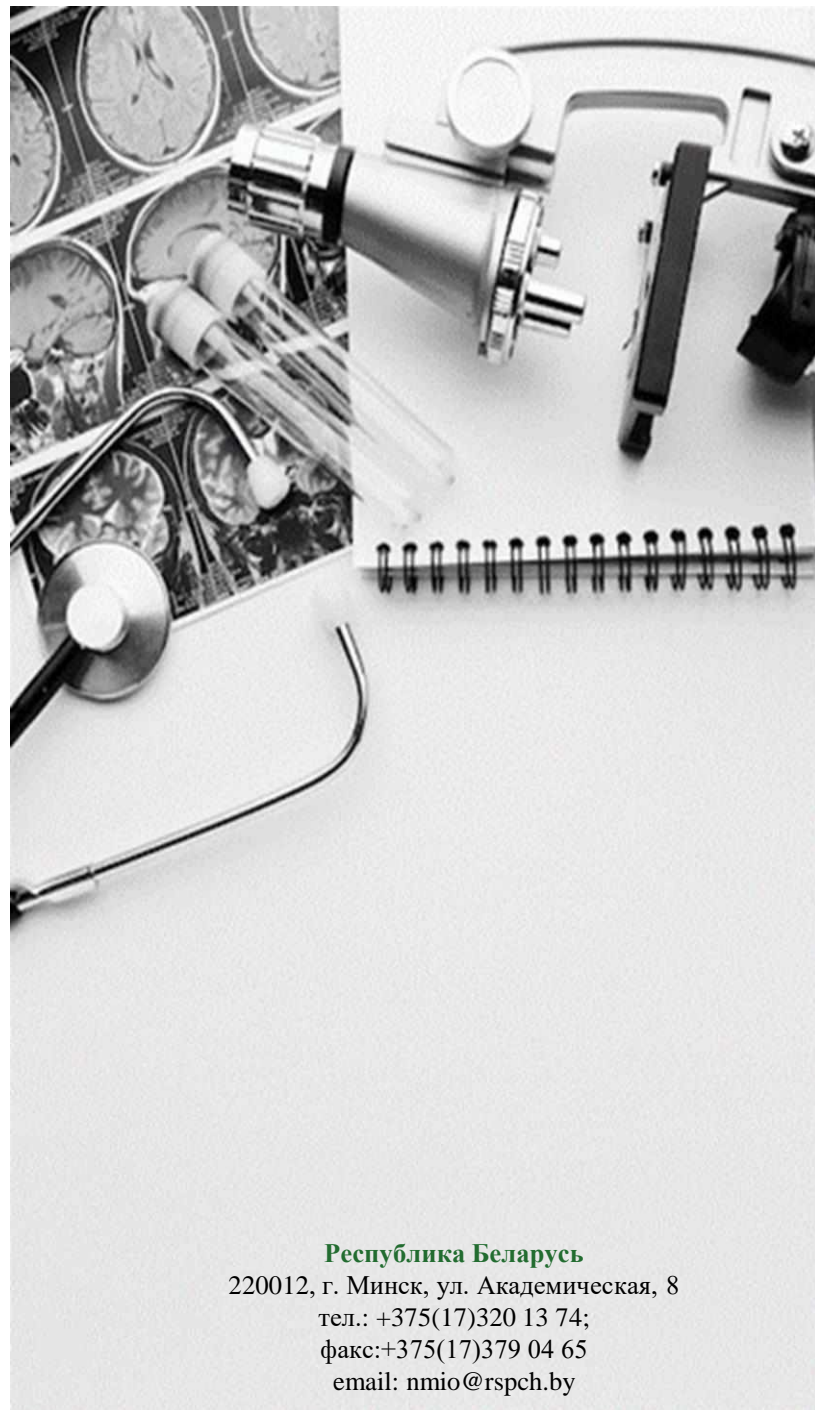




НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ГИГИЕНЫ, ТОКСИКОЛОГИИ, ЭПИДЕМИОЛОГИИ,
ВИРУСОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ

«Альтернативный метод определения раздражающего действия на слизистые оболочки глаз медицинских изделий и товаров бытовой химии»

Эрм Г.И., Баранов С.А.



