

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ
Заместитель Министра –
Главный государственный
санитарный врач
Республики Беларусь



С.В.Нечай

« 14 » _____ 2025 г.

Регистрационный № 034-11261

**МЕТОД ГИГИЕНИЧЕСКОГО НОРМИРОВАНИЯ СОДЕРЖАНИЯ
АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ
В ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК:

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены,
эпидемиологии и общественного здоровья»

АВТОРЫ:

канд. мед. наук Богданов Р.В., д-р мед. наук, профессор
Шевляков В.В., Земцова В.О., канд. биол. наук Емельянова О.А.,
д-р мед. наук, профессор Филонюк В.А., д-р биол. наук, профессор
Дудчик Н.В., канд. мед. наук Василькевич В.М., канд. мед. наук
Чернышова Е.В., канд. мед. наук, доцент Бондаренко Л.М., Баранов С.А.,
Буйницкая А.В., Силич А.И.

Минск, 2024

ГЛАВА 1 НАЗНАЧЕНИЕ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

1. В настоящей инструкции по применению (далее – Инструкция) изложен метод гигиенического нормирования содержания фармацевтических субстанций антибактериальных лекарственных средств в воздухе рабочей зоны.

2. Настоящая Инструкция может быть использована в комплексе медицинских услуг, направленных на медицинскую профилактику заболеваний и патологических состояний, ассоциированных с неблагоприятным воздействием фармацевтических субстанций антибактериальных лекарственных средств, обладающих бактерицидными и/или бактериостатическими свойствами, в воздухе рабочей зоны (далее – вещества).

3. Настоящая Инструкция предназначена для организаций здравоохранения, в том числе органов и учреждений, осуществляющих государственный санитарный надзор.

4. Настоящая Инструкция вступает в силу с даты ее утверждения.

ГЛАВА 2 ТЕРМИНЫ И ИХ ОПРЕДЕЛЕНИЯ

5. Для целей настоящей Инструкции используются общепринятые термины и их определения, установленные законодательством в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения, основополагающими методическими документами в области токсикологии, а также следующие термины и определения:

кожно-резорбтивные свойства вещества – способность вещества при однократном или повторном воздействии проникать через неповрежденные кожные покровы и вызывать интоксикацию организма;

коэффициент видовой чувствительности – показатель, представляющий собой соотношение среднесмертельных доз более устойчивого вида животных к менее резистентному (например, DL_{50} крысы / DL_{50} мыши);

коэффициент кумуляции (K_{cum}) – рассчитывается отношением суммарной дозы вещества при многократном введении, вызвавшей гибель 50 % животных, взятых в эксперимент, к DL_{50} , установленной при однократном введении;

кумулятивные свойства вещества – способность вещества при повторном поступлении накапливаться в организме и оказывать неблагоприятное действие на уровне проявления смертельных эффектов или на функциональное состояние ряда органов и систем подопытных животных (материальная и функциональная кумуляция);

лекарственное средство – средство, представляющее собой или содержащее вещество либо комбинацию веществ, вступающее в контакт с организмом человека, предназначенное для лечения, медицинской профилактики заболеваний человека либо восстановления, коррекции или изменения физиологических функций его организма посредством фармакологического, иммунологического либо метаболического воздействия или для диагностики заболеваний и состояний человека;

Кожно-раздражающее действие вещества – способность вещества в условиях однократного или повторного воздействия оказывать раздражающее действие на кожные покровы или слизистые;

порог острого ингаляционного действия вещества (Lim_{ac}) – минимальная концентрация, вызывающая при однократном ингаляционном воздействии изменения определяемых показателей жизнедеятельности организма животных, выходящие за пределы физиологических отклонений (с достоверностью 95 % и более различий с контрольной группой);

порог хронического ингаляционного действия (Lim_{ch}) – минимальная концентрация вещества, вызывающая при непрерывном фиксированном по длительности воздействии (4 месяца по 4 часа 5 раз в неделю) изменения 1-2 определяемых лимитирующих показателей жизнедеятельности организма животных, выходящие за пределы физиологических отклонений (с достоверностью различий с контролем 95 % и более);

потенциальная аллергенная опасность – способность вещества в условиях однократного внутрикожного введения sensibilizировать (вызывать гиперчувствительность) организм;

предельно допустимая концентрация в воздухе рабочей зоны ($ПДК_{врз}$) – качественное и (или) максимальное количественное значение концентрации микроорганизма-продуцента, микробного препарата и его компонентов, вредного вещества в воздухе рабочей зоны, которое при ежедневной (кроме выходных дней) работе продолжительностью 8 ч и не более 40 ч в неделю в течение всего рабочего стажа не должно вызывать заболеваний или отклонений в состоянии здоровья, обнаруживаемых современными методами исследований, в процессе работы или в отдаленные сроки жизни настоящего и последующего поколений.

среднесмертельная доза вещества (DL_{50} , мг/кг) – доза, вызывающая гибель 50 % мышей или крыс при однократном введении вещества и последующем 14-суточном периоде наблюдения;

среднесмертельная концентрация вещества (CL_{50} , мг/м³) – концентрация, вызывающая гибель 50 % крыс при 4 часовом воздействии и последующем 14-суточном периоде наблюдения;

фармацевтическая субстанция – лекарственное средство, предназначенное для промышленного производства и аптечного изготовления лекарственных препаратов.

ГЛАВА 3 ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

6. Исследования проводят на следующих видах половозрелых лабораторных животных: мыши (масса тела 16-24 г), крысы (масса тела 160-200 г), морские свинки (масса тела 350-450 г), кролики (масса тела 1500-4000 г). При этом необходимо указать вид, линию (популяцию), пол, исходную массу тела лабораторных животных.

Подбор лабораторных животных и формирование групп осуществляют с учетом массы тела (разница в массе лабораторных животных контрольной и опытных групп не должна превышать 10 %) и пола, отсутствия различий в поведении, общем состоянии, состоянии нормальной микробиоты кишечника организма.

7. Экспериментальные исследования должны проводиться с соблюдением правил гуманного отношения к лабораторным животным в соответствии с Инструкцией о порядке обращения с лабораторными животными, утвержденной постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь и Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 2 декабря 2024 г. № 164/124 (Национальный интернет-портал Республики Беларусь, 8/42855, 06.02.2025) и принципами Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (1986).

ГЛАВА 4 МЕДИЦИНСКИЕ ИЗДЕЛИЯ, ОБОРУДОВАНИЕ, ЛАБОРАТОРНАЯ ПОСУДА, МАТЕРИАЛЫ, РЕАКТИВЫ

8. Оборудование:

автоклав электрический; весы лабораторные общего назначения 2-го класса точности (по ГОСТ 24104) с пределом взвешивания 200 г; весы аналитические электронные с пределом допускаемой погрешности $\pm 0,0001$ г; стерилизатор сухожаровой с автоматической регулировкой температуры (100-220)°С (по ГОСТ 24437); термостат электрический суховоздушный с автоматическим терморегулятором до 50 С, позволяющие поддерживать заданную температуру с погрешностью ± 1 С (ТУ 64-1-1382-72); анализатор потенциометрический с погрешностью измерений рН $\pm 0,1$ (рН-метр) с набором электродов (по ГОСТ 19881); автоматический гематологический анализатор (для животных);

автоматический биохимический анализатор сыворотки крови; анализатор мочи; фотоэлектроколориметр или спектрофотометр; многоканальный спектрофотометр; микроскоп световой биологический с увеличением 900-1000[×] (по ГОСТ 8284); центрифуга лабораторная с частотой оборотов до 400g; мешалка магнитная; холодильник бытовой (по ГОСТ 16317); морозильная камера; баня водяная с терморегулятором, позволяющая поддерживать температуру (55,0 ± 0,5) С (по ГОСТ 12026) или суховоздушный инактиватор; шейкер (встряхиватель) для планшет и пробирок;

9. Лабораторная посуда и медицинские изделия, материалы:

дозаторы пипеточные типа ПЛ или варипипетки на 0,02-0,2, 1,0-5,0 см³; пипетки разной вместимости 2 класса точности (по ГОСТ 20292); стаканы химические (50-100 см³), цилиндры (по ГОСТ 1770) и колбы (по ГОСТ 25336) разной вместимости (10, 100, 1000 см³); пробирки центрифужные стеклянные (мерные, 10 см³); планшеты иммунологические плоскодонные; чашки Петри 90-100 мм (по ГОСТ 25336); стекла предметные (по ГОСТ 9284); шприцы медицинские объемом 1, 2, 5, 10 см³; шприцы туберкулиновые; штативы для пробирок; шпатели стеклянные; стандарт титры для приготовления образцовых буферных растворов для рН-метрии (по ГОСТ 8.135 ГСИ); бумага индикаторная универсальная (ТУ 6-091181-76); бумага фильтровальная лабораторная (по ГОСТ 12026); вата медицинская гигроскопичная (по ГОСТ 5556); марля медицинская (по ГОСТ 9412); ножницы (по ГОСТ 21241); спиртовки лабораторные стеклянные (по ГОСТ 23932Е).

