

ТОКСИКОЛОГИЯ

(профилактическая, клиническая, экологическая)

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Ракитский В.Н., Чхвиркия Е.Г., Епишина Т.М.

НАУЧНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ДОПУСТИМОЙ СУТОЧНОЙ ДОЗЫ ТЕХНИЧЕСКОГО ПРОДУКТА, ПРОИЗВОДНОГО ХЛОРАЦЕТАМИДОВ

ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, 141014, г. Мытищи, Московской обл., Россия

Введение. Научной основой безопасного применения пестицидов являются комплексные санитарно-токсикологические исследования по изучению параметров их токсичности и биологического действия, гигиеническое нормирование с целью научного обоснования регламентов применения и мер безопасности при работе с ними.

Цель исследования – изучение параметров острой и хронической токсичности, биологического действия технического продукта, производного хлорацетамидов, при его пероральном поступлении в организм млекопитающих (крысы), обоснование допустимой суточной дозы для человека.

Материал и методы. В острых опытах использованы белые крысы-самцы с массой тела 210–220 г. Испытаны дозы 1000–4000 мг/кг массы тела (4 группы животных, по 6 особей в каждой). Хронический эксперимент проведен на крысах-самцах с массой тела 180–190 г. Испытаны дозы: 3,5, 17,6 и 70,0 мг/кг массы тела (3 опытные группы и 1 контрольная, по 20 особей в каждой). В динамике опыта наблюдали за состоянием и поведением животных, потреблением воды и пищи; фиксировали сроки гибели, регистрировали изменения массы тела, физиологических, биохимических и гематологических показателей. Величину допустимой суточной дозы определяли отношением максимально недействующей дозы к коэффициенту запаса.

Результаты. Установлено, что полудетальная доза (LD_{50}) изучаемого соединения составляет 2172 ± 370 мг/кг массы тела. В хроническом эксперименте доза 3,5 мг/кг массы тела не вызвала достоверных изменений по всем изученным показателям, при дозе 17,6 мг/кг массы тела отмечены единичные изменения, а доза 70,0 мг/кг массы тела оказала политропное воздействие на организм опытных животных.

Обсуждение. Изученный технический продукт по острой пероральной токсичности относится к малоопасным соединениям. Многократное пероральное поступление данного продукта в дозе 70,0 мг/кг массы тела вызвало изменения в состоянии центральной нервной системы животных, анализ биохимических и гематологических показателей выявил изменения углеводного, липидного и липопротеидного обмена, аминокислотного метаболизма.

Выводы. Изучаемое соединение по острой пероральной токсичности, согласно гигиенической классификации пестицидов (СанПиН 1.2.2584-10), относится к 4-му классу опасности. Доза 70,0 мг/кг массы тела – действующая; 17,6 мг/кг массы тела – пороговая; 3,5 мг/кг массы тела – недействующая. Обоснована допустимая суточная доза для человека – 0,035 мг/кг.

Ключевые слова: острая пероральная и хроническая токсичность; лабораторные животные; характер биологического действия.

Для цитирования: Ракитский В.Н., Чхвиркия Е.Г., Епишина Т.М. Научное обоснование допустимой суточной дозы технического продукта, производного хлорацетамидов.

Здравоохранение Российской Федерации. 2019; 63(3): 147-151.

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0044-197X-2019-63-3-147-151>

Rakitskiy V.N., Chkhvirkiya E.G., Epishina T.M.

SCIENTIFIC SUBSTANTIATION OF THE PERMISSIBLE DAILY DOSE OF A TECHNICAL PRODUCT DERIVED FROM CHLOROACETAMIDES

Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman, Mytishchi, Moscow Region, 141014, Russian Federation

Introduction. The scientific basis for the safe use of pesticides are comprehensive sanitary and toxicological studies to study the parameters of their toxicity and biological action, hygienic regulation for the purpose of scientific justification of regulations and safety measures when working with them.

Purpose of research. The study of parameters of acute and chronic toxicity, biological actions technical product derived chloroacetamide, at oral intake of mammals (rats), the rationale of the acceptable daily intake (ADI) for humans.

Material and methods of research. In acute experiments used white male rats weighing 210-220 g. Tested doses 1000 and 4000 mg/kg of body weight. Statistical group for each dose consisted of 6 animals. Chronic experiment was carried out on male rats with body weight 180-190 g. Doses were tested: 3,5; 17,6 and 70,0 mg/kg body weight. Statistical groups of each dose and control group included 20 animals. In the dynamics of the experiment, the state and behavior of animals, water and food consumption were observed, the terms of death were fixed, changes in body weight, physiological, biochemical and hematological parameters were recorded. The value of the permissible daily dose was determined by the ratio of the maximum inactive dose to the reserve ratio.