Республика Беларусь
220012, г. Минск, ул. Академическая, 8
тел.: +375(17)320 13 74;
факс:+375(17)379 04 65
email: nmio@rspch.by



АКТУАЛЬНОСТЬ

★ По существующему в развитых странах и в Республике Беларусь законодательству все химические вещества, материалы и изделия, отходы производства, представляющие потенциальную опасность для здоровья человека, должны быть подвергнуты токсикологической экспертизе. Однако классические методы токсикологических исследований химических соединений, продуктов и товаров, содержащих их, являются трудоемкими, длительными, дорогостоящими и требуют использования, как правило, больших количеств различных видов лабораторных животных. В современных медико-биологических испытаниях вопросы об этическом, разумном и экономичном использовании животных в эксперименте привлекают все большее внимание специалистов и общественности.

★ Инвитровые модели нашли применение в токсиколого-гигиенических исследованиях для оценки общей токсичности химических соединений, разнообразных товаров бытовой химии, продукции из полимерных и других материалов, отходов, поступающих в окружающую среду, оценки качества воды в системах хозяйственно-питьевого водоснабжения, а также для скринингового контроля отдельных партий продукции.

★ Альтернативные методы позволяют проводить токсикологические исследования, не прибегая к использованию животных, и получать токсикологический прогноз со значимостью близкой к значимости токсикологического прогноза, получаемого методами с использованием животных. Их разработка стимулируется законодательно (*Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS N 123), Страсбург, 18 марта 1986 года*) путем запрета испытаний на животных для отдельных видов продукции, например, для парфюмерно-косметической продукции, средств бытовой химии, лекарственных препаратов. Альтернативные методы исследования являются экономически более выгодными и менее трудоемкими по сравнению с классическими методами исследования для оценки общетоксического действия на целостный организм млекопитающего.



Цель: разработать альтернативный метод *in vitro* определения раздражающего действия на слизистые оболочки глаз разнообразных медицинских изделий и товаров бытовой химии с учетом видов продукции и характерных ассортиментных групп.



Задачи:

1. Определить адекватные условия получения экстрактов из медицинских изделий с учетом их назначения, особенностей и продолжительности контакта с организмом человека, состава и физико-химических свойств материалов, из которых они изготовлены.

2. Изучить особенности влияния на тест-модель хориоаллантоисной мембраны куриного эмбриона полученных экстрактов из изделий и материалов медицинского назначения, разработать альтернативный метод определения их раздражительного действия.

3. На основе анализа состава, физико-химических и токсических свойств ингредиентов приоритетных групп товаров бытовой химии обосновать модельные концентрации средств в зависимости от их назначения и условий возможного контакта с кожей и слизистыми оболочками человека.

4. Разработать альтернативную модель с использованием хориоаллантоисной мембраны куриного эмбриона для определения раздражающего действия на слизистые оболочки глаз товаров бытовой химии в зависимости от их состава и условий применения.



Научная и научно-техническая новизна разработки

- получены данные о раздражающем действии на слизистые оболочки глаз медицинских изделий и продукции бытового назначения с использованием альтернативного метода тестирования *in vitro*;

