

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

УДК 547.96; 577.11

№ госрегистрации 115011660024

Инв. №

УТВЕРЖДАЮ

Директор ИФАВ РАН,

член-корреспондент РАН,

 С.О.Бачурин

«25» июня 2015 г.



**«МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ
ВВЕДЕНИИ, ПРОЦЕДУРА ФИКСИРОВАННОЙ ДОЗЫ (FIXED DOSE PROCEDURE,
FDP)»**

СТП-14.621.21.0008.08-2015

Ответственный исполнитель
Заведующий лабораторией,
к.б.н.

 С.Г. Ключков

«25» июня 2015 г.

Черноголовка, Московская обл. 2015

СОДЕРЖАНИЕ

1.	Наименование методики измерений	4
2.	Назначение методики измерений и область применения	4
3.	Нормативные ссылки	4
4.	Погрешность измерений	6
5.	Условия измерений	6
6.	Требования к средствам измерений, вспомогательным устройствам, материалам, реактивам, применяемым при оценке подострой токсичности лекарственных средств, фармакологических субстанций, химических веществ в условиях 28-дневного введения через рот на грызунах	7
6.1.	Реактивы	7
6.2.	Материалы	7
6.3.	Оборудование	7
6.4.	Требования к рабочему месту и экспериментальной камере (клетке для содержания)	7
7.	Операции при подготовке к выполнению измерений - порядок выполнения оценки подострой токсичности лекарственных средств, фармакологических субстанций, химических веществ в условиях 28-дневного введения через рот на грызунах	8
7.1.	Операции по подготовке реактивов и материалов к использованию в процедуре оценки подострой токсичности лекарственных средств,	8

	фармакологических субстанций, химических веществ в условиях 28-дневного введения через рот на грызунах	
7.2.	Дизайн эксперимента по оценке подострой токсичности лекарственных средств, фармакологических субстанций, химических веществ в условиях 28-дневного введения через рот на грызунах	9
8.	Порядок выполнения измерений - оценки подострой токсичности лекарственных средств, фармакологических субстанций, химических веществ в условиях 28-дневного введения через рот на грызунах	11
8.1.	Операции по порядку проведения оценки подострой токсичности лекарственных средств, фармакологических субстанций, химических веществ в условиях 28-дневного введения через рот на грызунах.	11
9.	Обработка и оформление результатов измерений	17
10.	Требования безопасности, охраны окружающей среды	18
11.	Требования к квалификации операторов	18

1. Наименование методики измерений

Настоящий документ устанавливает методику оценки острой токсичности при пероральном введении, процедура фиксированной дозы (Fixed Dose Procedure, FDP).

2. Назначение методики измерений и область применения

Настоящая методика описывает процедуру оценки острой токсичности при пероральном введении методом фиксированной дозы (Fixed Dose Procedure, FDP).

Метод представляет собой базовое исследование острой токсичности при однократном введении.

Основной областью применения данной методики является исследование в сфере экспериментальной фармакологии (оценка безопасности лекарственных средств).

3. Нормативные ссылки

В настоящей методике использованы нормативные ссылки на следующие стандарты и документы:

- Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств (Миронов А.Н., Бунатян Н.Д. и др) 2012.- 994 с.;
- ГОСТ 15.101-98 «Система разработки и постановки продукции на производство. Основные положения. Порядок выполнения научно-исследовательских работ»;
- ГОСТ 7.32-2001 «Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Отчет о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления»;

