсикокинетических свойствах структурно родственных химических веществ указывает на то, что самцы, более восприимчивы, тогда следует использовать их. Если исследование проводится на самцах, это необходимо обосновать должным образом.

Следует использовать молодых здоровых половозрелых животных лабораторных видов. Самки не должны быть беременными или рожавшими. Каждое животное к началу его дозирования должно быть в возрасте от 8 до 12 недель и ее масса тела должна попадать в интервал +20% средней массы ранее дозируемых животных.

В исследование включаются животные только от сертифицированных поставщиков линейные или нелинейные (в зависимости от требований заказчика и

условий эксперимента), имеющие ветеринарные свидетельства, сертификат каччества, условия транспортировки и товарная накладная.

8.3. Условия содержания и кормления животных тест-систем. Температура в комнатах подопытных животных должна быть 22°C (±2°C). Относительная влажность воздуха должна быть как минимум 30% и, желательно, не превышать 70% (если только не проводится уборка помещения), оптимальная влажность - 50-60%. Свет должен быть искусственным с последовательностью: 12 часов - свет, 12 часов - темнота. Для кормления могут использоваться традиционные лабораторные диеты с неограниченным количеством питьевой воды. Животных группировать по клеткам по дозам, но количество животных в клетке не должно мешать свободному наблюдению за каждым животным.

8.4. Подготовка животных тест-систем. Животные выбираются случайным образом, маркируются индивидуальными идентификаторами и содержатся в своих клетках как минимум в течение 5 дней до начала дозирования, чтобы дать им возможность адаптироваться в лабораторных условиях.

8.5. Предварительная пищевая депривация. До введения дозы животные должны оставаться голодными (например, в случае с крысами, пища (но не вода) должна отсутствовать всю ночь, в случае с мышами пища (но не вода) должна отсутствовать 3-4 часа). За периодом голодания следует взвешивание животных и введение им тестируемого вещества. После того, как вещество было введено, пища может отсутствовать еще 3-4 часа у крыс и 1-2 часа у мышей. Когда доза вводится порциями через промежуток времени, необходимо обеспечить животных пищей и водой в зависимости от величины этого временного промежутка.

8.6. Вещества. Исследовательская лаборатория должна изучить всю имеющуюся информацию по тестируемому веществу до начала исследования. Такая информация будет включать отличительные особенности и химическую структуру вещества; его физико-химические свойства; результаты любых *in vitro* и *in vivo* исследований токсичности вещества; токсикологические данные по структурно родственным веществам; и предполагаемое использование вещества. Эта информация является необходимой, чтобы убедить все заинтересованные стороны относительно того, что исследование имеет важное значение для защиты здоровья человека, а также она поможет в выборе наиболее подходящей начальной дозы.

Сведения о структуре, физико-химических свойствах, растворимости, условиях хранения, фармакологической активности с представлением данных экспериментальных исследований, предполагаемых дозах и путях введения в клинике, а также другие значимые для проведения эксперимента сведения о свойствах субстанции фармакологического вещества или его лекарственной формы, предоставляются разработчиком. В том числе в виде предварительной нормативной документации (проект ФС, аналитический паспорт вещества и пр.) на фармакологическое вещество. Для лекарственных форм предоставляются проект ФСП, сертификат соответствия и характеристика вспомогательных веществ, использованных при ее получении (растворители, наполнители, стабилизаторы и др.).

8.7. Подготовка доз веществ. Как правило, исследуемое вещество должно вводиться в постоянном объеме в диапазоне доз, чтобы исследовать изменение

концентрации дозируемого препарата. Когда, однако, исследуется жидкость как конечный продукт или смесь, для последующей оценки опасности этого вещества более актуальным может быть использование неразбавленного исследуемого вещества, т.е. в постоянной концентрации, и это является требованием некоторых регулирующих органов. В любом случае, объем максимальной дозы для введения превышать не следует. Максимальный объем жидкости, который может быть введен за один раз, зависит от размера подопытного животного. У грызунов объем в норме не должен превышать 1мл/100г массы тела; однако, в случае с водными растворами можно рассматривать и 2мл/100г. Что касается технологии приготовления дозируемого препарата, рекомендуется, если возможно, использование водных растворов/суспензий/эмульсий; далее, по предпочтительности, следуют растворы/суспензии/эмульсии в масле (например, кукурузное) и затем возможны растворы в других средах. Для сред, отличных от воды, должны быть известны их токсикологические свойства. Дозы должны готовиться непосредственно перед введением, за исключением случаев, когда известна стабильность препарата в течение периода, когда он будет использован, и доказана его приемлемость.

8.8. Процедура проведения испытания. Количество животных. На каждом этапе используют трех животных (Приложение А, блок-схемы А1-А4). Уровень дозы, используемой как начальная доза, выбирается из одного из четырех фиксированных уровней: 5, 50, 300 и 2000 мг/кг массы тела. Уровень начальной дозы должен быть таким, чтобы с наибольшей вероятностью вызвать смерть некоторых из дозируемых животных.

Когда имеющаяся информация показывает, что на самом высоком уровне начальной дозы (2000 мг/кг массы тела) смертельный исход маловероятен, проводится испытание предельной дозы. Когда информация по тестируемому веществу отсутствует, из соображений благополучия животных рекомендуется использовать начальную дозу 300 мг/кг массы тела.

Временной интервал между экспериментальными группами определяется наступлением, продолжительностью и тяжестью признаков токсичности. Введение вещества животным в следующей дозе необходимо отложить до того момента, когда появится уверенность в выживании дозированной ранее группы.

