

https://doi.org/10.29296/2618723X-2018-04-06

Опыт применения теста максимизации Магнуссона и Клигмана на морских свинках при оценке сенсибилизирующего потенциала химических веществ

Д.Р. Каргопольцева¹, ветеринарный врач группы специфической токсикологии, К.Л. Крышень¹, кандидат биологических наук, руководитель отдела токсикологии и микробиологии, А.Е. Кательникова¹, кандидат медицинских наук, руководитель группы специфической токсикологии, Я.А. Гущин², руководитель отдела гистологии и патоморфологии, М.Н. Макарова², доктор медицинских наук, директор, В.Г. Макаров¹, доктор медицинских наук, заместитель директора ¹Институт доклинических исследований, 188663, Российская Федерация, Ленинградская обл., Всеволожский район, г.п. Кузьмоловский, ул. Заводская, д. 3, корп. 245; ²НПО «Дом Фармации», 188663, Российская Федерация, Ленинградская обл., Всеволожский район, г.п. Кузьмоловский, ул. Заводская, д. 3, корп. 245 E-mail: kargopoltceva.dr@doclinika.ru

Резюме. Для регистрации лекарственных препаратов для накожного применения необходимо, согласно OECD Test No: 406, изучение сенсибилизирующего потенциала в тесте максимизации Магнуссона и Клигмана (адъювантный тест) и тесте Бюхлера (неадъювантный тест). В качестве адъюванта в тесте максимизации Магнуссона и Клигмана используется полный адъювант Фрейнда (ПАФ), который неспецифически усиливает иммунную реакцию на чужеродные антигены, способствуя, таким образом, усилению иммунного ответа на 1-й стадии сенсибилизации. Поскольку в Европейском Союзе рекомендовано применение теста максимизации Магнуссона и Клигмана, мы провели процедуру данного теста и описали ее. Приведен также анализ сенсибилизирующего потенциала химических веществ на примере растворов формалина и динитрохлорбензола, которые можно использовать в качестве позитивного контроля при проведении дальнейших исследований. Исследование включало в себя 3 стадии: стадия сенсибилизации (1-я) с внутрикожным введением исследуемых объектов и ПАФ, стадия сенсибилизации (2-я) и стадия разрешения с накожными аппликациями (3-я). На стадии сенсибилизации исследуемые объекты применяли в концентрации, описание которой имеется в литературе, которая не вызывает чрезмерного раздражения кожи и системной реакции организма, а на стадии разрешения концентрация исследуемых объектов вовсе не вызывает кожно-раздражающего действия. Оценку кожной реакции проводили через 48 и 72 ч после нанесения разрешающей дозы исследуемых объектов по балльной шкале Магнуссона-Клигмана. Согласно итогам исследования, более интенсивная кожная реакция, как при визуальной, так и микроскопической оценке, была выявлена при использовании динитролхлорбензола.

Ключевые слова: формалин, динитролхлорбензол, кожная сенсибилизация, тест Магнуссона и Клигмана, морские свинки.





Для цитирования: Каргопольцева Д.Р., Крышень К.Л., Кательникова А.Е., Гущин Я.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Опыт применения теста максимизации Магнуссона и Клигмана на морских свинках при оценке сенсибилизирующего потенциала химических веществ. Лабораторные животные для научных исследований. 2018; 4. https://doi.org/10.29926/2618723X-2018-04-06

Experience of Magnusson and Kligman guinea pigs maximization test in studies of the sensitizing potential of chemical substances

D. Kargopoltseva¹, K. Kryshen¹, A. Katelnicova¹, Ya. Gushchin², M. Makarova², V. Makarov¹

¹Institute of pre-clinical studies

188663, Leningradskiy region, Vsevolozhskiy district, Kuzmolovskiy,

3, Zavodskaya st., b. 245, Russia;

²Scientific-Production Organization «Houm of Pharmacy»