- Федеральный закон от 12.04.2010г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств»;
- Приказ Минздравсоцразвития России от 23 августа 2010 г. № 708н. «Об утверждении правил лабораторной практики»;
- Приказ Минздравсоцразвития России №750н от 26 августа 2010 г. «Об утверждении правил проведения экспертизы лекарственных средств для медицинского применения и формы заключения комиссии экспертов»;
- ГОСТ Р 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики».
- Продукция медицинской промышленности. Технологические регламенты производства. Содержание, порядок разработки, согласования и утверждения. ОСТ 64-02-003-2002" (утв. распоряжением Минпромнауки России от 15.04.2003 N P-10);
- Государственная фармакопея Российской Федерации выпуски XI и XII.
- British Toxicology Society Working Party on Toxicity (1984). Special report: a new approach to the classification of substances and preparations on the basis of their acute toxicity. Human Toxicol., 3, 85-92.
- Van den Heuvel, M.J., Dayan, A.D. and Shillaker, R.O. (1987). Evaluation of the BTS approach to the testing of substances and preparations for their acute toxicity. Human Toxicol., 6, 279-291.
- Van den Heuvel, M.J., Clark, D.G., Fielder, R.J., Koundakjian, P.P., Oliver, G.J.A., Pelling, D., Tomlinson, N.J. and Walker, A.P. (1990). The international validation of a fixed-dose procedure as an alternative to the classical LD50 test. Fd. Chem. Toxicol. 28, 469-482.
- Whitehead, A. and Curnow, R.N. (1992). Statistical evaluation of the fixed-dose procedure. Fd. Chem. Toxicol., 30, 313-324.
- Stallard, N. and Whitehead, A. (1995). Reducing numbers in the fixed-dose procedure. Human Exptl. Toxicol. 14, 315-323.

- Stallard, N., Whitehead, A. and Ridgeway, P. (2000). Statistical evaluation of modifications to the fixed dose procedure (manuscript in preparation).
- OECD (2000). Guidance Document on Acute Oral Toxicity. Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment No.24.
- 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 No 19.
- OECD (1998). Harmonised Integrated Hazard Classification 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 [<http://webnet1.oecd.org/oecd/pages/home/displaygeneral/0,3380,EN-documents-521-14-no-24-no-0,FF.html>].
- 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.
- Chan P.K and A.W. Hayes (1994) Chapter 16 Acute Toxicity and Eye Irritation In: *Principles and Methods of Toxicology*. 3rd Edition. A.W. Hayes , Editor. Raven Press, Ltd. New York, USA.

4. Погрешность измерений

Методика обеспечивает выполнение измерений с суммарной относительной погрешностью $\pm 15,2\%$ при доверительной вероятности 0,95.

5. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

- отсутствие посторонних шумов;
- температура окружающего воздуха (18-26)°С;
- атмосферное давление 84,0 - 106,7 кПа (630 - 800 мм рт. ст.);
- относительная влажность воздуха 30-70 %;
- воздухообмен: 10 – 15 объёмов помещений в час в СПФ зоне 20 объёмов в час;
- освещение должно быть искусственным с чередованием 12 часов света и 12 часов темноты
- напряжение в сети питания переменного тока (220 ± 22) В;
- частота переменного тока 50±1 Гц

Механические воздействия, внешние электрические и магнитные поля, влияющие на работоспособность, должны быть исключены.

6. Требования к средствам измерений, вспомогательным устройствам, материалам, реактивам, применяемым при оценке острой токсичности при пероральном введении, процедура фиксированной дозы (Fixed Dose Procedure, FDP)

6.1. Реактивы

- дезинфицирующий раствор (Глютекс 0,5 %, этанол 70%).

6.2. Материалы

- салфетка для протирания рабочей поверхности;
- бланки для заполнения первичных данных;
- перчатки хирургические резиновые по ГОСТ 3-88.

6.3. Оборудование

- шприц и зонд для перорального введения.

6.4. Требования к рабочему месту и экспериментальной камере (клетке для содержания)

Размещение животных в клетках должно обеспечивать животному:

- удовлетворение нормальных физиологических и поведенческих потребностей: (мочеиспускание, дефекацию, поддержание температуры тела, нормального характера движения и поз, размножение (по показаниям));
- видовые социальные взаимоотношения;
- адекватную вентиляцию;
- доступ к пище и воде;

- безопасность животного;
- возможность свободного наблюдения за животным

Животные	Масса, г	Площадь пола на одно животное, см ²	Высота клетки, см
Мыши	<10	38	12,7
	10-15	52	
	15-25	77	
	>25	>97	
Крысы	<100	110	17,8
	100-200	148	
	200-300	187	
	300-400	258	
	400-500	387	
	>500	>452	

7. Операции при подготовке к выполнению измерений - порядок выполнения оценки острой токсичности при пероральном введении методом фиксированной дозы (Fixed Dose Procedure, FDP)

7.1. Операции по подготовке реактивов и материалов к использованию в процедуре оценки острой токсичности при пероральном введении методом фиксированной дозы (Fixed Dose Procedure, FDP).