В исключительных случаях и только тогда, когда это оправдано конкретными нормативными требованиями, можно рассматривать использование дополнительного верхнего уровня дозы в 5000 мг/кг массы тела. В виду интересов благополучия животных их тестирование в диапазонах класса 5 (2000-5000мг/кг) СГС не рекомендуется и должно рассматриваться только тогда, когда имеется большая вероятность, что результаты такого исследования имеют прямое отношение к защите здоровья человека или животных, или окружающей среды.

8.9. Выбор начальной дозы. Начальная доза для проведения исследования подбирается из установленных уровней доз (5, 50, 300 и 2000 мг/кг) как доза, которая может оказаться токсичной на основе исследований данного препарата или структурно родственных веществ в опытах *in vivo* или *in vitro*. При отсутствии такой информации начальная доза составляет 300 мг/кг. Между введением каждой дозы должно проходить,

как минимум, 24 ч. Все животные должны наблюдаться в течение, как минимум, 14 дней.

В исключительных случаях, и только когда это оправдано определенными условиями, может быть рассмотрено исследование дополнительного установленного уровня дозы в 5000 мг/кг. Из соображений гуманного отношения к животным, исследования, относящиеся к Классу 5 СГС (от 2000 до 5000 мг/кг) нецелесообразны и могут проводиться, только если результаты подобных исследований имеют значение для здоровья животных или человека.

Для каждой начальной дозы должна выполняться процедура, которая указана в блок-схемах А1-А4 Приложения А.

- А 1: начальная доза составляет 5 мг/кг массы тела:
- А 2: начальная доза составляет 50 мг/кг массы тела:
- А 3: начальная доза составляет 300 мг/кг массы тела:
- А 4: начальная доза составляет: 2000 мг/кг массы тела.

В зависимости от количества гуманно умерщвленных или умерших животных испытания следует проводить по указанной схеме.

8.10. Введение доз веществ. Исследуемое вещество вводится одной дозой через зонд с помощью желудочного зонда или подходящей полой трубки для зондирования. В чрезвычайных обстоятельствах, когда введение одной дозой невозможно, доза может вводиться небольшими порциями в течение периода, не превышающего 24 часа.

8.11. Испытание предельной дозы. Испытание предельной дозы используется, прежде всего, в случаях, когда исследователь располагает информацией о том, что исследуемое вещество, вероятно, нетоксично, т.е., имеет токсичность только выше нормативного предела доз. Информация о токсичности исследуемого вещества может быть получена из сведений о схожих тестируемых соединениях или схожих тестируемых смесях, или продуктах, с учетом отличий и процента компонентов с известным токсикологическим значением. В тех случаях, когда информации о токсичности вещества мало или нет совсем, или, когда предполагается, что исследуемое вещество токсично, должно быть проведено основное исследование.

Испытание предельной дозы в 2000 мг/кг массы тела может проводиться на 6 животных (3 животных на каждый этап). В особых случаях, испытание предельной дозы в 2000мг/кг массы тела может проводиться на 3 животных (блок-схема А 4). Если имела место смертность, связанная с тестируемым веществом, может быть необходимо проведение дальнейшего исследования со следующим, более низким уровнем.

8.12. Наблюдение за животными. Животных обследуют индивидуально после введения дозы, как минимум, в первые 30 минут, периодически в течение первых 24 часов (с особым вниманием в течение первых 4 часов) и ежедневно в дальнейшем все 14 дней, за исключением случаев, когда они должны быть удалены из исследования и гуманным образом умерщвлены из соображений благополучия животных или, когда были найдены мертвыми. Однако длительность обследования не должна быть жестко фиксирована. Она определяется реакциями на токсичность, временем начала и длительностью восстановительного периода и может, таким образом, быть продлена, если это считается необходимым. Время, когда появляются и исчезают признаки

токсичности, очень важно, особенно, если имеется тенденция отсроченного проявления признаков токсичности. Все наблюдения систематично регистрируются, создаются индивидуальные отчеты по каждому животному.

Понадобятся дополнительные обследования, если животные продолжают демонстрировать признаки токсичности. Обследование должно включать изменения кожи и шерсти, глаз и слизистых оболочек, дыхательной, кровеносной, вегетативной и центральной нервной систем, а также соматомоторную активность и характер поведения. Внимание должно быть направлено на наблюдения тремора, конвульсий, слюноотделения, диареи, вялости, сна и комы. Животные, обнаруженные в предсмертном состоянии, и животные, демонстрирующие сильные боли или длительные признаки тяжелых мучений, должны быть гуманным образом умерщвлены. Когда животные умерщвляются по гуманным соображениям или их находят умершими, время смерти следует записывать как можно точнее.

8.13. Масса тела. Индивидуальная масса тела животных должна быть определена непосредственно перед введением исследуемого вещества и, как минимум, еженедельно в дальнейшем. Изменения массы тела должны подсчитываться и записываться. В конце исследования выживших животных взвешивают и гуманным способом умерщвляют.

8.14. Патология. Все животные в исследовании (включая тех, что умерли во время тестирования и были удалены из исследования по соображениям благополучия животных) должны быть подвергнуты общей аутопсии. Все видимые патологические изменения должны быть записаны для каждого животного. Микроскопические исследования органов, демонстрирующих признаки общей патологии у животных, проживших 24 или более часов, также могут рассматриваться, поскольку они могут дать полезную информацию.

8.15. Данные исследования. Должны быть обеспечены данные по отдельным животным. Все данные дополнительно суммируются в табличной форме, отображая для каждой тестируемой группы количество подопытных животных; количество животных, демонстрирующих признаки токсичности; количество животных, обнаруженных мертвыми во время исследования или умерщвленных из гуманных соображений; время смерти каждого животного; описание и период действия проявлений токсичности, их обратимость и данные аутопсии.

8.16. Отчет по результатам исследования.