10. Реактивы и питательные среды:

вода дистиллированная и бидистиллированная (по ГОСТ 6709); ацетон (х.ч.) (по ГОСТ 2603); спирт этиловый ректификат (по ГОСТ 5962); диметилсульфоксид (х.ч.); кислота соляная, раствор с массовой концентрацией 0,1 моль/дм³ (по ГОСТ 3118); натрия гидроокись, раствор с массовой концентрацией 0,1 моль/дм³ (по ГОСТ 4238); раствор физиологический (изотонический, стерильный); среда 199 (стерильная, во флаконах по 500 см³); раствор Хенкса (стерильный, во флаконах по 500 см³); гепарин; L-цистеин; фосфатный буфер (стерильный с рН 7,2-7,4); тиогликолевый буфер (по ГОСТ 10444.1); желатин медицинский (стерильный, 10 % раствор в ампулах по 10 см³); тетразолий нитросиний (МТТ – Thiazolyl blue); зимозан (Zymosan А); красители трепановый синий и эозин; краситель Романовского-Гимза; растворы и реактивы для окраски по Граму (по ГОСТ 10444.1); 0,3 % спиртовой раствор красителя нейтрального красного; 3 % раствор уксусной кислоты, подкрашенной метиленовым синим; 0,83 % раствор хлористого аммония; сухой бычий сывороточный альбумин (БСА); эритроциты барана (консервированные, во флаконах по 10 см³); масло вазелиновое медицинское (по ГОСТ 3164);

масло иммерсионное (по ГОСТ 13739); агар микробиологический в порошке или волокнах (по ГОСТ 17206); агар сухой питательный для культивирования микроорганизмов (ФС 42-188ВС-90); агар Эндо (ФС 42-186ВС-88); солевой агар, желточно-солевой агар, молочно-желточно-солевой агар, среда Байрд-Паркер, среда Вильсона-Блера, кровяной агар, агар с желчью и эскулином, среда Блаурокка, лактобактоагар, среда Сабуро с антибиотиками (по ГОСТ 10444.1); среда Рогоза-Маана и среда МРС (по ГОСТ 10444.11); среда Мак Конки (по ГОСТ 29184); конго-рот-агар; амфолан агар.

Возможно применение оборудования и материалов с аналогичными по назначению техническими и метрологическими характеристиками. При их применении следует руководствоваться рекомендациями изготовителя.

ГЛАВА 5

СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ ГИГИЕНИЧЕСКОГО НОРМИРОВАНИЯ

11. Схема проведения обоснования ПДК_{врз} вещества включает:

11.1 определение в острых и подострых опытах параметров токсикометрии вещества с определением:

средней смертельной дозы вещества при однократном введении в желудок крысам и мышам;

средней смертельной дозы вещества при однократном внутрибрюшинном введении крысам и мышам;

средней смертельной концентрации вещества и пороговой концентрации острой токсичности при однократном ингаляционном воздействии;

половой и видовой чувствительности вещества;

степени выраженности (класса) местного раздражающего действия вещества на слизистую оболочку глаза (ирритативное действие);

степени выраженности (класса) кожно-раздражающего действия вещества;

степени сенсibilизирующей способности и аллергенной опасности вещества;

степени выраженности кумулятивного действия вещества при субхроническом внутрижелудочном введении;

выраженности кожно-резорбтивного действия вещества при многократном эпикутанном воздействии;

пороговой концентрации острого антимикробного (дисбиотического) действия вещества при однократном ингаляционном воздействии;

11.2 определение показателей опасности вещества при повторном поступлении в организм лабораторных животных, с целью выбора

ведущего критерия вредности и установления порога вредного действия для обоснования величины ПДК_{врз} с определением:

пороговой концентрации дисбиотического действия вещества при повторном (в течение месяца) ингаляционном воздействии;

пороговой концентрации аллергического действия вещества при повторном (в течение месяца) ингаляционном воздействии;

порога хронического общетоксического действия вещества при хроническом ингаляционном воздействии;

11.3 обоснование величины ПДК_{врз} и класса опасности вещества в воздухе рабочей зоны.

ГЛАВА 6 ОПРЕДЕЛЕНИЕ В ОСТРЫХ И ПОДОСТРЫХ ОПЫТАХ ПАРАМЕТРОВ ТОКСИКОМЕТРИИ ВЕЩЕСТВА

12. Определение средней смертельной дозы вещества при однократном введении:

12.1 вводят не менее 3-х последовательно снижающихся доз, достаточных для расчета DL₅₀; если вещество обладает малой токсичностью, то следует ввести максимально возможную дозу; каждая выбранная доза исследуется на 6-10 лабораторных животных (крысы, мыши);

12.2 вещество вводят в желудок лабораторным животным натошак в нативном виде, в водном растворе, растительном масле или индифферентных растворителях, при этом разные дозы вещества следует вводить лабораторным животным в оптимальных объемах, составляющих 1-1,5 % от массы тела. Лабораторным животным контрольной группы аналогичным способом в том же объеме вводится растворитель. Кормление лабораторных животных производится не ранее, чем через 3 часа после введения вещества;

12.3 оценка результатов: в течение 14 суток учитывают клинические проявления интоксикации и летальность лабораторных животных. Погибших и выживших лабораторных животных следует подвергать макроскопическому и/или патоморфологическому исследованию, при этом для вскрытия отбираются только те особи, гибель которых наступила не позже, чем за 3-5 часов до исследования.

Рассчитывают среднесмертельную дозу (DL₅₀) с доверительными интервалами [1], дозы, вызывающие 16 % (DL₁₆) и 84 % (DL₈₄) летальности взятых в опыт животных, а также показатели потенциальной опасности острого отравления – функцию угла наклона прямой «доза-эффект» (S) с доверительными интервалами и размах смертельных доз (R). Классификацию веществ по степени их опасности в условиях однократного внутрижелудочного воздействия проводят согласно [2].

13. Определение средней смертельной дозы вещества при однократном внутрибрюшинном введении:

13.1 вводят не менее 3-х последовательно снижающихся доз, достаточных для расчета DL_{50} ; если вещество обладает малой токсичностью, то следует ввести максимально возможную дозу; каждая выбранная доза исследуется на 6-10 лабораторных животных (крысы, мыши);

13.2 вещество вводят шприцом внутрибрюшинно лабораторным животным натошак в стерильном физиологическом растворе (0,9 % раствор NaCl); применение иных растворителей допускается при надлежащем обосновании и при условии отсутствия у них в применяемых дозах токсических эффектов и химического взаимодействия с исследуемым веществом, при этом разные дозы вещества следует вводить лабораторным животным в оптимальных объемах (до 1,0 мл – для мышей, до 5,0 мл – для крыс). Лабораторным животным контрольной группы аналогичным образом в том же объеме вводится растворитель;

13.3 оценка результатов: в течение 14 суток учитывают клинические проявления интоксикации и летальность лабораторных животных. Погибших и выживших лабораторных животных следует подвергать макроскопическому и/или патоморфологическому исследованию, при этом для вскрытия отбираются только те особи, гибель которых наступила не позже, чем за 3-5 часов до исследования. Классификацию вещества по степени их токсичности в условиях однократного внутрибрюшинного воздействия проводят согласно [3].

