

B.1 tris AKUTNÍ TOXICITA ORÁLNÍ – METODA STANOVENÍ TŘÍDY AKUTNÍ TOXICITY

1 METODA je v souladu s právem Evropských společenství^{7a)}.

1.1 ÚVOD

Metoda stanovení třídy akutní toxicity^{7a)} stanovená v této zkoušce je metodou po krocích, přičemž u každého kroku se používají 3 pokusná zvířata stejného pohlaví. V závislosti na mortalitě nebo stavu agónie pokusných zvířat lze o akutní toxicitě zkoušené látky rozhodnout průměrně na základě 2 až 4 kroků. Tato metoda je reprodukovatelná, vyžaduje méně pokusných zvířat a dokáže látky zařadit podobně jako jiné metody zkoušení akutní toxicity. Metoda stanovení třídy akutní toxicity je založena na biometrickém hodnocení^{7a)} s fixními dávkami, přiměřeně oddělenými tak, aby umožnila zařazení látky pro účely klasifikace a posouzení nebezpečnosti. Na metodu přijatou v roce 1996 byly provedeny rozsáhlé národní^{7a)} i mezinárodní^{7a)} validační studie *in vivo* pro srovnání s hodnotami LD₅₀ získanými z literatury.

Není nutné podávat zkoušené látky v dávkách, o nichž je známo, že v důsledku leptavých nebo výrazně dráždivých účinků vyvolávají značnou bolest a utrpení. Umírající pokusná zvířata nebo pokusná zvířata, která zjevně projevují příznaky bolesti nebo značného a přetrvávajícího utrpení, se humánně utratí a při interpretaci výsledků jsou hodnocena jako pokusná zvířata uhynulá při zkoušce. Kritéria rozhodování o utracení umírajících nebo značně trpících pokusných zvířat a poučení týkající se rozpoznání předvídatelného nebo blížícího se uhynutí lze nalézt v literatuře^{7a)}.

Metoda využívá předem stanovených dávek a její výsledky umožňují látku zařadit a klasifikovat podle globálně harmonizovaného systému klasifikace chemických látek, které způsobují akutní toxicitu^{7a)}.

V zásadě tato metoda neslouží k vypočtení přesné hodnoty LD₅₀, ale umožňuje určit definované rozpětí expozice, při které se předpokládá letalita, neboť hlavním koncovým vyhodnocením této zkoušky zůstává uhynutí části pokusných zvířat. Metoda umožňuje stanovit hodnotu LD₅₀, pouze pokud alespoň dvě dávky vedou k mortalitě vyšší než 0 % a nižší než 100 %. Použití výběru předem stanovených dávek bez ohledu na zkoušenou látku, u něhož se klasifikace explicitně váže k počtu pokusných zvířat pozorovaných v různých stavech, zvyšuje možnost konzistentního a opakovaného předávání zpráv mezi laboratořemi.

Zkušební laboratoř by před provedením studie měla vzít v úvahu veškeré dostupné informace o zkoušené látce. Součástí těchto informací je totožnost a chemická struktura látky, její fyzikálně-chemické vlastnosti, výsledek jiných zkoušek toxicity dané látky *in vivo* nebo *in vitro*, toxikologické údaje o strukturně příbuzných látkách a očekávané použití látky. Tyto informace jsou nezbytné k tomu, aby byli všichni

zainteresovaní přesvědčení, že zkouška má význam pro ochranu lidského zdraví a pomůže při výběru nejvhodnější výchozí dávky.

1.2 DEFINICE

Akutní orální toxicita: vztahuje se na nepříznivé účinky, které se projeví po orálním podání jedné dávky nebo více dávek látky během 24 h.

1.3 PODSTATA ZKOUŠKY

Podstatou zkoušky je to, že se pomocí metody po krocích využívající minimálního počtu pokusných zvířat u každého kroku získají informace o akutní toxicitě zkoušené látky, které umožní její klasifikaci. Látka se skupině pokusných zvířat podává orálně v jedné ze stanovených dávek. Látka se zkouší metodou po krocích, přičemž u každého kroku se používají tři pokusná zvířata stejného pohlaví (obvykle samice). Přítomnost nebo nepřítomnost mortality vyvolané látkou u pokusných zvířat, jimž byla látka podána v jednom kroku, rozhodne o dalším kroku, tj.:

- není třeba žádné další zkoušení,
- podá se stejná dávka dalším třem pokusným zvířatům,
- látka se podá dalším třem pokusným zvířatům v nejbližší vyšší nebo nejbližší nižší úrovni dávky.

Podrobnosti postupu zkoušení jsou uvedeny v tabulce 5. Metoda umožní rozhodnout s ohledem na zařazení zkoušené látky do jedné z řady tříd toxicity definovaných fixními hraničními hodnotami LD₅₀.

1.4 POPIS METODY

1.4.1 Výběr druhu pokusných zvířat

Upřednostňovaným druhem hlodavce je potkan, avšak lze použít i jiné druhy hlodavců. Obvykle se používají samice^{7a)}. Je to proto, že přehled literatury o konvenčních zkouškách LD₅₀ ukazuje, že ačkoliv je mezi pohlavími obvykle malý rozdíl, pokud jde o citlivost, jsou samice v případech, ve kterých jsou rozdíly pozorovány, obecně nepatrně citlivější^{7a)}. Pokud však poznatky o toxikologických nebo toxikokinetických vlastnostech strukturně příbuzných chemických látek naznačují, že citlivější jsou pravděpodobně samci, použije se toto pohlaví. Jestliže se zkouška provádí na samcích, je nutné podat náležité odůvodnění. Použijí se mladá zdravá dospělá pokusná zvířata běžně užívaných laboratorních kmenů. Samice musí být nullipary a nesmí být březí. Každé pokusné zvíře musí být na začátku podávání látky 8 až 12 týdnů staré a jeho hmotnost by se měla pohybovat v intervalu $\pm 20\%$ střední hmotnosti pokusných zvířat, kterým byla podána předchozí dávka.

1.4.2 **Podmínky chovu a krmení**

Teplota v místnosti pro pokusná zvířata by měla být $(22 \pm 3) ^\circ\text{C}$. Ačkoliv by relativní vlhkost měla být minimálně 30 % a pokud možno nepřesáhnout 70 % kromě doby úklidu místnosti, cílem by měla být hodnota 50 – 60 %. Osvětlení by mělo být umělé, mělo by se střídát 12 h světla a 12 h tmy, není-li v chovné místnosti denní světlo. Ke krmení lze použít obvyklé krmivo určené pro pokusná zvířata od registrovaného výrobce s neomezenou dodávkou pitné vody. Pokusná zvířata mohou být chována v klecích ve skupinách podle dávky v souladu s příslušným právním předpisem¹⁰⁾, pokud není stanoveno projektem pokusů jinak, ale počet pokusných zvířat v kleci nesmí bránit nerušenému pozorování každého pokusného zvířete.

1.4.3 **Příprava pokusných zvířat**

Pokusná zvířata jsou vybrána s ohledem na druh, pohlaví a stáří v souladu s ustanovením § 15 zvláštního právního předpisu¹⁰⁾ a označena tak, aby byla možná identifikace jednotlivých pokusných zvířat. Dobu navykání stanoví § 10 zvláštního právního předpisu¹⁰⁾.