Отчет об испытании должен содержать следующую информацию:

Исследуемое вещество:

- физическая природа, чистота, и при необходимости, физико-химические свойства (в том
числе изомеризация);
- идентифицирующие данные, в том числе CAS - номер;

Растворитель (если используется):

- обоснование выбора растворителя в случае, если это не вода;

Подопытные животные:

- вид/род используемых животных;
- микробиологический статус животных, если таковой известен;
- число, возраст и пол животных (в том числе, при необходимости, обоснование применения самцов вместо самок);
- происхождение, условия содержания, питание и так далее;

Данные об условиях проведения исследования:

- подробное описание приготовления состава тестируемого вещества, включая подробную информацию о физической форме вводимого вещества;
- подробное описание введения вещества, в том числе объемы дозирования и время дозирования;
- качество пищи и воды (в том числе тип диеты / источник диеты, источник воды);
- обоснование выбора начальной дозы.

Результаты:

- сведение в таблицу данных об ответной реакции и уровне дозы для каждого животного (т.е., животные, демонстрирующие признаки токсичности, включая смертность; характер, тяжесть и продолжительность воздействий);
- таблица массы тела животного и ее изменения;
- индивидуальная масса тела животных в день дозирования, с еженедельной периодичностью, а также в момент смерти или умерщвления;
- дата и время смерти, если она произошла до запланированного умерщвления;
- время появления признаков токсичности, а также были ли они обратимы по каждому животному;
- данные аутопсии и гистопатологические данные для каждого животного, если таковые имеются.

Обсуждение и интерпретация результатов.

Заключение.

8.17. Критерии для классификации исследуемых веществ с ожидаемыми величинами DL50/LD50, превышающими 2000 мг/кг, без необходимости проведения испытания.

Критерий опасности класса 5 предназначен для идентификации исследуемых веществ, которые имеют относительно низкую опасность острой токсичности, но которые, при определенных обстоятельствах, могут представлять опасность для уязвимых групп населения. Эти вещества, как ожидается, имеют пероральную или дермальную DL_{50} / LD_{50} в диапазоне 2000-5000 мг / кг или эквивалентные дозы при других способах введения. Исследуемое вещество должно быть отнесено к классу опасности, определяемой по формуле: 2000мг/кг <DL_{50} / LD_{50} <5000мг/кг (класс 5 в СГС) в следующих случаях:

а) любая из схем тестирования приложения A1-A4, основанная на случаях смертности, относится к этому классу;

б) если уже есть достоверные доказательства того, что DL50/LD50 находится в диапазоне класса 5, или другие исследования на животных или данных токсического воздействия на человеке, вызывают опасение за здоровье человека из-за остронаправленного действия вещества.

в) если путем экстраполяций, оценкой и измерениями данных, принадлежность к более опасному классу не подтверждается, и

-достоверная информация свидетельствует о существенных токсических реакциях у людей, или

- при испытаниях до уровней 4 класса (при введении пероральным путём) наблюдается смертность, или

- если мнение экспертов подтверждает явные клинические признаки токсичности, при испытаниях до

уровней 4 категории, за исключением диареи, пилоэрекции, неопрятного внешнего вида, или

- если мнение экспертов подтверждает достоверную информацию о возможности значительного острого воздействия из других исследований на животных.

8.17.1. Тестирование при дозах выше 2000 мг/кг. Признавая необходимость защиты животных, тестирование животных в диапазоне класса 5 (5000 мг/кг) удручает, и его следует рассматривать только тогда, когда есть большая вероятность того, что результаты таких испытаний имеют прямое отношение к охране здоровья человека или животных. Никакие дальнейшие исследования при более высоких дозах проводиться не должны.

Когда исследование требует дозировки 5000мг/кг, нужен только один этап (т.е. три животных). Если первое животное, получившее дозу, умирает, то дозирование сокращается до 2000мг/кг в соответствии с блок-схемой А 4. Если первое животное выживет, дозируются два следующих животных. Если только одно из трех животных умирает, то значение DL_{50} / LD_{50}, предположительно, превысит 5000мг/кг. Если оба животных погибают, то дозирование сокращается до 2000мг/кг.

8.18. Минимизация страданий и критерии эвтаназии животных. Не следует вводить тестируемые фармакологические вещества в дозах, про которые известно, что они могут быть причиной возникновения выраженных болевых ощущений, страданий и недомоганий, оказывают разъедающее или сильно раздражающее действие. Агонизирующие животные или животные, испытывающие непереносимую боль, демонстрирующие признаки тяжелого и длительного недомогания, или находящиеся в безнадежном физическом состоянии, отвечающем признакам прогнозируемой смерти, должны быть умерщвлены гуманным способом. Животных, подвергшихся эвтаназии гуманным способом, следует учитывать в интерпретации результатов тестирования, так же, как и животных, умерших во время исследования.

9. СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Березовская И.В., Митрохин Н.М // Экспресс-методы определения острой токсичности // Бюллетень ВНЦ БАВ. - М., 1990. - С. 45–67.
2. Березовская И.В., Иванова В.М. Актуальные проблемы безопасности дженериков //Бюллетень ВНЦ БАВ. - Старая Купавна, 2002. - С. 37–52.
3. Березовская И.В. Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парентеральных способах введения // Хим.-фарм. журн. - 2003. - Т. 37. - № 3. - С. 32–34.