14. Определение половой и видовой чувствительности вещества:

14.1 выявление возможных различий в половой резистентности лабораторных животных к изучаемому веществу осуществляется путем формирования контрольных и опытных групп с равным числом самцов и самок. В случае, если в процессе опыта выявлено увеличение смертности особей одного пола суммарно в контрольной и опытной группах более чем на 20 %, различия считают существенными и дополнительно проводят исследования по установлению параметров острой токсичности вещества отдельно для самок и самцов;

14.2 оценку особенностей проявления видовой резистентности животных к токсическому действию вещества осуществляют с использованием коэффициента видовой чувствительности (далее – КВЧ);

14.2.1 интерпретацию результатов исследования видовой чувствительности проводят согласно приложению 1;

14.2.2 при величине КВЧ от 3,1 до 9,0 необходимо установить среднесмертельную дозу вещества на третьем виде лабораторных животных (целесообразно методом «одной точки»), а все дальнейшие исследования, в первую очередь подострые, проводить на наиболее

чувствительном к данному веществу виду лабораторных животных;

15. Определение средней смертельной концентрации вещества при однократном ингаляционном воздействии:

15.1 ингалируют не менее 3-х последовательно снижающихся концентраций, достаточных для расчета CL_{50} ; в случае, если вещество обладает малой токсичностью, то следует ввести максимально возможную концентрацию; каждая выбранная концентрация испытывается на 6-10 лабораторных животных. Для выбора концентраций и ориентировочной оценки опасности острого ингаляционного отравления возможно использовать формулы уравнений, основанные на связи между среднесмертельными концентрациями (CL_{50}) и среднесмертельными дозами при внутрижелудочном ($DL_{50 \text{ в/ж}}$) и внутрибрюшинном введении ($DL_{50 \text{ в/бп}}$):

$$\lg CL_{50} = 1,041 \lg DL_{50 \text{ в/ж}} + 0,29 \quad (1)$$

$$\lg CL_{50} = 0,91 \lg DL_{50 \text{ в/бп}} + 1,03 \quad (2)$$

15.2 при наличии метода определения вещества однократное ингаляционное воздействие проводят в каждой заданной концентрации в затравочных камерах в течение 2 часов (мыши) и 4 часов (крысы); возможно использование ингаляционной модели однократного интраназального введения дозатором дробно на вдохе лабораторного животного вещества крысам в однократной дозе, рассчитываемой в зависимости от заданной концентрации вещества в воздухе и средней массы лабораторных животных в каждой опытной группе по формуле

$$D = C \times V, \quad (3)$$

где D – однократная доза (рабочая концентрация вещества в мг в $0,1 \text{ см}^3$), C – заданные концентрации вещества (мг/м^3 воздуха), V – величина объема вдыхаемого воздуха ($\text{см}^3/\text{г/мин.}$), определяемая как произведение коэффициента 0,000156 (показатель легочной вентиляции для крыс – $0,65 \text{ см}^3$ умноженный на время ингаляции – 240 мин. и переведенный в единицы м^3 воздуха) на среднюю массу тела лабораторных животных опытной группы.

Лабораторным животным контрольной группы аналогичным способом в том же объеме вводится растворитель.

15.3 оценка результатов: в течение 14 суток учитывают клинические проявления интоксикации и летальность лабораторных животных. Погибших и выживших лабораторных животных следует подвергать макроскопическому и/или патоморфологическому исследованию, при этом для вскрытия отбираются только те особи, гибель которых наступила не позже, чем за 3-5 часов до исследования.

16. Определение пороговой концентрации острой токсичности вещества при однократном ингаляционном воздействии:

16.1 ингалируют не менее 3-х последовательно снижающихся концентраций, начиная с ориентировочной концентрации $1/5 CL_{50}$. Каждая концентрация вещества испытывается на 6-10 лабораторных животных. Лабораторным животным контрольной группы аналогичным способом в том же объеме вводится растворитель.

При выборе концентрации однократного ингаляционного воздействия можно ориентироваться на Lim_{ac} , рассчитанный по величине минимальной суточной терапевтической дозе (МСТД), DL_{50} при внутрибрюшинном и внутрижелудочном поступлении вещества в организм:

$$\lg Lim_{ac} = 0,65 \lg MCTD + 1,75 \quad (4)$$

$$\lg Lim_{ac} = 0,71 \lg DL_{50} \text{ в/бр} + 0,06 \quad (5)$$

$$\lg Lim_{ac} = 0,91 \lg DL_{50} \text{ в/ж} - 0,63 \quad (6)$$

16.2 постановка метода аналогично п. 15.2 настоящей инструкции. Через 4 и 24 часа после воздействия определяют у лабораторных животных проявления общетоксического действия методами оценки интегрального и функционального состояния органов и систем (физиологические, этологические, гематологические, биохимические и иные показатели);

16.3 оценка результатов: испытанную концентрацию вещества, вызывающую у лабораторных животных опытной группы статистически значимые изменения 1-2 наиболее чувствительных показателей по сравнению с таковыми у лабораторных животных контрольной группы при $p < 0,05$, оценивают как пороговую остро ингаляционного действия вещества (Lim_{ac}).

17. Определение степени выраженности (класса) местного раздражающего действия вещества на слизистую оболочку глаза (ирритативное действие):

17.1 для проведения опыта используют не менее 3-х кроликов, в нижний конъюнктивальный свод правого глаза которых однократно вносят пипеточным дозатором стандартную дозу по 50 мкг ($0,05 \text{ см}^3$) вещества в нативном виде или его раствор в максимально возможной концентрации в дистиллированной воде или индифферентном растворителе, в левый глаз (контрольный) аналогичным образом в том же объеме вводится растворитель [4];

17.2 оценка результатов: осуществляют визуальное наблюдение за состоянием слизистой оболочки глаз лабораторных животных на протяжении двух недель, регистрируют через 1 и 24 часа после внесения вещества и оценивают степень выраженности признаков раздражения слизистой оболочки глаз (гиперемия конъюнктивы и роговицы, отек век, выделения из глаза, их выраженность и длительность) согласно шкале, приведенной в таблице 2.1 приложения 2 к настоящей инструкции;

классификационную оценку веществ по выраженности раздражительного действия проводят согласно таблице 2.2 приложения 2 к настоящей инструкции.

18. Определение степени выраженности (класса) кожно-раздражающего действия вещества:

18.1 на предварительно (за сутки) выстриженные участки кожи (4×4 см) боковых поверхностей тела крыс (не менее 6 лабораторных животных в каждой группе) с правой стороны однократно наносят вещество в стандартной дозе из расчета 20 мг/см² в нативном виде или его раствор в максимально возможной концентрации в дистиллированной воде или индифферентном растворителе, на участок левого бока (контрольный) аналогичным образом в том же объеме наносят растворитель; на время экспозиции (4 часа) лабораторных животных фиксируют для исключения слизывания вещества с кожи, после экспозиции остатки вещества смывают;

18.2 оценка результатов: через 1 и 16 часов после завершения аппликации и смыва остатков вещества регистрируют видимые признаки интоксикации, явления раздражения и воспаления кожных покровов на местах аппликаций с визуальной оценкой интенсивности эритемы и величины отека, подтверждаемой данными инструментального измерения толщины кожной складки, согласно таблице 3.1 приложения 3 к настоящей инструкции; классификацию выраженности кожно-раздражающего действия вещества проводят согласно таблице 3.2 приложения 3 к настоящей инструкции.