Results. As a result of the research it was found that LD50 of the studied compound is 2172 ± 370 mg/kg. In the chronic experiment, the dose of 3.5 mg/kg b.w. does not cause significant changes in all the studied parameters, at a dose of 17.6 mg/kg b.w. single changes, the dose of 70.0 mg/kg. had a polytropic effect on the body of experimental animals.

Discussion. The studied technical product for acute oral toxicity refers to low-hazard compounds. It was found that multiple oral intake of the studied product at a dose of 70.0 mg/kg weight body revealed changes in the state of the Central nervous system, and the analysis of biochemical and hematological parameters of blood showed that changes in carbohydrate, lipid and lipoprotein metabolism, aminobelic metabolism occur in animals.

Conclusions. The studied compound for acute oral toxicity according to the hygienic classification of pesticides (SanPiN 1.2.2584-10) belongs to the 4th hazard class. Dose: 70,0 mg/kg weight body – acting; 17,6 mg/kg weight body – threshold; 3.5 mg/kg weight body – inactive. The permissible daily dose (DSD) for a person is 0.035 mg/kg.

Key words: acute oral and chronic toxicity; laboratory animals; nature of biological action.

For citation: Rakitskiy V.N., Chkhvirkiya E.G., Epishina T.M. Scientific substantiation of the permissible daily dose of a technical product derived from chloroacetamides. *Zdravookhraneniye Rossiiskoi Federatsii (Health Care of the Russian Federation, Russian journal)*. 2019; 63 (3): 147-151. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0044-197X-2019-63-3-147-151>

For correspondence: Valery N. Rakitskiy, Doctor of Medical Science, Professor, Academician of the RAS, acting director of the Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman, Mytishchi, Moscow Region, 141014, Russian Federation. E-mail: pesticidi@fferisman.ru

Information about authors:

Rakitskiy V.N., <http://orcid.org/0000-0002-9959-6507>

Chkhvirkiya E.G., <http://orcid.org/0000-0003-4543-7364>

Epishina T.M., <http://orcid.org/0000-0003-0331-0701>

Acknowledgement. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 10 June 2019

Accepted 02 July 2019

В структуре химических загрязнителей окружающей среды, способных оказывать существенное влияние на состояние здоровья населения, особое место занимают пестициды [1, 2].

Известно, что без применения современных средств химизации сельского хозяйства невозможно получение высоких и устойчивых урожаев самых разных культур. Вместе с тем применение всё большего числа химических веществ защиты растений предопределяет опасность загрязнения окружающей среды токсическими веществами и неблагоприятное воздействие на человека [3, 4].

Преднамеренное внесение пестицидов способствует их циркуляции в объектах окружающей среды (почва, вода, воздух и продукты питания растительного происхождения), что обуславливает возможность контакта с остаточными количествами пестицидов больших масс населения. Пестициды могут передвигаться на значительные расстояния вместе с воздушными и водными массами, а пищевые продукты, содержащие их остаточные количества, распространяются не только внутри одной страны, но и между странами [5, 6].

Следовательно, ксенобиотики способны поступать в организм человека различными путями: при непосредственном контакте с ними в условиях производства и применения, с пищевыми продуктами, через загрязнённую воду, воздух и т.д.

Большинство пестицидов относится к биологически активным веществам широкого спектра действия. Многочисленные исследования показали серьёзную опасность длительного воздействия на организм даже небольших доз пестицидов. Особую настороженность вызывают пестициды-«дженерики», действующие вещества которые не эквивалентны оригинатору, так как известно, что наличие новых примесей или превышение лимитирующих уровней имеющихся примесей в технических продуктах-«дженериках» по сравнению с оригинатором может значительно изменять токсикологический профиль изучаемых соединений [7–10]. Технический продукт – это вещество, получаемое в технологическом процессе и содержащее примеси, при этом ассортимент и количественный уровень этих примесей непосредственно зависят от конкретной технологии получения продукта.