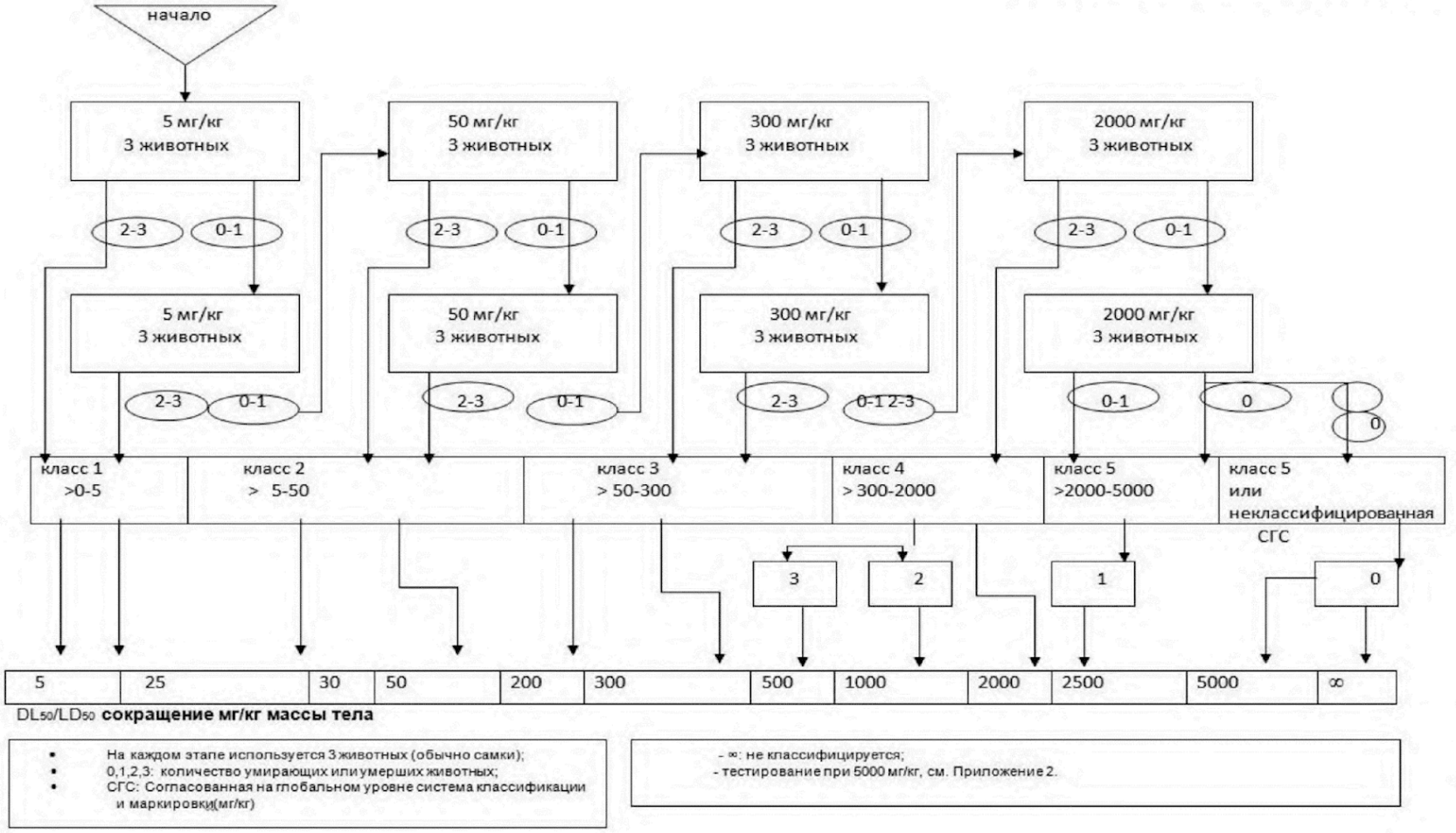
4. Голиков С.Н., Саноцкий И.В., Тиунов Л.А. Общие механизмы токсикологического действия. - Л.: Медицина, 1986. - С. 279.
5. Гуськова Т.А. Токсикология лекарственных средств. - Москва, 2008. - 196 с.
6. Куценко С.А. // Основы токсикологии. - СПб.: Фолиант, 2004. - 720 с.
7. Липперт Г. Международная система единиц в медицине. - М.: Медицина, 1980. - С. 208.
8. Методы определения токсичности и опасности химических веществ (токсикометрия) / Под ред. проф. И.В. Саноцкого. - М.: Медицина, 1970. - С. 343.
9. Общая токсикология / Под ред. Б.А. Курляндского и В.А. Филова. - М.: Медицина, 2002. - С. 606.
10. Проблема нормы в токсикологии / Под ред. проф. И.М. Трахтенберга. - М.: Медицина, 1991. - С. 204.
11. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Под ред. Миронова А.Н. Часть первая. - М.: Гриф и К, 2012. - 944 с.
12. Согласованная на глобальном уровне система классификации опасности и маркировки химической продукции (СГС) ST/SG/AC.10/30/Rev.4 / Четвертое пересмотренное издание. – Организация Объединенных наций, Нью-Йорк и Женева, 2011. - 684 с.
13. OECD Test № 423 «Acute Oral Toxicity - Acute Toxic Class Method».
14. Roll R., Hofer-Bosse Th. And Kayser D. (1986). New Perspectives in Acute Toxicity Testing of Chemicals. Toxicol. Lett., Suppl. 31, 86.
15. Roll R., Riebschlager M., Mischke U. and Kayser D. (1989). Neue Wege zur Bestimmung der akuten Toxizitatvon Chemikalien. Bundesgesundheitsblatt 32, 336-341.
16. Diener W., Sichha L., Mischke U., Kayser D. and Schlede E. (1994). The Biometric Evaluation of the Acute-Toxic-Class Method (Oral). Arch. Toxicol. 68, 559-610.
17. Diener W., Mischke U., Kayser D. and Schlede E. (1995). The Biometric Evaluation of the OECD Modified Version of the Acute-Toxic-Class Method (Oral). Arch. Toxicol. 69, 729-734.
18. Diener W., and Schlede E. (1999) Acute Toxicity Class Methods: Alternatives to LD/LC50 Tests. ALTEX 16, 129-134.
19. Schlede E., Mischke U., Roll R. and Kayser D. (1992). A National Validation Study of the Acute-Toxic-Class Method - An Alternative to the LD50 Test. Arch. Toxicol. 66, 455-470.
20. Schlede E., Mischke U., Diener W. and Kayser D. (1994). The International Validation Study of the Acute-Toxic-Class Method (Oral). Arch. Toxicol. 69, 659-670.
21. OECD (2000) Guidance Document on Acute Oral Toxicity. Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment № 24.
22. OECD (2000) Guidance Document on the Recognition, Assessment and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment № 19.
23. OECD (1998) Harmonized Integrated Hazard Classification System For Human Health And Environmental Effects Of Chemical Substances as endorsed by the 28th Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals in November 1998, Part 2, p. 11.

