

1

**ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЭКОЛОГИИ
ЧЕЛОВЕКА И ГИГИЕНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ им. А.Н.
СЫСИНА РАМН**

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор НИИ ЭЧ и ГОС
им. А.Н. Сысина РАМН
академик РАМН



Ю.А. Рахманин
----- 2003 г.

ОТЧЕТ № 3/94/03

**ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ РЕГИСТРАЦИИ ПРЕПАРАТА
«ДЕЗАВИД» В КАЧЕСТВЕ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО СРЕДСТВА**

Протокол испытаний № 3/94/03 от 5.09.2003 г.

Научный руководитель -
профессор, д.м.н.

З.И. Жолдакова

Ответственный исполнитель -
м.н.с.

Е.Е. Одинцов

Москва - 2003 г.

Введение

Препарат «Дезавид» производится согласно ТУ 9392-001-49340960-2003 ООО «Адекватные технологии» (Москва). Предназначается для для промывки и защиты фильтров, трубопроводов, насосов и систем водоподготовки от патогенных бактерий и биологического обрастания, а также для очистки и обеззараживания городских, промышленных сточных и оборотных вод и систем охлаждения оборудования.

Препарат по составу представляет собой раствор смеси Полисепта (полигексаметиленгуанидин гидрохлорида) и катамина АБ (алкилбензилдиметиламмоний хлорида фракций C₁₀-C₁₈). Количественный состав препарата следующий:

Полигексаметиленгуанидин гидрохлорид (Полисепт)	2,7±0,3 мас.%
Алкилдиметилбензиламмонийхлорид (Катамин АБ)	0,5±0,05 мас.%
Вода	до 100%

Химическое рациональное наименование катамина АБ по международной номенклатуре - алкилбензилдиметиламмоний хлорид, алкил R = C₁₀-C₁₈.

Катамин АБ представляет собой вязкую жидкость коричневого цвета, хорошо растворимую в воде.

Полисепт по химическому строению - соль полигексаметиленгуанидин гидрохлорида (ПГМГ-ГХ).

Разработчиком является ООО «Адекватные технологии», Москва. Полисепт имеет свидетельство о госрегистрации дезинфекционного средства МЗ РФ (№ 0046-99/8).

Структурная формула $[-(\text{CH}_2)_6 - \text{NH}-\text{C}-\text{NH}-]_n$, n = 5-70.



В макромолекулярной цепи присутствует гуанидиновая группировка, сообщающая веществу биоцидную активность.

Молекулярная масса: 800-15000

Температура размягчения ≥ 100°C,

Растворимость: Вещество хорошо растворимо в воде и в спирте.

pH 6,5-8,5.

Стабильность: Термически стабилен > 2000 °C.

Агрегатное состояние: Представляет собой прозрачное стеклообразное твердое вещество без запаха в виде гранул.

Процесс получения - термическая поликонденсация гуанидингидрохлорида с гексаметилендиамином при температуре 150-2200C⁰ в течение 10-15 часов.

Содержание основного вещества – не менее 95%.

2. Токсикологическая и санитарно-гигиеническая характеристика Катамина АБ.

Катамин АБ принадлежит к четвертичным аммониевым соединениям. Четвертичные аммониевые соединения (ЧАМС) представляют собой соли тетразамещенного аммония. Основной характерной чертой строения этих соединений является наличие заряженного пятивалентного азота в составе молекулы. Наиболее важным физико-химическим свойством четвертичных аммониевых соединений является то, что они активно абсорбируются большим количеством материалов [2]. Абсорбция происходит одинаково легко и по отношению к естественным отложениям, и в сточных водах, и в активном иле. В [3] установлено, что сорбция происходит быстро, равновесие достигается в течение нескольких часов. Органические катионы, такие как четвертичные аммониевые соединения, по-видимому, сорбируются природными глинами в основном вследствие электростатического притяжения. Кроме активного ила, естественных донных осадений и глины, четвертичные аммониевые соединения сорбируются минералами, содержащими галогены, сульфиты, окиси и сульфаты [3], и белками [4-10]. Четвертичные аммониевые соединения образуют комплексы с анионными материалами, особенно с анионными поверхностно активными веществами. ЧАМС должны обычно существовать в форме таких комплексов на поверхности воды и в хозяйственно-бытовых сточных водах [2].

ЧАМС разлагаются под влиянием различных микроорганизмов, при биоразложении их токсичность снижается. Абсорбция на некоторых видах глины и взвешенных в воде веществах может препятствовать биоразложению.

Многие ЧАМС обладают бактерицидной активностью [11]. Этим объясняется их влияние на санитарный режим водоемов. ЧАМС подавляют процессы нитрификации [12,13]. Большое число исследований было посвящено влиянию ЧАМС на активный ил. Установлено, что влияние на нитрифицирующие бактерии более выражено, чем на процессы БПК в активном иле. Так, при концентрации 6 мг/л нитрификация подавлялась полностью, тогда как БПК снижалась несущественно – на 6 % [14]. EC_{50} по подавлению дыхания находится в пределах 10-40 мг/л. ЧАМС не проявляют токсичности по отношению к активному илу при обычных концентрациях, ожидаемых в сточных водах (<1 мг/л).

Отмечена токсичность ЧАМС по отношению к бактериям, содержащимся в речной воде. В [15] изучалось воздействие ЧАМС на гетеротрофную активность колоний бактерий в чистой речной воде. Определены концентрации, вызывающие подавление гетеротрофной активности и показано, что ЧАМС могут оказывать экологически значимое воздействие даже при концентрациях ниже 1 мг/л.

ЧАМС являются не только сильно бактерицидными веществами, но проявляют также острую токсичность для водных организмов [16-18].

Наиболее чувствительными являются рачки *Daphnia magna* [19]. Токсичность снижается при абсорбции на взвесах в загрязненной воде. Хроническая токсичность для водных организмов изучена меньше. NOEC (концентрация, не вызывающая эффекта) для дафний при действии диалкилдиметиламмоний хлорида в речной воде составляет 0,38 мг/л, около одной десятой от 48-ми часовой LC_{50} [17].