1.4.4 **Příprava dávek**

Zkoušená látka by obecně měla být při všech úrovních zkoušených dávek podávána v konstantním objemu pomocí úpravy koncentrace dávkovaného přípravku. V případech, kdy má být zkoušen kapalný konečný produkt nebo směs, může však mít použití nezředěné zkoušené látky, tj. s konstantní koncentrací, větší závažnost pro hodnocení následného rizika této látky. Ani v jednom případě nesmí být překročen maximální objem dávky. Maximální objem kapaliny, kterou lze jednorázově podat, závisí na velikosti pokusného zvířete. U hlodavců by objem obvykle neměl přesáhnout 1 ml/100 g tělesné hmotnosti; avšak u vodných roztoků připadá v úvahu i dávka 2 ml/100 g tělesné hmotnosti. S ohledem na složení dávkovaného přípravku se ve všech případech, kde je to možné, doporučuje použití vodného roztoku/suspenze/emulze, potom v pořadí podle preference použití roztoku/suspenze/emulze v oleji (např. v kukuřičném oleji) a nakonec případně roztoku v jiných vehikulech. U vehikul jiných než voda musí být známy jejich toxikologické charakteristiky. Dávky musí být připraveny krátce před podáním, pokud není stálost přípravku během doby, kdy bude používán, známa a neukáže se jako přijatelná.

1.5 **POSTUP**

1.5.1 **Podávání dávek**

Zkoušená látka se podává sondou v jedné dávce pomocí žaludeční sondy nebo vhodné intubační rourky. Pokud výjimečně není možné podat dávku najednou, lze dávku podat po menších množstvích během nejvýše 24 h.

Před podáním zkoušené látky nemají pokusná zvířata dostávat krmivo (např. potkanům by se nemělo podávat přes noc, myšim 3 – 4 h), voda se však ponechává. Po uplynutí doby hladovění se pokusná zvířata zváží a podá se jim zkoušená látka. Po podání látky se zamezí přístupu ke krmivu na další 3 – 4 h u potkanů nebo 1 – 2 h u myší. Podává-li se látka po částech v průběhu určité doby, může být podle délky období nezbytné poskytnout pokusným zvířatům krmivo a vodu.

1.5.2 **Počet pokusných zvířat a úrovně dávek**

V každém kroku se používají tři pokusná zvířata. Dávka, která bude použita jako výchozí, se zvolí z jedné ze čtyř fixních úrovní: 5, 50, 300 a 2 000 mg/kg tělesné hmotnosti. Výchozí dávka by měla být taková, která nejpravděpodobněji vyvolá úhynutí některých pokusných zvířat, jimž byla podána. Postup, který je nutno u každé výchozí dávky dodržet, je popsán ve vývojových diagramech v tabulce 5. Navíc je v tabulce 7 uvedeno poučení týkající se klasifikace v rámci systému EU, dokud nebude zaveden nový globálně harmonizovaný systém (GHS).

Pokud dostupné informace naznačují, že mortalita nebude pravděpodobně při nejvyšší výchozí úrovni dávky (2 000 mg/kg tělesné hmotnosti) vyvolána, je nutné provést limitní zkoušku. Pokud nejsou o látce, která má být testována, k dispozici žádné informace, doporučuje se kvůli dodržování pravidla dobrého zacházení s pokusnými zvířaty použít výchozí dávku 300 mg/kg tělesné hmotnosti.

Časový interval mezi experimentálními skupinami závisí na době nástupu, trvání a závažnosti příznaků toxicity. Expozice pokusných zvířat další dávce by měla být odložena, dokud nebude jisté, že pokusná zvířata, jimž byla podána předchozí dávka, přežila.

Ve výjimečných případech a pouze je-li to odůvodněno specifickými regulačními potřebami, lze zvážit použití další nejvyšší úrovně dávky 5 000 mg/kg tělesné hmotnosti (viz tabulka 6). S ohledem na dobré zacházení s pokusnými zvířaty se pokusy na pokusných zvířatech v rámci kategorie 5 GHS (2 000 – 5 000 mg/kg) nedoporučují a měly by se zvažovat pouze tehdy, pokud existuje velká pravděpodobnost, že výsledky takové zkoušky budou mít přímý význam pro ochranu lidského zdraví, zdraví pokusných zvířat nebo životního prostředí.

1.5.3 **Limitní zkouška**

Limitní zkouška se používá především tehdy, má-li osoba provádějící zkoušku informace svědčící o tom, že zkoušený materiál je pravděpodobně netoxický, tj. je toxický pouze nad rámec regulačních limitních dávek. Informace o toxicitě zkoušeného materiálu lze získat ze znalostí o podobných zkoušených sloučeninách, směsích nebo prostředcích s ohledem na totožnost a procento složek, o nichž se ví, že jsou toxikologicky významné. V situacích, kdy existuje jen málo informací nebo vůbec žádné informace o toxicitě nebo kdy se očekává, že zkoušený materiál bude toxický, by měla být provedena hlavní zkouška.

Limitní zkoušku s jednou úrovní dávky 2 000 mg/kg tělesné hmotnosti lze provést na šesti pokusných zvířatech (tři pokusná zvířata na jeden krok). Výjimečně lze na třech pokusných zvířatech provést limitní zkoušku s jednou úrovní dávky 5 000 mg/kg (viz tabulka 6). Projeví-li se mortalita vyvolaná zkoušenou látkou, může být nutné provést další zkoušky s nejbližší nižší úrovní dávky.

1.6 POZOROVÁNÍ

Po podání dávky se pokusná zvířata pozorují individuálně minimálně jednou během prvních 30 minut, pravidelně během prvních 24 h, přičemž zvláštní pozornost se věnuje prvním 4 h, a poté denně po dobu 14 dnů kromě případů, kdy je nutné pokusná zvířata ze studie vyjmout a humánně utratit kvůli dodržování pravidla dobrého zacházení s pokusnými zvířaty, nebo je zjištěn jejich úhyn. Doba pozorování by však neměla být stanovena pevně. Měla by být stanovena podle toxických reakcí, doby jejich nástupu a délky fáze zotavení, a může tedy být podle potřeby prodloužena. Doba, kdy se příznaky toxicity objeví a vymizí, je důležitá zejména v případě tendence ke zpožděným příznakům toxicity^{7a)}. Veškerá pozorování se systematicky zaznamenávají, přičemž záznamy se vedou pro každé pokusné zvíře jednotlivě.

Další pozorování bude nutné, jestliže pokusná zvířata dále vykazují příznaky toxicity. Pozorování zahrnují změny na kůži, na srsti, na očích, na sliznicích, a rovněž změny dýchání, krevního oběhu, změny funkce autonomní a centrální nervové soustavy, somatomotorické aktivity a chování. Pozornost je třeba věnovat třesu, křečím, slinění, průjmu, letargii, spánku a kómatu^{7a)}. Pokusná zvířata ve stavu agónie a pokusná zvířata se známkami prudkých bolestí nebo přetrvávajícími příznaky značného utrpení se humánně utratí. Pokud jsou pokusná zvířata z humánních důvodů utracena nebo je zjištěn jejich úhyn, je nutné dobu uhynutí zaznamenat co nejpřesněji.

