

<https://doi.org/10.32402/hygiene2022.72.017>

УДК:614.71:546.131

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ГІГІЄНИЧНОГО РЕГЛАМЕНТУ ПРЕПАРАТУ VARDAR 26 (ДІЮЧА РЕЧОВИНА – БІС(ДЕЦИЛ)(2-ГІДРОКСИЕТИЛ)МЕТИЛАЗАНІУМ ПРОПАНОАТ) У ПОВІТРЯНОМУ СЕРЕДОВИЩІ

Туркіна В.А.¹, Кузьмінов Б.П.¹, Третьякова О.В.², Лукасевич Н.Ф.¹, Щурко Г.В.¹

¹ Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, м. Львів, Україна
e-mail: ver.apachi85@gmail.com

² Державне підприємство Український науково-дослідний інститут медицини транспорту МОЗ України, м. Одеса, Україна
e-mail: helen.tre67@gmail.com

Туркіна В.А. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0660-8485>

Кузьмінов Б.П. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8693-1046>

Третьякова О.В. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4069-6626>

Лукасевич Н.Ф. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0610-1254>

Мета. Наукове обґрунтування гігієнічного регламенту допустимого вмісту біоцидного препарату «Vardar 26» (активна діюча речовина - біс(децил)(2-гідроксиетил)метилазаніум пропаноат) у повітряному середовищі

Об'єкт і методи досліджень. Технічний концентрат препарату «Vardar 26» з вмістом 80% активної діючої речовини в етиленгліколі, диетиленгліколі та воді. Методи досліджень – санітарно-хімічні, токсикологічні, статистичні.

Результати дослідження та їх обговорення. Представлені результати визначення маркерного леткого компонента препарату. Встановлено, що динамічна рівновага всіх мігруючих компонентів в експозиційній камері реєструється через 24 години. Етиленгліколь (вміст у препараті до 30%) при 20°C не мігрує із препарату внаслідок високої температури кипіння – 197,3°C. Водночас дослідження міграції аміаку показали, що з 1 г наважки препарату «Vardar 26» в модельних умовах виділяється 0,016 мг аміаку.

Проведені дослідження токсичних ефектів препарату «Vardar 26» на організм ссавців при різних шляхах надходження. За критерієм гострої пероральної токсичності препарат відноситься до 3 класу небезпеки. Величину показника середньосмертельної концентрації (CL₅₀) в умовах інгаляційного надходження препарату не вдалось досягнути. Він проявляє помірну подразнювальну дію на шкіру та виражену подразнювальну дію на хоріоалантоїсну оболонку курячих ембріонів. Володіє вираженими кумулятивними властивостями. Препарат не викликає сенсibiliзації організму. В умовах хронічного інгаляційного дослідження препарат «Vardar 26» не викликав клінічних ознак інтоксикації та загибелі тварин в умовах нашого експерименту.

Висновки. Враховуючи встановлені параметри токсичності, відсутність передумов для утворення аерозолі препарату як у процесі виготовлення готових дезінфекційних засобів, так і у процесі їх застосування, результати дослідження хімічного складу суміші речовин, що мігрують з препарату «Vardar 26» в модельних умовах, доцільно проводити контроль повітряного середовища за концентрацією маркерної сполуки - аміаком.

Ключові слова. Препарат «Vardar 26» (біс(децил)(2-гідроксиетил)метилазаніум пропаноат), токсикологічні дослідження, ссавці, гігієнічний регламент.

EXPERIMENTAL JUSTIFICATION FOR THE HYGIENIC REGULATIONS OF THE BARDAP 26 (ACTIVE INGREDIENT – BIS(DECYL)(2-HYDROXYETHYL METHYLAZANIUM PROPANOATE) IN AIR

V.A. Turkina¹, B.P. Kuzminov¹, E.V. Tretyakova², N.F. Lukasevich¹, H.V. Shchurko¹

¹ Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

² State Enterprise Ukrainian Research Institute of Transport Medicine of the Ministry of Health of Ukraine, Odesa, Ukraine

Objective. Scientific substantiation of health-related regulations on permissible content of “Bardap 26” biocidal product (active substance – bis(decyl)(2-hydroxyethyl methylazonium propanoate) in ambient air.

Materials and methods. Technical concentrate of “Bardap 26” product with a content of 80% of the active substance in ethylene glycol, diethylene glycol and water. Study methods – sanitary-chemical, toxicological, and statistical.

