

ко, Д.В. Суржиков и др. // Гиг. и сан. — 2003. — № 6. — С. 85-87.

71. Ингаляционный риск от воздействия выбросов промышленных предприятий Магнитогорска / А.Г. Уральшин, А.П. Гаврилов, Н.А. Брылина и др. // Гиг. и сан. — 2007. — № 3. — С. 15-18.

72. Борщук Е.Л. Экономическая оценка аэрогенного канцерогенного риска населения промышленного города // Гиг. и сан. — 2002. — № 5. — С. 80-81.

73. Фоміних К.П., Бондаренко Ю.Г. Оцінка канцерогенного ризику для здоров'я населення у зв'язку з забрудненням атмосферного повітря у м. Черкаси // Довкілля та здоров'я. — 2006. — № 1. — С. 51-53.

74. Утенин В.В. Гигиеническая характеристика хрома и бензола и морфофункциональные аспекты их воздействия на организм в условиях эксперимента: Автореф. дис. канд. мед. наук. — Оренбург, 2002. — 24 с.

75. Музичук Н.Т. Вплив забруднення атмосферного повітря на здоров'я населення // Довкілля та здоров'я. — 2000. — № 3. — С. 38-42.

76. Звонов В.А., Козлов А.В. Оценка экологической безопасности продукции по методике экоиндикаторов / Экологическая экспертиза: Обзорная информация, вып. 5. — М.: ВИНТИ, 2004. — С. 118-128.

77. Health effects of transport-related air pollution / Ed. M. Kzyzanovsky, B. Kuna-Dibbert, J. Schneider. — Geneva: WHO, 2005. — 190 p.

78. Evaluation des risques potentiels pour sa sante de la population / Duarte-Davidson R., Courage C., Rushton L., Levy L. // *Energ.-sante*. — 2001. — V. 12, № 3. — S. 365-367.

79. Допустимые уровни бензола опасны для здоровья: <http://www.sciteclibrary.ru/rus/catalog/pages/>

80. Ризик впливу на здоров'я населення наслідків куріння та забруднення атмосферного повітря пріоритетними канцерогенними речовинами / І.О. Черниченко, О.М. Литвиченко, О.В. Бердник та ін. // Наукові засади міжгалузевої комплексної програми "Здоров'я нації". Вип. I. / За ред. А.М. Сердюка. — К.: Деркул, 2007. — С. 262-285.

81. Нафтохімічний комплекс України: <http://www.experts.ua/ua/baza/analytic/>

HYGIENIC VALUE OF PRESENT METHODOLOGICAL THE APPROACHES STRATEGY AN ESTIMATION OF PARAMETER OF IRRITANT OPERATING XENOBIOTIC ON A MUCOUS (REVIEW)

Voloschenko O.I., Rayetska O.V., Yalovenko O.I.

ГІГІЄНИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ІСНУЮЧИХ МЕТОДИЧНИХ ПІДХОДІВ ДО ОЦІНКИ ПАРАМЕТРУ ПОДРАЗНЮЮЧОЇ ДІЇ КСЕНОБІОТИКІВ НА СЛИЗОВУ ОБОЛОНКУ

В

**ВОЛОЩЕНКО О.І.,
РАЄЦЬКА О.В.,
ЯЛОВЕНКО О.І.**

Державна установа "Інститут гігієни та медичної екології ім. О.М. Марзєєва Академії медичних наук України", м. Київ

УДК:615.8:57.08 615.9(64+665.58)

урхливий розвиток наукових досліджень у галузі молекулярної та клітинної біології створив передумови для розвитку методології оцінки ефектів хімічних речовин на здоров'я людини на альтернативних біологічних моделях. Цей напрям токсикології (in vitro токсикологія) став останнім часом пріоритетним через вплив економічних (витрати коштів на дослідження зростаючих об'ємів продуктів, що надходять на ринок) та морально-етичних (проблема антигуманності дослідів на тваринах, захист тварин) факторів розвитку суспільно-політичного життя, що відображено у регулюючих вільний обіг товарів документах ЄС. Маються на увазі Директива 67/548/ЄЕС, Директива ЄС з косметики 76/768, Директива 2003/15/ЄС, REACH (Regulation of the European Parliament and of the Council concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals) [1-4]. Щодо парфумерно-косметичної промисловості, то для цієї галузі відмова проведення тестів на тваринах регламентована вже з березня 2009 року Директивою 2003/15/ЄС, але наявність адекватної методичної бази

**ГИГИЕНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ СУЩЕСТВУЮЩИХ МЕТОДИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ ОТНОСИТЕЛЬНО ОЦЕНКИ ПАРАМЕТРА РАЗДРАЖАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ КСЕНОБИОТИКОВ НА СЛИЗИСТУЮ ОБОЛОЧКУ (ОБЗОР)
Волощенко О.И., Раецкая Е.В., Яловенко Е.И.**

Проанализированы преимущества и недостатки существующих альтернативных методов исследования потенциала раздражающего действия на слизистую оболочку глаза и рекомендации по их применению. Установлено отсутствие адекватной замены модели in vivo для оценки данного токсикологического параметра. Отмечена возможность использования in vitro моделей на скрининговом этапе исследования. Предложен комплексный методический подход к исследованию влияния ксенобиотиков на слизистую оболочку глаза с использованием анализа их физико-химических параметров, альтернативных методов исследования и in vivo метода Low Volume Eye Test.

для реалізації цієї вимоги активно обговорюється вченими, адже такий перехід не має заважати досягненню основної мети гігієнічних досліджень — оцінці ризику негативного впливу ксенобіотиків на організм людини.

Мета роботи — виявити недоліки та переваги альтернативних методів дослідження показника впливу на слизову оболонку ока та сформулювати стратегію оцінки цього показника з використанням сучасної методичної бази.

Метод дослідження — інформаційно-аналітичний з використання інформаційної бази даних COLIPA (Європейської асоціації з косметики, засобів особистої гігієни та парфумерії), SCCP (Наукового комітету з продуктів споживання) і ECVAM (Європейського центру з валідації альтернативних методів досліджень), EC Working Document SEC, SCCNFP Opinion та SCCP Opinion, офіційних документів ЄС та інших літературних джерел.

Результати роботи. Серед основних токсикологічних експериментів на тваринах найбільш жорстокою є оцінка впливу на слизову оболонку ока. Широко відоме дослідження подразнюючої дії речовини на слизову оболонку ока, яке було розроблене Draize та прийняте за основу міжнародного стандарту OECD TG 405 [5]. Іспит передбачає введення речовини у кон'юнктивальний міхур ока тварини з наступною оцінкою фізіологічних змін роговиці, оболонки ока, кон'юнктиви у балах, що характеризують ступінь подразнення слизової оболонки ока, яка виражена в MAS (максимальне середнє подразнення) та MMAS (модифіковане максимальне середнє подразнення). Дані цих показників враховуються гармонізованою системою

класифікації та маркування хімічних речовин GHS, прийнятою в усьому світі [6]. Тест Draize дозволяє ідентифікувати подразнюючі та корозійні речовини, встановити помірний потенціал подразнення речовини, поріг подразнення слизової оболонки, оцінити безпечність косметичних засобів та лікарських препаратів, що вводяться в око або контактують безпосередньо з оком. Але цей дослід є дуже болісним для тварин. Серед інших недоліків — суб'єктивність оцінки, низька міжлабораторна відтворюваність іспиту, розходження між чутливістю слизової оболонки ока кролика та людини до субстанцій.

Пошуки альтернативи тесту Draize є нелегкою справою. Певною альтернативою йому є менш хворобливий і гнітючий для кролів *in vivo* тест зниженого обсягу (Low Volume Eye Test), за якого в око кролика вводяться менші кількості тестованого матеріалу. Робиться це не лише з гуманних міркувань, але і для більш точної імітації кількості речовини, випадковому впливу якої можуть піддаватися люди [7, 8]. Ще однією перевагою є те, що речовини з рН нижче 2 та вище 11,5 не випробовуються на тваринах через відому здатність викликати тяжку форму пошкодження ока. Але всі ці вдосконалення дозволяють лише частково вирішити проблему, тож потреба у розробці *in vitro* альтернативи тесту на тваринах є надзвичайно великою.

Проведені дослідження впливу на слизову оболонку ока показали, що ПАР, вибілюючі речовини, кислоти, спирти, альдегіди спричиняють дуже виражену руйнівну (пошкоджуючу) дію без зворотної реакції відновлення. Зв'язок між макроскопічними змінами при пошкодженні ока і цитотоксичною дією речовин на клітини (руйнування мембрани, коагуляція білків тощо) дає підстави для розвитку *in vitro* методів прогнозування саме глибокої пошкоджуючої дії речовин на око.