1.6.1 Tělesná hmotnost

Hmotnosti jednotlivých pokusných zvířat se stanoví krátce před podáním zkoušené látky a nejméně jednou týdně poté. Vypočítají se změny hmotnosti a zaznamenají se. Na konci zkoušky se pokusná zvířata, která přežila, zváží a humánně utratí.

1.6.2 Patologie

Všechna pokusná zvířata (včetně těch, která v průběhu zkoušky uhynula nebo byla utracena kvůli dodržování pravidla dobrého zacházení s pokusnými zvířaty) se pitvají. U každého pokusného zvířete se zaznamenají všechny makroskopické patologické nálezy. Lze také zvážit mikroskopické vyšetření orgánů, u nichž jsou patrné makroskopické patologie, u pokusných zvířat, která přežila 24 nebo více hodin, protože mohou poskytnout užitečné informace.

2 DATA

Měly by být uvedeny údaje pro každé jednotlivé pokusné zvíře. Navíc by měly být všechny údaje shrnuty do tabulky, přičemž se u každé zkušební skupiny uvede počet použitých pokusných zvířat, počet pokusných zvířat vykazujících příznaky toxicity, počet pokusných zvířat uhynulých v průběhu zkoušky nebo utracených z humánních důvodů, doba uhynutí jednotlivých pokusných zvířat, popis a časový průběh a vratnost toxických účinků a pitevní nálezy.

3 PROJEKT POKUSU, PROTOKOL POKUSU A ZÁVĚREČNÁ ZPRÁVA

V souladu s příslušnými právními předpisy^{9),10)} musí být zpracován projekt pokusu a o průběhu pokusu je nutno vést protokol.

3.1 Zpráva o průběhu pokusu obsahuje tyto informace:

Zkoušená látka:

- fyzikální povaha, čistota a tam, kde je to podstatné, fyzikálně-chemické vlastnosti (včetně izomerizace),
- identifikační údaje, včetně čísla CAS.

Vehikulum (v případě potřeby):

- zdůvodnění výběru vehikula, pokud není použita voda.

Pokusná zvířata:

- použitý druh/kmen,
- mikrobiologický stav pokusných zvířat, je-li znám,
- počet, stáří a pohlaví pokusných zvířat (případně včetně zdůvodnění použití samců místo samic),
- původ, podmínky chovu, krmivo atd.

Zkušební podmínky:

- podrobné údaje o složení zkoušené látky, včetně podrobností o fyzikální formě podávaného materiálu,
- podrobné údaje o způsobu podání zkoušené látky, včetně podávaných objemů a době podávání,
- podrobné údaje o krmivu a kvalitě vody (včetně druhu/zdroje krmiva, zdroje vody),
- zdůvodnění výběru výchozí dávky.

Výsledky:

- tabulky údajů o reakcích každého pokusného zvířete a o úrovni jeho dávky (tj. počet pokusných zvířat vykazujících příznaky toxicity, včetně uhynutí, povahy, závažnosti a trvání účinků),
- tabulky údajů o tělesné hmotnosti a jejích změnách,
- individuální hmotnosti pokusných zvířat v den podání dávky, poté v týdenních intervalech a v čase úhynu nebo utracení,
- datum a doba úhynu, pokud předchází plánovanému usmrcení,
- časový průběh nástupu příznaků toxicity u každého pokusného zvířete a zda byly vratné,
- pitevní a histopatologické nálezy pro každé pokusné zvíře, pokud jsou k dispozici.

Diskuse a interpretace výsledků.

Závěry.

Tabulka 5

POSTUP, KTERÝ MÁ BÝT U KAŽDÉ Z VÝCHOZÍCH DÁVEK DODRŽEN

OBEČNÉ POZNÁMKY

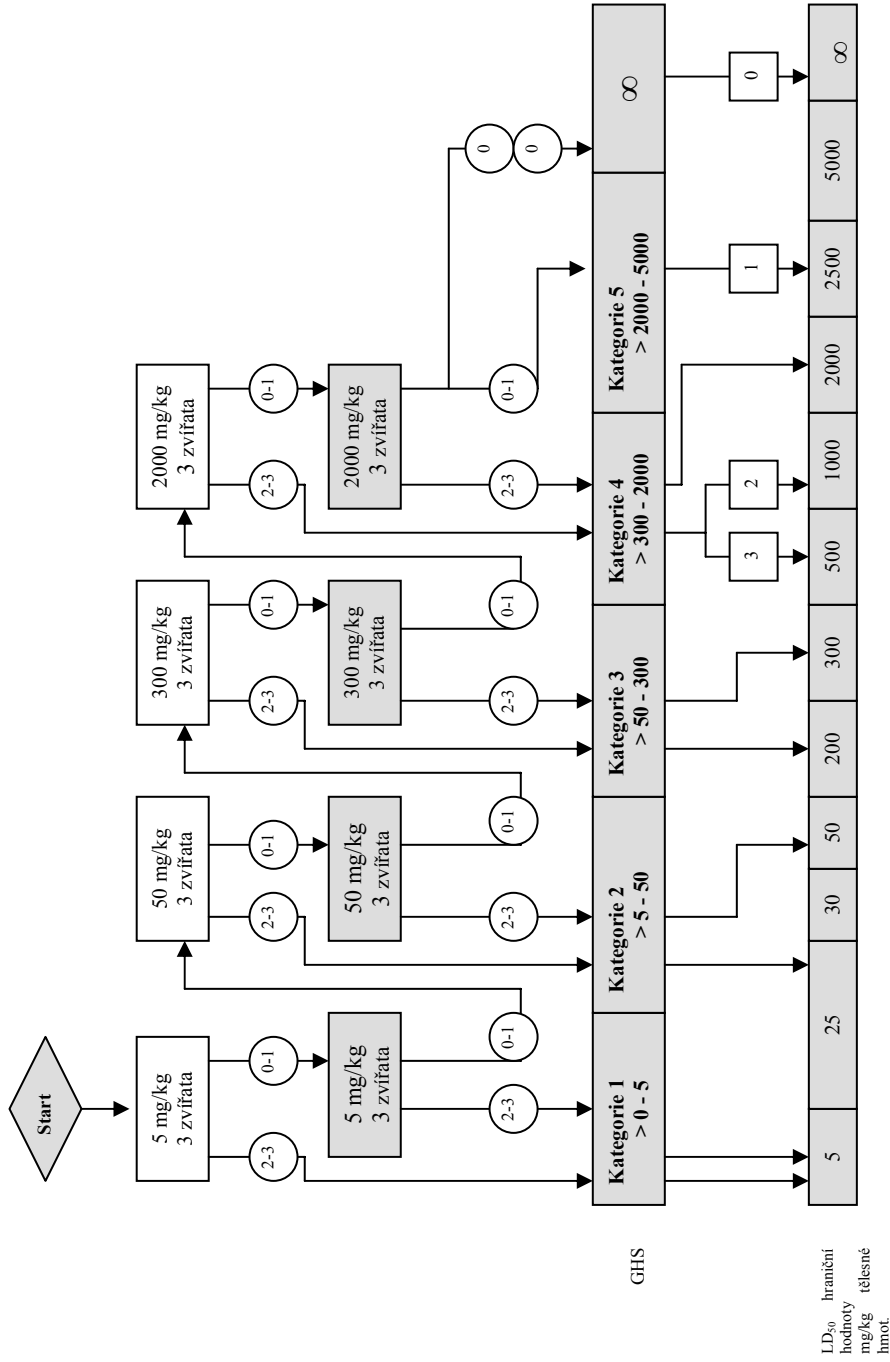
Systém zkoušení u každé výchozí dávky obsažený v této tabulce nastiňuje postup, podle kterého je třeba postupovat.