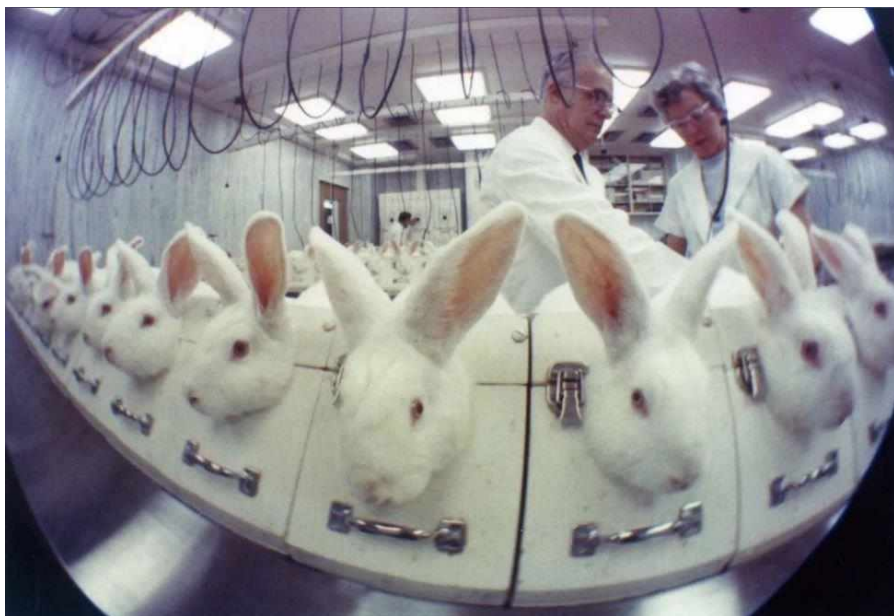
- обоснованы методические подходы к определению на альтернативной тест-модели *in vitro* раздражающих слизистые оболочки глаз эффектов химических композиций в зависимости от их вида, состава, условий использования и продолжительности контакта с организмом человека;

Альтернативный метод определения показателей раздражающего действия на слизистые оболочки глаз с использованием хориоаллантоисной мембраны куриного эмбриона обладает такими преимуществами как снижение материальных затрат на проведение испытаний и сокращение времени их проведения, обеспечение биоэтического и экономного использования лабораторных животных.





Метод *in vitro* с использованием хориоаллантамоисной мембраны куриного эмбриона, направленный на определение и оценку показателей раздражающего действия на слизистые оболочки медицинских изделий и товаров бытовой химии, позволяет проводить токсикологические исследования, не прибегая к использованию животных, и получать токсикологический прогноз со значимостью близкой к значимости токсикологического прогноза, получаемого методами с использованием животных.



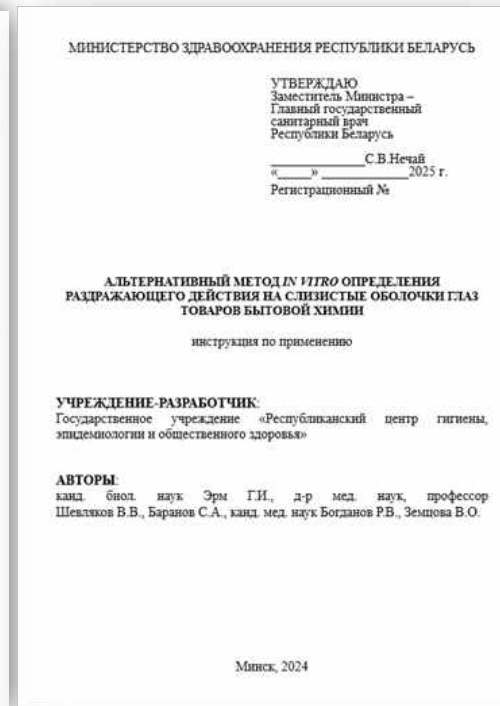
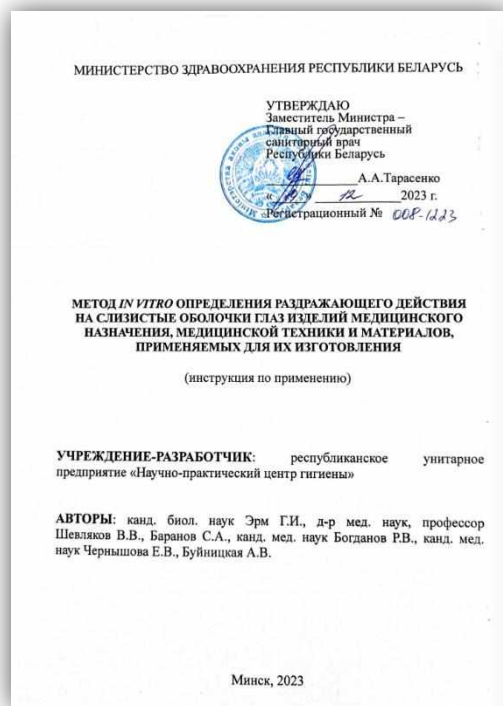