Показано, что катионные полиэлектролиты проявляют острую токсичность в отношении водных организмов, нарушая проницаемость мембран жабр и таким образом препятствуя кислородному обмену [20]. Установлено, что остальные ЧАМС действуют таким же образом. В экспериментах на трех видах рыб с использованием алкилпиридиний бромида, меченого ^{14}C , было показано, что метка концентрируется в жабрах [21]. Было установлено также, что это соединение малокумулятивно, жировые ткани и органы-мишени, такие как печень и почки содержали только следы ^{14}C . ЧАМС связываются с отрицательно заряженными поверхностями мембран или интеркалируются в мембраны, но не проникают через мембраны. Этот механизм согласуется с механизмом токсического действия ЧАМС на бактерии [11]. Сорбция ЧАМС на взвешенных частицах уменьшает связывание с мембранами жабр водных организмов, но не влияет на поглощение в желудочно-кишечном тракте. ЧАМС токсичны также для водорослей и высших растений. Водоросли более чувствительны, чем рыбы и беспозвоночные. Сорбция снижает токсичность, однако даже в воде, содержащей взвеси, токсичная для водорослей концентрация была в некоторых случаях ниже 1 мг/л.

ЧАМС относительно мало токсичны для млекопитающих. Они оказывают раздражающее действие на кожу и глаза. Малорастворимые ЧАМС оказывают меньшее раздражающее действие, поскольку не абсорбируются тканями кожи и глаз [2]. При введении в желудочно-кишечный тракт ЧАМС связываются с мембранами щеточной каемки эпителиальных клеток [22]. Степень связывания с мембранами и абсорбции определяется размером гидрофобной части молекулы ЧАМС, например длиной углеводородной цепи. ЧАМС, обладающие гидрофобной группой, не являются субстратами систем, осуществляющих транспорт холина через мембраны кишечника крыс [23].

В воде нормированы алкилбензилдиметиламмоний хлориды, в состав молекул которых входят алкильные заместители с углеводородной цепью различной длины. Нормативы для этих соединений различаются незначительно. ПДК алкилбензилдиметиламмоний хлорида (катамина АБ) с алкильной цепью $C_{10} - C_{16}$ установлена на уровне 0,3 мг/л, лимитирующий признак вредности органолептический. Вещество придает воде запах, класс опасности 3 [26]. ПДК алкилбензилдиметиламмоний хлорида с алкильной цепью $C_{17} - C_{20}$ установлена на уровне 0,5 мг/л, лимитирующий признак вредности органолептический, вещество придает воде запах, класс опасности 3 [26]. В воде нормирован также катамин АБ с $R = C_{12}H_{25} - C_{14}H_{27}$. ОДУ

установлена на уровне 0,25 мг/л, лимитирующий признак вредности общесанитарный, класс опасности 2.

Таблица 1

Сравнительная токсичность алкилбензилдиметиламмоний хлоридов с различной длиной алкильной цепи для теплокровных животных при введении per os.

Алкильный радикал R	Вид животных	ЛД ₅₀ , мг/кг
R = C ₁₀ -C ₁₆	Мыши	1640
	Крысы	3340
	Морские свинки	300
R = C ₁₂ -C ₁₄	Крысы-самки	970
	Крысы-самцы	760
	Мыши	520
R = C ₁₇ -C ₂₀	Мыши	1450
	Крысы	2020
	Морские свинки	725
	Кролики	750

Пороговые концентрации по влиянию алкилбензилдиметиламмоний хлорида с различной длиной алкильной цепи на органолептические свойства воды и санитарный режим водоемов приведены в таблице 2

Таблица 2

Алкильный радикал R	ПК по влиянию на запах (мг/л)	ПК по влиянию на привкус (мг/л)	ПК по влиянию на цвет (мг/л)	ПК по влиянию на пенообразование (мг/л)
R = C ₁₀ -C ₁₆	0,3	51	50	16
R = C ₁₂ -C ₁₄	50,3	4,85	-	1
R = C ₁₇ -C ₂₀	0,5	8,3	25	2,0

Различие значений пороговых величин веществ с разной длиной алкильной цепи, в частности низкие величины порогов по запаху веществ с R = C₁₀-C₁₆ и R = C₁₇-C₂₀ определяется, скорее всего, наличием примесей в изученных образцах, т.к. известно, что ЧАМС не обладают специфическим запахом.

Вещества подавляют процессы биохимического потребления кислорода и нитрификации, тормозят развитие микрофлоры. Пороговые концентрации по влиянию на санитарный режим водоемов (процессы БПК) приведены в таблице 3.

Таблица 3

Пороговые концентрации по влиянию алкилбензилдиметиламмоний хлорида с различной длиной алкильной цепи на санитарный режим водоемов

Алкильный радикал R	ПК по влиянию на БПК (мг/л)
$R = C_{10}-C_{16}$	10
$R = C_{12}-C_{14}$	0,25
$R = C_{17}-C_{20}$	5

По результатам подострого эксперимента на крысах наиболее чувствительными тестами оказались изучение морфологического состава крови, суммационно-порогового показателя, ферментативной активности ацетилхолинэстеразы и каталазы. Пороговая доза хронического эксперимента алкилбензилдиметиламмоний хлорида с $R = C_{10}-C_{16}$ составляет 0,3 мг/кг. Пороговая доза хронического эксперимента алкилбензилдиметиламмоний хлорида с $R = C_{10}-C_{16}$ составила 1 мг/кг. Катамин АБ в этой дозе вызывал стойкое снижение активности холинэстеразы, на отдельных промежутках времени угнетение АсТ и АлТ, наблюдалось увеличение суммационно-порогового показателя, увеличение по сравнению с контролем относительной массы печени. При гистохимическом исследовании обнаружено значительное угнетение активности СДГ и ЛДГ в печени, почках и головном мозге.