Выбор животных.

Должны задействоваться молодые, здоровые, взрослые животные широко распространенных линий. Самки должны быть нерожавшими и небеременными. На начало эксперимента отклонения в весе животных должны быть минимальны и не должны превышать +/-20% от среднего веса животных каждого пола.

Здоровые молодые животные случайным образом распределяются по контрольным и опытным группам. Клетки должны быть расставлены таким образом, чтобы минимизировать возможные эффекты, связанные с местоположением клетки. Все животные помечаются уникальным для каждого индивидуума образом и содержатся в своих клетках не менее 5 дней

до начала эксперимента, чтобы произошла акклиматизация к условиям лаборатории.

Исследуемое вещество.

Если необходимо, вещество растворяют или суспендируют в подходящей среде. Рекомендуется по возможности в первую очередь использовать водные растворы/суспензии, затем растворы/эмульсии в масле (например, кукурузном) и только затем рассматривать растворы в других средах. Для всех сред за исключением воды должны быть известны токсикологические характеристики. Должна быть определена стабильность исследуемого вещества в данной среде.

Рабочие растворы готовят в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики.

В случае необходимости pH растворов контролируют при помощи pH-метра.

7.2. Дизайн эксперимента по оценке острой токсичности при пероральном введении методом фиксированной дозы (Fixed Dose Procedure, FDP).

Исследование острой токсичности изучаемого препарата базировалось на основополагающих документах OECD 401 «Acute Oral Toxicity», 1987, OECD 423. «Acute Toxic Class Method», 2001, позволяющие классифицировать лекарственное средство и оценить его опасность согласно классификации GHS (OECD (1998)). Острые опыты были поставлены на самках крыс, поскольку самки, по литературным источникам при пероральном введении, являются более чувствительными (FDA 2003).

Выбранные методы позволяют определить конкретную величину LD₅₀ только в том случае, если хотя бы две дозы вызвали смертность выше 0%, но ниже 100%. Именно для этого, мы из литературных источников ((FDA 2003) подобрали такой уровень доз, где бы из трех выбранных, две вызывали

гибель 0 и 100%, что позволило нам определить LD₅₀. Изучаемый препарат акатинол мемантин 10 мг Компании МЕРЦ ФАРМА ГмбХ и КоКГаА (Германия) вводили животным двукратно в эквивалентном объеме 1,75-2,15 мл с интервалом 1,5-2 ч внутрижелудочно, в виде 32,1-35,2% водной суспензии. Каждая группа состояла из 5-6 животных. Длительность периода наблюдения за животными после введения препаратов составила 2 недели, в течение которых регистрировался учет погибших и выживших животных. Для установления основных токсикометрических параметров острой токсичности использовался метод пробит-анализа по Литчфилду и Уилкоксону (Беленький Л.М.,1963). Процедура тестирования представлена в табл.1.

Таблица 1. Процедура тестирования острой токсичности препарата акатинол мемантин 10 мг, компании МЕРЦ ФАРМА ГмбХ и КоКГаА (Германия)

Акатинол Мемантин/Крысы						
Номер группы	Препарат	Кол-во животных	Номера животных	Доза мг/кг	Объем введения (мл/крысу)	Кратность превышения максим. тер.дозы
		самки	самки			
2	Акатинол Мемантин	6	25-30	300	3-5	300
3	Акатинол Мемантин	6	19-24	360	3-5	360
4	Акатинол Мемантин	6	31-35	420	3-5	420

Перед введением, животных лишали пищи, но не воды, на ночь. По прошествии периода голодания животных взвешивали и на основании данных массы тела высчитывали дозу, затем вводили им тестируемый препарат.

После введения препарата велось постоянное наблюдение за животными с регистрацией времени наступления первых клинических признаков интоксикации (СОП Viv_28). В независимости от динамики проявления и развития клинических признаков через 15 мин, 30 мин и 60 мин и 120 мин

после введения препаратов у всех животных проводили подробный клинический осмотр с регистрацией клинических признаков интоксикации и степени их выраженности (слабая степень, средняя, сильная) (СОП Viv_28). При наступлении гибели животного регистрировали время наступления смерти.