Научной основой безопасного применения новых пестицидов являются комплексные санитарно-токсикологические исследования по изучению параметров токсичности и характера биологического действия технического продукта пестицидов, позволяющие установить величину их максимально недействующей дозы, необходимой для обоснования допустимой суточной дозы (ДСД) соединения для человека. Установление ДСД действующих веществ пестицидов для человека берётся за основу при их гигиеническом нормировании в соответствии с принципом комплексного гигиенического нормирования. Указанный принцип заключается в том, что возможное поступление пестицидов в организм человека с пищевыми продуктами, водой и атмосферным воздухом не должно превышать их ДСД.

Всё вышесказанное показывает актуальность и значимость изучения особенностей биологического эффекта действующих веществ «дженериков», входящих в состав пестицидов. В нашем эксперименте проведено санитарно-токсикологическое исследование технического продукта класса хлорацетамидов, входящего в состав нового смесивого пестицида на основе 2 действующих веществ «дженериков».

Отсутствие данных о характере биологического действия указанного химического продукта послужило основанием для проведения настоящих исследований.

Цель исследования – изучение параметров острой и хронической токсичности, биологического действия технического продукта, производного хлорацетамидов, при его пероральном поступлении в организм лабораторных животных (крысы), обоснование ДСД для человека.

Для достижения поставленной цели определяли параметры острой и хронической пероральной токсичности исследуемого продукта при однократном и многократном поступлении в организм животных, позволяющие установить класс опасности и максимально ДСД.

Материал и методы

Исследования проведены в виварии ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора.

Для оценки острой пероральной токсичности использовали белых крыс-самцов массой тела 210–220 г. Технический продукт вводили однократно в желудок крысам, предварительно голодавшим не менее 2 ч в 50% концентрации. Испытаны дозы: 1000, 2000, 3000 и 4000 мг/кг массы тела (4 группы по 6 особей в каждой) [11, 12]. Животных содержали в условиях вивария на брикетированном корме. Наблюдали за их поведением и состоянием, фиксировали клиническую картину интоксикации и сроки гибели в течение 14 сут после воздействия технического продукта. По оконча-

нии эксперимента проведена эвтаназия выживших животных в CO₂-боксе с последующим макроскопическим исследованием внутренних органов.

Хронический (12-месячный) эксперимент [13] проводили на 80 белых крысах-самцах массой тела 180–190 г, которые были разделены на 4 группы (по 20 животных в каждой). В опытных группах испытывали действие химического продукта в 3 дозах (в мг/кг массы тела): 1-я группа – 3,5, 2-я группа – 17,6, 3-я группа – 70,0. Животные контрольной группы технический продукт не получали.

В течение опыта наблюдали за состоянием и поведением животных, потреблением воды и пищи; фиксировали сроки гибели животных, регистрировали изменения массы тела (через каждый месяц). Через 1, 3, 6 и 12 мес исследования определяли биохимические и гематологические показатели, оценивали состояние центральной нервной системы (ЦНС).

Состояние ЦНС оценивали по способности животных суммировать подпороговые импульсы (суммационно-пороговый показатель, в вольтах) и на основании изучения поведенческих реакций: общая активность, длина пути, время отдыха, норковый рефлекс, ориентировочная реакция, определяли на совмещенной установке «открытого поля» и «открытой площадки» с автоматической регистрацией поведения крыс на приборе ОРТО-МАКС (Columbus Instuments, США) [14–16].

Гематологические показатели регистрировали в цельной крови животных с помощью автоматического гематологического анализатора «CELL-DYN® 3700 System» (США). Изучали концентрацию лейкоцитов (содержание лимфоцитов, нейтрофилов, эозинофилов, базофилов, моноцитов), эритроцитов, тромбоцитов, гемоглобина, гематокрит, средний объём эритроцита, среднее содержание гемоглобина в эритроците, среднюю концентрацию гемоглобина в эритроците.

Биохимические исследования выполняли на автоматическом биохимическом анализаторе «Chem Well» (Awariness Technology, США) с использованием диагностических наборов реактивов производства Hospitex Diagnostics S.r.l. (Италия). Изучали показатели с помощью следующих методов: аланин- (АЛТ) и аспартатаминотрансфераза (АСТ) – кинетический, метод IFCC; альбумин – бромкрезол зелёный; общий белок – колориметрический, биуретовый метод; мочевиная кислота – ферментативный, с уриказой и пероксидазой; мочевиная – энзиматический; глюкоза – энзиматический, колориметрический (GOD-POD); щелочная фосфатаза (ЩФ) – кинетический; триглицериды – энзиматический, колориметрический; холестерин – энзиматический, колориметрический (Trinder); лактатдегидрогеназа (ЛДГ) – кинетический UV-тест, метод SFBC; холинэстераза – кинетический метод DGKC, с бутирилтиохолином; креатинин – метод Яффе,

двухточечная кинетика; амилаза – кинетический метод; хлориды – колориметрический.