19. Определение степени сенсibiliзирующей способности и аллергенной опасности вещества.

Поскольку антибактериальные лекарственные средства: природные (продукты микробиологического синтеза), полусинтетические (производные природных антибиотиков) и синтетические (продукты химического синтеза) – в основном являются гаптенами, определение степени их сенсibiliзирующей способности и аллергенной опасности проводят на экспериментальных моделях воспроизведения и выявления аллергии клеточноопосредованного типа (гиперчувствительность замедленного типа (далее – ГЗТ)) к химическим веществам.

Для определения сенсibiliзирующей способности возможно использовать стандартизованный максимизационный адьювантный тест (GPMТ) Магнуссона и Клигмана (B. Magnusson and A. M. Kligman); неадьювантный тест Бюхлера (E. V. Buehler) на морских свинках [5], метод внутрикожной сенсibiliзации в ухо морских свинок по Алексеевой-Петкевич.

Наиболее рациональна и доступна методика воспроизведения и выявления ГЗТ к фармацевтическим субстанциям антибактериальных

лекарственных средств на мышах в стандартных условиях [7]:

19.1 воспроизведение ГЗТ: в опытную и контрольную группы берут не менее 12 мышей; готовят рабочую концентрацию (0,35 %) вещества таким образом, чтобы стандартная сенсibilизирующая доза вещества 100 мкг на 1 лабораторное животное содержалась в 30 мкл раствора Хенкса (рН 7,5) или стерильного физиологического раствора 0,9 % NaCl (для водонерастворимых веществ в качестве растворителей используют диметилсульфоксид или этиловый спирт, ацетон в их конечной концентрации не более 20 %); из рабочей концентрации вещества и иммуностимулятора – полного адьюванта Фрейнда (далее – ПАФ) готовят смесь в соотношении 1:1 при интенсивном перемешивании на магнитной мешалке;

лабораторным животным опытной группы вводят внутрикожно в основание хвоста по 0,06 см³ смеси вещества и ПАФ, лабораторным животным контрольной группы – аналогичным образом в том же объеме смесь растворителя и ПАФ;

19.2 выявление ГЗТ: осуществляют на шестые сутки после введения сенсibilизирующей дозы постановкой провокационной пробы методом внутрикожного теста опухания лапы лабораторного животного (далее – ВТОЛ) путем внутрикожного введения туберкулиновым или микрошприцом в задние коллатеральные лапы (под апоневроз) лабораторным животным контрольной и опытной групп разрешающей дозы вещества по 120-140 мкг/животное в объеме 0,04 см³ растворителя, не вызывающей существенного неспецифического токсико-раздражающего эффекта у интактных мышей.

Учет выраженности отечно-воспалительной реакции кожи проводят по разнице результатов измерения толщины тестируемой лапы лабораторных животных микрометром до и через 24 часа после введения на месте провокационной пробы с точностью измерения до 0,001 мм; абсолютный показатель ВТОЛ у каждого лабораторного животного выражают в величинах 10⁻² мм. Для оценки степени выраженности сенсibilизации используют интегральный показатель ВТОЛ, который определяют в баллах согласно шкале, приведенной в таблице 4.1 приложения 4 к настоящей инструкции;

19.3 оценка результатов: степень выраженности сенсibilизирующей способности вещества определяют по следующим критериям: по частоте (в процентах) положительных внутрикожных тест-реакций в баллах у лабораторных животных опытных групп и уровням статистической значимости различий среднегрупповых величин интегрального показателя ВТОЛ в опыте и контроле по математическому критерию t Стьюдента и по непараметрическому критерию «Х» Ван дер Вардена, учитывающему различия в опытной и контрольной группах по частоте проявления и

величинам интегрального показателя ГЗТ в баллах у отдельных лабораторных животных. С учетом данных критериев определяют степень сенсibiliзирующей способности и аллергенной опасности вещества согласно таблице 4.2 приложения 4 к настоящей инструкции.

20. Определение степени выраженности кумулятивного действия вещества при субхроническом внутрижелудочном введении.

Позволяет оценить в субхроническом эксперименте выраженность кумулятивных свойств вещества – способность при многократном внутрижелудочном введении накапливаться в организме и оказывать неблагоприятное действие на уровне проявления смертельных эффектов или на функциональное состояние ряда органов и систем лабораторных животных (выявление наиболее поражаемых функций, органов и систем организма и уточнение некоторых механизмов токсического действия – особенности токсикодинамики):

20.1 внутрижелудочно крысам вводят вещество в дозе $1/10 DL_{50}$ (при выявлении потенциальной кумулятивности вещества при прогнозировании с применением методов *in silico*, эксперимент проводится с использованием не менее трёх доз: $1/20 DL_{50}$, $1/10 DL_{50}$, $1/5 DL_{50}$), лабораторные животные контрольной группы получают в эквивалентных количествах растворитель. В случае, если DL_{50} не установлена, то в эксперименте следует использовать дозу, кратную $1/10$ ($1/20$; $1/10$; $1/5$) от максимально введенной в остром опыте;

20.2 вещество в заданной концентрации в водном растворе, растительном масле или индифферентном растворителе, соответствующей каждой выбранной дозе, вводят в желудок крысам натошак ежедневно 5 раз в неделю в течение 45 суток; лабораторным животным контрольной группы аналогичным образом в том же объеме вводится растворитель. Кормление лабораторных животных проводится не ранее чем через 3 часа после введения вещества;

20.3 оценка результатов проводится по степени выраженности кумулятивного действия по клиническим проявлениям интоксикации и с расчетом величины коэффициента кумуляции и оценкой кумулятивной активности по классификации Л. И. Медведя [10], при наличии летальных эффектов:

20.3.1 в течение эксперимента учитывают клинические проявления интоксикации, изменения массы тела лабораторных животных, летальность и сроки их гибели, подвергают макроскопическому и/или патоморфологическому исследованию; до (исходные показатели) и после окончания экспериментов у лабораторных животных опытных и контрольных групп изучают физиологические показатели (величина суммационно-порогового показателя (СПП), артериальное давление, частота сердечных сокращений (ЧСС), показатели поведенческой и

нейрофизиологической активности; определяют относительные коэффициенты массы (ОКМ) внутренних органов, а также морфофункциональные показатели крови и мочи, биохимические показатели сыворотки;

20.3.2 количественную оценку материального типа кумуляции проводят с использованием классического метода Ю. С. Кагана и В. В. Станкевича [9], расчет коэффициента кумуляции по летальным эффектам проводят по формуле:

$$K_{cum} = DL_{50subchr} / DL_{50 в/ж}, \quad (7)$$

где $DL_{50subchr}$ – суммарная среднесмертельная доза, вызвавшая гибель 50 % лабораторных животных при многократном введении; $DL_{50 в/ж}$ – среднесмертельная доза, вызвавшая гибель 50 % лабораторных животных при однократном внутрижелудочном введении;

20.3.3 по степени выраженности кумулятивного эффекта – величине коэффициента кумуляции (K_{cum}) – вещество относят к соответствующей группе [10]:

1. Сверхкумулятивной активности – $K_{cum} < 1,0$;
2. Выраженной кумулятивной активности – $1,1 < K_{cum} < 3,0$;
3. Средней кумулятивной активности – $3,1 < K_{cum} < 5,0$;
4. Слабой кумулятивной активности – $K_{cum} > 5,1$.

21. Определение выраженности кожно-резорбтивного действия вещества при многократном эпикутанном воздействии.