188663, Leningradskiy region, Vsevolozhskiy district, Kuzmolovskiy,

3, Zavodskaya st., b. 245, Russia

E-mail: kargopoltceva.dr@doclinika.ru

Summary. According to OECD Test No: 406, the necessary research for drug registration for skin application is the study of the sensitizing potential in the Magnusson and Kligman maximization test (adjuvant test) and Bühler (non-adjuvant test). The complete Freund's adjuvant (PAF) is used as an adjuvant in the maximization test of Magunsson and Kligman. The complete Freund's adjuvant is nonspecifically enhances the immune response to foreign antigens and enhances the immune response in the first stage of sensitization. The Magnusson and Kligman maximization test is used in most cases in the European Union, according to literary sources. This paper describes the procedure of performed this test, as well as an analysis of the sensitizing potential of chemicals using the example of formalin and dinitrochlorobenzene, which can be used as a positive control when conducting further research. This study included 3 stages: the stage of sensitization 1 with the intradermal injection of the test articles and PAF; stages of sensitization 2 and challenge with skin applications. The concentration of test articles used for each induction exposure was well-tolerated systemically and was the highest to cause mild-to-moderate skin irritation. The concentration used for the challenge stage was the highest non-irritant dose. Evaluation of the skin reaction was performed after 48 and 72 hours after the application of the test articles on the Magnusson-Kligman scale. According to the results of the study, it was found that a more intense skin reaction was detected when using DNHB, which registered visually and microscopically.

Key words: formalin, DNHB, skin sensitization, Magnusson and Kligman test, guinea pigs.

For citation: Kargopoltseva D., Kryshen K., Katelnicova A., Gushchin Ya., Makarova M., Makarov V. Experience of Magnusson and Kligman guinea pigs maximization test in studies of the sensitizing potential of chemical substances. Laboratory Animals for Science. 2018; 4. https://doi.org/10,29926/2618723X-2018-04-06

Введение

Для регистрации новых лекарственных препаратов в Российской Федерации и в рамках Евразийского Экономического Союза (ЕАЭС) должны быть предоставлены данные по изучению аллергизирующих свойств. В перечень доклинических исследований аллергизирующих свойств входит оценка сенсибилизирующего

потенциала химических веществ и лекарственных средств (ЛС) для наружного применения с целью уточнения вероятности развития контактного дерматита [1]. Для этих исследований обычно используются морские свинки, на которых были разработаны 2 типа тестов: адъювантные тесты, где сенсибилизация инициируется введением полного адъюванта Фрейнда (ПАФ), и неадъювантные тесты. В настоящее время предпочтение отдается максимизационному адъювантному тесту на морских свинках (GPMT) Магнуссона и Клигмана, и неадъювантному тесту Бюхлера. Однако максимизационный тест имеет преимущество, поскольку потенциал сенсибилизации оптимизирован использованием ПАФ, который неспецифически усиливает иммунную реакцию на чужеродные антигены, способствуя таким образом, усилению иммунного ответа на 1-й стадии сенсибилизации. В Европейском Союзе в 90% случаев для выявления кожной сенсибилизации прибегают к тесту Магнуссона и Клигмана на морских свинках [2].

Тест максимизации на морских свинках впервые был предложен в 1969 г. дерматологами Бертилем Магнуссоном и Альбертом Клигманом [3] и далее описан в их книге «Аллергический контактный дерматит на морских свинках», опубликованной в 1970 г.

В настоящее время данный тест регламентируется Руководством ОЕСО (Organization for Economic Cooperation and Development) Guidelines for testing of chemicals: Test No. 406: Skin Sensitisation [1], которое соответствует межгосударственному стандарту ГОСТ 32375-2013 [4].

Суть метода заключается во введении исследуемых объектов морским свинкам альбиносам в 3 этапа (рис. 1).

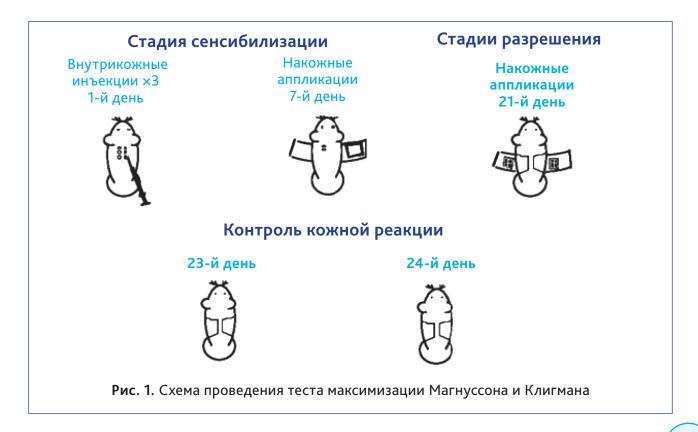


Таблица 1

Концентрации лекарственных препаратов и химических соединений для проведения теста максимизации Магнуссона и Клигмана, %

