

# Тестирование на животных



# Тесты на разъедание и раздражение кожных покровов

- **Тесты на разъедание кожных покровов**
- Цель **тестов на раздражение кожи** - определить способность вещества наносить обратимый вред коже (раздражение), такой как локализованная припухлость, зуд, изъязвление и воспаление, обычно после разового нанесения.
- Чаще всего используют кроликов-альбиносов. Разовая доза тестируемого химиката наносится на выбритый участок кожи, а выбритый, но не обработанный веществом соседний участок является контрольным.
- Степень раздражения измеряется путем сравнения. Для проверки каждого вещества используется до трех кроликов, и время воздействия обычно составляет до четырех часов. Вещество-раздражитель может причинять дистресс и боль, если кожа реагирует покраснением, воспалением и зудом.



- **Недостатки:**
- Анатомическое строение и структура кожи у разных видов животных, используемых для тестирования веществ, и у человека различаются, поэтому тесты на раздражение кожи печально известны тем, что очень слабо прогнозируют возникновение кожных раздражений у человека



## 2. Сенситизация кожных покровов (аллергическая реакция)

- Тесты на сенситизацию призваны оценить, вызывает ли тестируемое вещество аллергическую реакцию кожи - аллергический контактный дерматит.

а) в **максимизационном тесте на морских свинках** (The Guinea Pig Maximisation test - GPMT), чтобы стимулировать иммунную реакцию, наряду с тестируемым веществом вводится химический адъювант. Это причиняет животным дополнительную боль и дистресс.

- б) **тест Бюлера**, не использующий адъювант (но менее чувствительный).  
В этих двух тестах чаще всего используются морские свинки-альбиносы. Вещество наносится на обритую кожу плеча, прямо на поверхность, или вводится под кожу.
- Экспериментальная группа состоит, по меньшей мере, из 10 животных, и как минимум 5 животных используются для контроля. Если первоначальная реакция неоднозначна, проводится дальнейшее тестирование в более крупных группах (до 20 животных). Чтобы вызвать местную аллергическую реакцию в форме аллергического контактного дерматита, вводятся множественные дозы. Применение адъювантов в GPMТ причиняет значительную боль и дистресс морским свинкам, которых по завершении опыта убивают.



- **в) анализ реакции изолированных лимфоузлов** (The Local Lymph Node Assay, LLNA) сейчас применяется для большинства химикатов. Он менее жесток, чем тесты на морских свинках, и был принят и одобрен Евросоюзом и ОЭСР. LLNA основан на измерении специфической реакции (клеточной пролиферации), вызываемой в лимфоузлах, дренирующих область кожи, на которую наносится тестируемый химикат.
- На поверхность мышинного уха в течение трех дней наносятся три различные дозы тестируемого химиката. По истечении пяти дней мышей убивают и исследуют их лимфоузлы и клетки крови.

# Недостатки:

- Опыты на морских свинках носят очень субъективный характер (реакция оценивается по внешнему виду кожи), и поэтому воспроизводимость результатов низка.
- Люди, применяющие косметические средства, которые могут содержать вещества, вызывающие сенситизацию, не впрыскивают их под кожу и не используют адъюванты, как это делается в опытах на морских свинках. Опыты на морских свинках также весьма ненадежно указывают, как проявит себя химикат, вызвавший кожную аллергию в лабораторных условиях, в человеческом организме.

- Структура кожи и иммунная система мышей и морских свинок значительно отличаются от человеческих. Степень активности химикатов, вызывающих сенситизацию (то есть, являются ли они сильными или слабыми аллергенами), прогнозируемая в опытах на морских свинках, слабо коррелирует с истинной активностью в случае с человеком

# 3. Абсорбция через кожу

- Поглощение кожей - это прохождение химиката - например, ингредиента увлажняющего средства - через кожу, в кровяное русло, т.е. каким образом химикаты проникают через кожу, зависит от ряда факторов, таких как объем и химические характеристики ингредиента, а также анатомическая структура кожи.
- Для получения информации о прохождении химикатов сквозь кожу и их последующем распределении в организме использовались многие виды животных. Чаще всего используют крыс. После нанесения тестируемого материала крыс убивают и оценивают количество абсорбированного тестируемого вещества. Однако теперь, когда ОЭСР приняла пробирочный метод, опыты на крысах следовало бы проводить очень редко