В настоящих инструкциях по применению изложен метод определения и оценки показателей раздражающего действия изделий медицинского назначения, медицинской техники и материалов, применяемых для их изготовления, товаров бытовой химии на слизистые оболочки глаз, полученных альтернативным методом *in vitro* с использованием хориоаллантаоисной мембраны куриного эмбриона.

В инструкциях по применению подробно изложены условия экстракции медицинских изделий, пробоподготовка средств бытовой химии, порядок проведения метода, оценка ирритативного действия медицинских изделий разных групп, определение раздражающего действия на слизистые оболочки глаз товаров бытовой химии различной классификации и назначения.

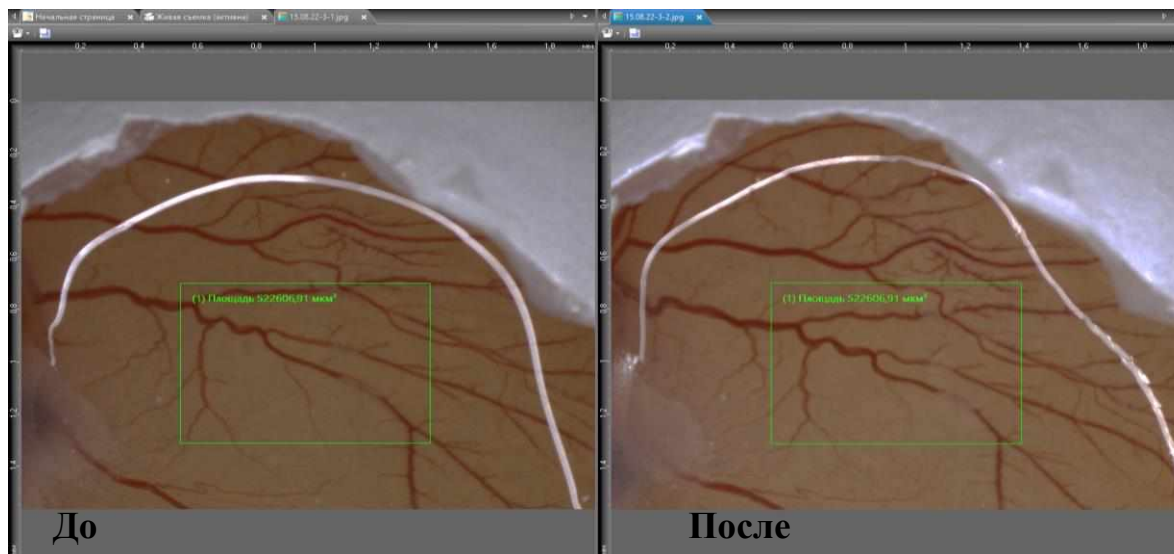
*Инструкция по применению № 008-1223 «Метод *in vitro* определения раздражающего действия на слизистые оболочки глаз изделий медицинского назначения, медицинской техники и материалов, применяемых для их изготовления» (утв. Главным государственным санитарным врачом РБ 19.12.2023);*

*Проект Инструкции по применению № 032-1124 «Альтернативный метод *in vitro* определения раздражающего действия на слизистые оболочки глаз товаров бытовой химии».*





Основой применения метода определения ирритативного действия на хориоаллантоисной мембране куриного эмбриона в качестве показателя потенциала химического вещества повреждать слизистые оболочки (в частности, глаз) является возникновение сосудистого повреждения в ответ на воздействие соединения - появление кровоизлияния (кровоотечений), лизиса сосудов (*распада кровеносных сосудов*) и свертывания (*денатурация белка внутрисосудистая и внесосудистая*). По изменению, которое может возникнуть в хориоаллантоисной мембране куриного эмбриона при нанесении на нее определенной дозы испытуемого образца судят о потенциальной способности изучаемой продукции вызывать раздражение.