- Tabulka 5 a: výchozí dávka je 5 mg /kg tělesné hmotnosti
- Tabulka 5 b: výchozí dávka je 50 mg /kg tělesné hmotnosti
- Tabulka 5 c: výchozí dávka je 300 mg/kg tělesné hmotnosti
- Tabulka 5 d: výchozí dávka je 2 000 mg/kg tělesné hmotnosti

Postup zkoušení se řídí naznačenými šipkami v závislosti na počtu humánně utracených nebo uhynulých pokusných zvířat.

Tabulka 5a

POSTUP ZKOUŠENÍ S VÝCHOZÍ DÁVKOU 5 mg/kg TĚLESNÉ HMOTNOSTI

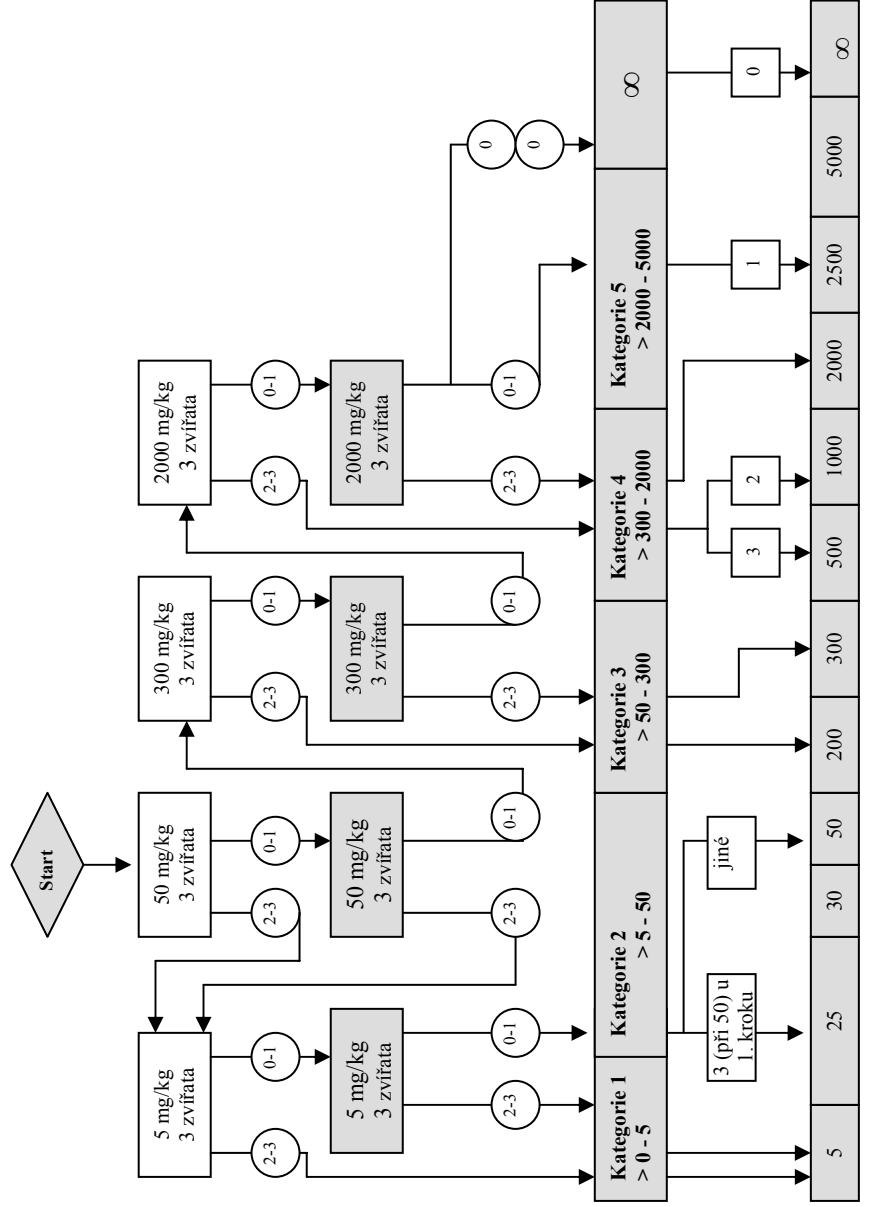


- u každého kroku se použijí 3 zvířata stejného pohlaví (obvykle samice)
- 0, 1, 2, 3: počet zvířat v agonii nebo uhybnulých zvířat u každého kroku
- GHS: Globálně harmonizovaný systém klasifikace (mg/kg tělesné hmot.)

- ∞: neklasifikováno
- zkoušení s 5 000 mg/kg tělesné hmot. viz tabulka 2

Tabulka 5 b

POSTUP ZKOUŠENÍ S VÝCHOZÍ DÁVKOU 50 mg/kg TĚLESNÉ HMOTNOSTI



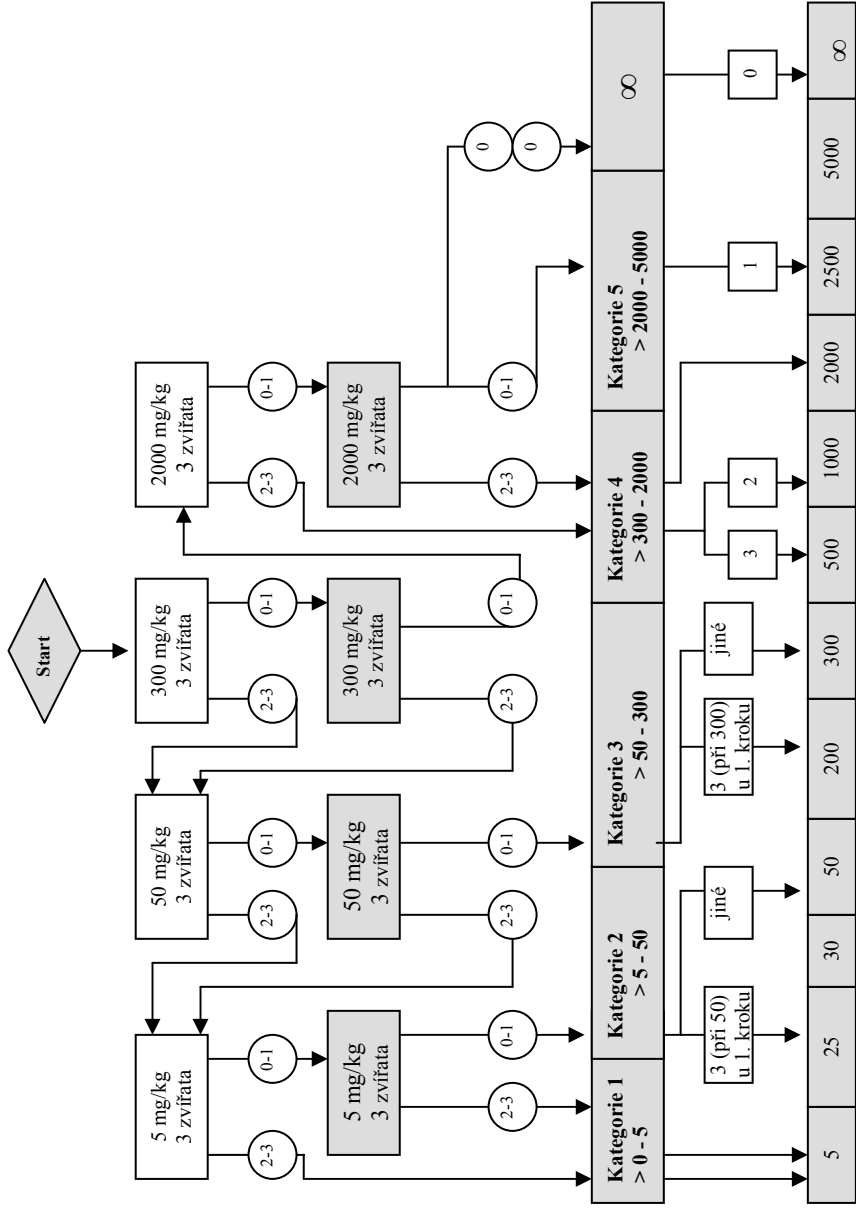
- u každého kroku se použijí 3 zvířata stejného pohlaví (obvykle samice)
- 0, 1, 2, 3: počet zvířat v agónii nebo uhybných zvířat u každého kroku
- GHS: Globálně harmonizovaný systém klasifikace (mg/kg tělesné hmot.)