8. Порядок выполнения измерений - оценки острой токсичности при пероральном введении методом фиксированной дозы (Fixed Dose Procedure, FDP)

8.1. Операции по порядку проведения оценки острой токсичности при пероральном введении методом фиксированной дозы (Fixed Dose Procedure, FDP).

Предпочтительный вид грызунов – крыса, хотя и другие виды также могут быть использованы. Обыкновенно используют самок. Это обусловлено тем, что по литературным данным, касающимся традиционного способа определения LD₅₀, чаще всего разница между животными разного пола незначительна, но если она есть, самки, в основном, оказываются немного более чувствительны. Однако если данные по токсикологическим и токсикокинетическим свойствам структурно-родственных веществ указывают на то, что самцы могут быть более чувствительны, именно этот пол нужно использовать. Если тест проводится на самцах, необходимо дать адекватное обоснование.

Должны задействоваться молодые, здоровые, взрослые животные широко распространенных линий. Самки должны быть нерожавшими и небеременными. На момент введения препарата животное должно находиться в возрасте 8-12 недель, а его вес должен уместаться в интервал +/- 20% от среднего первоначального веса всех животных, уже получивших дозу препарата.

Подготовка животных

Животных отбирают случайным образом, помечают уникальным для каждого индивидуума образом и содержат в своих клетках не менее 5 дней перед началом введения, чтобы произошла акклиматизация к условиям лаборатории.

Подготовка доз

В общем случае тестируемое вещество необходимо вводить в одинаковом объеме среды для всего диапазона доз, варьируя концентрацию вещества. Однако в случае жидкого тестируемого вещества или смеси использование неразведенной субстанции, то есть постоянной концентрации, может быть более адекватно для целей последующей оценки риска и является требованием некоторых контролирующих органов. В любом случае нельзя превышать максимально допустимый объем введения. Максимальный объем жидкости, который можно вводить за один раз, зависит от размера животного. Для грызунов он не должен в норме превышать 1мл/100г веса тела; однако в случае водных растворов можно рассматривать и 2мл/100г. В отношении приготовления доз рекомендуется использовать водный раствор/суспензию/эмульсию везде, где это возможно, после чего в порядке убывания предпочтительности идет раствор/суспензия/эмульсия в масле (например, кукурузном), а затем только растворы в других субстанциях. Для растворителей, отличных от воды, должны быть известны токсикологические характеристики. Дозы должны приготавливаться непосредственно перед введением, если только не известна стабильность препарата в продолжение периода его использования и не показано, что она приемлема.

Процедура**Введение доз**

Тестируемое вещество вводят в единственной дозе внутривентриально, используя желудочный зонд или подходящий интубационный катетер. В нестандартных случаях, когда вещество не может быть введено в один

прием, дозу можно разделить на меньшие части и вводить в течение периода, не превышающего 24 часа.

Животных следует лишать пищи перед введением (к примеру, крыс лишают пищи, но не воды, на ночь; мышей лишают пищи, но не воды, в течение 3-4 часов). По прошествии периода голодания животных взвешивают и вводят тестируемое вещество. Определяют вес тела натошак для каждого животного и на основании этих данных высчитывают дозу. После введения вещества период лишения пищи может быть продлен еще на 3-4 часа для крыс и на 1-2 часа для мышей. Если доза вводится по частям на протяжении определенного интервала времени, может быть необходимо обеспечить животных пищей и водой в зависимости от продолжительности этого интервала.

Прикидочный эксперимент

Прикидочный эксперимент должен позволить выбрать подходящую стартовую дозу для основного теста. Исследуемое вещество вводится единичным животным по пошаговому принципу в соответствии со схемами из Приложения 2. Прикидочный эксперимент завершается, когда становится возможным принятие решения о стартовой дозе для основного теста (или если смерть наступает при введении минимальной фиксированной дозы).

Стартовая доза для прикидочного эксперимента выбирается из фиксированных доз 5, 50, 300 и 2000 мг/кг как доза, которая должна вызвать явную токсичность на основании, если это возможно, данных *in vivo* и *in vitro* для исследуемого химического соединения или структурно близких ему соединений. В случае отсутствия такой информации, начинают с дозы 300 мг/кг.