Хориоаллантоисная мембрана куриного эмбриона до и после нанесения исследуемого продукта



Оценка симптомов ирритативного действия исследуемого образца на хориоаллантоисную мембрану

Характеристика выраженности симптомов раздражения	Оценка, балл	Выраженность раздражающего действия
Отсутствие видимой гиперемии, четкий сосудистый рисунок	0	Отсутствие
Увеличение сети капилляров, сосуды инъецированы (расширены)	1	Слабое
Точечные кровоизлияния, отдельные сосуды трудно различить	2	Умеренное
Крупные кровоизлияния, диффузное глубокое покраснение	3	Выраженное
Денатурация (денатурация белка внутрисосудистая и внесосудистая)	4	Резко выраженное

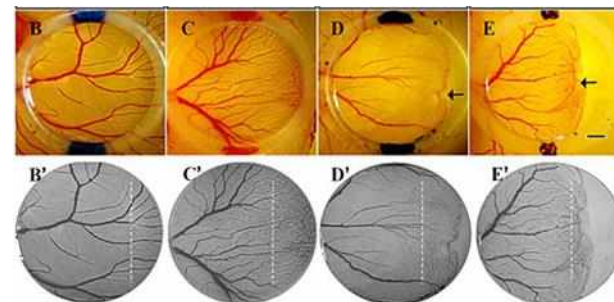
За результат испытаний каждого образца принимают среднее значение суммы каждой повторности, в которой определяется величина эритемы в баллах по разнице симптома раздражающего действия между опытом и контролем.

Индекс раздражающего действия испытываемой продукции на хориоаллантоисную мембрану куриного эмбриона I_{cat} в баллах вычисляют по формуле:

$$I_{cat} = (R_o - R_k)_1 + (R_o - R_k)_2 + \dots + (R_o - R_k)_n / n,$$

где

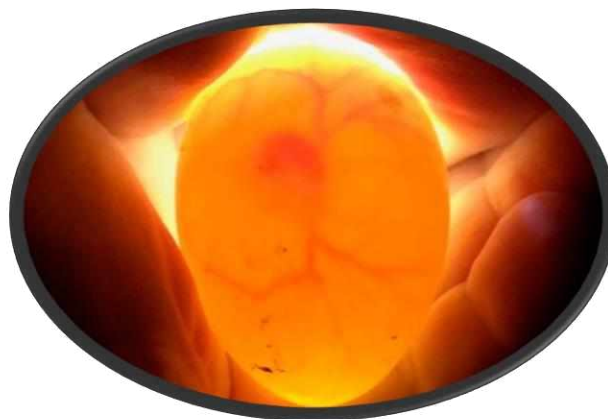
- R — выраженность повреждения мембраны в баллах на опытном и контрольном куриных эмбрионах;
 o — опытный куриный эмбрион;
 k — контрольный куриный эмбрион;
 $1, 2, \dots, n$ — порядковый номер куриного эмбриона (повторности);
 n — количество куриных эмбрионов.





Раздражающее действие у испытуемого образца отсутствует, если значение индекса раздражающего действия испытуемой продукции на хориоаллантоисную мембрану куриного эмбриона **I_{cam}** равно нулю или менее 1,0 балла.

Если значение индекса **I_{cam}** равно или более 1,0 балла (2,0 балла, 3,0 балла, 4,0 балла), то испытуемый образец обладает раздражающим действием на хориоаллантоисную мембрану.





Метод оценки раздражающего действия на слизистые оболочки глаз с использованием хориоаллантамной мембраны куриного эмбриона по методологическим, экономическим и этическим соображениям представляет собой чувствительный инструмент, способный определять продукты, которые могут вызывать раздражение и может применяться в качестве домаркетингового тестирования для оценки раздражающего действия продукции.

Метод обладает такими преимуществами, как чувствительность, снижение материальных затрат на проведение испытаний, сокращение времени их проведения, этического и экономного использования животных.