Позволяет оценить в субхроническом эксперименте способность вещества проникать через неповрежденную кожу и вызывать интоксикацию организма при многократном воздействии на кожные покровы:

21.1 формируют контрольную и опытную группы лабораторных животных (крысы, не менее 10 в каждой группе), хвосты крыс на 2/3 длины помещают в пробирки с исследуемым веществом в максимальной концентрации в воде или индифферентных растворителях, не оказывающей существенного раздражающего действия в однократных опытах при аппликациях на кожу, с экспозицией ежедневно по 4 часа 5 раз в неделю в течение 4-х недель; хвосты лабораторных животных контрольной группы аналогичным образом погружают в пробирки с соответствующим растворителем. По окончании ежедневной экспозиции остатки вещества смывают теплой водой;

21.2 оценка результатов: учитывают клинические проявления интоксикации, изменения массы тела лабораторных животных, летальность и сроки их гибели, признаки раздражения кожи хвостов, макроскопически оценивают изменения внутренних органов; до (исходные показатели) и после окончания экспериментов у лабораторных животных контрольных и опытных групп изучают физиологические

показатели (величина СПП, артериальное давление, ЧСС), показатели поведенческой и нейрофизиологической активности; определяют ОКМ внутренних органов, а также морфофункциональные показатели крови и мочи, биохимические показатели сыворотки.

22. Определение пороговой концентрации острого антимикробного (дисбиотического) действия вещества при однократном ингаляционном воздействии.

Позволяет оценить в эксперименте способность вещества оказать вредное действие на нормальную микрофлору кишечника организма при однократном ингаляционном воздействии и определить пороговую концентрацию острого антимикробного (дисбиотического) действия ($Lim_{ac\ am}$):

22.1 изучают не менее 3-х последовательно снижающихся концентраций, начиная с ориентировочной концентрации $1/5 CL_{50}$ или при ее неустановлении начиная концентрации, рассчитанной по формулам (1, 2); каждую выбранную концентрацию испытывают на 6-10 крысах;

22.2 ингаляционное воздействие на лабораторных животных в каждой заданной концентрации проводят в затравочных камерах в течение 4 часов. Возможно использование ингаляционной модели интраназального введения, при котором вещество вводят дозатором (дробно на вдохе животного) крысам в дозе (аналогично п. 15.2 настоящей инструкции), рассчитываемой в зависимости от заданной концентрации вещества в воздухе и средней массы лабораторных животных по формуле (3). Лабораторным животным контрольной группы аналогичным способом в том же объеме вводится растворитель.

Количественную характеристику микроорганизмов кишечника осуществляют микробиологическим обследованием фекалий лабораторных животных опытных и контрольной групп до (фон), через 20 и 144 часа (восстановительный период) после однократного ингаляционного воздействия. Определяют количество колониеобразующих единиц микроорганизмов в абсолютных (КОЕ/г) и относительных (lg КОЕ/г) величинах по 2-м основным группам (приложение 5 к настоящей инструкции): 1 группа бактериологических показателей включает микроорганизмы, которые встречаются в 100 % посевов (бифидобактерии, кишечная палочка, золотистый стафилококк, фекальные энтерококки); 2 группа показателей включает микроорганизмы, которые встречаются в 15–30 % посевов (лактозонегативные условно-патогенные грамотрицательные бактерии, клостридии и дрожжеподобные грибы рода кандиды).

Отбор и приготовление исходного разведения фекалий лабораторных животных, культивацию их посевов, питательные среды, используемые разведения и условия культивирования микроорганизмов,

их идентификацию, количественный учет и расчет микроорганизмов (КОЕ) в 1 грамме фекалий осуществляют согласно [11];

22.3 оценка результатов: реакцию нормальной микробиоты на воздействие вещества разделяют на две категории:

22.3.1 первая категория – кратковременные изменения микробиоты, не сопровождающиеся нарушением физиологических функций макроорганизма и быстро восстанавливающейся после прекращения воздействия вещества (дисбактериальные реакции, являющиеся отражением процесса адаптации биоценоза макроорганизма – микробиоты к изменившимся условиям внешней среды).

Критерии дисбактериальных реакций:

Изменения первой группы микроорганизмов (таблица 5.1, приложения 5 к настоящей инструкции) у лабораторных животных опытной группы статистически значимо ($p \leq 0,05$) отличаются от таковых в контрольной группе, однако находятся в пределах физиологической нормы (фона) и быстро восстанавливаются после прекращения воздействия вещества;

изменения второй группы микроорганизмов (таблица 5.1, приложения 5 к настоящей инструкции) у лабораторных животных опытной группы статистически значимо ($p \leq 0,01$) отличаются от таковых в контрольной группе, но восстанавливаются после прекращения воздействия вещества;

22.3.2 вторая категория – стойкие количественные и качественные изменения микробиоты кишечника, сохраняющиеся после окончания воздействия вещества (дисбактериоз).

Критерии дисбактериоза:

изменения у лабораторных животных опытных групп не менее двух микробиологических показателей первой и/или второй групп микроорганизмов статистически значимо ($p \leq 0,05$) отличаются от лабораторных животных контрольной группы и выходят за пределы физиологических колебаний ($\pm 2\sigma$) среднегрупповых значений показателя лабораторных животных контрольной группы;

изменения у лабораторных животных опытной группы любого микробиологического показателя статистически значимо отличаются от показателя лабораторных животных контрольной группы, не выходят за пределы физиологической нормы, однако сохраняются после окончания восстановительного периода (в остром опыте – не менее 144 часов, в субхроническом опыте – не менее 1 месяца);

22.3.3 пороговая концентрация по антимикробному (дисбиотическому) действию на организм крыс вещества в острых ($Lim_{ac\ am}$) или повторных ингаляционных экспериментах ($Lim_{ch\ am}$) определяется как минимальная концентрация вещества, на которую

установлено дисбиотическое действие – дисбактериальные реакции, которые характеризуются возможным статистически значимым ($p \leq 0,05$) изменением после воздействия у лабораторных животных опытной группы количественного состава микробиоты кишечника более чем в 2 группах микроорганизмов по сравнению с лабораторными животными контрольной группы, но после восстановительного периода достоверные различия отсутствуют.

ГЛАВА 7

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОПАСНОСТИ ВЕЩЕСТВА ПРИ ПОВТОРНОМ ПОСТУПЛЕНИИ И ОБОСНОВАНИЕ ПДК_{ВРЗ}

23. Одновременное определение пороговых концентраций дисбиотического и аллергического действия вещества при повторном (в течение месяца) ингаляционном воздействии.

Позволяет рационально оценить способность вещества оказывать вредное действие на нормальную микробиоту кишечника организма и/или вызвать развитие аллергических реакций при многократном (в течение месяца) ингаляционном воздействии, определить пороговые концентрации хронического дисбиотического ($Lim_{ch\ am}$) и аллергического действия ($Lim_{ch\ al}$) вещества на организм крыс:

23.1 не менее трех последовательно снижающихся концентраций, начиная с величины пороговой острого дисбиотического действия ($Lim_{ac\ am}$), испытывается на не менее 8-10 крысах;

23.2 Подбор лабораторных животных (крыс-самцов) и формирование групп осуществляют с учетом массы тела (разница в массе лабораторных животных контрольной и опытных групп не должна превышать 10 %), у которых количественная характеристика микроорганизмов кишечника не отличается от нормальной, приведенной в таблице 6.1 приложения 6 к настоящей инструкции.

Для ингаляционного воздействия используют модель ингаляционного 4-х часового воздействия 5 раз в неделю на протяжении 1 месяца или модель интраназального введения лабораторным животным (аналогично п. 15.2 настоящей инструкции). При интраназальном введении вещество вводится ежедневно 5 раз в неделю в течение месяца в дозах, рассчитываемых в зависимости от концентраций вещества в воздухе и средней массы лабораторных животных опытных групп, измеряемой еженедельно, по формуле (3); лабораторным животным контрольной группы аналогичным образом в том же объеме вводится растворитель.