Между введениями доз животным должен выдерживаться период не менее чем 24 часа. Все животные должны наблюдаться по меньшей мере в течение 14 дней.

В исключительных случаях, и только по особым официальным требованиям, рассматривается использование дополнительной верхней дозы

в 5000 мг/кг. Из соображений благополучия животных, проведение тестов в пределах Категории 5 GHS (2000-5000мг/кг) не поощряется и может рассматриваться, только если результаты такого теста действительно должны иметь важное значение для охраны здоровья человека, животных или окружающей среды.

В случае, когда животное из группы минимальной фиксированной дозы (5 мг/кг) умирает, исследование должно быть остановлено, а вещество отнесено в категорию 1 GHS (как показано в Приложении 1). Однако если требуется дальнейшее подтверждение класса, может быть по желанию проведена дополнительная процедура, как описано далее. Второму животному вводят дозу 5 мг/кг. Если это второе животное умирает, то Категория 1 считается подтвержденной и исследование немедленно завершают. Если второе животное выживает, тогда дозу 5 мг/кг дают еще не более, чем 3 животным. Поскольку риск смерти высок, эти животные должны получать дозы последовательно в целях заботы о благополучии животных. Промежуток времени между введением доз должен быть достаточен, чтобы убедиться, что предыдущее животное скорее всего выживет. Если случится еще одна смерть, последовательное введение доз должно быть немедленно прекращено и больше никаким животным вещество не вводится. Поскольку появление второй смерти (независимо от общего количества животных, протестированных к окончанию эксперимента) подпадает под результат А (2 или более смерти), правило классификации (Приложение 2) для фиксированной дозы 5 мг/кг выполняется (Категория 1, если наблюдается 2 или более смерти, или Категория 2, если наблюдается не более 1 смерти).

Основной тест

Количество животных и уровень доз

Действие, которое должно следовать за испытанием стартовой дозы, указано в блок-схеме Приложения 2. Это может быть одно из трех действий: или остановка исследования и присвоение соответствующего класса

опасности, или тестирование большей фиксированной дозы, или тестирование меньшей фиксированной дозы. Однако, чтобы защитить животных, доза, вызвавшая смерть в прикидочном эксперименте, не должна повторно использоваться в основном (См. Приложение 2). Опыт показал, что в результате введения стартовой дозы чаще всего становится возможным классифицировать вещество и дальнейшее исследование не будет необходимо.

В норме для каждой исследуемой дозы будет использовано в общей сложности 5 животных одного пола. Из этих пяти животных одно – животное из прикидочного эксперимента, которому вводили выбранную дозу, и четыре дополнительных животных (за исключением необычной ситуации, когда доза, исследуемая в основном тесте, не была задействована в прикидочном эксперименте).

Временной промежуток между введениями доз определяется временем наступления, продолжительностью и выраженностью токсических эффектов. Воздействие на животных следующей дозой вещества должно быть отложено до тех пор, пока экспериментатор не удостоверится в том, что предыдущие животные выживут. Если необходимо, чтобы наблюдать отсроченную токсичность, рекомендуется выдерживать интервал 3-4 дня между введением различных уровней доз. Этот интервал может быть дополнительно изменен, например, если реакция животного неоднозначна.

Лимит-тест

Лимит-тест используется в первую очередь в тех ситуациях, когда экспериментатор обладает информацией, указывающей на вероятную нетоксичность тестируемого вещества, то есть на то, что его токсичность находится ниже официально принятой лимит-дозы. Информация о токсичности исследуемого вещества может быть извлечена из данных о схожих протестированных соединениях или схожих протестированных смесях, или препаратах, с учетом тех компонентов и их концентраций, которые могут иметь значения для токсичности. В ситуациях, когда

информации по токсичности очень мало или она отсутствует, или когда ожидается, что вещество будет токсичным, должен проводиться основной тест.

Введение стартовой дозы прикидочного эксперимента 2000 мг/кг (или в исключительных случаях 5000 мг/кг) и затем той же дозы еще четырем животным, следуя нормальной процедуре, служит лимит-тестом в данном руководстве.