Запропоновані дослідниками альтернативні тести для випробування подразнення слизової оболонки ока базується на використанні різноманітних біологічних моделей: ізольованих органів, органотипових, реконструйованих тканин людини,

культур рослинних та тваринних клітин та фізико-хімічних методів [9]. Найперспективнішими моделями ізольованих органів є такі:

□ **тест** на проникливість та помутніння роговиці бика (The Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP) Assay), розроблений P. Gautheron [10, 11]. У моделі використовується свіжевиділена роговиця ока бика, яка вставляється горизонтально у середину пристрою з спеціальним оптичним приладом. Роговиця поділяє іспитову камеру на два відділення з керованою температурою. Речовина подається до відділення, що досліджує епітеліальну поверхню роговиці. Після вимірювання її помутніння додається флюоресцентний розчин, щоб визначити проникливість роговиці за допомогою оцінки оптичної щільності (OD) середовища у нижньому відділенні. Показник подразнення обчислюється при використанні показників помутніння та проникливості роговиці, як додатковий — фіксується гістологічна оцінка оброблених роговиць. Кореляційний коефіцієнт між MAS та BCOP — 0,73, але метод може давати помилковонегативні та помилковопозитивні результати. Метод рекомендується використовувати при класифікації та маркуванні сильно-подразнюючих речовин (за класифікацією R41) при отриманні позитивних результатів. Іспит придатний для скринінгових досліджень помірного, несприятливого і дуже несприятливого подразнення ока, але не для слабо подразнюючих речовин. Проте ефект від помірного до дуже помірного може бути оцінений на епітеліальній тканині або у цитотоксичному іспиті. Тому цей іспит рекомендується використовувати тільки для розчинних речовин у тандемі з іншими *in vitro* моделями, а також для удосконалення методики виконання експерименту для скорочення % варіабельності з наступним використанням гістологічної експертизи і модернізованого оптичного приладу [10-12];

□ **іспит** на ізольованому оці кролика (The Isolated Rabbit Eye (IRE) Test), розроблений Burton та співавторами [13]. В іспиті IRE використовують ізольоване око здорового кролика, розміщене вертикально у

HYGIENIC VALUE OF PRESENT METHODOLOGICAL APPROACHES STRATEGY AN ESTIMATION OF PARAMETER OF IRRITANT OPERATING XENOBIOTIC ON A MUCOUS (REVIEW)

Voloschenko O.I., Rayetska O.V., Yalovenko O.I.

The advantages and lacks of present alternative method of testings of eye irritating potential and guideline on their applying are parsed. The absence adequate of replacement

of model in vivo for an estimation of given toxicological parameter is established.

The possibility of using in vitro of models on screening an investigation phase is marked.

The integrated methodical approach to research of influencing xenobiotics on a mucous of an eye with usage of the analysis of their physicochemical parameters, alternative method of testings and in vivo method of a Low Volume Eye Test is offered.

фізіологічному розчині з керованою температурою та вологістю. Він визначає помутніння роговиці і набряк після експозиції з подразнюючою речовиною, яку оцінюють за реєстрацією ступеня пенетрації флуоресцеїну до та після експозиції. Для підтвердження рівня та глибини пошкодження використовують гістологічні дослідження. Якщо субстанція спричиняє набряк на понад 15%, це означає, що вона здатна спричинити подразнення в умовах *in vivo*, але висновок про подразнення роблять на основі комплексу характеристик: помутніння, набряку роговиці, гістологічного аналізу. Метод є найбільш придатним для визначення наявності чи відсутності ефекту "подразнюючий-не подразнюючий". Метод прийнятий в ЄС для використання при класифікації та маркуванні лише сильноподразнюючих речовин (R41 згідно з ЕУ класифікацією) як скринінговий метод з урахуванням тільки позитивного результату. При його застосуванні необхідно обов'язково використовувати гістологічні дослідження. Метод потребує доопрацювання методики дослідження і не дозволяє ідентифікувати нерозчинні речовини [12-14];