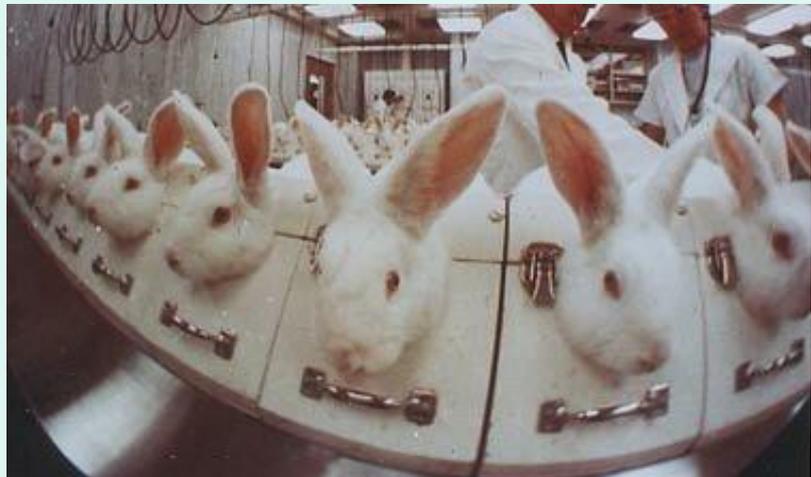


# 4. Раздражающее воздействие на глаза

- **Тест Драйза** призван измерить способность вещества оказывать раздражающее воздействие на глаза. Раздражение глаза может причинять значительную боль, вызывать покраснение, выделения, помутнение роговицы, зуд или кровоизлияние в роговице или, в самых тяжелых случаях, изъязвление и разрушение глазных тканей.



- Тестирование проводится на взрослых белых кроликах, в каждом испытании используется до трех особей. Тестируемое вещество наносится на один глаз каждому кролику, и результаты отслеживаются (обычно без обезболивания) в течение периода времени до 21 дня. Для классификации химиката используется цифровая шкала, отражающая различные степени раздражающей способности.



- **Недостатки:**

- Роговая оболочка человеческого и кроличьего глаза заметно различаются по размеру и толщине, и поэтому при нанесении тестируемых химикатов реакция будет разной.

Слезовыделение у кроликов слабее, чем у людей, и поэтому любой материал, нанесенный на глаз кролику, будет оставаться там дольше и окажет более выраженное воздействие, чем в случае с человеком.

# 5. Острая токсичность

- Испытание на острую токсичность предпринимается для того, чтобы попытаться определить возможный риск, возникающий при разовом воздействии вещества - при проглатывании, попадании на кожу или при вдыхании.  
В течение примерно 80 лет признанным методом был тест LD50. Он заключается в том, что большое количество подопытных животных получают смертельное отравление.

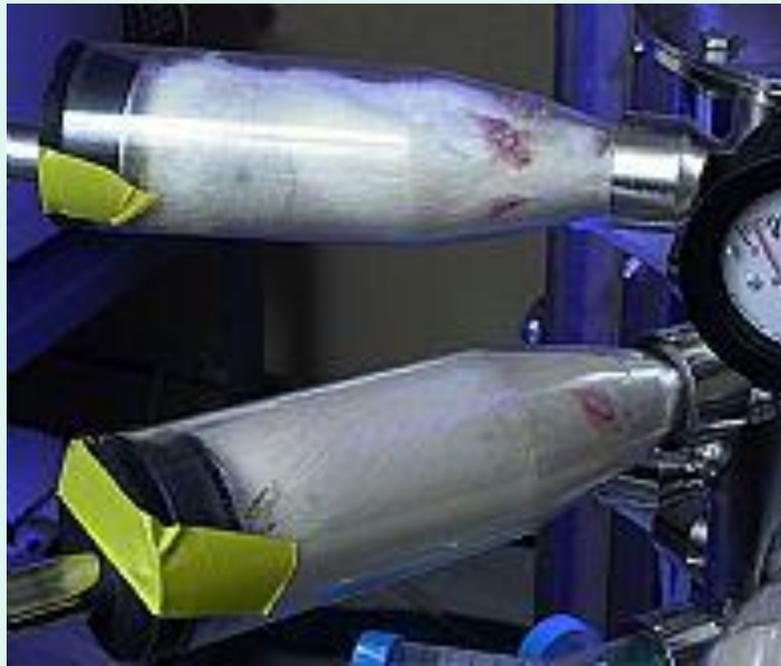
- Неизбежным образом, во время этих смертельных процедур животные испытывают жесточайшие страдания, в том числе дистресс, потерю веса, тошноту, слюнотечение, вздутие живота, потерю равновесия, затрудненное дыхание, конвульсии и прострацию. Никакого обезболивания не проводится. Многие страны официально прекратили применять метод **LD50**, в котором химикат вводится через рот, в 2001 году, заменив его тестами на животных, требующими меньшего количества особей:

- а) **метод фиксированной дозы** снижает уровень боли и страданий, используя при этом меньшее количество животных, хотя некоторые из животных все же могут погибнуть.
- б) **метод определения класса острой токсичности** включает в себя поэтапное введение нескольких доз и занимает больше времени, чем изначальный метод LD50 или метод фиксированной дозы. В нем используется меньшее количество животных, но они все равно переживают стресс и испытывают боль.

- в) **ступенчатая (up-and-down) процедура** использует меньше животных, чем метод LD50, но и она сопряжена с вредными воздействиями и гибелью животных.
- г) **тест LD50** с нанесением на кожу или вдыханием до сих пор применяется для оценки токсичности химикатов.
- Тестирование обычно проводится на крысах и иногда на кроликах. Каждая экспериментальная группа состоит из пяти животных, и каждая группа получает разную тестовую дозу. Как правило, наблюдение длится 14 дней, и в конце всех животных убивают и проводят аутопсию с целью выяснить, нанес ли химикат какой-либо вред.



- **В тестах с вдыханием** на каждую концентрацию тестируемого вещества используется по 10 животных (по 5 животных каждого пола).
- Научный комитет по потребительским товарам (SCCP) обычно не требует проведения исследований на острую токсичность, но рассматривает такие данные, если они имеются. Однако предполагается, что большая часть косметических ингредиентов, подпадающих под Директивы по опасным веществам, будет протестирована на животных на предмет острой токсичности.



# Недостатки:

- Существуют значительные межвидовые различия по типу и количеству разрушающих токсины ферментов, вырабатываемых печенью. Эти ферменты играют центральную роль в борьбе с интоксикацией организма. Почки у подопытных животных также удаляют химикаты из организма иными способами и с иной интенсивностью, чем человеческие.
- В 1979 году изучение сходимости/воспроизводимости результатов теста LD50, проведенное Европейским Сообществом, показало, что значения, полученные по одним и тем же химикатам в разных лабораториях, различались от 3 до 11 крат.
- Такой уровень эффективности восьмидесятилетнего теста, причиняющего страдания и смерть множеству животных, абсолютно неприемлем в 21 веке

## 6. Токсичность повторных доз

- Долгосрочная токсичность возникает при постоянном воздействии вещества, способного наносить вред клеткам, тканям или органам.
- В случае косметических ингредиентов это, в первую очередь, введение химиката через рот или кожу при изучении воздействия повторных доз, которое может длиться 28 (подострая токсичность) или 90 (субхроническая токсичность) дней.

- **28- и 90-дневные исследования** оральной токсичности на грызунах - это наиболее часто используемые долгосрочные тесты на токсичность для всего организма. Самая высокая доза должна вызывать отравление с вероятными болью и страданиями. По завершении опыта животных убивают и исследуют на предмет повреждения органов и иного воздействия.

- **В 28-дневных испытаниях** чаще всего используют крыс, хотя для кожных тестов с повторными дозами используют морских свинок, крыс или кроликов. Каждую дозу получают по 10 животных, плюс 10 животных составляют контрольную группу. Тестируемый химикат вводится ежедневно через кожу, через легкие или через рот, и после умерщвления животных исследуют с точки зрения патологии и биохимии.

- **В 90-дневном тесте** также используют крыс. В состав каждой подопытной и контрольной группы входят по 40 животных.
- В каждой группе используется по три дозы тестируемого химиката. Основные способы введения - через рот (обычно это принудительное кормление) и через легкие. Животные, используемые в этом тесте, могут испытывать боль и дистресс, потерю аппетита, они хуже набирают вес, у них повреждаются органы, их тошнит, развивается анемия, диарея, животные переживают сильное беспокойство.
- В очень тяжелых случаях животные погибают, и этому могут предшествовать судорожные припадки, изменения в поведении и выделения изо рта или анального отверстия.

- Трудно провести пропорциональное увеличение результатов, полученных в тестах с повторными дозами на животных с короткой продолжительностью жизни, таких как крысы, на более крупных млекопитающих с большой продолжительностью жизни, таких как человек. Предлагались разные виды расчетов, но относительно того, какой подход самый лучший, согласия нет.