Наблюдения

За каждым животным наблюдают отдельно, по меньшей мере, один раз в течение первых 30 минут после введения дозы, затем периодически в течение 24 часов (уделяя особое внимание первым 4 часам), и далее ежедневно, в общей сложности на протяжении 14 дней, за исключением случаев, когда животное необходимо вывести из эксперимента и умертвить для его блага или оно было найдено мертвыми. Однако продолжительность наблюдений не должна быть жестко фиксирована. Она должна определяться токсическими реакциями, временем их наступления и продолжительностью восстановительного периода и, таким образом, может быть по необходимости увеличена. Временные точки наступления и исчезновения признаков токсичности важны, особенно если имеется тенденция к их отсрочке. Все наблюдения документируются систематически, для каждого животного ведутся индивидуальные записи.

Необходимо дополнительное наблюдение в случае, если у животного продолжают проявляться признаки токсичности. Необходимо следить за состоянием кожи и меха, глаз и слизистых оболочек, а также дыхательной, кровеносной, вегетативной и центральной нервной систем, соматомоторной активностью и особенностями поведения. Особое внимание следует обратить на тремор, конвульсии, слюноотделение, диарею, летаргию, сон и кому. Нужно учитывать принципы и критерии, собранные в Руководстве по определению критических состояний в целях гуманности (Humane Endpoints Guidance Document). Животные в состоянии агонии и испытывающие

сильную боль или продолжительный выраженный стресс должны быть гуманно умерщвлены. Если животное убито по гуманным соображениям или найдено мертвым, время смерти должно быть зафиксировано как можно более точно.

Масса тела

Масса каждого животного должна быть определена непосредственно перед введением вещества и как минимум еженедельно после этого. Изменения веса должны быть вычислены и записаны. В конце эксперимента выжившие животные взвешиваются и подвергаются гуманному умерщвлению.

Патология

Все животные (включая тех, которые умерли или были выведены из эксперимента по соображениям гуманности) должны подвергаться общему вскрытию. Все макроскопические патологические изменения должны быть записаны для каждого животного. Можно также провести микроскопическое исследование органов, в которых были обнаружены патологические изменения при вскрытии, для животных, проживших 24 часа и более после получения дозы, поскольку это может дать полезную информацию.

9. Обработка и оформление результатов измерений

Данные должны быть представлены индивидуально для каждого животного. Кроме того, все данные должны быть сведены в таблицу, включающую для каждой экспериментальной группы: общее количество использованных животных, количество животных с признаками токсичности, количество животных, найденных мертвыми или эвтаназированных из гуманных соображений, время смерти каждого животного, описание и временные параметры признаков токсичности, а также их обратимость, и результаты вскрытия.

Если возможно, численные результаты должны быть обработаны подходящим и общепринятым статистическим методом. Статистические методы должны быть определены при планировании эксперимента.