23.3 определение специфического действия на организм:

23.3.1 количественную характеристику микробиоты кишечника при бактериологическом исследовании фекалий лабораторных животных

опытных и контрольных групп (по 6 особей каждой группы) осуществляют на следующие сутки после месячного затравочного периода и при необходимости через 1 месяц после окончания затравки (восстановительный период) аналогично п. 22.2 настоящей инструкции;

23.3.2 на следующие сутки после завершения ингаляционного воздействия для прямого выявления формирования в организме немедленного анафилактического и/или клеточноопосредованного типов аллергических реакций применяют провокационный внутрикожный тест опухания лапы (ВТОЛ) с определением у лабораторных животных опытных и контрольных групп (по 10 особей из каждой группы) показателей активной кожной анафилаксии (АКА) и ГЗТ путем измерения и оценки разницы толщины лапы соответственно через 1-1,5 и 24 часа после провокационной пробы с разрешающей дозой вещества и до нее (постановка аналогично п. 19.2 настоящей инструкции).

Для лабораторной аллергодиагностики используют методы определения специфических реакции клеток крови на вещество в соответствии с методическими указаниями [7, п. 4.8] и [12, приложение 4].

23.4 оценка результатов:

23.4.1 реакцию микробиоты кишечника крыс и определение пороговой концентрации дисбиотического действия вещества при ингаляционном воздействии на организм оценивают аналогично п. 22.3;

23.4.2 при оценке показателей аллергического действия учитывают статистические различия среднегрупповых величин у лабораторных животных опытных групп по сравнению с контрольной группой и число животных опытной группы с проявлением эффекта (с положительными провокационными кожными пробами, выход индивидуального показателя лабораторной аллергодиагностики за пределы $\pm 1\sigma$ от контрольного уровня);

за пороговую концентрацию вещества по хроническому аллергическому действию на организм ($Lim_{ch\ al}$) принимают минимальную концентрацию субхронического ингаляционного воздействия на организм, на которую установлены проявления аллергического эффекта у 30 % и более лабораторных животных опытной группы (по ВТОЛ) даже при отсутствии значимых различий среднегрупповых показателей в опытной и контрольной группах;

за недействующую по сенсibiliзирующему эффекту принимают концентрацию, при воздействии которой положительные аллергологические тесты регистрируются у не более 25 % животных опытной группы при отсутствии статистически значимых различий среднегрупповых показателей у животных контрольной группы.

24. Определение порога хронического общетоксического действия вещества при хроническом ингаляционном воздействии.

Позволяет оценить в эксперименте характер и выраженность дозозависимого биологического действия вещества в хроническом 4-х месячном ингаляционном эксперименте, уточнить механизмы вредного действия и наиболее поражаемые системы и органы, определить лимитирующие показатели вредности и пороговую концентрацию хронического токсического действия вещества:

24.1 для проведения хронического исследования целесообразно рассчитать предварительные концентрации вещества, основываясь на экспериментально определённых параметрах токсикометрии с использованием соответствующих формул:

$$\lg \text{Lim}_{\text{ch}} = 0,61 \lg \text{Lim}_{\text{ac}} + 0,36 \text{ Lg MCTД} - 0,27 \quad (8)$$

$$\lg \text{Lim}_{\text{ch}} = 0,82 \lg \text{Lim}_{\text{ac}} + 0,36 \text{ Lg BCTД} - 0,78 \quad (9)$$

$$\lg \text{Lim}_{\text{ch}} = 0,7 \text{ Lg MCTД} + 0,82 \quad (10)$$

$$\lg \text{Lim}_{\text{ch}} = 0,74 \lg \text{Lim}_{\text{ac}} - 0,83 \text{ Lg } Z_{\text{sp}} - 0,46 \quad (11)$$

$$\lg \text{Lim}_{\text{ch}} = 0,72 \lg \text{Lim}_{\text{ac}} + 0,11 \lg \text{DL}_{50} \text{ в/ж} + 0,33 \lg K_{\text{кум}} + \quad (12)$$

$$+ 0,18 \lg \text{KBЧ} - 0,66 \lg Z_{\text{sp}} - 1,11$$

$$\lg \text{Lim}_{\text{ch}} = 0,59 \lg \text{DL}_{50} \text{ в/ж} + 0,31 \lg K_{\text{кум}} + \quad (13)$$

$$+ 0,31 \lg \text{KBЧ} - 0,64 \lg Z_{\text{sp}} - 1,51$$

При определении порога хронического общетоксического действия испытывают не менее трёх концентраций, снижающихся в 3-5 раз. Каждая из выбранных концентраций исследуется на группе лабораторных животных из не менее 8-10 крыс;

24.2 для проведения исследований подбирают лабораторных животных (крыс-самцов) и формируют группы осуществляют с учетом массы тела (разница в массе лабораторных животных контрольной и опытных групп не должна превышать 10 %):

24.2.1 для ингаляционного воздействия используют модель ингаляционного 4-х часового воздействия 5 раз в неделю на протяжении 4-х месяцев или модель интраназального введения лабораторным животным. При интраназальном введении (аналогично п. 15.2) вещество вводится ежедневно 5 раз в неделю в течение 4-х месяцев в дозах, рассчитываемых по формуле (3) в зависимости от концентраций вещества в воздухе и средней массы лабораторных животных опытных групп, измеряемой еженедельно; лабораторным животным контрольной группы аналогичным образом в том же объеме вводится растворитель;

24.2.2 определение токсического действия на организм осуществляют аналогично п. 20.3.1 настоящей инструкции;

24.2.3 рациональна постановка методов определения специфического дисбиотического и аллергического действия аналогично п. 23.3, а также иммунотоксического действия на организм по комплексу иммунологических показателей оценки клеточного и гуморального иммунитета, неспецифической резистентности организма.

24.3 оценка результатов: устанавливают у лабораторных животных каждой опытной группы сдвиги среднегрупповых величин изученных морфофункциональных показателей организма, различающихся с контрольной группой животных при $p < 0,05$ и ниже; определяют минимальную испытанную концентрацию вещества – Lim_{ch} , вызывающую достоверные сдвиги у лабораторных животных опытных групп 1-2 изученных морфофункциональных лимитирующих показателей, характеризующихся дозозависимостью и отражающих ведущие механизмы хронического токсического действия вещества на организм.

25. Обоснование величины предельно допустимой концентрации (ПДК_{впрз}) и класса опасности вещества в воздухе рабочей зоны:

25.1 выбор лимитирующего критерия ведущего вредного действия на организм вещества:

если лимитирующим критерием ведущего вредного действия на организм является специфический аллергический или дисбиотический эффект, т.е. величина пороговой концентрации специфического действия ($Lim_{ch\ al}$ или $Lim_{ch\ am}$) при повторном ингаляционном воздействии на организм ниже пороговой величины хронической токсичности (Lim_{ch}) в 3 и более раз, то вещество опасно как этиологический агент аллергических и/или дисбиотических заболеваний и нормируется по величине установленной недействующей концентрации по своему специфическому действию без введения коэффициента запаса с пометкой «А»;

если величины пороговых концентраций хронического общетоксического (Lim_{ch}) и специфического действия ($Lim_{ch\ al}$ или $Lim_{ch\ am}$) существенно не отличаются (кратность соотношения в пределах ± 3) или равны, то вещество оценивают как потенциально опасное в плане развития токсико-аллергических эффектов и его следует нормировать по правилам регламентации веществ общетоксического действия, сопровождая пометкой «А»;

если лимитирующим критерием является хроническое общетоксическое действие (величина пороговой концентрации хронической токсичности (Lim_{ch}) более, чем в 3 раза ниже величин пороговых концентраций специфического действия ($Lim_{ch\ al}$ или $Lim_{ch\ am}$), то вещество нормируют как обладающее общетоксическим воздействием без учета специфических свойств.

25.2 при обосновании величины ПДК_{впрз} вещества по пороговой концентрации хронической токсичности для экстраполяции экспериментальных данных на организм человека к величине Lim_{ch} вводят коэффициент запаса (K_3), который рассчитывают с учетом формул, приведенных в методических рекомендациях [13].