Results. The results outlined of determining marker volatile component of the product. It was established that the dynamic equilibrium of all migrating components in the exposure chamber is recorded in 24 hours. Ethylene glycol (up to 30% of product content) does not migrate from the product at 20°C due to its high boiling point – 197.3°C. At the same time, studies of ammonia migration showed that 0.016 mg of ammonia releases from 1 g of “Bardap 26” under model conditions. Studies have been conducted of “Bardap 26” toxic effects on mammals’ body with different routes of administration. In terms of acute oral toxicity, the product ranks as Hazard Class 3. The value of the median lethal concentration (CL 50) in the conditions of product inhalation could not be reached. It has a moderate skin irritant effect and a significant irritant effect on the chorioallantoic membrane of chicken embryos. Product exerts significant cumulative properties. It does not cause sensitization of the body. In the conditions of a chronic inhalation study, “Bardap 26” product did not cause clinical signs of intoxication and mortality among animals under conditions of our experiment.

Conclusions. Given the pre-set toxicity parameters, no prerequisites for the formation of an aerosol of the product both in the process of manufacturing ready-made disinfectants and their application as well, the results of studying chemical composition of mixture of substances that migrate from “Bardap 26” product under model conditions, it is advisable to inspect ambient air based on the marker compound (ammonia) concentration.

Keywords. “Bardap 26” product (bis(decyl)(2-hydroxyethyl methylazonium propanoate), toxicity studies, mammals, health-related regulations.

Вступ. Аналіз ринку біоцидів в Україні свідчить, що в країні практично відсутнє виробництво активних діючих речовин даного виду продукції. На національному рівні відбувається лише виготовлення сумішевих продуктів на основі, переважно, імпортованих діючих речовин або їх комерційних форм [1]. Для попередження можливих негативних ефектів впливу біоцидних продуктів в Україні проводиться оцінка ризиків на засадах гігієнічної регламентації і державної реєстрації активних діючих речовин та кінцевих продуктів.

Водночас в Україні склалася особлива система гігієнічної регламентації і реєстрації хімічних речовин, об’єктом її є не хімічні речовини відповідно до загальноприйнятого визначення, а небезпечні хімічні фактори (НФ) [2]. В її основу покладено розробку на підставі сучасних даних науково обґрунтованих гігієнічних регламентів, дотримання яких забезпечує оптимальні чи допустимі умови життєдіяльності людини. Питання безпечності біоцидів-дезінфектантів в Україні відповідає найважливішим потребам сучасності.

На сьогоднішній день у виробництві біоцидів, зокрема дезінфікуючих засобів активно використовується комерційний біоцидний продукт – препарат «Bardap 26» (активна діюча

речовина – біс(децил)(2-гідроксиетил)метилазаніум пропіноат). Характер його впливу на організм ссавців висвітлено у низці оприлюднених наукових звітах [3,4]. Основні токсичні ефекти зумовлені подразнювальними властивостями. Спеціальних досліджень щодо токсикокінетики та метаболізму не проводилось, проте у науковій літературі є дані щодо сполуки структурно спорідненої активній діючій субстанції препарату, а саме дідецилдиметиламоній хлориду. У жодному з досліджень не спостерігалось системних ефектів при відсутності місцевої подразнювальної дії. При внутрішньо шлунковому введенні LD₅₀ препарату «Bardap 26» для самців щурів становила 972/798÷1237/ мг/кг; LD₅₀ для самок щурів становила 1414/845÷2367/ мг/кг; а LD₅₀ для обох статей у поєднанні становила 1157/833÷1519/ мг/кг. Біс(децил)(2-гідроксиетил)метилазаніум пропаноат є нелеткою речовиною, тому вважається, що інгаляційний вплив є незначним, за даними ЄСНА сполука не класифікується як канцероген, мутаген або така, що здатна викликати репродуктивні або ендокринні порушення [5].

В Україні впровадження препарату «Bardap 26» стримується відсутністю затвердженого на державному рівні гігієнічного регламенту.

Мета роботи. Наукове обґрунтування гігієнічного регламенту допустимого вмісту біоцидного препарату «Bardap 26» у повітряному середовищі.

Об'єкт і методи досліджень. Препарат «Bardap 26» виготовляється, як технічний концентрат з вмістом 80% активної діючої речовини – біс(децил)(2-гідроксиетил)метилазаніум пропаноату в етиленгліколі, діетиленгліколі та воді. Продукт є рідиною світло-жовтого кольору з аміачним запахом. Застосовується в якості консерванту для деревини, а також для очищення та дезінфекції медико-хірургічних інструментів, медичних виробів і матеріалів для ендоскопії [5].

1. Для визначення маркерного леткого компоненту препарату «Bardap 26» проводились дослідження насичуючих концентрацій досліджуваної сполуки. Умови експерименту: температура 20°C при співвідношенні маса препарату (г): об'єм камери (м³) як 1:10, концентрацію мігруючих хімічних речовин вимірювали через 1, 4 та 24 години. Дослідження міграції аміаку проводили фотометрично [6].