10. Требования безопасности, охраны окружающей среды

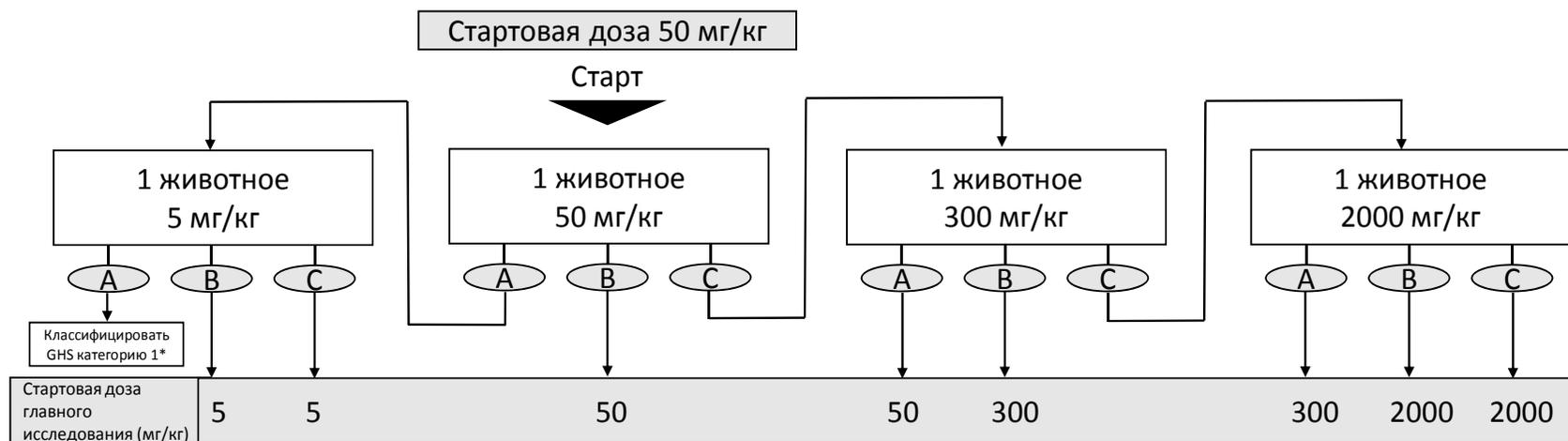
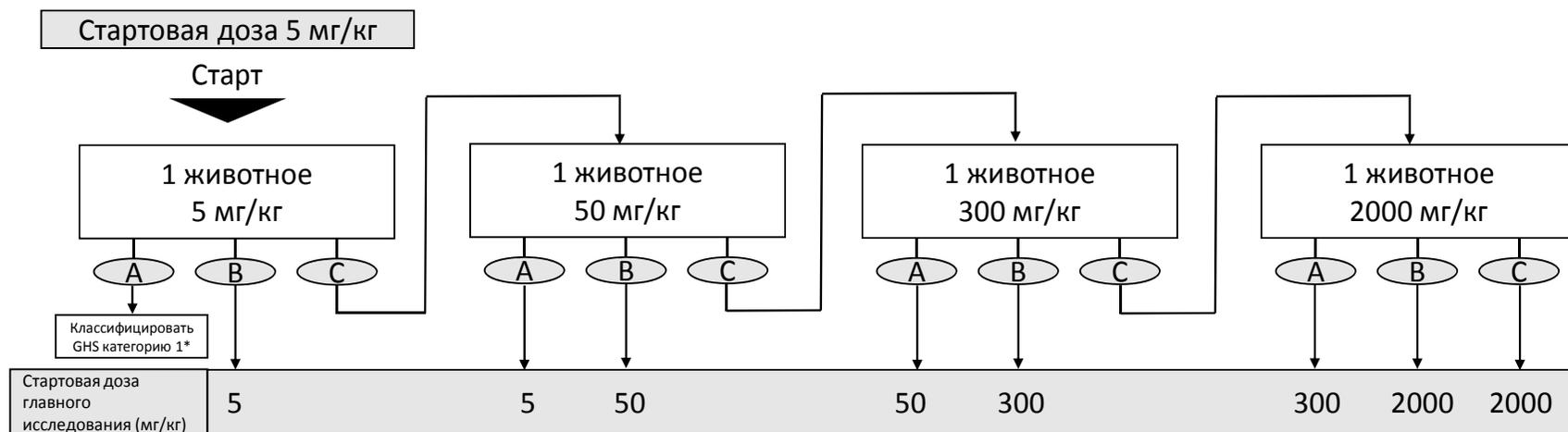
При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007; требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019, а также требования, изложенные в технической документации к приборам.

Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать норм установленных ГН 2.2.5.1313-03 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны». Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004.

11. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений могут быть допущены штатные сотрудники, имеющие соответствующую профессиональную подготовку, опыт работы с животными, изучившие требования настоящего стандарта, прошедшие соответствующий инструктаж, освоившие метод в процессе тренировки.