# 7. Мутагенность и генотоксичность

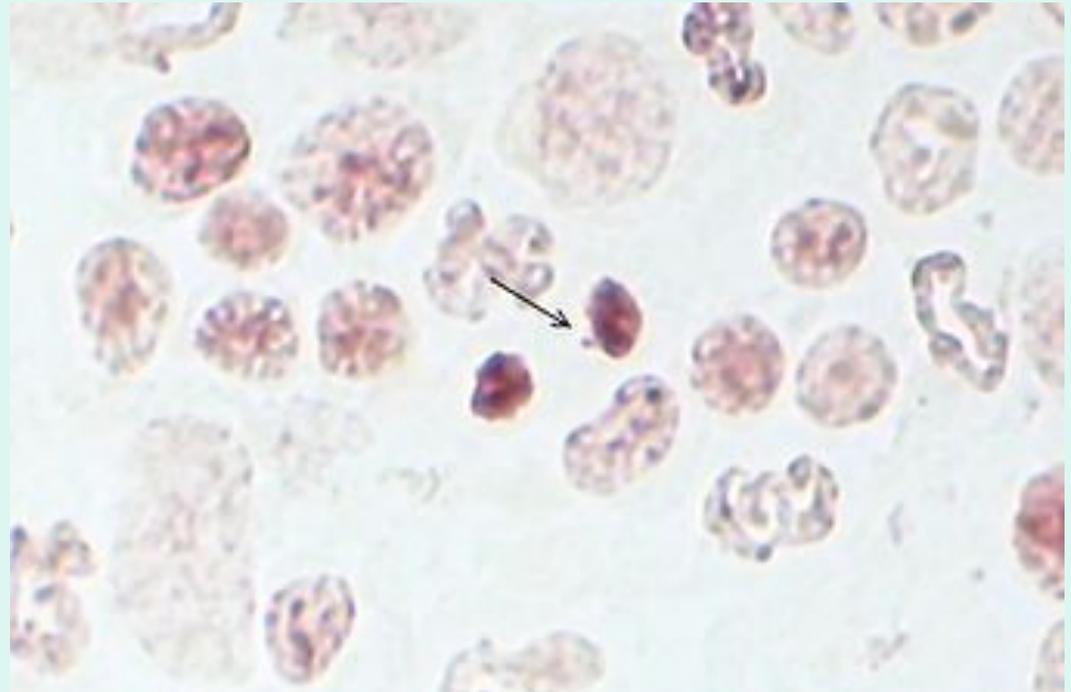
- **Мутагены** - это вещества, повышающие процент генетических изменений (мутаций) в генах и хромосомах. Мутации могут стать причиной врожденных дефектов и, в некоторых случаях, вызывают рак.
- **Генотоксичность** - более широкий термин, который относится к способности химиката взаимодействовать различными способами с ДНК и/или другими частями клеточного ядра.  
Тестирование на предмет мутагенности/генотоксичности включает в себя оценку токсического воздействия на клетки костного мозга (формирующие клетки крови) и их гены и хромосомы.

- а) **цитогенетическое исследование костного мозга**
- Этот тест предполагает, что активно делящиеся кровяные клетки костного мозга особенно чувствительны к воздействию мутагенов/генотоксинов.
- Тест обычно проводят на крысах, мышах или китайских хомяках. Используется 10 животных (по 5 животных каждого пола), тестируемое вещество вводится им через рот или посредством абдоминальной инъекции. Применяются разовые или повторные дозы, и через временной промежуток до 48 часов после введения берутся пробы костного мозга. Препарированные клетки крови исследуются под микроскопом на предмет воздействия на клеточное ядро.



- **б) микроядерный тест**

- В этом тесте на мутагенное/генотоксическое воздействие техника и размеры образцов примерно такие же, но рассматривается другой аспект клеток крови. Увеличение количества клеток, демонстрирующих повреждения ядра (формирование микроядер), указывает на генотоксическое воздействие химиката. Используют обычно мышей.



- В тестах на животных используются большие дозы. Это делает релевантность по отношению к человеку сомнительной, поскольку люди нечасто подвергаются воздействию косметических ингредиентов в больших дозах.