- ∞: neklasifikováno
- : zkoušení s 5 000 mg/kg tělesné hmot. viz tabulka 2

LD₅₀ hraniční hodnoty mg/kg tělesné hmot.

TABULKA 5 c

POSTUP ZKOUŠENÍ S VÝCHOZÍ DÁVKOU 300 mg/kg TĚLESNÉ HMOTNOSTI



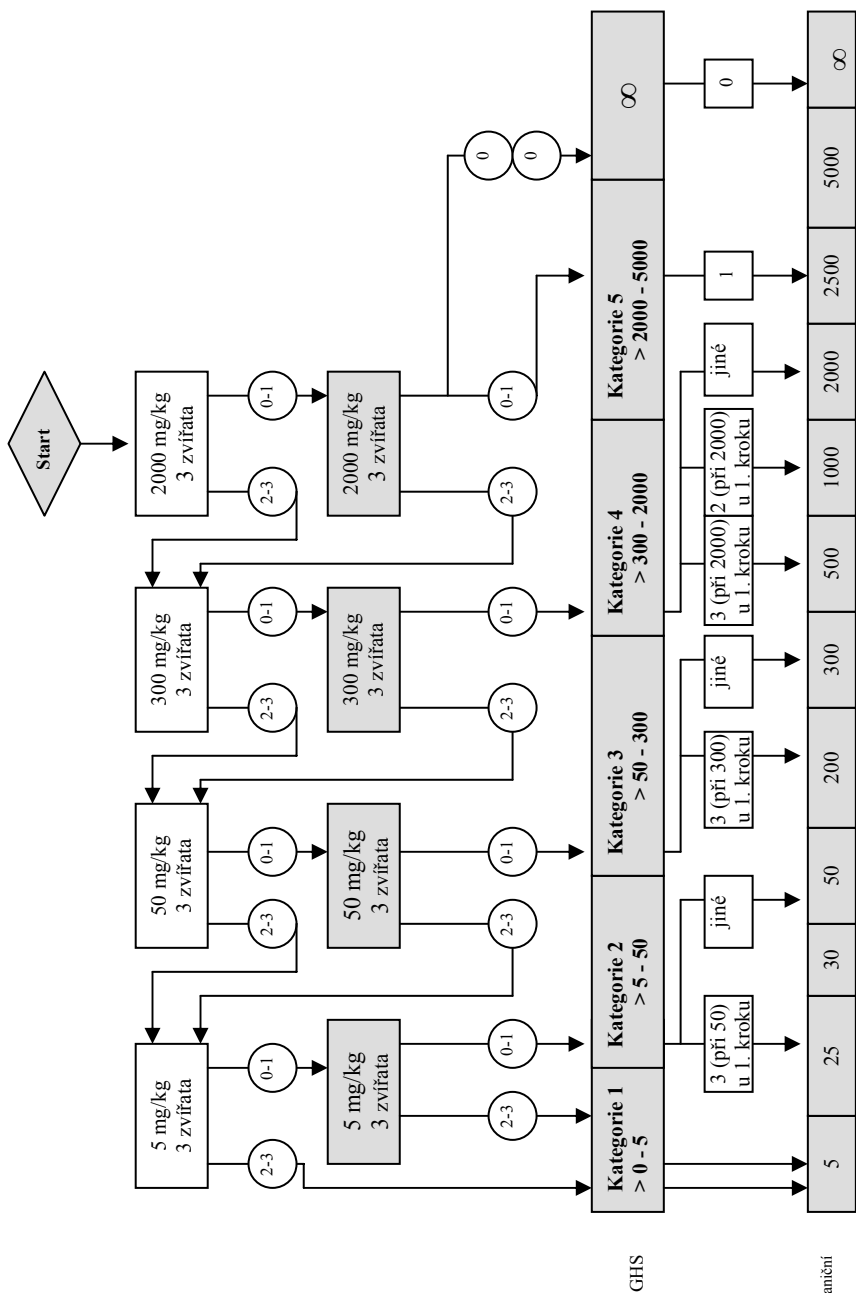
GHS

LD₅₀ hraníční hodnoty (mg/kg tělesné hmot.)

- u každého kroku se použijí 3 zvířata stejného pohlaví (obvykle samice)
- 0, 1, 2, 3; počet zvířat v agónii nebo uhybnulých u každého kroku
- GHS: Globálně harmonizovaný systém klasifikace (mg/kg tělesné hmot.)

- ∞: neklasifikováno
- - zkoušení s 5 000 mg/kg tělesné hmot. viz tabulka 2

TABULKA 5 d
POSTUP ZKOUŠENÍ S VÝCHOZÍ DÁVKOU 2000 mg/kg TĚLESNÉ HMOTNOSTI



- u každého kroku se použijí 3 zvířata stejného pohlaví (obvykle samice)
 - 0, 1, 2, 3: počet zvířat v agonii nebo uhybnulých zvířat u každého kroku
 - GHS: Globálně harmonizovaný systém klasifikace (mg/kg tělesné hmot.)

- ∞: neklasifikováno
 - zkoušení s 5 000 mg/kg tělesné hmot. viz tabulka 2

LD₅₀ hraniční hodnoty mg/kg tělesné hmot.