По окончании эксперимента проведена эвтаназия животных в CO₂-боксе с последующим определением абсолютной и относительной массы внутренних органов крыс контрольной и опытных групп.

Величину ДСД определяли как отношение максимально недействующей дозы (NOEL) к коэффициенту запаса [13].

Результаты проведённых исследований обработаны статистически в программе IBM SPSS Statistics 22.

Результаты

Для определения LD₅₀ изучены дозы 1000, 2000, 3000 и 4000 мг продукта на 1 кг массы тела. Клиническая картина острой интоксикации при введении 3000 и 4000 мг/кг массы тела характеризовалась неуверенной шаткой походкой, одышкой, повышенным мочевыделением, апатией, взъерошенным шёрстным покровом, снижением поедания корма. При дозе 1000 мг/кг массы тела животные не погибали. У погибших животных (дозы 2000, 3000 и 4000 мг/кг массы тела) при макроскопическом исследовании отмечены следующие патологоанатомические изменения: резкое полнокровие печени, сплаженность её краев, инъекцированность сосудов желудка и кишечника, гастроэнтероколит.

Установлено, что LD₅₀ для крыс-самцов составила 2172 ± 370 мг/кг массы тела.

При изучении хронического (в течение 12 мес) воздействия химического продукта испытаны следующие дозы: 3,5, 17,6 и 70,0 мг/кг на массу тела. Функциональное состояние организма животных оценено по интегральным и специфическим показателям.

Животные 1-й и 2-й опытных групп (многократное пероральное введение 3,5 и 17,6 мг исследуемого продукта на 1 кг массы тела соответственно) и контрольной группы (вещество не вводили) не погибали. В 3-й опытной группе, где животные получали технический продукт в дозе 70,0 мг/кг массы тела, из 20 крыс, взятых в опыт в каждую группу, погибли 2 животных на 8-м и 10-м месяце исследования при получении 12 880 и 16 100 мг/кг массы тела соответственно.

У животных опытной группы, получавших технический продукт в дозе 3,5 мг/кг массы тела, во все сроки исследования не выявлено статистически достоверных изменений по всем изученным показателям по сравнению с контрольными животными. При дозе 17,6 мг/кг массы тела обнаружены единичные изменения ряда гематологических показателей (достоверное снижение среднего содержания гемоглобина в эритроците и средней концентрации гемоглобина в эритроците через 3 мес воздействия соединения).

При многократном пероральном поступлении исследуемого продукта в дозе 70 мг/кг массы тела происходят изменения в состоянии ЦНС. Об этом свидетельствуют достоверное увеличение суммационно-порогового показателя через 12 мес, а также снижение общей активности, длины пути, норкового рефлекса и повышение времени отдыха через 6 и 12 мес воздействия ($p < 0,05$). Анализ биохимических показателей сыворотки крови показал повышение содержания триглицеридов и активности амилазы через 1 мес воздействия, снижение уровня триглицеридов, глюкозы, креатинина, хлоридов, альбумина, общего белка, активности АСТ и АЛТ через 3 мес ($p < 0,05$); повышение содержания общего белка и активности амилазы через 6 мес ($p < 0,05$); повышение уровня холестерина и глюкозы через 12 мес ($p < 0,05$).

В результате анализа гематологических показателей выявлено статистически достоверное снижение концентрации лейкоцитов через 1 мес введения ($p < 0,05$); снижение уровня гемоглобина, среднего содержания гемоглобина в эритроците и средней концентрации гемоглобина в эритроците, повышение количества базофилов через 3 мес ($p < 0,05$); повышение концентрации лейкоцитов через 12 мес ($p < 0,05$). При определении абсолютной и относительной массы внутренних органов животных зарегистрировано снижение абсолютной и относительной массы надпочечников и относительной массы селезёнки у опытных животных, получавших соединение в дозе 70,0 мг/кг массы тела по сравнению с животными контрольной группы.

Обсуждение

Изученный технический продукт по острой пероральной токсичности относится к малоопасным соединениям. Установлено, что при многократном пероральном поступлении исследуемого продукта действующей является доза 70,0 мг/кг массы тела. У животных, получавших указанную дозу вещества, по сравнению с животными контрольной группы выявлены изменения в состоянии ЦНС. Кроме того, при анализе биохимических и гематологических показателей установлены изменения углеводного, липидного и липопротеидного обмена, аминокислотного метаболизма.