□ **метод** "виділене око курчати" (The Chicken Eucleated Eye Test (CEET)), розроблений Prinsen і Koeter [15]. CEET використовує ізольоване око здорового курчати, розміщене вертикально у фізіологічному розчині з керованою температурою та вологістю. Перед експозицією та після неї речовини (проміжок 10 с), а також за 30, 75, 120, 180 і 240 хвилин реєструють базові параметри (товщину роговиці, помутніння роговиці і збереження флуоресцеїну), на базі яких обчислюється подразнюючий індекс CEET для речовини. CEET

занесено як стандартний метод до INVITTOX банку даних. При апробації у різних лабораторіях було отримано різні коефіцієнти кореляції. Испит прогнозує ефект впливу на роговицю, прийнятий до регламентації для використання при класифікації та маркуванні сильноподразнюючих речовин як скринінговий, коли результати позитивні, потребує підтвердження результатів гістологічними дослідженнями, відпрацювання методики дослідження, не дозволяє ідентифікувати нерозчинні речовини [16].

Найпоширенішими органо-типовими методами є досліді з використанням хоріоалантоїсної мембрани заплідненого курячого яйця, наприклад метод HET-CAM (The Hen's Egg Test on the Chorio-allantoic Membrane (HET-CAM) Assay), розроблений Luerke [17]. Хоріоалантоїсна мембранна (CAM) заплідненого курячого яйця є придатною моделлю для оцінки впливу речовини на кон'юнктивальні тканини ока. Існує декілька модифікацій методу HET-CAM, пристосованих для оцінки речовин з різними фізико-хімічними властивостями. Испити HET-CAM дозволяють ідентифікувати подразнюючі реакції, подібні до тих, що реєструються при використанні стандарту Draize подразнюючої дії на око. Тобто після 5 хв експозиції речовини реєструються три реакції: геморагія, лізис, коагуляція, що спричинені речовиною у 9-добового ембріону — стадія, коли нервова система ще не розвинулася. Методи HET-CAM поділяються на такі, що

□ реєструють всі три реакції подразнення за дії розчинних речовин;

□ визначають поріг подразнюючої дії розчинного засобу на ембріон;

□ пристосовані виключно

для дослідження нерозчинних (твердих) речовин.

Методи використовують для ідентифікації потенціалу (наявність чи відсутність подразнення), для класифікації сильно подразнюючих речовин, але не для оцінки небезпеки з метою маркування і класифікації через доволі велику варіабельність. HET-CAM тести пройшли апробацію, потребують подальшої стандартизації та валідації іспитового протоколу, критеріїв оцінки. Хоча тести HET-CAM застосовуються до всіх типів речовин незалежно від їхніх фізико-хімічних властивостей, при оцінці нерозчинних, липких та твердих речовин можуть виникнути проблеми, пов'язані з термінами відтворення результатів, також барвники можуть викликати інтерференцію фарбування. Водночас хороша кореляція спостерігалася при тестуванні поверхнево-активних речовин, за винятком етилових спиртів і складних ефірів. Методи рекомендуються тільки для тестів з оцінки подразнюючої дії на слизову оболонку ока. На базі моделі хоріоалантоїсної мембрани заплідненого курячого яйця розроблено кілька методів оцінки впливу на слизову оболонку ока: The Chorio-allantoic Membrane Vascular Assay (CAMVA); The Chorio-allantoic Membrane: Trypan Blue Staining (CAM-TB) Test та інші, якими дослідники намагаються удосконалити базовий протокол та позбавитися від його недоліків, але дані порівняльного аналізу їх не дозволяють визначити найкращий [18].

Останнім часом активно впроваджуються на скринінговому етапі досліджень для оцінки подразнення слизової оболонки ока моделі реконструйованої тканини людини — зокрема The EpiOcular™ (ET50-based) Assay, The SkinEthic In

Vitro Reconstituted Human Corneal Epithelium (HCE) Model, The Gillette HCE-T Tissue Construct Model та інші. Методи оцінки цитотоксичності у клітинних культурах: The Neutral Red Uptake (NRU) Assay, The Neutral Red Release (NRR) Assay, The Red Blood Cell (RBC) Haemolysis Test, The Fluorescein Leakage (FL) Test, The Silicon Microphysiometer (SM) or Cytosensor Microphysiometer Assay, моделі рослинних об'єктів — The Pollen Tube Growth (PTG) Assay, фізико-хімічні методи — The Irritation assay, математичні моделі [9].