## • 8. Токсикокинетика и метаболизм

- Тесты, исследующие токсикокинетiku и метаболизм, призваны измерить время, в течение которого происходит абсорбция, распределение, метаболизм и выведение, а также определить, в какие вещества метаболируется тестируемый химикат.
- Часто используют грызунов; им вводят разовые (однократные) или повторяющиеся дозы через рот (принудительное скармливание), посредством ингаляции, внутривенной инъекции или через кожу. Каждая группа по каждой дозе состоит из по меньшей мере четырех животных, но их может быть и до двенадцати.
- Часто характеристики вещества, такие как сильная вязкость тестируемого химиката, вводимого внутривенно, создают трудности во время применения и причиняют дополнительные страдания животным. Принудительное кормление само по себе является для животных стрессом, и может приводить к случайным повреждениям горла и легких.
- После умерщвления животных исследуют на предмет аккумуляции тестируемого вещества в органах-мишенях.

- у разных биологических видов печень вырабатывает разное количество ферментов; в этом отношении результаты тестов на животных могут быть очень обманчивыми. Иногда применяются высокие дозы, которые затрудняют экстраполяцию на человека

- **9. Тератогенность и репродуктивная токсичность**
- Тесты на тератогенность призваны оценить вред, наносимый развивающемуся плоду, когда беременному животному вводится тестируемое вещество.
- Известно, что некоторые химикаты влияют на развитие плода в матке, приводя в конечном итоге к телесным уродствам или к смерти плода. Химикат вводится беременным самкам животных в период формирования у плода органов, и через разные интервалы времени животных убивают и проводят аутопсию. У зародышей могут обнаруживаться уродства, такие как деформации скелета или аномалии других органов. Чаще всего используют кроликов и крыс. Обычно испытания проводят, по меньшей мере, на 20 самках грызунов или 12 самках кроликов на каждый уровень дозы; вводятся три дозы или более; такое же количество животных входит в контрольные группы.

- Взрослые особи и зародыши умерщвляются и исследуются на предмет повреждений, вызванных токсичностью.
- Некоторые тесты исследуют несколько поколений животных. Обычно дозы вводятся шестидесяти или большему количеству самцов и самок крыс через рот ежедневно. Через различные интервалы времени животных убивают, и проводится аутопсия самок и их зародышей.

- Репродуктивная система и циклы у грызунов и человека сильно отличаются, и реакция яичек и яичников на химикаты также часто различны. В тестах используются инбридные, генетически сходные животные, которые не могут репрезентировать генетически вариабельных человеческих индивидов. Подопытные животные малы, и продолжительность их жизни гораздо меньше, чем у человека, что создает трудности при пропорциональном увеличении результатов. Эти тесты требуют большого количество времени, денег и животных

- **10. Канцерогенность**
- В тестах используют молодых крыс и мышей, дозы начинают вводить спустя очень короткое время после того, как животные были отлучены от матери. Обычно химикат вводят через рот, но он также может вводиться через кожу или через легкие. Тестируются три уровня дозы, используют как минимум 100 животных на каждую дозу, и еще 100 животных используются для контроля.
- Результат оценивают с помощью анализов крови, взвешивания, фиксации патологических внешних изменений и, после умерщвления, исследования тканей и органов на предмет обнаружения раковых заболеваний. Неизбежным образом, у некоторых животных действительно развивается рак.



- Рак - это заболевание, связанное с делением клеток. Скорость деления наших клеток в 100 000 раз выше, чем у мышей, однако люди гораздо менее подвержены раковым заболеваниям. Интенсивность метаболизма изменяется в зависимости от размеров животного. У мышей скорость метаболизма в семь раз выше, чем у человека; это означает, что их организм вырабатывает больше оксидантов, повреждающих ДНК и в результате вызывающих рак.

- У многих животных механизмы восстановления ДНК менее сложные, чем у человека. Поэтому неудивительно, что грызуны более подвержены раковым заболеваниям, чем люди, и это очень усложняет интерпретацию результатов. Главные метаболизирующие печеночные ферменты у человека и у грызунов сильно различаются, что оказывает свое влияние на реакцию на тестируемые химикаты. Эти тесты дорогостоящи, и для их выполнения требуется до пяти лет, и, тем не менее, повторные исследования по тому же химикату могут давать иные результаты.

# "Чёрный список" - фирмы, тестирующие продукцию на ЖИВОТНЫХ



- К сожалению, продукция именно этих фирм, практикующих вивисекцию, занимает свыше 80% на полках наших магазинов. Вообще основным рынком сбыта продукции компаний, использующих вивисекцию, являются Россия и страны СНГ. Люди, живущие или бывавшие за рубежом, это подтвердят
- Концерны не только тестируют продукцию на животных, но ещё и не раз обращался в Евросоюз с требованием отменить мораторий на тесты.