06	Сенсибили	Разрешение		
Объект	Внутрикожные инъекции	Местные аппликации	Местные аппликации	
Бензокаин	2	25	5	
Ланолин	5	25	15	
Неомицин	25	25	25	
Лаурилсульфат натрия	1	1	0,5	
Стрептомицин	10	10	0,5	
Твин 80	5	25	5	
Формалин	0,5	10	2	
Динитрохлорбензол	0,05	0,5	0,1	

- 1-я стадия сенсибилизации: внутрикожное введение исследуемых объектов в концентрации, не вызывающей чрезмерного раздражения кожи и системной реакции в 1-й день эксперимента;
- 2-я стадия накожных аппликаций: накожные аппликации исследуемыми объектами в концентрации, не вызывающей чрезмерного раздражения кожи и системной реакции на 7-й день эксперимента;
- 3-я стадия разрешения: накожные аппликации в концентрации, не имеющей кожно-раздражающего действия на 21-й день эксперимента.

Через 48 ч после введения разрешающей дозы исследуемых объектов оценивается кожная реакция по шкале Магнуссона–Клигмана в баллах. Через 72 ч после введения разрешающей дозы проводят повторную оценку кожной реакции. Тест можно считать положительным в случае выявления кожной реакции у 30% животных из группы [1, 4].

В настоящее время в литературе есть много данных с результатами проведения теста максимизации по методу Магнуссона и Клигмана и изучения сенсибилизирующих свойств различных лекарственных препаратов и химических соединений, некоторые из них представлены в табл. 1 [5–7].

С учетом анализа данных литературы были выбраны исследуемые объекты для проведения инициативного исследования по отработке теста максимизации с подтвержденным сенсибилизирующим потенциалом. Исследуемые объекты – медицинский формалин и динитрохлорбензол (ДНХБ), которые вызывают выраженную кожную реакцию в виде умеренной и сплошной эритемы, интенсивной эритемы и отека. Для последних уже были подобраны оптимальные концентрации для применения на всех стадиях эксперимента.

Цель данного исследования – оценка сенсибилизирующего потенциала химических веществ на примере формалина и динитрохлорбензола в тесте максимизации Магнуссона и Клигмана для применения в дальнейшей работе в качестве позитивного контроля.

Материал и методы

Экспериментальные животные. Исследования проводили на самках морских свинок альбиносов, полученных из питомника НПО «Дом Фармации».

Условия содержания. Морских свинок содержали группами по 3 особи в стандартных прозрачных пластиковых клетках, на древесном подстиле, в контролируемых условиях окружающей среды (температура воздуха − 20−26°С, относительная влажность − 30−70%). Световой режим: 12 ч света и 12 ч темноты. Стандартный корм для лабораторных животных: «ЛБК-120» (Тосненский комбикормовый завод); воду животные получали ad libitum. Дополнительно в рацион морских свинок входило сено. Данная научно-исследовательская работа была рассмотрена на биоэтической комиссии Института доклинических исследований и одобрена для проведения (№БЭК 1.10/18 от 2 февраля 2018 г.).

Исследуемые объекты. Согласно данным литературы, на стадии сенсибилизации исследуемые объекты необходимо применять в такой концентрации, которая не будет вызывать чрезмерного раздражения кожи и системной реакции организма, а на стадии разрешения концентрация исследуемых объектов вовсе не должна вызывать кожно-раздражающего действия [5, 11, 12]. В качестве исследуемых объектов были выбраны медицинский формалин и ДНХБ. Их концентрации выбирали, основываясь на данных литературы [1, 5, 6].

Дозы и способ введения. В соответствии с OECD Test No. 406, исследуемые объекты вводили однократно внутрикожно на стадии сенсибилизации на 1-й день эксперимента. На 7-й день эксперимента на стадии сенсибилизации животным однократно накожно наносили фрагменты фильтровальной бумаги, предварительно смоченные исследуемыми объектами, которые затем закрепляли на теле животного с помощью самофиксирующегося бинта на 48 ч. На 21-й день эксперимента в стадию разрешения животным однократно накожно наносили фрагменты фильтровальной бумаги, предварительно смоченные исследуемыми объектами, которые затем закрепляли на теле животного на 24 ч так, как это описано выше [7, 8].