24. Lipnick R L, Cotruvo, J A, Hill R N, Bruce R D, Stitzel K A, Walker A P, Chu I; Goddard M, Segal L, Springer J A and Myers R C (1995) Comparison of the Up-and Down, Conventional LD50, and Fixed Dose Acute Toxicity Procedures. Fd. Chem. Toxicol 33, 223-231.
25. Chan P.K. and A.W. Hayes. (1994). Chap. 16. Acute Toxicity and Eye Irritancy. Principles and Methods of Toxicology. Third Edition. A.W. Hayes, Editor. Raven Press, Ltd., New York, USA.

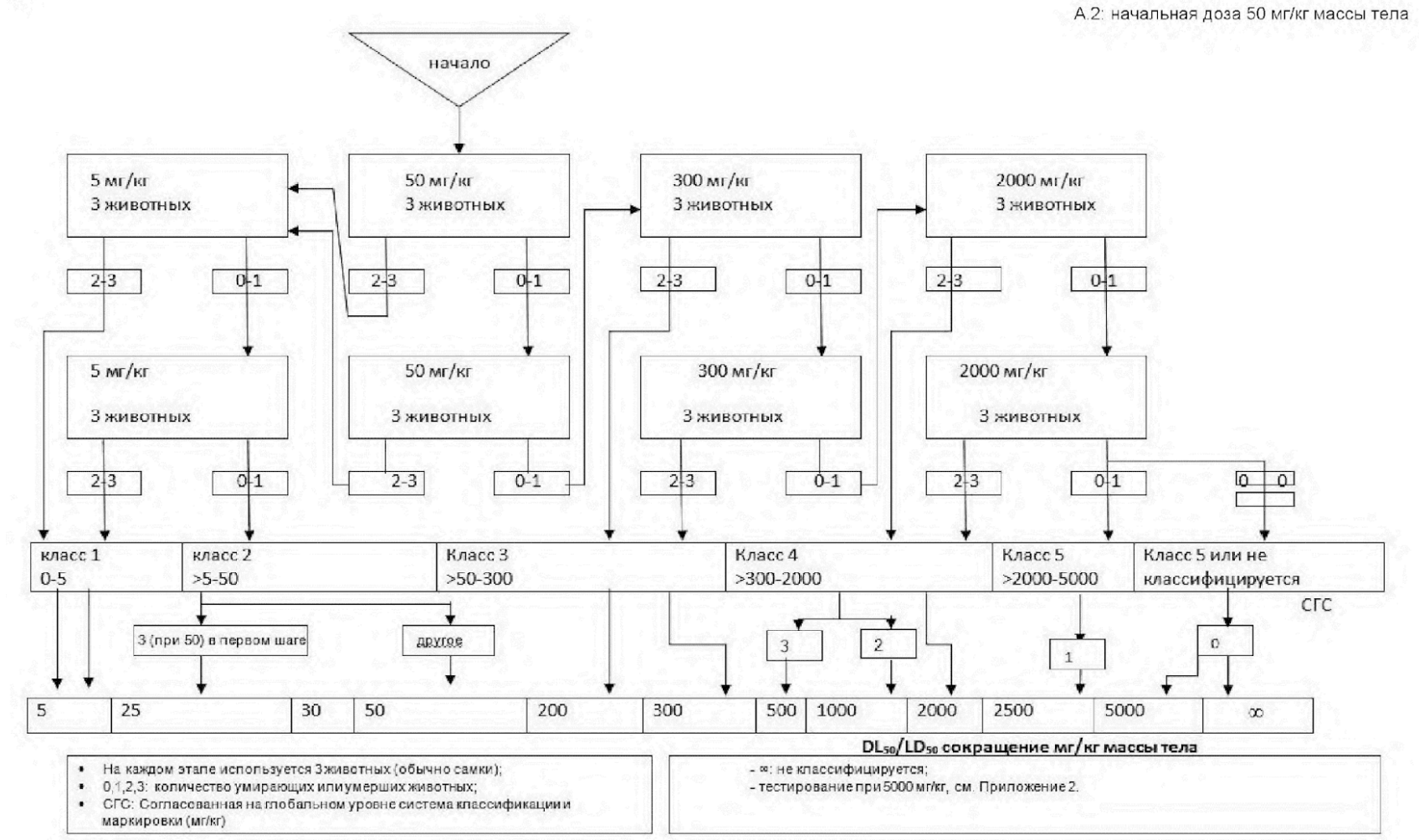
10. ПРИЛОЖЕНИЯ

ПРИЛОЖЕНИЕ А

A.1: начальная доза составляет 5 мг/кг массы тела

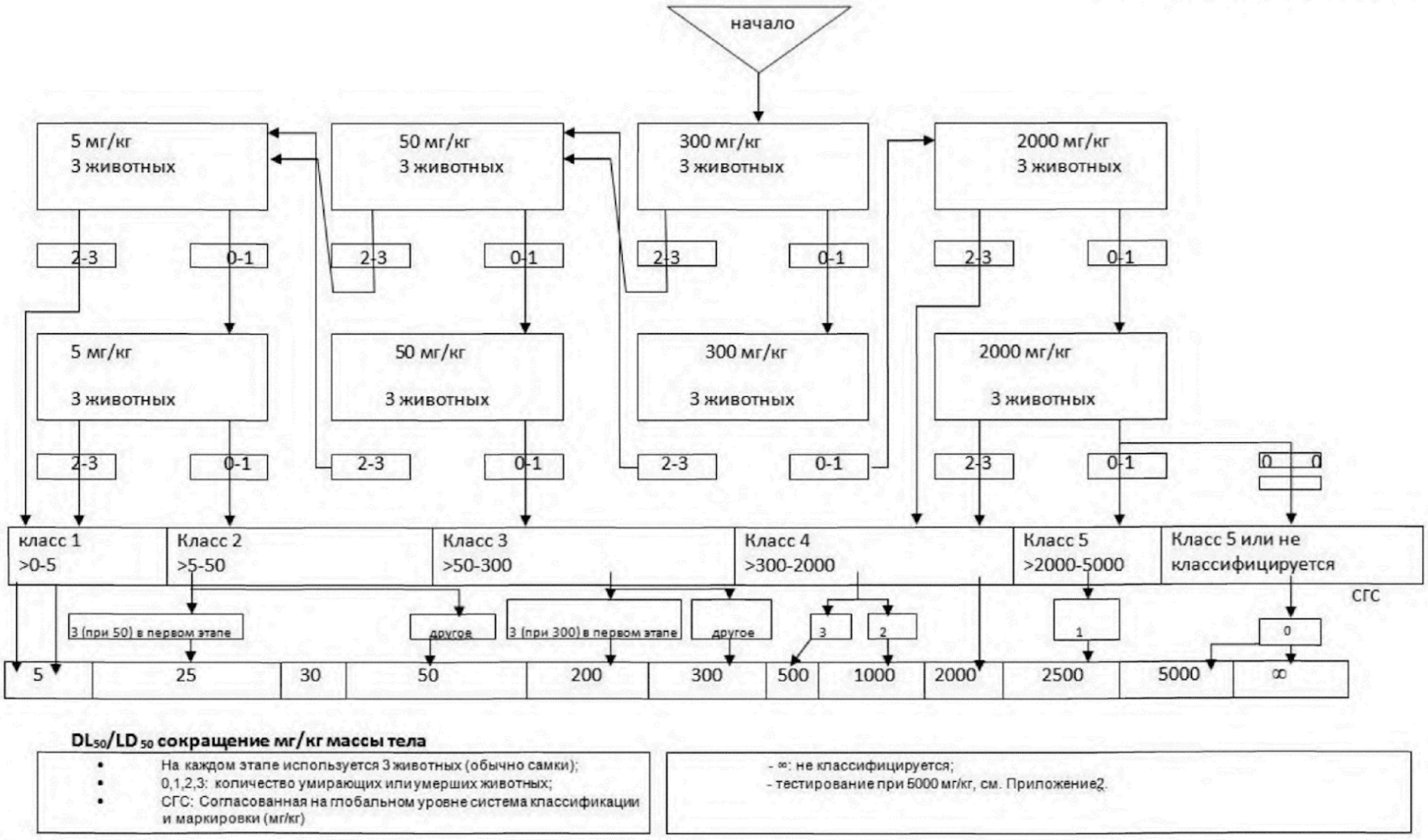


Блок-схема А 1. Схема введения фармакологического вещества, начальная доза 5 мг/кг (ГОСТ 32644-2014).



Блок-схема А 2. Схема введения фармакологического вещества, начальная доза 50 мг/кг (ГОСТ 32644-2014).