Найбільш відомими, простими у використанні й апробованими серед них вважаються такі:

□ **тест NRU** (Neutral Red Uptake Test (NRU) Assay), цитотоксичні тести для оцінки потенціалу подразнення слизової оболонки ока засновані на спостереженні, що деякі речовини, які ушкоджують око, є цитотоксичними для різних типів клітинних культур (у тому числі епітеліальних та ендотеліальних культур клітин ока), тому за основний критерій оцінки цитотоксичної дії обрано маркерний показник клітинної життєздатності — зміну поглинання нейтрального червоного барвника під дією речовини. Барвник проникає крізь клітинні мембрани і накопичується інтрацелюлярно у лізосомах. Зміни поверхні клітин або чутливості мембрани лізосом спричиняють зменшення поглинання барвника. Після експозиції з речовиною 24 чи 48 годин клітини промивають та культивують у живильному середовищі з барвником протягом 3 годин і вимірюють оптичну щільність розчину при 540 нм. Для оцінки ступеня токсичності речовини (екстраполяція доза — відповідь) обчислюється значення NCU_{50} чи IC_{50} , яке показує співвідношен-

ня концентрації досліджуваної речовини, що спричиняє загибель 50% клітин порівняно з контрольними зразками. Результати всіх порівняльних досліджень показали хороші кореляції з Draize MAS для оцінки ПАР та засобів на основі ПАР і його суттєві обмеження: визначення потенціалу лише розчинних речовин з невисокою кислотністю або лужністю, нездатність оцінювати вибухові речовини, кольорові, а також ті, які за метаболізмом здатні локалізуватись на лізосомах. Може використовуватись у комбінації з HET-CAM тестом. Подібним до цього методу є The Neutral Red Release (NRR) Assay [19];

□ **RBC тест** (The Red Blood Cell (RBC) Haemolysis Test), розроблений Рапе і співробітниками [20]. RBC тест заснований на здатності речовин руйнувати мембрани еритроцитів, наслідком якого є витік гемоглобіну в оточуюче середовище (гемоліз) і зміна кольору оточуючого середовища, яка оцінюється фотометрично. Як модельне середовище в іспиті використовується культура еритроцитів ссавців (бичачі еритроцити). Оцінку провадять у два етапи: визначення концентрації, що спричиняє 50% гемоліз еритроцитів (L), та оцінка % денатурації оксигемоглобіну (D). Коефіцієнт L/D показує високі ступінь кореляції з Draize тестом. Стандартизовані протоколи досліджень за таким методом — INVITTOX Протокол 37 та INVITTOX Протокол 99. Тест RBC рекомендується використовувати для оцінки сурфактантів та засобів на основі сурфактантів і має недоліки, подібні до тесту NRU [21];

□ **метод PTG** з використанням пилкової трубки, що зростає (The Pollen Tube Growth (PTG) Assay), вимагає використання пилкової трубки тютюну, базується на фотометричному аналізі утвореної маси рослини після обробки пилку засобом, що досліджується. Токсичність впливу хімічних речовин на ріст пилкової трубки *Nicotiana glauca* оцінювали спочатку мікроскопічно, потім було запропоновано фотометричний кількісний аналіз продукції пилкової трубки. Враховувалося, що пилкова трубка нефотосинтезуюча тканина,

тому не має ніяких пігментів. Для оцінки токсичності пилкову трубку культивують протягом 18 годин з розчинами речовин різної концентрації. Фотометрично визначали масу продукції пилкової трубки за цей період. Токсикологічний показник цього методу — середня ефективна концентрація ED50 тестованої речовини, що спричиняє редукцію 50% матеріалу пилкової трубки порівняно з контролем, розраховується при використанні принаймні п'яти наборів концентрацій. Іспит не використовується при оцінці етилових спиртів, поверхнево-активних речовин, сильних кислот і лугів; використовується у комплексі з іншими in vitro методами [22];