На 1-й стадии сенсибилизации в 1-й день эксперимента формалин и раствор ДНХБ вводили животным в виде 0,5% и 0,05% растворов соответственно. Далее, на 2-й стадии сенсибилизации на 7-й день эксперимента формалин и раствор ДНХБ наносили в виде 10 и 0,5% растворов соответственно. Разрешение проводили на 21-й день эксперимента путем накожного нанесения формалина и раствора ДНХБ в виде 2 и 0,1% растворов соответственно.

В качестве контроля в эксперимент была включена группа животных, которым вводили и наносили физиологический раствор 0,9% натрия хлорида по аналогичной схеме в готовой концентрации.



Таблица 2

Характеристика экспериментальных животных

Группа	Исследуемый объект	Концентрация исследуемого объекта на 1-й стадии + ПАФ	Концентрация исследуемого объекта на 2-й стадии	Концентрация исследуемого объекта на 3-й стадии	
1-я	Формалин	0,5% раствор	10% раствор	2% раствор	
2-я	Физиологический раствор 0,9% натрия хлорид (контрольное вещество)	Готовый раствор	Готовый раствор	Готовый раствор	
3-я	днхб	0,05% раствор	0,5% раствор	0,1% раствор	

Дизайн исследования. Для проведения данного исследования было сформировано 3 группы животных по 6 самок морских свинок (табл. 2).

Стадия 1-я. Сенсибилизация: внутрикожные инъекции (1-й день эксперимента)

Перед внутрикожным введением исследуемых объектов участок кожи 3×2 см в области спины (куда осуществляли введение) выбривали. Животным осуществляли 3 пары внутрикожных инъекций по обе стороны от срединной линии спины (рис. 2).

- Инъекция 1: смесь из ПАФ и дистиллированной воды в соотношении 1:1 (по объему).
- Инъекция 2: исследуемый объект в соответствующей концентрации.
- Инъекция 3: исследуемый объект в соответствующей концентрации в смеси из ПАФ и дистиллированной воды в соотношении 2:1:1 (по объему).

Инъекции 1 и 2 делали рядом друг с другом ближе к голове, инъекцию 3 – на некотором отдалении от первых двух инъекций, ближе к хвостовой части тела [5–8].

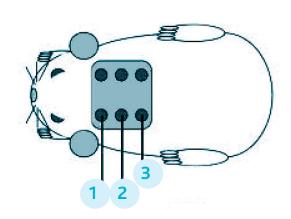


Рис. 2. Сенсибилизация (внутрикожное введение). З пары точек для внутрикожных инъекций: 1-0,1 мл 1:1 (по объему) смесь из ПАФ и дистиллированной воды; 2-0,1 мл исследуемый объект в соответствующем растворителе в заданной концентрации; 3-0,1 мл исследуемый объект в заданной концентрации в смеси 1:1 (по объему) из ПАФ и дистиллированной воды



Рис. 3. Сенсибилизация (местная аппликация). Фиксирующая повязка



Рис. 4. Стадия разрешения (местная аппликация). Фиксирующая повязка

Стадия 2-я. Сенсибилизация: местная аппликация (7-й день эксперимента)

Перед накожным нанесением исследуемых объектов в виде местных аппликаций участок кожи 4×5 см в области спины (куда осуществляли нанесение) выбривали.

Животным на выбритый участок кожи прикладывали кусочек фильтровальной бумаги (размер 2×4 см), предварительно пропитанный исследуемыми объектами в соответствующей концентрации в объеме 0,3 мл и закрепляли под герметичной повязкой из самофиксирующегося бинта (бандажа) фирмы «Pet flex», используемого в ветеринарии. После этого поверх самофиксирующегося бинта накладывали фиксирующий пластырь для более надежной фиксации на 48 ч (рис. 3).

Стадия 3-я. Стадия разрешения: местная аппликация (21-й день эксперимента)

Перед накожным нанесением исследуемых объектов в виде местных аппликаций участок кожи 4×5 см в области боковых поверхностей туловища (куда осуществляли нанесение) выбривали.