Приложение 1: блок-схема для прикладного эксперимента

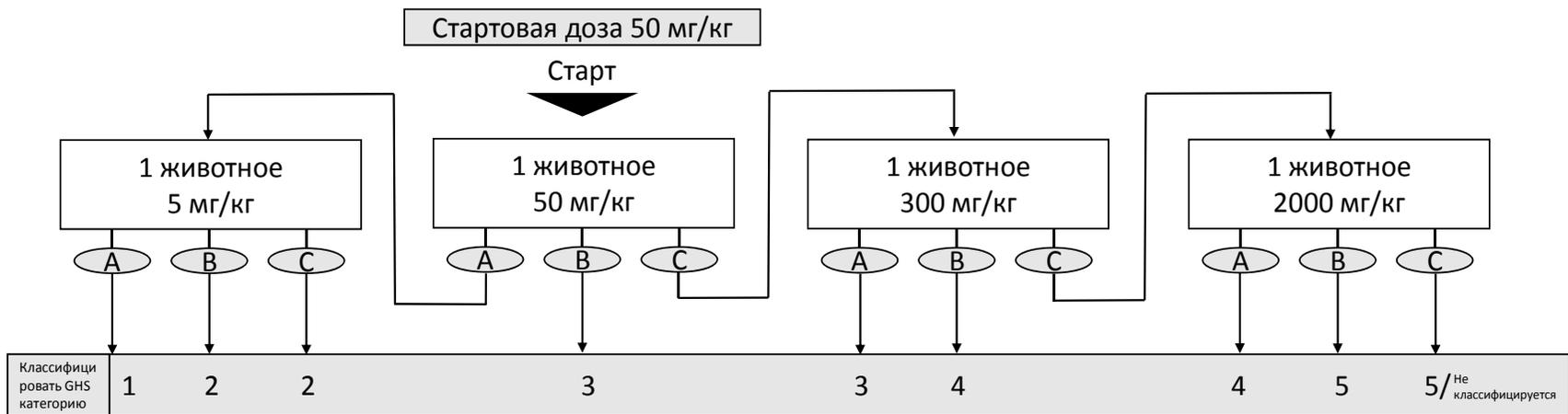
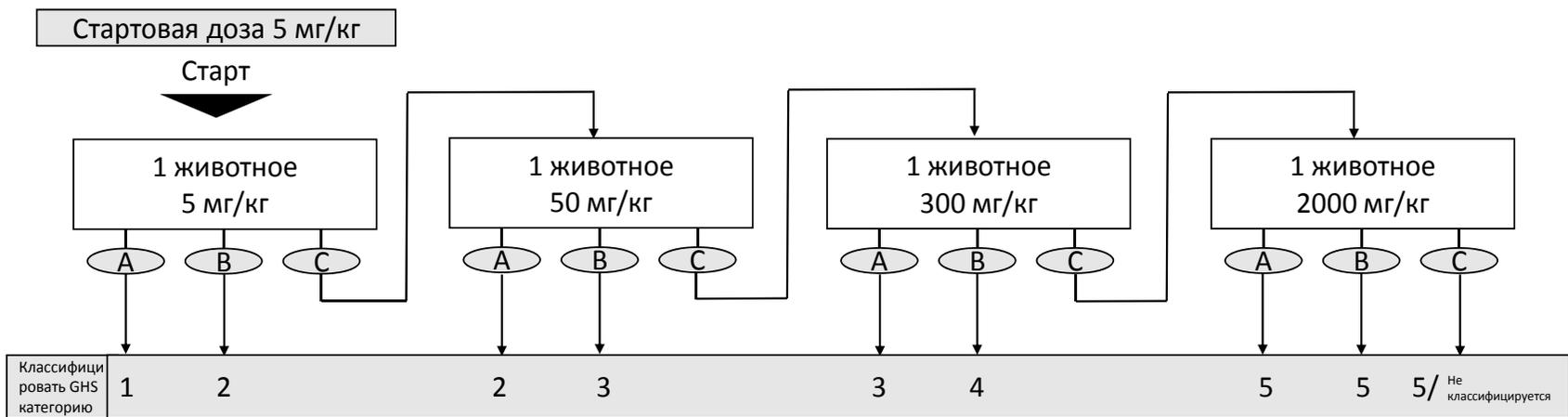


Результат

Ⓐ	смерть
Ⓑ	явная токсичность
Ⓒ	не токсично

* Для результата Ⓐ при 5 мг/кг есть опциональная добавочная процедура для подтверждения GHS классификации: см. параграф 20.

Приложение 2: блок-схема для основного теста



Результат
Ⓐ ≥ 2 смертей
Ⓑ ≥ 1 с явной токсичностью и/или < 1 смерти
Ⓒ не токсично

Отмена состояния животного
 Если этот уровень дозы вызывает смерть в предварительном исследовании, то далее животные тестироваться не будут. Необходимо вернуться к результатам Ⓐ

Размер группы
 5 животных в каждой группе главного исследования будут включать какое-нибудь животное, которое тестировали при этой дозе в предварительном исследовании.