Максимально недействующие дозы хронического эксперимента алкилбензилдиметиламмоний хлорида с различной длиной алкильной цепи приведены в таблице 4.

Таблица 4

Алкильный радикал R	МНД (мг/кг)
$R = C_{10}-C_{16}$	0,03
$R = C_{12}-C_{14}$	0,1
$R = C_{17}-C_{20}$	0,2

Вещества оказывают раздражающее действие на слизистую глаз и кожу крыс и кроликов. Максимальной концентрацией алкилбензилдиметиламмоний хлорида с $R = C_{10}-C_{16}$, не вызывающей первично-раздражающего действия является 100 г/л. Вещество обладает сенсibiliзирующим действием. Пороговая концентрация по аллергенному действию для белых крыс составляет 10 г/л. Длительное (6 месяцев) пероральное поступление вещества на уровне порога хронического действия не приводило к сенсibiliзации организма. При исследовании сенсibiliзирующих свойств катамина АБ фракции $C_{12} - C_{14}$ на морских свинках не выявлено аллергенного действия. Отмечено, что технический продукт катамин АБ при повторных аппликациях в концентрации 1 г/л вызывал проявления аллергического контактного дерматита и сенсibiliзацию организма. Вещества обладают кожно-резорбтивным действием. ЛК₅₀ катамина АБ

фракции $C_{12} - C_{14}$ при нанесении на кожу белых крыс составляет 150 г/л. МНК по кожно-резорбтивному действию 2 г/л.

Изучение мутагенной активности веществ на бактериях (тест Эймса) и дрожифилах (тест Меллера) свидетельствует об отсутствии эффекта.

Вещества оказывают эмбриотоксическое действие, возрастает доимплантационная гибель эбрионов. Катамин АБ фракции $C_{12}-C_{14}$ вызывает гонадотоксический эффект. На уровне порога общетоксического действия (0,3 мг/кг) алкилбензилдиметиламмоний хлорид с $R = C_{10}-C_{16}$ не вызывает эмбриотоксический эффект. Максимальная недействующая доза катамина АБ фракции $C_{12}-C_{14}$ по влиянию на генеративную функцию совпадает с МНД хронического эксперимента (0,1 мг/кг).

3. Токсикологическая и санитарно-гигиеническая характеристика ПГМГ-ГХ.

Токсичность ПГМГ-ГХ подробно освещена в литературе. В Ангарском НИИ медицины труда и экологии человека токсичность изучена при нанесении на кожу [55] и при нормировании в воздухе рабочей зоны. Проведено обоснование ПДК ПГМГ-ГХ в воде водных объектов в качестве флокулянта [56]. Изучен механизм и характер действия вещества (общетоксический, раздражающий, сенсibiliзирующий, отдаленные проявления интоксикации). Обоснован ПДУ на кожные покровы (0,2 мг/дм³) и ПДК в воде водных объектов 0,1 мг/л (по общесанитарному признаку вредности).

Гуанидин является малостабильным одноокислотным основанием, однако в результате его протонирования образуется катион гуанидиния, в котором положительный заряд равномерно распределен между тремя атомами азота, что определяет устойчивость солей гуанидина.

Благодаря полимерной природе, соли ПГМГ по своей биоцидной активности эффективнее хлоргексидина и других зарубежных биоцидных препаратов и при этом менее токсичны. Кроме того, они образуют на обработанной поверхности пленку, обеспечивающую ее длительную защиту от воздействия микроорганизмов.

Соли ПГМГ обладают весьма широким спектром биоцидной активности, оказывая бактерицидное, вирулицидное, спороцидное, фунгицидное, алгицидное действие и рекомендованы к применению в качестве пестицидов. Содержащиеся в структуре реагентов полярная гуанидиновая и ионизированная гексаметиленовая группы сообщают препаратам адгезивные и поверхностно активные свойства.

Гуанидиновые соединения широко распространены в природе и находят применение в качестве физиологически активных веществ: лекарств, антисептиков, пестицидов. Гуанидиновая группировка служит активным центром многих лекарственных веществ (сульгин, исмелин, фарингосепт) и антибиотиков (стрептомицин, бластицидин, мильдомицин) [34].

Бактерицидный эффект производных гуанидина успешно используется за рубежом для создания антимикробных тканей и перевязочных средств. При этом доказано, что антисептики такого ряда не мигрируют из тканей и не нарушают нормальную флору кожи человека. Поликатионные соединения проходят через клеточную мембрану внутрь клетки, блокируя воспроизводящую способность нуклеиновой кислоты и белков, а также ферментную дыхательную систему, и угнетают развитие микроорганизма.

Грамотрицательные бактерии в большей степени, чем грамположительные, реагируют с рядом ПАВ вследствие дополнительного взаимодействия последних с липополисахаридами клеточных мембран (типично для полимиксина, хлоргексидина).

Среди антибактериальных гуанидиновых препаратов наибольшее значение приобрели додин, гуазатин и синтеллины. Додин рекомендован для борьбы с грибковыми поражениями сельскохозяйственных культур и в качестве эффективного антисептика. Препарат вызывает более сильное антибактериальное и противогрибковое действие, по сравнению с четвертичными аммониевыми основаниями, и менее токсичен [35,36]. Гуазатин является известным пестицидом и входит в коммерческие составы как заменитель ртутноорганических протравителей для семян [37,38]. Синтеллины обладают бактерицидными и фунгицидными свойствами, эффективны против трипаносом [39].

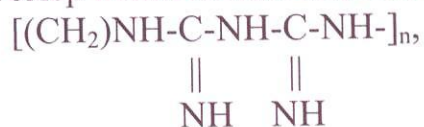
Гуанидиновый аналог хлорамина - N-хлор-бис (гуанидин) медленно выделяет хлор и обладает гербицидными свойствами, благодаря способности непосредственно взаимодействовать с белками клеточных мембран и ферментами [40].

К эффективным фунгицидам и антимикробным препаратам также относятся соли алкиленгуанидинов, содержащие у одного из атомов азота гуанидиновой группировки большой углеводородный радикал R (C₈₋₁₈) [37,41].