Доза 17,6 мг/кг массы тела, вызывающая единичные изменения гематологических показателей, является пороговой.

Доза 3,5 мг/кг массы тела, при приёме которой у животных опытной группы по сравнению с животными контрольной группы отсутствуют изменения по всем изученным показателям на протяжении всего эксперимента (12 мес), принята как недействующая.

На основании недействующей дозы – 3,5 мг/кг массы тела и коэффициента запаса 100 нами научно обоснована ДСД для человека на уровне 0,035 мг/кг.

Выводы

1. Проведённые исследования показали, что технический продукт, производный хлорацетамидов, в соответствии с гигиенической классификацией пестицидов по степени опасности (СанПиН 1.2.2584-10) по острой пероральной токсичности относится к малоопасным соединениям (LD_{50} для крыс-самцов – 2172 ± 370 мг/кг массы тела, 4-й класс опасности).

2. При анализе результатов хронического эксперимента установлено, что длительное многократное пероральное введение исследованного продукта в организм животных (крысы-самцы) в дозе 3,5 мг/кг массы тела не вызывает статистически достоверных изменений по всем изученным показателям, поэтому указанная доза является недействующей. Доза 17,6 мг/кг массы тела вызывает единичные изменения и может быть принята как пороговая. Доза 70,0 мг/кг массы тела оказывает политропное действие на организм крыс-самцов и является действующей.

3. Обоснована ДСД для человека на уровне 0,035 мг/кг, исходя из недействующей дозы на уровне 3,5 мг/кг массы тела, установленного в 12-месячном хроническом эксперименте, проведённом на крысах-самцах, и коэффициента запаса 100 (с учётом невыраженных специфических и отдалённых эффектов).

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Потапов А.И., Ракитский В.Н., Чхвиркия Е.Г. Система обеспечения безопасности пищевых продуктов при применении пестицидов. Москва-Ярославль; 2013.
2. Potapov A.I., Rakitskiy V.N., Nikolaeva N.I. New Russian toxicological-hygienic classification of pesticides. *Toxicol. Lett.* 2005; 158(1): 136.
3. Ракитский В.Н., Синицкая Т.А. Оценка риска при воздействии пестицидов на население. В кн.: *Сборник трудов: IV Съезд токсикологов России*. М.: 2013; 393-5.
4. Тутельян В.А. Безопасность пищевых продуктов – ведущее направление в токсикологии. В кн.: *Сборник трудов: IV Съезд токсикологов России*. М.: 2013; 39-41.
5. Ракитский В.Н., Чхвиркия Е.Г. Актуальные вопросы пищевой токсикологии пестицидов. В кн.: *Сборник трудов: IV Съезд токсикологов России*. М.: 2013; 388-90.
6. Куликова Н.А., Лебедева Г.Ф. *Гербициды и экологические аспекты их применения: Учебное пособие*. М.: ЛИБРОКОМ; 2010.
7. Ohkawa H., Miyagawa H., Lee P.W. *Pesticide Chemistry: Crop Protection, Public Health, Environmental Safety*. Weinheim, Germany: WILEY-VCH; 2007.
8. Мельников Н.Н., Новожилов К.В., Белан С.Р., Пылова Т.Н. *Справочник по пестицидам. Том 4*. М.: Химия; 1985.
9. Синицкая Т.А., Малиновская Н.Н. Токсиколого-гигиеническое обоснование допустимой суточной дозы ацетамиприда. *Гигиена и санитария*. 2016; 95(11): 1055-8.
10. Жуленко В.Н., Рабинович М.И., Таланов Г.А. *Ветеринарная токсикология*. М.: Колос; 2002.
11. Каган Ю.С. *Общая токсикология пестицидов*. Киев: Здоровье; 1981.
12. Прозоровский В.Б. Использование метода наименьших квадратов для пробит-анализа кривых летальности. *Фармакология и токсикология*. 1962; 25(1): 111-9.
13. Антонович Е.А., Каган Ю.С., Белоношко Г.А., Болотный А.В., Бурый В.С., Войтенко Г.А. *Методические указания по гигиенической оценке новых пестицидов*. Киев; 1988.
14. Павленко С.М. Применение суммационно-порогового показателя в токсикологическом эксперименте на белых крысах. В кн.: *Методики санитарно-токсикологического эксперимента: Сборник научных трактатов*. М.; 1975: 5-7.
15. Анохин П.К. *Очерки по физиологии функциональных систем*. М.: Медицина; 1975.
16. Калб В.Г., Камышников В.С. *Клиническая биохимия: Пособие для врачей-лаборантов*. Минск; 1976.