□ **метод** випробування подразнення (The Irritation assay) є модифікацією EYTEX і базується на спектрофотометричній оцінці змін макромолекул під дією тестованої речовини, яка реєструється за ступенем помутніння стандартного реагенту (розчину макромолекул). Стандартний реагент (суміш рослинного білка, глікопротеїну, ліпідів, та компонентів з невеликою молекулярною вагою) має структуру, подібну до макромолекулярного комплексу прозорої роговиці, тобто помутніння реагенту вказує на здатність пошкоджувати роговицю ока. Використання The Irritation assay дозволяє досить швидко визначити рівень токсичності речовин, характеризується простотою виконання, але показує різний рівень кореляції (від 30% до 95%) з методами in vivo (залежно від складу композицій, які досліджуються), має певні обмеження при застосуванні (не дозволяє оцінити подразнюючу дію препаратів, що містять темно-фіолетовий барвник, карбамід у концентрації понад 5%, алюміній хлоридат — понад 3%, окис цинку — понад 5% та поверхнево-активні речовини — понад 40%), оцінює подразнення лише за одним критерієм (помутніння водного розчину, який корелює тільки з показником помутніння роговиці) [23].

Подразнення слизової оболонки ока — складний показник для моделювання зв'язку між хімічною будовою, фізико-хімічними властивостями і біо-

логічними механізмами токсичної дії. Більшість підходів моделювання ризику подразнення слизової оболонки ока *in silico* призначена для оцінки токсичної дії на слизові оболонки лише деяких груп хімічних речовин (серед них — традиційні кількісні моделі, розроблені Cronin, Abraham, класифікаційні моделі, розроблені Barratt, моделі тощо) і потребують удосконалення [24].

Висновки

Аналіз та узагальнення існуючих методів випробувань впливу ксенобіотиків на слизову оболонку ока дозволяє зробити певні висновки щодо сучасної методології оцінки параметру у гігієнічних дослідженнях.

1. Не існує жодної досконалої адекватної альтернативної моделі для випробування подразнюючої дії на слизову оболонку ока, в якій не використовуються живі ссавці.

2. Труднощі з впровадженням існуючих альтернативних методів оцінки впливу на слизову оболонку ока пов'язані з їх обмеженою відтворюваністю у межах і між лабораторіями, їх біологічною варіабельністю, недосконалістю існуючої системи класифікації на основі встановлених критеріїв, розходженнями у схемах регламентованих класифікацій, наявності порогів обмеження випробувань на тваринах, нездатності деяких *in vitro* іспитів вимірювати глибину подразнення та ідентифікувати весь спектр подразнюючих ефектів; недосконалістю прогнозуючих *in silico* моделей.

3. З метою гармонізації методичних підходів України і ЄС щодо визначення впливу на слизову оболонку ока є сенс рекомендувати застосування такої поетапної стратегії оцінки цього показника:

□ речовини з рН нижче 2 та вище 11,5 не випробувати на тваринах через відому здатність викликати тяжку форму пошкодження ока;

□ не провадити дослідження впливу на слизову оболонку ока засобів у високих концентраціях, які викликають корозійний ефект на моделях оцінки подразнення шкіри: EPI-SKIN, EpiDerm та The Mouse Skin Integrity Function Test (SIFT);

□ на скринінговому етапі

досліджень та для підтвердження високотоксичної дії засобів використовувати батарею *in vitro* тестів та *in silico* моделі;

□ дослідження на тваринах провадити тільки *in vivo* методом зниженого обсягу (Low Volume Eye Test);

4. Незважаючи на збільшення етапів досліджень у запропонованій стратегії, її застосування дозволяє скоротити термін та собівартість обов'язкових випробувань та створює умови для обґрунтованого гуманного використання тварин у дослідах, що скорочує кількість тварин, необхідних для використання у випробуванні та спрощує проведення гігієнічної експертизи визначення ризику впливу хімічних препаратів на здоров'я людини.

ЛІТЕРАТУРА

1. EEC. Council Directive 76/548/EEC of 27 July 1967 on the approximation of the laws, Regulation and administrative provisions relating to the classification, packaging and labelling of dangerous substances // Official Journal of the European Economic Community. — 1967. — V.196. — P. 1-98.

2. EC. Council Directive 76/768/EEC of 27 July 1976 on the approximation of the laws of the Member States relating to cosmetic products // Official Journal of the European Communities. — 1976. — L262. — P. 169-200.

3. EU. Directive 2003/15/EC of the European Parliament and of the Council of 27 February 2003 amending Council Directive 76/768/EEC on the approximation of the laws of the Member States relating to cosmetic products // Official Journal of the European Union. — 2003. — L66. — P. 26-35.

4. Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council of 18 December 2006 concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH), establishing a European Chemicals Agency, amending Directive 1999/45/EC and repealing Council Regulation (EEC) No 793/93 and Commission Regulation (EC) No 1488/94 as well as Council Directive 76/769/EEC and Commission Directives 91/155/EEC, 93/67/EEC, 93/105/EC and 2000/21/EC // Official Journal of the Euro-

pean Union. — 2006. — L. 396, P. 1-849.

5. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals No. 405: Acute Eye Irritation/Corrosion/ Organisation for Economic Co-operation and Development. — Paris, France. — 2002. — 14 p.

6. United Nations-Economic Commission for Europe. Globally Harmonised System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS). Part 3 Health and Environmental Hazards. — New York, USA, Geneva, Switzerland, 2003. — P. 107-228.

7. Griffith J.F. The Low volume eye irritation test // Soap Cosmetics Chemical Specialities. — 1987. — Vol. 63. — P. 32-63.

8. Low Volume Eye Test — A comparison of low volume, Draize and *in vitro* eye irritation test data. III. Surfactant-based formulations/ S.D. Gettings, R.A. Lordo, P.I. Feder, K.L. Hintze // Food and Chemical Toxicology. — 1998. — Vol. 36, № 3. — P. 209-231.

9. Eye Irritation/ H. Eskes, S. Bessou, L. Bruner et al. // ATLA. — 2005. — Vol. 33., Suppl. 1. — P. 47-81.

10. Gautheron P., Dukic M., Alix D. Bovine cornea opacity and permeability test: an *in vitro* assay of ocular irritancy // Fundamental and Applied Toxicology. — 1992. — Vol. 18. — P. 442-449.

11. Evaluation the eye irritancy of solvents in simple fragrance mixture with the bovine corneal opacity and permeability (BCOP) assay/ N. Cuellar, P.H. Lloyd, J. E. Swanson et al. // The Toxicologist. — 2003. — Vol. 72. — P. 312.

12. The EC/HO international validation study on alternatives to the Draze eye irritation test / M. Balls, P.A. Botham, L.H. Bruner, H. Spielmann // Toxicology *in vitro*. — 1995. — Vol. 9. — P. 106-117.

13. Burton A.B.G., M. York, R.S. Lawrence. The *in vitro* assessment of severe eye irritants // Food and Cosmetics Toxicology. — 1981. — Vol. 19. — P. 471-480.

14. Comparative evaluation of five *in vitro* tests for assessing the eye irritation potential of hair-care products/ P.A. Jones, E. Budynsky, K.J. Cooper et al. // ATLA. — 2001. — Vol. 29. — P. 669-692.

15. Prinsen M.K., Koeter H.B.W.M. Justification of the enucleated eye test with eyes of

slaughterhouse animals as an alternative to the Draize eye irritation test with rabbits // Food and Chemical Toxicology. — 1993. — Vol. 31. — P. 69-76.

16. Worth A.P., Balls M. Alternative (Non-Animal) Methods for Chemicals Testing Current Status and Future Prospects A report prepared by ECVAM and the ECVAM working group on chemicals // ATLA. — 2002. — Vol. 30, Suppl. 1. — P. 1-115.

17. Interlaboratory validation of in vitro eye irritation test for cosmetic ingredients: (2) Chorioallantoic membrane (CAM) test / Hagino S., Kinoshita S., Tani N. et al. // Toxicology in vitro. — 1999. — Vol. 13. — P. 99-113.

18. Bagley D.M., Cervin D., Harbell J.W. Assessment of the chorionallantoic membrane vascular assay (CAMPVA) in COLIPA in vitro eye irritation validation study // Toxicology in vitro. — 1999. — Vol. 13. — P. 285-293.

19. Zuang V. The neutral red release assay: a review // ATLA. — 2001. — Vol. 29. — P. 575-599.

20. Pape W.J.W., Hoppe U. Standardisation of an in vitro red blood cell test for evaluating the acute cytotoxic potential of tensides // Arzneimittelforschung. — 1990. — Vol. 10. — P. 198-502.

21. COLIPA validation project on in vitro eye irritation test for cosmetic ingredients and for the estimation of acute eye irritation potentials. Present status / W.J.W. Pape, U. Pfannenbecker, H. Argembeaux et al. // Toxicology in Vitro. — 1999. — Vol. 13. — P. 343-354.