- **Johnson & Johnson** и его бренды Aveeno, Clean & Clear, Neutrogena, ROC)
- Johnson's Baby (кстати, знаменитое детское масло почти на 100% состоит из минерального (технического) масла, создающего на покрытой им коже водоотталкивающую плёнку, всего лишь запирающую собственную влагу кожи, а вовсе не увлажняющую её. Впоследствии такая кожа может легко растрескиваться, и оказаться просто пересушенной).



- L'Oreal U.S.A. (Biotherm, Cacharel, Garnier, Giorgio Armani, Helena Rubinstein, Lancome, Matrix Essentials, Maybelline, Ralph Lauren)
- Fragrances, Redken, Soft Sheen, Vichy)
- **Max Factor** (Procter & Gamble)



- Компания Gillette сейчас рассматривает возможность введения моратория на тесты на животных, хотя относится к концерну Procter&Gamble, это указано на сайте PETA.

**ВІС Corporation** – также рассматривает введение моратория.

- Компании **Schwarzkopf&Henkel** использует вивисекцию в случае, если для данного теста нет альтернативы (т.е. согласно закону Германии), но известно также, что, прикрываясь законом, S&H проводит тесты на животных и в случае наличия альтернативы. Она позиционирует себя «белой» компанией и сообщает о «вынужденном тестировании некоторых ингредиентов согласно закону Германии», но большинство организаций относят её к «чёрному» списку. Её бренды: Fa Schauma Gliss Kur Diademine Локк Ласка Persil Vernel Silan Prill Bref Пемолюкс Дени и многие другие.



- Есть ещё несколько компаний, также фигурирующих в списках отказавшихся от тестов над животными, но с различными оговорками, например: конечный продукт на животных не тестируется. Это значит, что вполне допускается тестирование ингредиентов этого продукта, что ещё более кощунственно: фирма пытается выкрутиться из ситуации, привлечь таким образом сочувствующего, но невнимательного покупателя, произвести благоприятное впечатление и остаться при своём интересе. К таким фирмам относится марка, всячески подчёркивающая свою «природную основу» - **Yves Rocher**. Может быть, именно поэтому её, как и некоторых других, нет в списке этических марок.



- Есть фирмы, которые сами не тестируют свою продукцию на животных, но в то же время не имеют формального соглашения с поставщиками сырья, что те не используют вивисекцию, например, **Shiseido**, **Chanel** – т.н. «серые» фирмы.

Есть примеры, когда фирма выпускает продукцию, небольшая часть которой не тестируется на животных, но вообще в компании вивисекция допустима и широко применяется.

- Например, фирма **Procter&Gamble** под брендом Clairol выпускает линию средств для волос **Herbal Essences**, которая позиционируется как натуральная, с природными травами и т.д. (хотя, если объективно, «химии» в ней не меньше, чем в других), и на этих средствах стоит пометка «Не тестируется на животных». Понятно, что даже если это и так, то сделано только для поддержания «природного» имиджа линии, а никак не из любви к животным, поэтому покупать этот шампунь – значит, поддерживать производителя-сторонника вивисекции.



- Этот пример приводит организация PETA и просит потребителей косметики не сразу доверять конкретному значку с кроликом или надписи, а сверяться со списком, который обновляется раз в два месяца. К тому же, многие фирмы из "белого" списка (Clarins, Decleor, Clinique, Avon и т.д.) не маркируют свою продукцию значком кролика, и не ставят надписи типа Not tested on animals, возможно, опасаясь того, что непросвещённые люди могут подумать, что она вообще никак не тестировалась.



- **ТЕМА. Проведение процедур на животных. Этика эксперимента.**
- 
- Поведение экспериментатора во время эксперимента и в виварии.
- Правила фиксации и переноски животных.
- Способы введения препаратов.
- Маркировка животных.
- Определение пола животных.
- Анестезия местная и общая.
- История эксперимента. Вивисекция.
- Приказ МЗ СССР № 755 от 12.08.77.
- Международные рекомендации по проведению эксперимента.
- 
- **ЛИТЕРАТУРА.**
- Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных. Приказ МЗ СССР № 755 от 12.08.77.
- Деонтология медико-биологического эксперимента. М., 1987.-76с.
- Павлов И.П. Избранные труды. Вивисекция. М.: Изд-во АН СССР, 1949.-640 с.