REFERENCES

1. Potapov A.I., Rakitskiy V.N., Chkhvirkiya E.G. *System for Ensuring Food Safety when Applying Pesticides [Sistema obespecheniya bezopasnosti pishchevykh produktov pri primeneniі pestitsidov]*. Moskva-Yaroslavl'; 2013. (in Russian)
2. Potapov A.I., Rakitskiy V.N., Nikolaeva N.I. New Russian toxicological-hygienic classification of pesticides. *Toxicol. Lett.* 2005; 158(1): 136.
3. Rakitskiy V.N., Sinitskaya T.A. Risk assessment under the influence of pesticides on the population. In: *Proceedings of IV Congress of Toxicologists of Russia [Sbornik trudov: IV S'ezd toksikologov Rossii]*. Moscow; 2013: 393-5. (in Russian)
4. Tutel'yan V.A. Food safety is the leading direction in toxicology. In: *Proceedings of IV Congress of Toxicologists of Russia [Sbornik trudov: IV S'ezd toksikologov Rossii]*. Moscow; 2013: 39-41. (in Russian)
5. Rakitskiy V.N., Chkhvirkiya E.G. Topical issues of food toxicology pesticides. In the book. In: *Proceedings of IV Congress of Toxicologists of Russia [Sbornik trudov: IV S'ezd toksikologov Rossii]*. Moscow; 2013: 388-90. (in Russian)
6. Kulikova N.A., Lebedeva G.F. *Herbicides and Ecological Aspects of Their Application: Training Manual [Gerbitsidy i ekologicheskie aspekty ikh primeneniya: Uchebnoe posobie]*. Moscow: LIBROKOM; 2010. (in Russian)
7. Ohkawa H., Miyagawa H., Lee P.W. *Pesticide Chemistry: Crop Protection, Public Health, Environmental Safety*. Weinheim, Germany: WILEY-VCH; 2007.
8. Mel'nikov N.N., Novozhilov K.V., Belan S.R., Pylova T.N. *Reference Book on Pesticides. Volume 4 [Spravochnik po pestitsidam. Tom 4]*. Moscow: Khimiya; 1985. (in Russian)
9. Sinitskaya T.A., Malinovskaya N.N. Toxicological and hygienic justification of the permissible daily dose of acetamiprid. *Gigiena i sanitariya*. 2016; 95(11): 1055-8. (in Russian)
10. Zhulenko V.N., Rabinovich M.I., Talanov G.A. *Veterinary Toxicology [Veterinarnaya toksikologiya]*. Moscow: Kolos; 2002. (in Russian)
11. Kagan Yu.S. *General Toxicology of Pesticides [Obshchaya toksikologiya pestitsidov]*. Kiev: Health; 1981. (in Russian)
12. Prozorovskiy V.B. Using the least squares method for probit analysis of mortality curves. *Farmakologiya i toksikologiya*. 1962; 25(1): 111-9. (in Russian)
13. Antonovich E.A., Kagan Yu.S., Belonozhko G.A., Bolotnyy A.V., Buryy V.S., Voytenko G.A. *Methodical Instructions on Hygienic Evaluation of New Pesticides [Metodicheskie ukazaniya po gigienicheskoj otsenke novykh pestitsidov]*. Kiev; 1988. (in Russian)
14. Pavlenko S.M. Application of summation-threshold index in toxicological experiment on white rats. In: *Methods of Sanitary-Toxicological Experiment: Collection of Scientific Treatises [Metodiki sanitarno-toksikologicheskogo eksperimenta: Sbornik nauchnykh traktatov]*. Moscow; 1975: 5-7. (in Russian)
15. Anokhin P.K. *Essays on the Physiology of Functional Systems [Ocherki po fiziologii funktsional'nykh sistem]*. Moscow: Meditsina; 1975. (in Russian)
16. Kalb V.G., Kamyshnikov V.S. *Clinical Biochemistry: Manual for Medical Laboratory Technicians [Klinicheskaya biokhimiya: Posobie dlya vrachey-laborantov]*. Minsk; 1976. (in Russian)