GHS

Tabulka 6

KRITÉRIA KLASIFIKACE ZKOUŠENÝCH LÁTEK S OČEKÁVANÝMI HODNOTAMI LD₅₀ PŘESAHUJÍCÍMI 2 000 mg/kg BEZ NUTNOSTI ZKOUŠENÍ

Kritéria pro kategorii nebezpečnosti 5 mají umožnit identifikaci zkoušených látek, u nichž je nebezpečí akutní toxicity relativně nízké, avšak které mohou za určitých okolností pro citlivé jedince představovat nebezpečí. U těchto látek se předpokládá, že se jejich orální nebo dermální LD₅₀ nebo LD₅₀ ekvivalentních dávek podávaných jinými cestami pohybuje v rozmezí od 2 000 do 5 000 mg/kg. Zkoušenou látku lze klasifikovat v kategorii nebezpečnosti definované jako 2 000 mg/kg < LD₅₀ < 5 000 mg/kg (v GHS kategorii 5) v těchto případech:

- a) pokud je do této kategorie zařazena podle některého ze systémů zkoušení uvedeného v tabulce 5a – 5d, v závislosti na výskytech uhynutí,
- b) pokud jsou již k dispozici spolehlivé důkazy naznačující, že LD₅₀ se pohybuje v rozmezí hodnot kategorie 5, nebo pokud z jiných studií na pokusných zvířatech nebo toxických účinků na člověka vyplývají akutní obavy o lidské zdraví,
- c) pokud extrapolací, odhadem nebo měřením údajů není přiřazení do vyšší třídy nebezpečnosti odůvodněno a
 - pokud jsou k dispozici spolehlivé informace naznačující významné toxické účinky na člověka, nebo
 - pokud je během zkoušení orální cestou do hodnot kategorie 4 pozorováno uhynutí, nebo
 - v případech, kdy odborný posudek potvrdí závažné klinické příznaky toxicity při testování do hodnot kategorie 4 s výjimkou průjmu, piloerekce nebo rozčuchané srsti, nebo
 - v případech, kdy odborný posudek potvrdí spolehlivé informace, které naznačují potenciál pro významné akutní účinky vyplývající z jiných studií na pokusných zvířatech.

ZKOUŠENÍ V DÁVKÁCH PŘESAHUJÍCÍCH 2 000 mg/kg

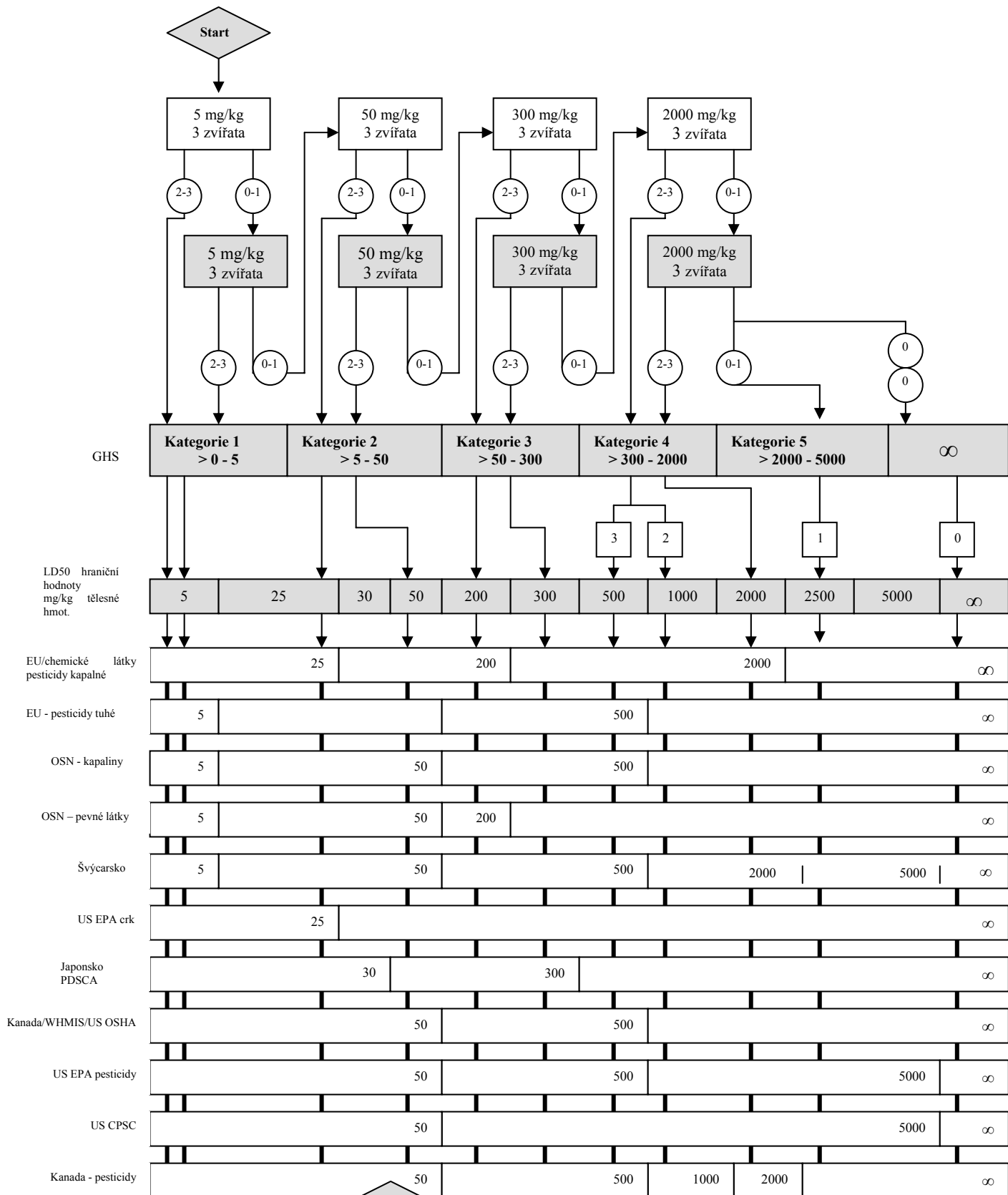
S ohledem na potřebu ochrany dobrého zacházení s pokusnými zvířaty se zkoušení na pokusných zvířatech v kategorii 5 (5 000 mg/kg) nedoporučuje a mělo by se zvažovat pouze v případě, že existuje velká pravděpodobnost, že výsledky takové zkoušky mají přímý význam pro ochranu lidského zdraví nebo zdraví pokusných zvířat^{7a)}. S vyššími úrovněmi dávek se žádné další zkoušky neprovedou.

Pokud je vyžadováno zkoušení s dávkou 5 000 mg/kg, vyžaduje se pouze jeden krok (tj. tři pokusná zvířata). Pokud pokusné zvíře, jemuž byla podána dávka jako prvnímu, uhynie, pokračuje podávání s úrovní 2 000 mg/kg podle vývojového diagramu

v tabulce 5. Pokud první pokusné zvíře přežije, podá se dávka dalším dvěma pokusným zvířatům. Pokud uhynie pouze jedno pokusné zvíře ze tří pokusných zvířat, očekává se, že hodnota LD₅₀ přesáhne 5 000 mg/kg. Pokud uhynou obě pokusná zvířata, pokračuje se podáním dávky 2 000 mg/kg.