Алкиленаминобигуанидины рекомендованы для антисептирования моющих средств и для подавления развития сульфатредуцирующих бактерий при вторичной разработке месторождений нефти [38,41].

Наряду с бактерицидными свойствами у гуанидиновых соединений обнаружены алгицидные и флокулирующие свойства, в связи с чем они рекомендованы для борьбы с биообрастанием систем водяного охлаждения, дамб, плотин, плавательных бассейнов и различных строительных конструкций, а также для водоочистки [42,43, 34,45,46].

В настоящее время наиболее распространенными гуанидиновыми антисептическими препаратами в мире являются разработанные английской фирмой "ICI" вантоцил [47,48,49] и хлоргексидин [40]. Вантоцил (в США выпускается под торговым названием космоцил CQ) представляет собой олигомер полигексаметиленбигуанидина [51] -



где n - 7-10.

В сочетании с полиэтиленгликолем вантоцил рекомендован в качестве дезсредства для очистки воды плавательных бассейнов, а также для пролонгирования действия антимикробных композиций, содержащих альгициды и ПАВ [52-Пат. 35 37 627 ФРГ (1986), 53 - Пат. 26 11 ,967 ФРГ (1977)].

Хлоргексидин является мощным антисептиком в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий и рекомендован в виде растворов, мазей и присыпок в качестве эффективного дезинфицирующего средства для профилактики внутрибольничных инфекций, лечения кожных и венерических заболеваний, в хирургической практике (обработка рук, операционного поля, промывания ран, ожоговых поверхностей кожи) и для дезинфекции в быту [54].

Отличительной особенностью данного реагента является наличие флоккулирующих и биоцидных свойств, благодаря чему остаточные концентрации этого соединения обеспечивают профилактику биообрастания в системе трубопроводов [34].

В 1992 г. в ММА им. И.М.Сеченова проведены комплексные токсикологические исследования полигексаметиленгуанидина гидрохлорида, включавшие изучение острой, подострой и хронической токсичности при энтеральном пути поступления в организм и отдаленных эффектов [56]. С точки зрения токсикометрии, несомненный интерес представляло изучение зависимости степени токсичности от химического строения и молекулярной массы препарата. Для изучения этого вопроса были проведены острые опыты с 5 образцами ПГМГ с м. м. от 1 до 100 тыс.

Результаты изучения острой токсичности полигексаметиленгуанидина гидрохлорида представлены в таблице 5.

Белые мыши и белые крысы получали препараты путем однократного и дробного введения в желудок в диапазоне доз от 200 до 2000 мг/кг. Клиническая картина острого отравления при энтеральном введении всех образцов была идентичной и характеризовалась угнетением двигательной активности, нарушением координации движений, учащенным поверхностным дыханием, клонико-тоническими судорогами. Гибель животных наступала в течение 1-2-х суток после введения соединений.

Таблица 5

Оценка острой токсичности полигексаметиленгуанидина гидрохлорида

Вещество	М. масса, тыс.	Вид животных	
		белые мыши	Белые крысы
Солянокислый ПГМГ	1	450	630
	10	600	830
	100	-	760
ПГМГ основание	1	340	740
	10	890	840

Примечание: прочерк – исследования не проводились.

При вскрытии наблюдались полнокровие внутренних органов, особенно печени, уплотнение селезенки. отеки легких, вздутие желудка и кишечника. Как видно из табл. 5, препараты ПГМГ являются умеренно токсичными соединениями (класс опасности по острой токсичности 2), для которых различия в видовой чувствительности нехарактерны. Оценка динамики гибели животных в острых опытах позволила определить величины индексов кумуляции на уровне 0,27-0,35 и величины ET_{50} в диапазоне 56-62 ч, что свидетельствует об умеренно выраженных кумулятивных свойствах данных препаратов.

В 2-х месячном подостром эксперименте на белых крысах-самцах при энтеральном поступлении испытаны дозы от 1/10 до 1/125 LD_{50} солянокислого ПГМГ различных молекулярных масс - 1, 10 и 100 тыс. Проводилась оценка функционального состояния организма подопытных животных.

Изучались следующие показатели: динамика массы тела, морфологический состав периферической крови, активность щелочной фосфатазы, аланиновой и аспарагиновой трансаминаз, лактатдегидрогеназы, содержание глюкозы в сыворотке крови, белка, альбуминов, холестерина, триглицеридов, мочевины и креатинкиназы, а также суммационный пороговый показатель (СПП) и норковый рефлекс. Выбор тестов был основан на имеющихся в литературе данных по токсикодинамике структурных компонентов ПГМГ. По окончании подострых опытов определяли коэффициенты массы внутренних органов и активность ряда ферментов в гомогенатах печени и почки. Результаты подострых опытов показали, что статистически достоверные изменения отмечаются прежде всего со стороны ферментных систем крови: повышение активности трансаминаз, щелочной фосфатазы, лактатдегидрогеназы. Одновременно отмечено выраженное отставание прироста массы тела с повышением величины коэффициентов массы печени, почек, селезенки, надпочечников и семенников. Пороговая доза подострого эксперимента для образца с молекулярной массой 1 тыс. составила 5 мг/кг. По соотношению LD_{50} и минимально действующей дозы, находящемуся в диапазоне от 50 до 120, изученные образцы ПГМГ могут быть отнесены к группе веществ со средневыраженными кумулятивными свойствами.

Хронический санитарно-токсикологический эксперимент был проведен с солянокислым ПГМГ с м. м 1 тыс., характеризующимся, по данным острых опытов, более выраженной токсичностью. В 6-месячном опыте на белых крысах-самцах были испытаны дозы 0,1, 1,0 и 5 мг/кг. Анализ полученных в хроническом эксперименте данных свидетельствуют о таком же характере влияния ПГМГ на организм, как и в подострых опытах. При максимальной испытанной дозе было отмечено повышение активности щелочной фосфатазы и лактатдегидрогеназы в сыворотке крови и гомогенате печени, замедление

прироста массы тела, некоторое повышение коэффициентов массы печени, селезенки. Недействующей оказалась доза 0,1 мг/кг.