A.3: начальная доза 300 мг/кг массы тела

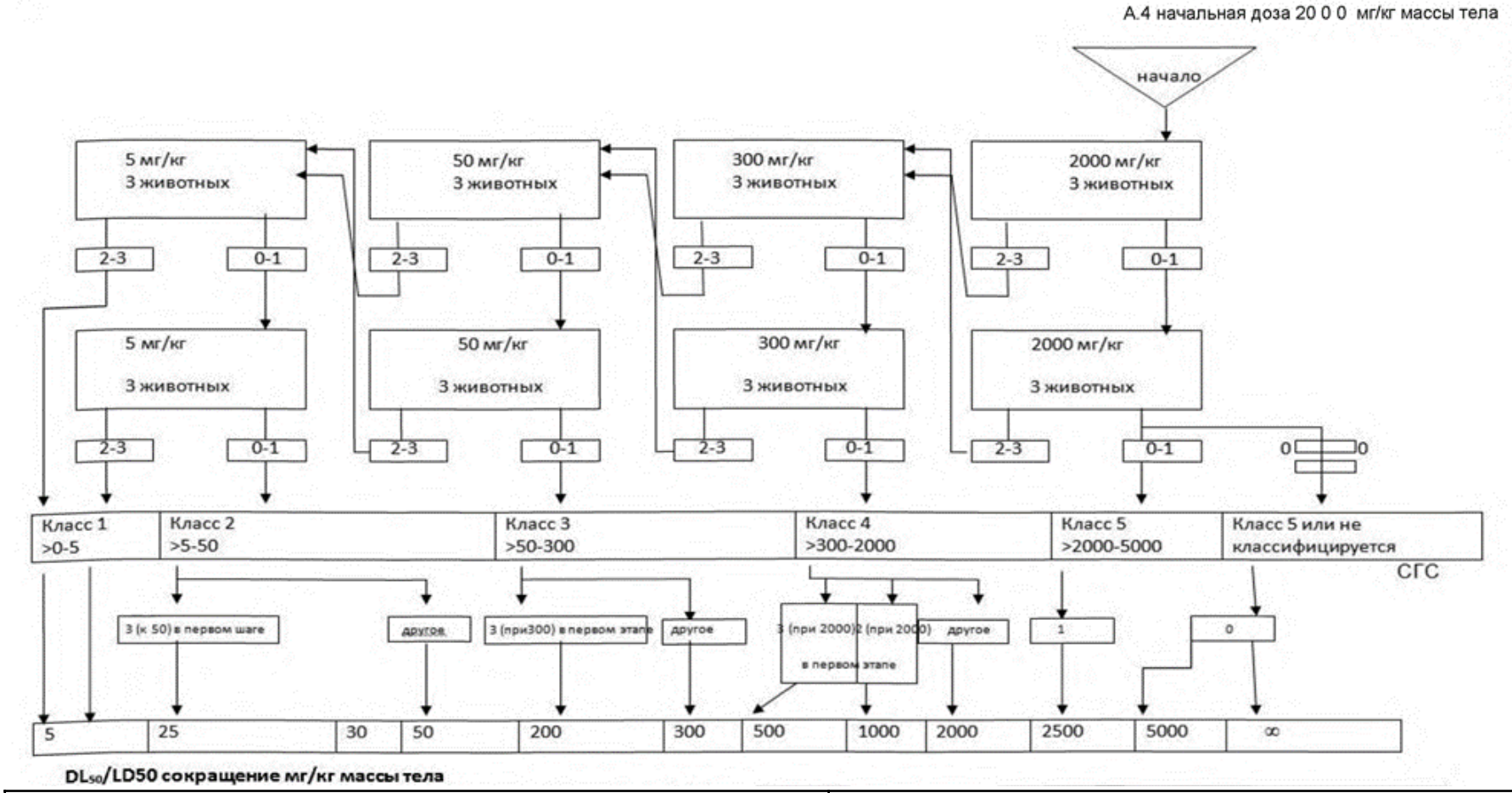


DL_{50}/LD_{50} сокращение мг/кг массы тела

- На каждом этапе используется 3 животных (обычно самки);
- 0,1,2,3: количество умирающих или умерших животных;
- СГС: Согласованная на глобальном уровне система классификации и маркировки (мг/кг)

- ∞: не классифицируется;
- тестирование при 5000 мг/кг, см. Приложение2.

Блок-схема А 3. Схема введения фармакологического вещества, начальная доза 300 мг/кг (ГОСТ 32644-2014).



На каждом этапе используется 3 животных (обычно самки);	∞ - не классифицируется;

0, 1, 2, или 3 – количество умирающих или умерших животных; СГС - Согласованная на глобальном уровне система классификации и маркировки (мг/кг);	- Тестирование при 5000 мг/кг см. пункт 6.10.2

Блок-схема А 4. Схема испытания предельной дозы 2000 мг/кг (ГОСТ 32644-2014).

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Лаборатория токсикологии
НЦИЛС ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России

СОГЛАСОВАНО
Руководитель СОК
_____
В.Н.Перфилова
«___» _____20___г.

УТВЕРЖДЕНО
Руководитель ИЦ
_____
Л.И. Бугаева
«___» _____20___г.
М.П.

Журнал регистрации выживших и погибших тест-систем при изучении острой токсичности фармакологических веществ

Место хранения: 400087, г. г. Волгоград, ул. Новороссийская, д. 39,
Комната хранения:

Начат	
Окончен	

Список сотрудников, допущенных к заполнению журнала по регистрации выживших и погибших тест-систем при изучении острой токсичности фармакологических веществ

№ п/п	Ф.И.О.	Должность	Подпись
1.			
2.			
3.			
4.			
5.			
6.			
7.			
8.			
9.			
10.			

Карта регистрации гибели и эвтаназии тест-систем

Код исследования _____

Группа _____ Вещество_____ Доза _____
Дата проведения эвтаназии _____
Способ эвтаназии _____
Вид ТС_____ Пол ТС _____
Исполнители: _____

№ животного	Гибель	Эвтаназия	Время летального исхода	Сутки эксперимента

Кол-во животных в группе на начало исследования	
Кол-во животных в группе по окончании исследования	
Кол-во умерших животных	
Кол-во животных, подвергшихся эвтаназии	

Подписи исполнителей:
_____ / **Ф. И. О.**_____/
подпись расшифровка подписи
Руководитель исследования:
_____ / **Ф. И. О.**_____/

ПРИЛОЖЕНИЕ В

Лаборатория токсикологии

НЦИЛС ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России

СОГЛАСОВАНО
Руководитель СОК
_____
В.Н.Перфилова

«___» _____20___г.

УТВЕРЖДЕНО
Руководитель ИЦ
_____
Л.И. Бугаева

«___» _____20___г.

М.П.

Журнал регистрации признаков отравления тест – систем при изучении острой токсичности фармакологических веществ

Место хранения: 400087, г. г. Волгоград, ул. Новороссийская, д. 39,
Комната хранения:

Начат	

Окончен	

Список сотрудников, допущенных к заполнению журнала регистрации признаков отравления тест –систем при изучении острой токсичности фармакологических веществ

№ п/п	Ф.И.О.	Должность	Подпись
1.			
2.			
3.			
4.			
5.			
6.			
7.			
8.			
9.			
10.			