Животным наносили фрагменты фильтровальной бумаги, пропитанные исследуемыми объектами в объеме 0,3 мл, которые закрепляли на теле животных с по-

80

Таблица 3 Шкала Магнуссона-Клигмана для оценки реакции в тесте максимизации на морских свинках

Обнаруженные изменения кожных покровов	Балл			
Видимых изменений нет	0			
Разрозненная или неоднородная эритема	1			
Умеренная и сплошная эритема	2			
Интенсивная эритема и отек	3			

мощью самофиксирующегося бинта (бандажа) фирмы «Pet flex», используемого в ветеринарии. После этого поверх самофиксирующегося бинта накладывали фиксирующий пластырь для более надежной фиксации на 24 ч (рис. 4) [5–8].

Регистрация кожной реакции (визуальная оценка). Приблизительно через 48 ч от начала разрешающей аппликации проводили наблюдение за кожной реакцией, регистрировали реакцию и оценивали ее в баллах, согласно шкале Магнуссона-Клигмана.

Примерно через 24 ч (приблизительно через 72 ч от начала разрешающей аппликации) проводили повторное наблюдение и регистрацию реакции и оценку в баллах в соответствии со шкалой Магнуссона-Клигмана (табл. 3).

Согласно ГОСТ 32375-2013 и OECD Test No. 406: Skin Sensitisation, схема проведения данного теста не включает в себя дополнительных исследований, но для получения более полной информации о влиянии исследуемых объектов на организм животных было решено провести гистологическое исследование участка кожи, куда осуществляли нанесение разрешающей дозы исследуемых объектов.

Методы гистологического исследования

Для гистологического исследования кожи материал фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина в течение 24 ч [9], после чего по общепринятой методике заливали в парафин [10]. Затем изготавливали срезы толщиной 5-7 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Анализ гистологических препаратов осуществляли при помощи светооптического микроскопа Carl Zeiss Axio Scope A1 (Германия) при увеличении 50, 100, 200 и 400. Микрофотографирование выполняли с помощью цифровой фотокамеры AxioCam ICc 1 и программного обеспечения AxioVision Rel. 4.8 (Германия).

Методы статистического анализа данных

Данные эксперимента оценивали в баллах, визуально, по соответствующей шкале. Результаты представлены в индивидуальных первичных картах. Для всех данных теста Магнуссона и Клигмана были рассчитаны медиана и квартильный размах. Для анализа данных был использован критерий Краскела-Уоллиса (Kruskal-Wallis) с последующим множественным сравнением средних рангов. Различия определяли при уровне значимости р≤0,05.

Статистический анализ был выполнен с помощью программного обеспечения Statistica 10.0 (StatSoft, США).

Результаты и обсуждение

Одной из задач, поставленных перед началом исследования, была отработка метода фиксации фильтровальной бумаги на 2-й стадии сенсибилизации и на стадии разрешения, так как при проведении предыдущих исследований по изучению сенсибилизирующих свойств лекарственных препаратов по методу Магнуссона и Клигмана фиксацию фильтровальной бумаги, пропитанной исследуемыми объектами, осуществляли с помощью марлевых бинтов, которые не обеспечивали должной степени фиксации и в течение 30 мин животные их снимали. В данном исследовании с учетом итогов отработки был выбран более подходящий метод фиксации повязки на 2-й стадии сенсибилизации. Фрагменты фильтровальной бумаги, пропитанные исследуемыми объектами, в области спины закрепляли с помощью самофиксирующегося бинта (бандажа) «Pet flex» (Andover, США), используемого в ветеринарии, после чего поверх самофиксирующегося бинта накладывали фиксирующий пластырь для более надежной фиксации. Такой метод фиксации обеспечивал закрепление фрагментов фильтровальной бумаги на 48 ч. Однако данный метод оказался непригодным для стадии разрешения, поскольку фиксирующая повязка накладывалась на туловище животного вблизи тазовых конечностей, вследствие чего животные выбирались из нее через несколько часов, и повязки накладывались повторно.

После накожного нанесения исследуемых объектов в разрешающей концентрации у морских свинок оценивали кожную реакцию. Так, было зарегистрировано развитие разрозненной эритемы по шкале Магнуссона-Клигмана у 3 самок морских свинок, сенсибилизированных раствором формалина (рис. 5), еще у 3 – никаких видимых изменений не обнаружено. Однако статистически значимых отличий по степени кожной реакции, выраженной в баллах, в сравнении с контрольной группой, выявлено не было (табл. 4). При проведении гистологического исследования у 3 животных, сенсибилизированных формалином, в месте нанесения местных аппликаций было отмечено наличие умеренно выраженного гипер- и паракератоза, скопление отслоившихся паракератических пластинок на поверхности, со слабовыраженным воспалением (рис. 6).