Оценка гонадотоксического действия образцов солянокислого ПГМГ с м. м. 1, 10 и 100 тыс. проводилась с использованием функциональных и морфологических методов в подострых опытах. Полученные результаты свидетельствуют, что только в максимальных испытанных дозах (1/10 и 1/25 ЛД₅₀) исследованные образцы ПГМГ вызывали изменение некоторых показателей сперматогенеза: снижение общего количества и степени подвижности сперматозоидов, увеличение коэффициентов массы семенников и количества канальцев со слущенным сперматогенным эпителием.

Методом индукции доминантных летальных мутаций изучено мутагенное действие солянокислого ПГМГ с м. м. 10 тыс. в дозах 1/10 и 1/50 ЛД₅₀. Полученные результаты показали, что только при дозе 1/10 ЛД₅₀ (85 мг/кг) имело место некоторое увеличение процента общей эмбриональной смертности.

Эмбриотоксическое действие было изучено в опытах с препаратом с м. м. 1 тыс. при введении его на уровне недействующей и пороговой доз, полученных в хроническом эксперименте, - 0,1 и 1 мг/кг. Анализ эмбрионального материала свидетельствует о том, что доза 1 мг/кг вызвала достоверное увеличение общей эмбриональной смертности за счет доимплантационной гибели, снижение индекса оплодотворения и плодoplацентарного коэффициента. Доза 0,1 мг/кг оказалась недействующей.

Собственные исследования

ИССЛЕДОВАНИЕ ТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПРЕПАРАТА ДЕЗАВИД ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ ПОСТУПЛЕНИИ В ОРГАНИЗМ ТЕПЛОКРОВНЫХ ЖИВОТНЫХ.

Изучение токсичности препарата «Дезавид» по смертельному эффекту при энтеральном поступлении.

Задачей настоящего эксперимента явилось изучение токсикологических и кумулятивных свойств препарата «Чистюля Дезин Био» по смертельному эффекту. Согласно представленной заказчиком рецептуре, препарат «Дезавид» имеет следующий состав:

Полисепт - $2,7 \pm 0,3$ мас. % (2,7 г в 100 мл)
Катамин АБ - $0,5 \pm 0,05$ мас. % (0,5 г в 100 мл)
Вода - до 100%

Дозы препарата для острого эксперимента выбирались с учетом данных литературы о параметрах острой токсичности полигексаметиленгуанидин-гидрохлорида: $LD_{50} = 630$ мг/кг и Катамина АБ $LD_{50} = 478-667$ [61]. Исходя из рецептуры данного препарата содержание действующих веществ в нём крайне мало, поэтому достигнуть смертельного эффекта в остром опыте не представляется возможным.

Тем не менее, для того чтобы выяснить, произошло ли усиление токсических свойств Полисепта Катамином АБ, эксперимент был проведён с максимально возможными объёмами препарата с учётом физиологических особенностей животных.

Опыт проводился на белых крысах-самцах с массой тела 280-310 г. Каждая экспериментальная группа состояла из 6 животных. В эксперименте были испытаны дозы препарата 5000, 7500, 10000, 12500, 15000 и 20000 мг/кг. Препарат вводили однократно зондом в желудок, натошак, в нативном виде из расчета 0,5 – 2 мл на 100 г веса тела животного. Срок наблюдения за животными составил 14 суток.

В течение всего времени наблюдения после введения препарата у подопытных животных не было зафиксировано никаких проявлений симптомов интоксикации или гибели.

Таким образом, комбинированное действие двух компонентов не сопровождалось потенцированием эффекта при однократном воздействии.

Изучение токсического действия препарата ДЕЗАВИД в условиях субхронического эксперимента.

Для установления характера токсикодинамики препарата ДЕЗАВИД в условиях его длительного поступления в организм теплокровных животных на основе зависимости “доза-эффект”, определения пороговой ($PD_{пэк}$) и недействующей доз и получения дополнительной информации о кумулятивных свойствах по степени изменения показателей функционального состояния подопытных животных, проведен субхронический эксперимент. Субхронический опыт продолжительностью 30 дней, поставлен на 50 белых половозрелых крысах-самцах с исходной массой тела 210-270 г. Выбор доз производили с учетом химического состава препарата, ранее экспериментально полученных величин LD_{50} , $J_{кум}$, ET_{50} (по действующему веществу - полигексаметиленгуанидин-гидрохлорид), класса токсичности препарата по острой токсичности (3 класс) и по способности к кумуляции (4 класс). Животным вводились следующие дозы: 0,5 мг/кг (I группа); 0,1 мг/кг (II группа); 0,02 мг/кг (III группа) и 0,002 мг/кг (IV группа) в пересчете на полигексаметиленгуанидин-гидрохлорид. Пятикратный шаг между дозами обусловлен установленными в остром опыте

кумулятивными свойствами препарата – 4 класс по способности к кумуляции.

Препарат вводили ежедневно в течение 30 дней внутрижелудочно в виде водного раствора. Отбор исследуемого материала производился на 1, 5, 10, 15, 20 и 30-е сутки эксперимента.

Исследования влияния препарата на организм подопытных животных оценивали по морфо-функциональному состоянию гонад, содержанию гемоглобина и количеству эритроцитов.

Результаты исследований представлены в приложениях 1,2.

В течение всего эксперимента животные не погибали, по внешнему виду, состоянию кожных покровов не отличались от контрольных.

Изменения содержания гемоглобина и количества эритроцитов были незначительными и не выходили за пределы физиологической нормы.

Изучение гонадотоксического действия не выявило патологических изменений в размерах, относительной массе семенников. Количество сперматозоидов, их осмотическая резистентность и подвижность достоверно не отличалось от контрольных величин (приложение 3).

Таким образом, поступление препарата на протяжении 30 суток не приводило к существенным изменениям морфо-функционального состояния гонад, количества эритроцитов и уровня гемоглобина в крови животных экспериментальных групп.