Карта регистрации признаков отравления тест-систем

Код исследования _____

Дата: _____ Вид ТС: _____ Пол: _____ №ТС_____ Масса_____ Вещество: _____Доза: _____

Путь введения: _____ t введения_____ Группа_____ Исполнители: _____

Показатели	Время от момента введения вещества													
общее состояние														
шерстный и кожный покров														
видимые слизистые														
поведение (особенности)														
двигательная активность														
координация движений														
тонус скелетной мускулатуры														
реакция на раздражители (тактильные, болевые, звуковые)														
характер дыхания														
частота дыхания														

тремор														
судороги														
птоз														
корнеальные рефлексы														
рефлекс переворачивания														
особенности дефекаций														
особенности уринаций														

Показатели оцениваются в баллах от 0 до 8: 4 балла – норма; 0-3 балла – снижение; 5-8 баллов – повышение показателя.

Подписи исполнителей:

_____ _____ / **Ф. И. О.**_____/

подпись расшифровка подписи

Руководитель исследования:

_____ / **Ф. И. О.**_____/

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

Лаборатория токсикологии

НЦИЛС ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России

СОГЛАСОВАНО
Руководитель СОК
_____
В.Н.Перфилова

«___» _____20___г.

УТВЕРЖДЕНО
Руководитель ИЦ
_____
Л.И. Бугаева

«___» _____20___г.

М.П.

Журнал регистрации массы тела тест-систем при изучении острой токсичности фармакологических веществ

Место хранения: 400087, г. г. Волгоград, ул. Новороссийская, д. 39,
Комната хранения:

Начат	
Окончен	

Список сотрудников, допущенных к заполнению журнала регистрации массы тела тест-систем при изучении острой токсичности фармакологических веществ

№ п/п	Ф.И.О.	Должность	Подпись
1.			
2.			
3.			
4.			
5.			
6.			
7.			
8.			
9.			
10.			

Карта регистрации динамики массы тела тест-систем

Код исследования _____

Время проведения эксперимента_____
Группа _____ Вещество_____ Доза _____
Вид ТС_____ Пол ТС _____
Исполнители: _____

№ животного	Масса тела, г			
	Исходные данные	1сутки	7 дней	14 дней

Подписи исполнителей:
_____ / **Ф. И. О.**_____/
подпись расшифровка подписи
Руководитель исследования:
_____ / **Ф. И. О.**_____/

ПРИЛОЖЕНИЕ Д

Лаборатория токсикологии

НЦИЛС ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России

СОГЛАСОВАНО
Руководитель СОК
_____
В.Н.Перфилова
«___» _____20___г.

УТВЕРЖДЕНО
Руководитель ИЦ
_____
Л.И. Бугаева
«___» _____20___г.
М.П.

Журнал формирования групп при изучении острой токсичности фармакологических веществ

Место хранения: 400087, г. г. Волгоград, ул. Новороссийская, д. 39,
Комната хранения:

Начат	

Окончен	

Список сотрудников, допущенных к заполнению журнала формирования групп при изучении острой токсичности фармакологических веществ

№ п/п	Ф.И.О.	Должность	Подпись
1.			
2.			
3.			
4.			
5.			
6.			
7.			
8.			
9.			
10.			

Карта регистрации формирования групп тест-систем при изучении острой токсичности
Код исследования _____

Дата_____ Время проведения эксперимента_____
Группа _____ Вещество_____ Доза _____
Вид ТС_____ Пол ТС _____
Исполнители: _____

№ п/п	Масса тела	Присвоенный номер

Подписи исполнителей:
_____ / **Ф. И. О.**_____/
подпись расшифровка подписи
Руководитель исследования:
_____ / **Ф. И. О.**_____/

Лист регистрации изменений от 15.03.2024 в СОП № I/1П-006-2024/5 версия 5

№ изм.	№ страницы	№ пункта	Внесенные изменения
1	1	1	*Добавлено:*…по изучению… В код СОП добавлен номер версии
2	1-2	2	*из п 2 перенесено в п* 3. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Под ред. Миронова А.Н. Часть первая. — М.: Гриф и К, 2012. — 944 с.
3	3	4	*Удалено:* … проглатывании… *Добавлено:*... его внутрижелудочном введении…
4	4	7	*Добавлено:* **…/РЕАКТИВЫ** - журналы, перманентный маркер; секундомер; вода очищенная.
5	4-10	8	*Удалено:* хотя … обзоры литературы … демонстрируют, что, хотя существует лишь небольшое различие в восприимчивости между полами, в тех случаях, когда такое различие наблюдается, самки, как правило, несколько более восприимчивы. Тем не менее, если информация о токсикологических или токсикокинетических свойствах структурно родственных веществ показывает, что самцы, возможно, должны быть более восприимчивы, тогда следует использовать их. …(±3°C). Хотя…
6	10-12	9	*Добавлено:* 11. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Под ред. Миронова А.Н. Часть первая. — М.: Гриф и К, 2012. — 944 с.
7	17-28	10	*Добавлено:* **Карта регистрации гибели и эвтаназии тест-систем** В Журнале регистрации признаков отравления тест-систем при изучении острой токсичности фармакологических веществ *удалено:* **Регистрационная карта к протоколу исследования № _** *Добавлено:* **Карта регистрации признаков отравления тест-систем** В Журнале регистрации массы тела тест-систем при изучении острой токсичности фармакологических веществ *удалено:* **Регистрационная карта к протоколу исследования № _____** *Добавлено:* **Карта регистрации динамики массы тела тест-систем** В Журнале формирования групп при изучении острой токсичности фармакологических веществ *удалено:*

			Регистрационная карта к протоколу исследования № _____ *Добавлено:* **Карта регистрации формирования групп тест-систем при изучении острой токсичности**

Руководитель лаборатории:

«____»_____ _____ г. _____ /_____/

дата подпись расшифровка