25.3 обоснование коэффициента запаса:

для характеристики потенциальной опасности используют величину КВИО – отношение максимально достижимой концентрации паров вещества в воздухе при 20 °С к CL_{50} (КВИО_{CL}) или к Lim_{ac} (КВИО_{ac}); биологическую активность вещества на разных уровнях воздействия оценивают по величинам $CL_{50} > Lim_{ac}$ и Lim_{ch} ; активность вещества оценивают по величинам зон хронического и биологического действия; межвидовые различия в чувствительности подопытных животных оценивают по величине КВЧ.

В зависимости от результатов обоснования коэффициента запаса эксперимента возможно проводить по двум вариантам:

25.3.1 при первом варианте расчет коэффициента запаса проводят исходя из значений 5 показателей: CL_{50} , Lim_{ch} , КВИО_{CL}, Z_b , КВР. Исходные данные приведены в таблице 6.1 приложения 6 к настоящей инструкции;

25.3.2 по второму варианту расчет коэффициента запаса проводят в случае недостижимости в стандартных условиях эксперимента величины CL_{50} , в этом случае коэффициент запаса обосновывают, исходя из значений показателей: Lim_{ac} , Lim_{ch} , Z_{ch} , КВИО_{ac}, КВР, приведенных в таблице 6.2 приложения 6 к настоящей инструкции;

25.3.3 для расчета величины коэффициента запаса в каждом из 5 разделов показателей, обозначенных римскими цифрами в таблицах 6.1 или 6.2 приложения 6 к настоящей инструкции (в зависимости от результатов эксперимента) выбирают графу, относящуюся к полученным данным опыта и соответствующий им балл, определенные по разделам баллы суммируются, по таблице 6.3 приложения 6 к настоящей инструкции определяют по сумме баллов соответствующую величину коэффициента запаса;

25.3.4 для расчета величины CL_{50} по величинам DL_{50} в/ж и DL_{50} в/бр вещества используют формулы (1 и 2); расчет величины порога острого ингаляционного действия (Lim_{ac} в мг/м³) по величинам DL_{50} при внутрибрюшинном и внутрижелудочном поступлении вещества в организм осуществляют по формулам (4, 5);

25.3.5 зону хронического действия вещества (Z_{ch}) рассчитывают отношением величины Lim_{ac} к величине Lim_{ch} , а зону биологического действия вещества (Z_b) определяют расчетом отношения величины CL_{50} к величине Lim_{ch} ;

25.3.6 величину КВИО_{CL} вещества определяют расчетом отношения максимально достижимой концентрации паров вещества в воздухе при 20 °С к величине CL_{50} , а величину КВИО_{ac} – расчетом отношения максимально достижимой концентрации паров вещества в воздухе при 20 °С к величине Lim_{ac} .

25.4. Величина ПДК_{врз} вещества устанавливается:

для вещества с ведущим вредным аллергическим действием на организм – на уровне величины недействующей концентрации с отметкой «А» – аллерген;

для вещества с ведущим вредным дисбиотическим действием – на организм на уровне величины недействующей концентрации;

для вещества с ведущим вредным хроническим общетоксическим действием на организм – на уровне величины Lim_{ch} , кратно сниженной на величину K_3 ;

для вещества с ведущим вредным хроническим общетоксическим и аллергическим действием на организм – на уровне величины Lim_{ch} , кратно сниженной на величину K_3 , с отметкой «А» – аллерген.

25.5. Класс опасности вещества по степени воздействия на организм устанавливается в соответствии [2].

Приложение 1
к Инструкции по применению
«Метод гигиенического
нормирования содержания
антибактериальных лекарственных
средств в воздухе рабочей зоны»
(Справочное)

Зависимость характера видовой чувствительности животных от величины
коэффициента видовой чувствительности [13]

Ранги КВЧ	Величины КВЧ	Характеристика видовой резистентности
I	менее 3,0	не выражена
II	3,1-9,0	выражена
III	более 9,1	резко выражена

Приложение 2
к Инструкции по применению
«Метод гигиенического
нормирования содержания
антибактериальных лекарственных
средств в воздухе рабочей зоны»
(Справочное)

Таблица 2.1 – Шкала оценки ирритативного действия веществ [4]

Симптомы повреждения		Характеристика выраженности симптомов	Оценка, балл
А	Гиперемия конъюнктивы	Отсутствие гиперемии	0
		Сосуды инъецированы	1
		Отдельные сосуды трудно различить	2
		Диффузное глубокое покраснение	3
Б	Отек век	Отсутствие отека	0
		Слабый отек	1
		Выраженный отек с частичным выворачиванием век	2
		В результате отека глаз закрыт наполовину	3
		В результате отека глаз закрыт полностью	4
В	Выделения из глаза	Отсутствие выделений	0
		Минимальное количество в углу глаза	1
		Количество выделений увлажняет веки	2
		Количество выделений увлажняет веки и окружающие ткани	3

Примечание: для оценки степени повреждающего действия проводят суммирование баллов интенсивности каждого из симптомов для каждого взятого в эксперимент животного.

Таблица 2.2 – Классификационная оценка веществ по выраженности ирритативного действия

Выраженность раздражающего действия	Средний суммарный балл выраженности ирритативного действия	Классы
Отсутствие	0	0
Слабое	1-3	1
Умеренное	4-6	2
Выраженное	7-10	3
Резко выраженное	Более 10	4

Приложение 3
к Инструкции по применению
«Метод гигиенического
нормирования содержания
антибактериальных лекарственных
средств в воздухе рабочей зоны»
(Справочное)

Таблица 3.1 – Кожно-раздражающее действие веществ [5]

I. Оценка степени эритемы

Интенсивность эритемы визуально	Оценка в баллах
Отсутствие эритемы	0
Слабая (розовый тон)	1
Умеренно выраженная (розово-красный тон)	2
Выраженная (красный тон)	3
Резко выраженная (ярко-красный тон)	4

II. Оценка отека кожи животных

Интенсивность отека (нарастание толщины кожной складки животных, измеряемой толщиномером или микрометром, по сравнению с фоном, мм)			Оценка отека в баллах
Градации интенсивности	Экспериментальные животные		
	кролики	морские свинки, белые крысы	
Отсутствие	0-0,09	0-0,09	0
Слабая	0,1-0,59	0,1-0,39	1
Выраженная	0,6-1,09	0,4-0,69	3
Резко выраженная	1,1-2,01	0,7-1,01	4

Примечание: обработка данных – количественная оценка степени индукции эритемы и отека (в баллах) суммируются для каждого лабораторного животного в отдельности, после чего вычисляется средняя оценка выраженности кожно-раздражающего действия вещества для соответствующей группы экспериментальных животных.

Таблица 3.2 – Классификация выраженности кожно-раздражающего действия веществ [5]

Классы	Среднегрупповой суммарный балл выраженности отека и эритемы	Выраженность местного раздражающего действия
0	0	Отсутствие раздражающего действия
1	0,1-2,0	Слабо раздражающее действие
2	2,1-4,0	Умеренно раздражающее действие
3	4,1-6,0	Выраженное раздражающее действие
4	6,1-8,0	Резко выраженное раздражающее действие
5	Некроз	Чрезвычайно сильное раздражающее действие, когда в стандартных условиях неразбавленное химическое соединение и его растворы вызывают некроз кожи

Приложение 4
к Инструкции по применению
«Метод гигиенического
нормирования содержания
антибактериальных лекарственных
средств в воздухе рабочей зоны»
(Справочное)

Таблица 4.1 – Шкала перевода абсолютных величин ВТОЛ в интегральный показатель [7]

Абсолютная величина ВТОЛ в 10^{-2} мм	Интегральный показатель ВТОЛ в баллах
до 10,0	0
10,1-20,0	1
20,1-30,0	2
30,1-40,0	3
40,1-50,0	4
Более 50,1	5

Таблица 4.2 – Классификация вещества по сенсibiliзирующей способности и аллергенной опасности [8]

Критерии	Классы сенсibiliзирующей способности и аллергенной опасности (сила аллергена/степень опасности)			
	1 (сильные/ чрезвычайно опасные)	2 (выраженные/ опасные)	3 (умеренные/ умеренно опасные)	4 (слабые/ малоопасные)
H ¹⁾	75 и более	более 50	50 и более	25 и более
Pt	< 0,01-0,001	< 0,05-0,01	< 0,05	> 0,05
Px	< 0,01	< 0,05	> 0,05	> 0,05

Примечания: H¹⁾ – выявляемость сенсibiliзации по частоте положительного теста ВТОЛ в баллах у лабораторных животных опытной группы в %; Pt – уровень значимости достоверных различий среднегрупповых величин интегрального показателя ВТОЛ в опытной и контрольной группах по критерию t Стьюдента; 3) Px – то же по критерию «X».