Изучение влияния препарата для дезинфекции воды “Дезавид” на органолептические свойства воды.

Изучение органолептических свойств воды с различным содержанием и ней препарата для дезинфекции воды “Дезавид” проводилось в соответствии с Методическими указаниями «Обоснование гигиенических нормативов химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования» №2.1.5.720-98 (М.1998). Оценка интенсивности изменений органолептических свойств воды (запах, привкуса, цветности, мутности, способность к образованию пены и пленки на поверхности воды) осуществлялась опытными дегустаторами. В качестве контрольной и для приготовления растворов использовалась дехлорированная московская водопроводная вода.

При внесении в воду вещества в концентрации 1,0 г/л (1000 мг/л) образуется истинный раствор без образования мутности и посторонних включений. При взбалтывании наблюдается образование пены на поверхности воды.

В этой концентрации препарат не вызывал сдвига рН воды за рамки норматива 6,0 – 9,0 (рН=7,67), регламентируемого СанПиН 2.1.4.1074-01.

Учитывая выявленную способность водных растворов изучаемого вещества к образованию пены, для установления ПК по данному показателю проведены 4 серии опытов, результаты которых представлены в таблице 6.

Исследования проводили в цилиндрах объемом 1 л по методу Штюпеля в модификации Е.А.Можаева.

Таблица 6.

Интенсивность пенообразования
дезсредства «Дезавид» в зависимости от концентрации в воде.

№	Концентр., мг/л	I серия	II серия	III серия	IV серия
1	1000	++++	++++	++++	++++
2	500	++++	++++	++++	++++
3	250	++++	++++	++++	++++
4	125	+++-	++++	+++-	++++
5	62,5	+++-	+++-	+++-	+++-
6	31,25	++--	+++-	++--	+++-
7	15,6	++--	++--	++--	++--
8	7,8	+---	+---	+---	+---
9	уровень кон- троля	+---	+---	+---	+---

При внесении вещества в концентрации 1000 мг/л образуется плотная мелкопузырчатая пена. При разбавлении в 16 раз (концентрация 62,5 мг/л) образуется среднепузырчатая пена, а при разбавлении в 64 раза (концентрация 15,6 мг/л) наблюдается образование крупнопузырчатой пены. При кратности разбавления 1:128 изучаемый показатель не отличается от уровня контрольной воды. Таким образом, пороговая концентрация по способности к образованию пены на поверхности воды находится на уровне 15,6 мг/л.

Интенсивность запаха раствора реагента при концентрацией 1000 мг/л оценивалась на уровне 3 баллов. Запах характеризовался как слабодифференцируемый технический. Результаты ориентировочного опыта представлены в таблице 7.

Таблица 7

Интенсивность запаха воды с различным содержанием в ней дезсредства «Дезавид».

Концентр., мг/л	Интенсивность запаха, баллы									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	M _{ср}
1000	3	3	3	3	3	2-3	3	3	2-3	2,9
500	2-3	2-3	2-3	2-3	2-3	2	2-3	2-3	2	2,4
250	2	2	2	2	2	1-2	2	2	1-2	1,9
125	1-2	1	1	1	1-2	1	1	1-2	1	1,2
62,5	1	0	0	0	1	0-1	0	1	0-1	0,4

Интенсивность привкуса водного раствора средства «Дезавид» в концентрации 15,6 мг/л (пороговая концентрация по способности к образованию пены на поверхности воды) не отличалась от контрольной воды. С учетом полученных результатов в ориентировочных опытах мы отказались от проведения “закрытых” опытов для установления $ПК_{орг}$ для препарата “Дезавид” по его влиянию на запах и привкус воды.

Сопоставление полученных величин пороговых концентраций изученных органолептических показателей для дезсредства “Дезавид” представлено в таблице 8.

Таблица 8.

Величины пороговых концентраций препарата «Дезавид» по органолептическим показателям, мг/л.

Показатели			
Запах	Пена	Привкус	pH
>125	15,6	>15,6	>1000

Таким образом, в качестве пороговой концентрации препарата для дезинфекции воды “Дезавид” по органолептическому признаку вредности установлена величина 15,6 мг/л, лимитирующий показатель – образование пены на поверхности воды.

Изучение влияния препарата “Дезавид” на санитарный режим водоёмов.

Санитарный режим водных объектов в зонах влияния сбросов сточных вод определяется интенсивностью и направленностью процессов естественного самоочищения, в ходе которых происходит потребление растворенного кислорода, развитие и отмирание сапрофитной микрофлоры, деструкция, трансформация и минерализация органических соединений в данных реальных условиях.

В соответствии с Санитарными правилами и нормами «Гигиенические требования к охране поверхностных вод» СанПиН 2.1.5.980-00 (М., 2000), исследования, направленные на изучение влияния поступающих со сточными водами или поверхностным стоком загрязнений на общий санитарный режим водоемов с последующей выдачей рекомендаций, нацелены на предупреждение и минимизацию нарушения процессов естественного самоочищения воды водных объектов.

Согласно [57], в качестве интегрального показателя общего санитарного состояния водных объектов принимается величина биохимического потребления кислорода (БПК), где имеется в виду так называемое полное биохимическое потребление кислорода ($БПК_{полн}$) биоорганическим и/или химическим загрязнением за период 20 суток. В то же время, гигиенической наукой и практикой давно доказано, что основное влияние химических веществ на интенсивность процессов БПК в воде водных объектов проявляется в первые 5-7 суток. На основании вышеизложенного, в

собственных исследованиях определяли динамику БПК в водных растворах *Дезавида* в течение 5 суток инкубации.

Концентрации *Дезавида* выбирались, исходя из результатов изучения влияния препаратов на основе полигексаметиленгуанидин гидрохлорида (Анавидин и БиоПАГ) на санитарный режим водоемов: $ПК_{БПК} = 0,03$ мг/л [56,62].