У морских свинок 3-й группы, сенсибилизированных раствором ДНХБ, после накожного нанесения разрешающей дозы 0,1% раствора ДНХБ в объеме 0,3 мл/животное на 23-й и 24-й дни эксперимента регистрировали развитие уме-



Рис. 5. Кожа в области боковой поверхности туловища самки №1.6 (место нанесения местной аппликации формалина): стрелкой указан гиперемированный участок кожи

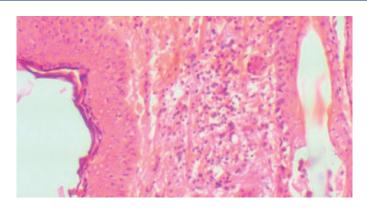


Рис. 6. Срез кожи самки морской свинки №1.6 в месте аппликации формалина. Воспаление. Ув. 100. Окраска гематоксилин-эозин

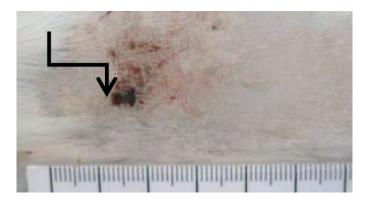


Рис. 7. Кожа в области боковой поверхности туловища самки №3.3 (место нанесения местной аппликации ДНХБ): стрелкой указан участок некроза неправильной формы, длиной около 0,5 см, окруженный мелкими кровоизлияниями

ренной и сплошной эритемы у 2 самок морских свинок и еще у 4 – интенсивной эритемы и отека (рис. 7). При статистическом анализе с помощью критерия Краскела-Уоллиса и дальнейшем сравнении данных методом средних рангов



Таблица 4

Результаты визуальной оценки кожной реакции у самок морских свинок (баллы по шкале Магнуссона–Клигмана)

	Исследуемый Концентрация иссле- дуемого объекта	Концентрация	Интенсивность реакции							
			исследуемого объекта на 2-й стадии	Номер животного					M-(0, 0)	
	OOBCRI			1	2	3	4	5	6	$Me(Q_1;Q_3)$
1	Формалин	0,5% раствор	10% раствор	0	1	1	0	0	1	0,5 (0,0; 1,0)
2	Физиологический раствор 0,9% натрия хлорид (контрольное вещество)	Готовый раствор	Готовый раствор	0	0	0	0	0	0	0,0 (0,0; 0,0)
3	ДНХБ	0,05% раствор	0,5% раствор	2	3	3	2	3	3	3,0 (2,0;3,0)*

Примечание. * – различия статистически значимы по сравнению с группой животных, получивших контрольное вещество, множественное сравнение методом средних рангов, p<0,05.

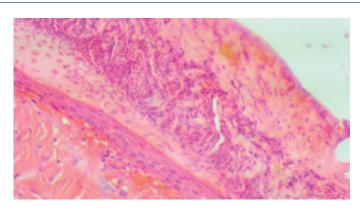


Рис. 8. Срез кожи самки морской свинки №3.3 в месте аппликации формалина. Участок некроза под струпом. Ув. 100. Окраска гематоксилин-эозин

были выявлены статистически значимые отличия по степени кожной реакции, выраженной в баллах, в сравнении с контрольной группой (см. табл. 4). При гистологическом исследовании у всех животных, сенсибилизированных раствором ДНХБ, в месте нанесения местных аппликаций было отмечено наличие умеренно выраженного гипер- и паракератоза, скопление отслоившихся паракератических пластинок на поверхности, с умеренно выраженным воспалением. У животных этой группы также наблюдались выраженная воспалительная реакция и отек в дерме. У 1 самки выявлен обширный участок некроза эпидермиса с образованием струпа, яркая воспалительная реакция и воспалительный компонент в подкожной жировой клетчатке (рис. 8).