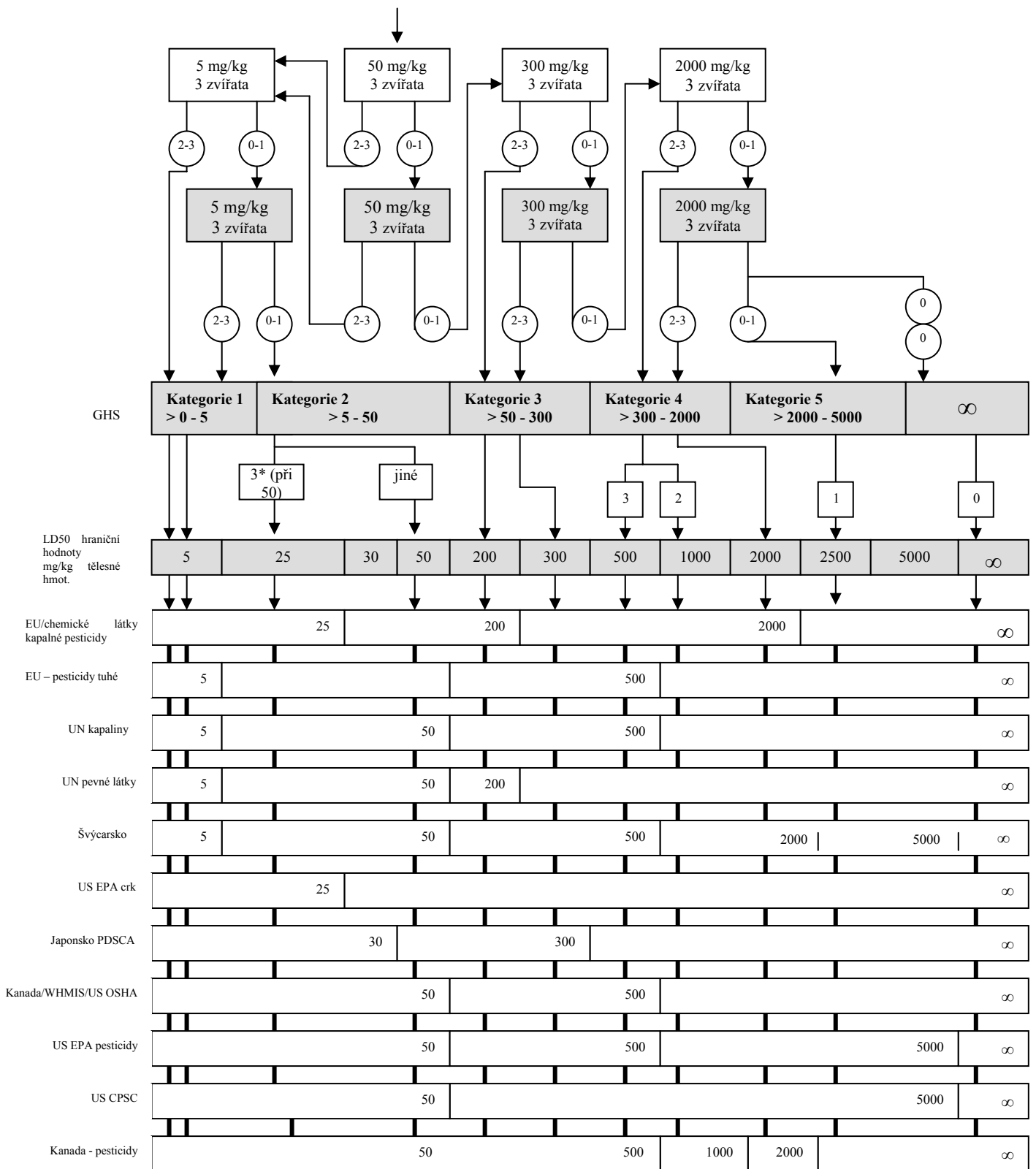
Tabulka 7

METODA ZKOUŠENÍ B.1 tris: Pokyny ke klasifikaci podle systému EU pro přechodné období do plného zavedení globálně harmonizovaného systému klasifikace (GHS) (převzato z literatury^{7a)})



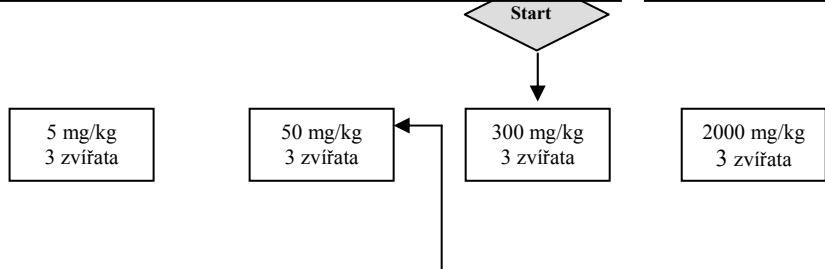
Start
 - u každého kroku se použijí 3 zvířata stejného pohlaví (obvykle samice)
 - 0, 1, 2, 3: počet zvířat v agónii nebo uhynulých u každého kroku

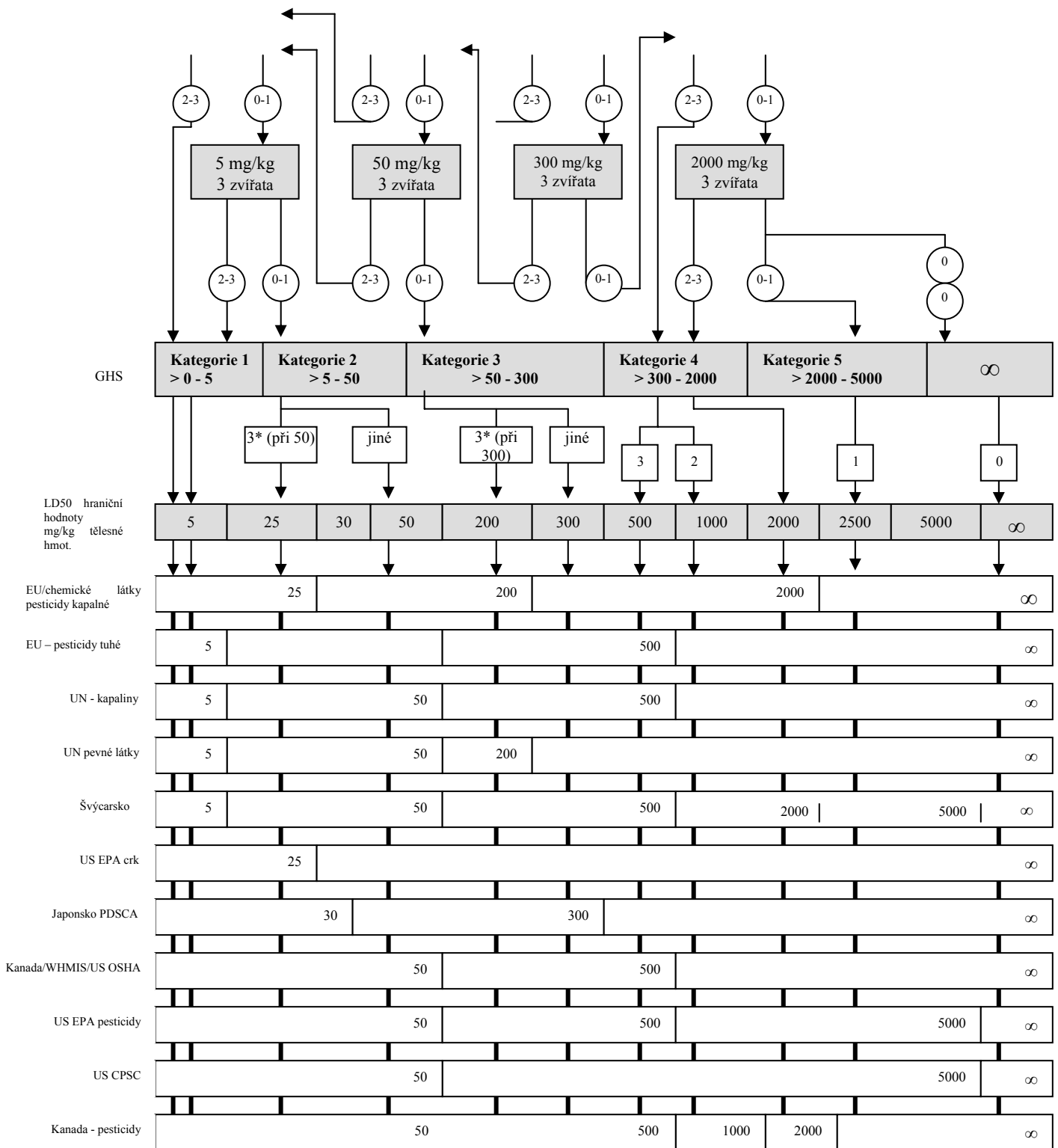
Start
 - ∞: neklasifikováno
 - GHS: Globálně harmonizovaný systém klasifikace (mg/kg tělesné hmot.)