В эксперименте были изучены концентрации *Дезавида* 0,3; 0,1; 0,03 и 0,01 мг/л (в пересчете на полигексаметиленгуанидин гидрохлорид). Всего было проведено 2 серии опытов. Растворы препарата готовились на дехлорированной водопроводной воде, в которую инициально вносили определенный объем бытовых сточных вод (для имитации воды природных водоемов) с тем расчетом, чтобы БПК за 1-е сутки инкубации не выходила за пределы диапазона 0,7-1,2 мгО₂/л. Контролем служила та же дехлорированная вода с биомассой для создания однородных условий опыта.

Содержание растворенного кислорода в воде определялось йодометрическим методом Винклера [Лурье Ю.Ю. Унифицированные методы анализа качества вод. – М.: Химия., 1971. – С. 85-90.] тотчас, на 1, 2, 3 и 6-е сутки опыта.

Результаты эксперимента представлены в таблице 9.

Исследования показали, что *Дезавид* вызывает торможение процессов БПК. Так, в концентрации 0,3 мг/л препарат угнетал биохимическое потребление кислорода на 35 – 51,8% (1 серия) по сравнению с контролем, в концентрации 0,1 мг/л – на 18,5 – 42,9% (1, 2 серии). Наиболее интенсивное торможение потребления кислорода наблюдалась на 1-2-е сутки эксперимента.

В концентрации 0,01 мг/л (1, 2 серии) *Дезавид* не оказывал существенного влияния на процессы биохимического потребления кислорода. Количество потребленного кислорода отличалось от контрольных величин не более чем на 3,3%.

Из таблицы 9 видно, что в концентрации 0,03 мг/л *Дезавид* угнетал биохимическое потребление кислорода на 5 – 14,8% по сравнению с контрольными величинами. Отклонения в динамике БПК опытных проб по сравнению с контрольными до 15% при его торможении считаются пороговыми (допустимыми) и рассматриваются как различия в пределах ошибки измерения.

Таким образом, на основании проведенных исследований пороговой по влиянию на динамику биохимического потребления кислорода рекомендуется концентрация *Дезавида* 0,03 мг/л.

Направленность изменений процессов БПК соответствует предназначению препарата как дезсредства.

Таблица 9.

Влияние *Дезавида* на динамику биохимического потребления кислорода в течение 6 суток (средние значения 3-х повторностей).

Таблица 9

Концентрация (мг/л)	Тот час, мгО ₂ /л	1 сутки		2 сутки		3 сутки		6 сутки	
		БПК, мгО ₂ /л	%	БПК, мгО ₂ /л	%	БПК, мгО ₂ /л	%	БПК, мгО ₂ /л	%
1 серия									
контроль	8,25	0,8	100	1,55	100	4,15	100	8,0	100
0,3	8,25	0,45	56,2	0,85	54,8	2,0	48,2	5,2	65,0
0,1	8,15	0,6	75	1,15	74,2	2,9	69,9	6,1	76,2
0,03	8,2	0,7	87,5	1,35	87,1	3,9	94,0	7,6	95,0
0,01	8,12	0,8	100	1,6	103,2	4,25	102,4	8,2	102,5
2 серия									
контроль	7,76	0,7	100	1,5	100	2,7	100	5,4	100
0,1	7,84	0,4	57,1	1,15	76,7	2,1	77,8	4,4	81,5
0,03	7,84	0,6	85,7	1,3	86,7	2,3	85,2	4,7	87,0
0,01	7,76	0,7	100	1,45	96,7	2,7	100	5,5	101,8

Список литературы

1. Материалы заказчика.
2. Boethling R., Lynch G. Quaternary ammonium surfactants. In: The handbook of environmental chemistry. - V.3- Part F. - Antropogenic compounds. Detergents. - P. 144-177.
3. Larson R.J., Vashon R.D. // Dev. Indust. Microbiol. - 1983. - V.24. -P.425.
4. Скрилев Л.Д., Стрелкова Е.А. // Ж. прикл. химии. - 1979. -Т.52. - С.149
5. Putnam F.M. // Advan. Protein Chem. - 1948. -V. 4. - P.49.
6. Knox W.E., Auerbach V.H. et al. J. Bacteriol. - 1949. - V.58. -P.443.
7. Klotz I.M. // Sci. Monthly. - 1950. - V.70. - P.24.
8. 7. Chaplin C.E. // Can. J. Bot. - 1951. - V.29. - P.37
9. Mueller H., Krempl E. // Fette Seif. Anstrich. - 1963. - V.65. - P.532.
10. May A., Neufahrt A. // Tens. Deterg. - 1976. -V.13. -P.65.
11. Lawrence C.A. In: Jungermann E. (Ed.) Cationic surfactants. - New York: Marcel Dekker. - 1970. - P.491.
12. Van Beneden G. // Bull. CEBEDEAU. - 1970. - N17, p.159.
13. Manganelli R., Crosby E.S. // Sew. Indust. Wastes. - 1953. - V.25. P.262.
14. Pitter P. // Sb. Vysoke Skoly Chem. Technol. Praze, Technol. Vody. -1961. - V.5. - P.25.
15. Ventullo R.M., Larson R.J. // Appl. Environ. Microbiol. - 1986. -V.51. -P.356.
16. Kupfer W. // Tens. Deterg. - 1982. - V.19. - P.164.
17. Lewis M.A., Wee V.T. // Environ. Toxicol. Chem. - 1983. - V.2. -P.105.
18. Cooper J.C. Ecotoxicol. Environ. Saf. - 1988. - V.16. -P.65.
19. Woltering D.M., Larson R.J. et al. // Tens. Deterg. - 1987. - V.24. -P.286.
20. Beisinger K.E. Stokes G.N. // J. Water Pollut. Contr. Fed. - 1968. -V.58. -P.207.
21. Knezovich J.P., Lawton M.P. et al. // Bull. Environ. Contam. Toxicol. - 1989. - V.42. -P.87.
22. Saitoh H., Saitch N. et al. // J. Pharm. and Pharmacol. - 1991. -V.10. -P.736.
23. Saitoh H., Kobayashi M. et al. // Biochimica et Biophysica Acta. - 1992. - V.1112. - P.153.
24. Itano Y., Nomura Y. // Brain Research. - 1995. - V. 704. -P.240-245.
25. Armak Co. Toxicity data for aliphatic nitrogen compounds. Chicago -1996.
26. Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования ГН 2.1.5.1315-03.
27. Материалы по экспериментальному обоснованию ПДК алкилбензилдиметиламмоний хлорида в воде водоемов. // Архив секции гигиены воды и санитарной охраны водоемов Проблемной комиссии «Научные основы экологии человека и гигиены окружающей среды», Львовский НИИ эпидемиологии и микробиологии, 1981 г.
28. Материалы по обоснованию ПДК алкилдиметилбензиламмоний хлорида $C_{12} - C_{14}$ (катамина АБ фракции $C_{12} - C_{14}$) в воде водоемов. // Архив секции гигиены воды и санитарной охраны водоемов Проблемной комиссии