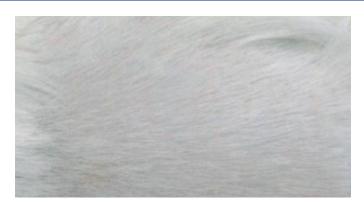


Рис. 9. Кожа в области правой боковой поверхности туловища самки №2.1 (место нанесения местной аппликации контрольного вещества): макроскопически видимые изменения отсутствуют

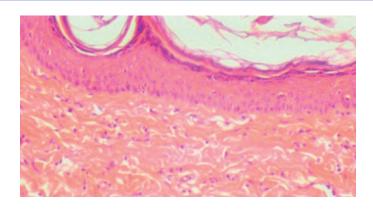


Рис. 10. Срез кожи самки морской свинки №2.1 в месте аппликации формалина. Норма. Ув. 100. Окраска гематоксилин-эозин

У животных 2-й контрольной группы, получавшей физиологический раствор, никаких видимых изменений кожных покровов не наблюдали (рис. 9). Микроскопические изменения также отсутствовали (рис. 10).

Таким образом, наиболее интенсивная кожная реакция, как при визуальной, так и микроскопической оценке, была выявлена при использовании ДНХБ, что соответствует данным литературы [2, 5, 6]. Результаты, полученные у животных, сенсибилизированных формалином, отличаются от данных литературных источников, в которых кожную реакцию регистрировали у большего количества животных.

Заключение

Данное исследование было направлено на оценку сенсибилизирующего потенциала химических веществ на примере формалина и динитрохлорбензола в тесте максимизации Магнуссона и Клигмана для применения в дальнейшей работе в качестве позитивного контроля.

Как показали итоги данного исследования, в дальнейшей работе на стадии разрешения необходимо подготавливать участки кожи на боковых поверхностях туловища не вблизи тазовых конечностей, а ближе к грудным. При этом вероятность того, что животные смогут снять с себя фиксирующие повязки будет меньше.

Согласно результатам кожной сенсибилизации, более выраженная кожная реакция была получена у животных, сенсибилизированных раствором ДНХБ, нежели раствором формалина. Поэтому при проведении дальнейших исследований сенсибилизирующего действия лекарственных препаратов в качестве позитивного контроля эффективнее использовать раствор ДНХБ.

При проведении визуальной оценки кожной реакции по шкале Магнуссона-Клигмана после нанесения разрешающей дозы исследуемых объектов сложностей с интерпретацией интенсивности кожной реакции не возникало, что подтверждает приемлемость балльной оценки в данном тесте.

Гистологическая оценка участка кожи после нанесения разрешающей дозы исследуемых объектов показала наличие воспалительной реакции у тех животных, у которых визуально была выявлена кожная реакция. Поэтому прямая необходимость в проведении гистологического исследования отсутствует. Гистологическое исследование поврежденного участка кожи может быть полезно для дополнительной оценки сенсибилизирующего потенциала.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Литература

- 1. OECD. Skin Sensitisation. OECD Guideline for the Testing of Chemicals. 1992; 406.
- 2. Sargent E.V. Occupational toxicology testing. Comprehensive toxicology. 2018. Vol. 9: 44–63.
- 3. Magnusson B. and Kligman A.M. Allergic Contact Dermatitis in the Guinea Pig. Charles G. Thomas; Springfield, Illinois. 1970.
- 4. Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Испытания по оценке кожной сенсибилизации: ГОСТ 32375-2013. Введ. 01-08-2014. М.: Изд-во стандартов, 2014.
- 5. Magnusson B. and Kligman A.M. The identification of contact allergens by animal assay. The guinea pig maximisation test. Journal of Investigative Dermatology. Vol. 52: 268–76.
- 6. Maurer T. The maximization test for skin sensitization potential updating the standard protocol and validation of a modified protocol. Food and Chemical Toxicology. 1989; 27 (12): 807–11.
- 7. Klaus E. Andersen The guinea pig maximization test with a Multiple dose design. Acta derm venereol. 1995; 75: 463-9.

2018

ЛАБОРАТОРНЫЕ ЖИВОТНЫЕ ДЛЯ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ



- 8. Shillaher O., Bell M. Guinea pig maximization test for skin sensitization the use of fewer test animals. Arch Toxicol. 1989. Vol. 63: 283–8.
- 9. Гущин Я.А., Мужикян А.А. Влияние фиксирующих жидкостей на микроскопическую структуру органов мелких лабораторных животных. Международный вестник ветеринарии. 2014; 3: 88–95.
- 10. Мужикян А.А., Макарова М.Н., Гущин Я.А. Особенности гистологической обработки органов и тканей лабораторных животных. Международный вестник ветеринарии. 2014; 2: 103–9.