- u každého kroku se použijí 3 zvířata stejného pohlaví (obvykle samice)
 - 0, 1, 2, 3: počet zvířat v agónii nebo uhynulých u každého kroku

- ∞: neklasifikováno
 - GHS: Globálně harmonizovaný systém klasifikace (mg/kg tělesné hmot.)

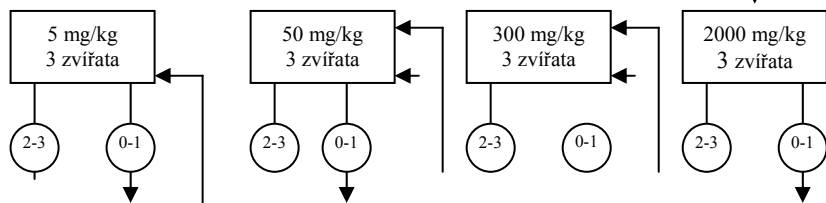


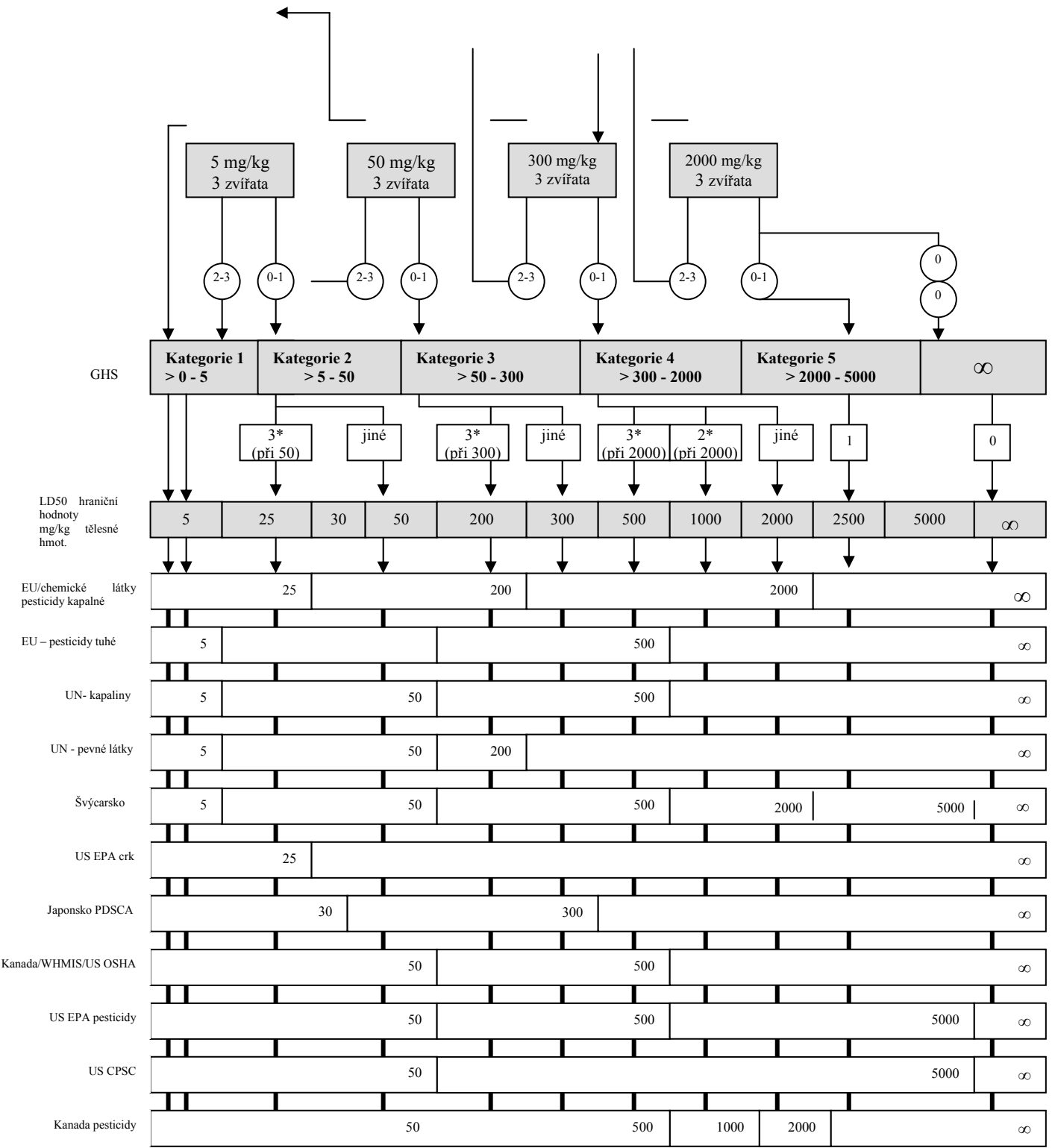


METODA ZKOUŠEN

– u každého kroku se použijí 3 zvířata jednoho pohlaví (obvykle samice)
 – 0, 1, 2, 3: počet zvířat v agonii nebo uhynulých zvířat u každého kroku

– ∞: neklasifikováno
 – *: u prvních tří kategorií
 – GHS: harmonizovaný systém klasifikace (mg/kg těl. hmot.)





– u každého kroku se použijí 3 zvířata jednoho pohlaví (obvykle samice)
 – 0, 1, 2, 3: počet zvířat v agónii nebo uhynulých zvířat u každého kroku

– ∞: neklasifikováno
 – *: u prvního kroku
 – GHS: Globálně harmonizovaný systém klasifikace (mg/kg těl. hmot.)