- «Научные основы экологии человека и гигиены окружающей среды»»,
Крымский МИ, 1987 г.
29. Еремеева Л.С., Трикуленко В.И. // Ж. Гигиена труда и проф. заболеваний.
-1976.-№9, с.50-51.
 30. Еремеева Л.С. // Гигиена и сан.-1974.-№10, с.114-117.
 31. Технические условия дезинфицирующая БИОПАГ. ТУ 9392-008-41547288-00 Субстанция
 32. Дезинфекционные средства. Справочник. Ч.1. (Под ред. А.А.Монисова, М.Г.Шандалы). ТОО "Рарог", М., 1996.
 33. Биостойкость материалов. Справочник (Под ред. Б.В.Бочарова, АА.Герасименко, И.А.Коровина) АН СССР, Москва, 1986.
 34. Гембицкий П.А., Воинцева И.И. Полимерный биоцидный препарат полигексаметиленгуанидин. Запорожье, Полиграф, 1998, 42 с.
 35. Патент 2 867 562 США (1959).
 36. Писько Г.Т., Гудзь О.В. // Фармакол и токсикол. - 1980. - Т. 43. - С. 628.
 37. Патент 417 569 Швеции (1981).
 38. Kiyoshi S., Shinicki M. // Nippon Noyaku Gakkashi. - 1984. - 9. - p. 39.
 39. Ullmans Encyklopadie. 4 Aufl. 12. Weinheim, 1976.
 40. The Pesticide Book. Freeman and Co., San-Francisco, 1978. - p. 104.
 41. Патент 32 37 074 ФРГ (1985).
 42. Патент 0 003 999 ЕПВ (1980).
 43. Патент 60-23 643 Японии (1984).
 44. Патент 4 045 477 США (1977).
 45. Патент 234 782 ГДР (1977).
 46. Патент 2 325 586 США (1940).
 47. Патент 1 152 244 Англии (1969).
 48. Патент 24 37 844 ФРГ (1975).
 49. Патент 4 587 266 США (1986).
 50. Патент 2 830 006 США (1958).
 51. Патент 26 47 915 ФРГ (1977).
 52. Патент 35 37 627 ФРГ (1986).
 53. Патент 26 11 967 ФРГ (1977).
 54. Машковский. М.Д. Лекарственные средства. - 1997. - с. 402.
 55. Баркова Н.П. Дисс... доктора биол. наук. Иркутск, 1997.
 56. Кондрашов В.А. // Гигиена и сан.- 1992.-С.11-13.
 57. Методические указания "Обоснование гигиенических нормативов химических веществ в воде водных объектов культурно-бытового водопользования" МУ 2.1.5.720-98.
 58. Санитарные правила и нормы 2.1.2.568-96 "Гигиенические требования к устройству, эксплуатации и качеству воды плавательных бассейнов"
 59. Санитарные правила и нормы 2.1.5.980-00 "Гигиенические требования к охране поверхностных вод от загрязнения".
 60. Лурье Ю.Ю. Унифицированные методы анализа качества вод. - М. : Химия, 1971. - С. 85-90.

61. Г.П. Панкратова, М.М. Мальцева. Материалы научного отчёта «Оценка токсичности и опасности дезинфицирующего средства «Дезавид» производства «Адекватные технологии» Россия. Москва 2003.

62. Баркова Н.П. – «Результаты исследований перспективных солей полигексаметиленгуанидина с целью внедрения в народное хозяйство и медицину». Ангарск, 1992г.

Результаты изучения гонадотоксического действия ДЕЗАВИД на белых крысах в подостром эксперименте (n=6).

Доза мг/кг	Стат. Парамет- ры	Относит. масса семенников	Кол-во спермато- зоидов (млн/мкл)	Осмотич. резистент- ность сперматоз. (% NaCl)	Время подвижности спермато- зоидов (мин)
контроль	M	0,01145	1,165	2,03	154,00
	±m	0,0008	0,461	0,033	3,18
	δ	0,0019	1,032	0,08	7,79
1	M	0,010	0,813	2,066	169,5
	±m	0,0002	0,191	0,042	4,14
	δ	0,0005	0,427	0,103	10,13
	t	1,67	0,704	-	-
	p	>0,05	>0,05	>0,05	<0,001
2	M	0,009	0,913	2,1	175,17
	±m	0,0007	0,271	0,07	6,68
	δ	0,00169	0,606	0,17	16,36
	t	1,60	0,470	-	-
	p	<0,05	>0,05	>0,05	<0,001
3	M	0,010	1,193	2,03	185,0
	±m	0,00	0,374	0,033	3,84
	δ	0,00	0,836	0,08	9,4
	t	1,8	0,048	-	-
	p	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
4	M	0,010	1,193	2,00	178,67
	±m	0,00021	0,374	0,00	4,29
	δ	0,0005	0,836	0,00	10,5
	t	1,69	0,048	-	-
	p	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

с/рону ~~Соба~~
Шуруово
Скреневе
23 (бвара 15/04)
сисна



[Handwritten signature]