Приложение 5
к Инструкции по применению
«Метод гигиенического
нормирования содержания
антибактериальных лекарственных
средств в воздухе рабочей зоны»
(Справочное)

Таблица 5.1 – Нормальное количественное содержание основных групп микроорганизмов в фекалиях интактных крыс [11]

Микроорганизмы	Объем выборки	Частота встречаемости микроорганизма (%)	$M \pm m$ (lg КОЕ/г)	σ
1 группа микроорганизмов				
Анаэробные бактерии	220	100	$9,22 \pm 0,06$	0,92
Кишечная палочка	220	100	$6,13 \pm 0,07$	1,08
Стафилококки	143	100	$4,21 \pm 0,08$	0,90
Фекальные стрептококки	150	100	$5,35 \pm 0,13$	1,65
Лактобактерии	219	100	$8,66 \pm 0,07$	1,04
2 группа микроорганизмов				
Лактозонегативные условно-патогенные грамотрицательные бактерии	173	19	$3,49 \pm 0,15$	0,83
Клостридии	129	9	$2,81 \pm 0,26$	0,87

Приложение 6
к Инструкции по применению
«Метод гигиенического
нормирования содержания
антибактериальных лекарственных
средств в воздухе рабочей зоны»
(Справочное)

Обоснование коэффициента запаса [13]

Таблица 6.1 – Расчет коэффициента запаса по первому варианту

I	CL ₅₀ , мг/м ³ баллы	≤ 500 8	501-5000 6	5001-50000 4	> 50000 2
II	Lim _{ch} , мг/м ³ баллы	≤ 1 8	1,1-10 6	11-100 4	> 100 2
III	Z _в баллы	> 1000 8	1000-101 6	100-10 4	< 10 2
IV	КВИО _{сЛ} баллы	> 300 8	300-30 6	29-3 4	< 3 2
V	КВР баллы	> 9 9	9-3 6	< 3 4	- -

Таблица 6.2 – Расчет коэффициента запаса по второму варианту

I	Lim _{ас} , мг/м ³ баллы	< 10 8	10-100 6	101-1000 4	> 1000 2
II	Lim _{ch} , мг/м ³ баллы	≤ 1 8	1,1-10 6	11-100 4	>100 2
III	Z _{ch} баллы	>10 8	10-5 6	4,9-2,5 4	<2,5 2
IV	КВИО _{ас} баллы	>10000 8	9999-1000 6	999-100 4	<100 2
V	КВР баллы	> 9 8	9-3 6	<3 4	- -

Таблица 7.3 – Величина коэффициента запаса в зависимости от суммы баллов

Сумма баллов	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	32	34–40
Коэффициент	4	5	6	7	8	9	10	12	14	16	18	20

БИБЛИОГРАФИЯ*

1. Беленький, М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М. Л. Беленький. – Рига, 1959. – 114 с.
2. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности : ГОСТ 12.1.007-76. – Введ. 17.12.1992 г. // Система стандартов безопасности труда : сб. стандартов. – Минск, 2008. – Ч. 1. – С. 183–186.
3. Надлежащая лабораторная практика : ТКП 125-2008 : утв. постановлением М-ва здравоохран. Респ. Беларусь 28.03.2008, № 56. – Введ. 01.05.2008. – Минск, 2008. – 35 с.
4. Постановка исследований по изучению раздражающих свойств и обоснованию предельно допустимых концентраций избирательно действующих раздражающих веществ в воздухе рабочей зоны : инструкция 1.1.10-13-57-2005 / М-во здравоохранения РБ. – Минск, 2005. – 16 с.
5. Оценка воздействия вредных химических соединений на кожные покровы и обоснование предельно-допустимых уровней загрязнений кожи : инструкция 1.1.10-13-56-2005 / М-во здравоохранения РБ. – Минск, 2005. – 23 с.
6. Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Испытания по оценке кожной сенсибилизации : ГОСТ 32375–2013. – М. : Стандартинформ, 2019. – 15 с.
7. Требования к постановке экспериментальных исследований по изучению аллергенных свойств и обоснованию предельно допустимых концентраций химических аллергенов в воздухе рабочей зоны и атмосферы : метод. указания № 1.1.11-12-5-2003 / М-во здравоохранения Респ. Беларусь ; разработ. : В. В. Шевляков [и др.] // Сборник официальных документов по медицине труда и производственной санитарии / Респ. центр гигиены, эпидем. и обществ. здоровья, Респ. науч.-практ. центр гигиены ; под общ. ред. В. П. Филонова, С. М. Соколова. – Минск : ПЧУП «Бизнесофсет», 2004. – Ч. XIV. – С. 133–156.
8. Классификация и перечень алергоопасных для человека промышленных веществ, основные меры профилактики : руководство Р11-11-11 РБ 02 / М-во здравоохран. Респ. Беларусь ; разработ. : В. В. Шевляков [и др.] // Сборник официальных документов по медицине труда и производственной санитарии / Респ. центр гигиены, эпидем. и обществ. здоровья, Респ. науч.-практ. центр гигиены ; под общ. ред. В. П. Филонова, С. М. Соколова. – Минск : ПЧУП «Бизнесофсет», 2003. – Ч. XI. – С. 94–126.
9. Каган, Ю. С. Коэффициент кумуляции как количественный критерий / Ю. С. Каган, В. В. Станкевич // Актуальные вопросы гигиены

труда, промышленной токсикологии и профессиональной патологии в нефтяной и нефтехимической промышленности. – Уфа. – 1964. – С. 48–49.

10. Медведь, Л. И. Пестициды и проблемы здравоохранения / Л. И. Медведь, Ю. С. Каган, Е. И. Спыну // Журн. Всесоюзн. хим. о-ва им. Д. И. Менделеева. – 1968. – Т. 13, № 3. – С. 263–271.

11. Методы экспериментального определения дисбиотического действия микроорганизмов-продуцентов и биотехнологических препаратов на их основе : инструкция по применению № 008-0914 : утв. Гл. гос. санитар. врачом Респ. Беларусь 09.09.2014 ; разработ. : Н. В. Дудчик [и др.]. – Минск, 2014. – 14 с.

12. Требования к постановке токсиколого-аллергологических исследований при гигиеническом нормировании белоксодержащих аэрозолей в воздухе рабочей зоны : метод. указания 11-11-10 РБ-02 / М-во здравоохран. Респ. Беларусь ; разработ. : В. В. Шевляков [и др.] // Сборник официальных документов по медицине труда и производственной санитарии / Респ. центр гигиены, эпидем. и обществ. здоровья, Респ. науч.-практ. центр гигиены ; под общ. ред. В. П. Филонова, С. М. Соколова. – Минск : ПЧУП «Бизнесофсет», 2004. – Ч. XIV. – С. 4–49.

13. Экспериментальное обоснование и расчет ОБУВ вредных веществ в воздухе рабочей зоны : методические рекомендации № 118-0010 / М-во здравоохранения Респ. Беларусь. – Минск, 2000. – 19 с.

** При пользовании настоящей инструкцией по применению целесообразно проверить действие ссылочных документов. Если ссылочный документ заменен (изменен), то при пользовании настоящей инструкцией по применению следует руководствоваться заменяющим (измененным) документом. Если ссылочный документ отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.*