22. Performance of the poleen tube growth in the COLIPA validation study on alternatives to the rabbit eye irritation test / U. Kristen, K. Jung, W. Pape et al. // Toxicology in Vitro. — 1999. — Vol. 13. — P. 335-342.

23. A Report Prepared in the Context of the 7 th Amendment of the Cosmetics Directive for Establishing the Timetable for Phasing Out Animal Testing. Alternative (Non-Animal Methods for Cosmetics Testing: Current Status and Future Prospects) // ATLA. — 2005. — Vol. 33, Suppl. 1. — P. 228.

24. Use of OSARs in international decision-marking frameworks to predict health effects of chemical substances / M.T.D. Cronin, J.S. Jaworska, J.D. Walker et al. // Environmental Health Perspectives. — 2003. — Vol. 111. — P. 1391-1401.

CRITERIA OF THE HYGIENIC SAFETY AND QUALITY OF PACKED DRINKING WATER

КРИТЕРІЇ ГІГІЄНИЧНОЇ БЕЗПЕКИ ТА ЯКОСТІ ФАСОВАНОЇ ПИТНОЇ ВОДИ

В Україні до цього часу були відсутні санітарні вимоги щодо якості та безпеки фасованої питної води. Згідно з Постановою МОЗ України від 04.09.08 р. №12 затверджено Державний гігієнічний норматив (ДГН) "Показники безпеки та якості фасованої питної води", який розроблено ДУ "Інститут гігієни та медичної екології ім. О.М. Марзєєва АМН України" (Сердюк А.М., Прокопов В.О., Корчак Г.І., Лось І.П., Зоріна О.В., Горваль А.К., Чирська Н.В) за участю Центральної санітарно-епідеміологічної станції МОЗ України (Некрасова Л.С., Протас С.В.), Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця МОЗ України (Бардов В.Г., Гаркавий С.І., Гончарук Є.Г.), Інституту колоїдної хімії та хімії води ім. А.В. Думанського НАН України (Гончарук В.В.), Наукового інженерного центру радіогідроеко-

логічних досліджень НАНУ (Шестопапов В.М., Набока М.В.), Українського науково-дослідного інституту медицини транспорту МОЗ України (Стрікаленко Т.В.), Комітету з питань гігієнічного регламентування МОЗ України (Кравчук О.П., Коршун М.М.), ДП "Український науково-дослідний і навчальний центр проблем стандартизації, сертифікації та якості" (Почейкайлова Л.П.).

Вимоги до фасованої питної води гармонізовано з Директивою 98/83/ЄС, відповідають водному та санітарному законодавству України та ураховують сучасні підходи щодо нормування показників якості питної води. ДГН має стати базовим при розробці ДСТУ на фасовану питну воду, розробку якого передбачено згідно з Законом України "Про Загальнодержавну програму "Питна вода України" на 2006-2020 роки" від 3 березня 2005 р. № 2455-IV.

Державний гігієнічний норматив "ПОКАЗНИКИ БЕЗПЕКИ ТА ЯКОСТІ ФАСОВАНОЇ ПИТНОЇ ВОДИ"

№	Показники, одиниці розмірності	Значення показника, не більше	Методики визначення
Органолептичні показники якості			
1	Запах при 20°C, при нагріванні до 60°C	0 1	ГОСТ 3351-74, ДСТУ EN 1420-1:2004
2	Каламутність, НОФ	0,5	ГОСТ 3351-74, ДСТУ ISO 7027-2003
3	Кольоровість, градус	10	ГОСТ 3351-74, ДСТУ ISO 7887-2003
4	Присмак, бали	0	ГОСТ 3351-74

Фізико-хімічні показники якості

а) неорганічні компоненти

5	Водневий показник, одиниці рН	6,5-8,5	ДСТУ 4077-2001 [1]
6	Сухий залишок оптимальний вміст, у межах, мг/дм ³	1000 200-400	ГОСТ 18164-72

CRITERIA OF THE HYGIENIC SAFETY AND QUALITY OF PACKED DRINKING WATER

Hitherto there were no sanitary requirements for the quality and safety of packed drinking water in Ukraine. The Standard "Indices for Safety and Quality of Packed Water" was adopted according to the Directives N12 of the MPH of Ukraine, 04.09.08. Requirements to the packed drinking water were harmonized with the Directive 98/83/EC. They correspond to the water and the sanitary legislation of Ukraine and take into account the standardization of the indices of drinking water quality.