Токсикологічні експериментальні дослідження проведені на білих безпородних щурах - самках віку 3-3,5 місяці з масою тіла 180-200 г, статевозрілих безпородних білих мишах-самках з масою тіла 25-34 г, мурчаках з масою тіла 350-400 г, які містилися в умовах віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. Експериментальні тварини отримували стандартний гранульований корм з необмеженим доступом до питної води. Маніпуляції з експериментальними тваринами проводили згідно з основними положеннями принципів біоетики, законодавчих норм і вимог відповідно до положень Закону України №3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» [7] та «Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах» [8].

Параметри токсичності препарату «Bardap 26» встановлювали при потенційно небезпечних шляхах надходження в організм (у шлунок, на шкіру, на слизові оболонки, через органи дихання) з визначенням параметрів гострої пероральної токсичності, шкірно-подразнюючої дії, гострої інгаляційної токсичності. Поглиблена токсикологічна оцінка включала вивчення ступеню кумуляції, сенсibiliзуючі властивості речовини, інгаляційну токсичність в умовах хронічного дослідження. Експериментальні групи тварин включали 6-10 особин кожна і формувались шляхом складання ранжируваних рядів і нумерацією за вихідною масою тіла.

У дослідженнях гострої пероральної токсичності, кумулятивної активності та подразнюючої дії на шкірні покриви керувались загальноприйнятими методами [9,10]. Для оцінки іритативної активності проводили тестування препарату на хоріоалантоїсній оболонці (ХАО) курячих ембріонів [11]. Гостру інгаляційну токсичність вивчали шляхом статичної інгаляційної експозиції насичуючими концентраціями парів, що досягалися в камері при нанесенні препарату на поверхню скляних пластин при 20°C протягом 24 год. Розрахунок насиченості проводили для концентрації, що відповідає четвертому класу небезпеки за

середньо смертельною концентрацією і становить 50000 мг/м^3 . Експозиція затруєння тварин становила 4 години.

2. Оцінку сенсibiliзуючої активності препарату «Bardap 26» проводили на мурчаках-самцях. Вибір концентрації ґрунтувався на результатах попередніх випробувань з підбору концентрації препарату, що не викликає контактного дерматиту. Препарат в об'ємі $0,02 \text{ мл}$ вводили однократного внутрішньошкірно у вушко піддослідних мурчаків, через 10 днів додатково проводили 20 епікутанних аплікацій 5% розчином препарату на попередньо депільовану ділянку бокової поверхні тулуба тварин. На наступний день після закінчення епікутанних аплікацій визначали клінічні показники периферійної крові та імунологічні тести “in vitro” – РСАЛ та РСЛЛ [12].

3. Визначення інгаляційної небезпеки в умовах хронічного впливу препарату «Bardap 26» проводили на лабораторних мишах. Використовували ексикатор, який був розділений решіткою на верхню камеру й нижню. В верхній камері (8 л) тварин піддавали експозиції, в нижній камері (5 л) – розташована ємність з препаратом. Всього в досліді використано 2 ексикатори, перший для дослідної групи тварин, другий - для контрольної. Попередньо речовину вносили в нижню частину ексикатору, який насичували леткими компонентами препарату упродовж 24 годин. Після цього в ексикатор поміщали білих мишей. В контрольному ексикаторі, як речовину порівняння розміщували етиленгліколь. Експозиція тривала 2 години 5 днів на тиждень упродовж 6 місяців. Упродовж експерименту спостерігали за поведінкою тварин, реєстрували реакцію на зовнішні подразники, перевіряли реакцію на больовий подразник. Рухову активність тварин оцінювали в тесті відкрите поле. Визначали сумарно-пороговий показник.

Результати дослідження та їх обговорення. У ході санітарно-хімічних експериментів з виявлення летких компонентів препарату «Bardap 26» встановлено, що динамічна рівновага всіх мігруючих компонентів в експозиційній камері реєструється через 24 години. Етиленгліколь (вміст у препараті до 30%) при 20°C не мігрує із препарату внаслідок високої температури кипіння – $197,3^\circ\text{C}$, водночас серед летких компонентів у слідових концентраціях були виявлені ізопропанол, ізобутанол, бутилацетат, декан, етилбензол. Втрата маси для препарату «Bardap 26» під час 24 годинної експозиції склала менше $0,1\%$.

За фізико-хімічними характеристиками препарат володіє слабким ам'ячним запахом. Дослідження міграції ам'яку показали, що з 1 г наважки препарату «Bardap 26» в модельних умовах виділяється $0,016 \text{ мг}$ ам'яку, тобто досягнення концентрації в 20 мг/м^3 (ГДК ам'яку у повітрі робочої зони) вірогідно при насиченості препаратом 1250 мг/м^3 .

У дослідженнях гострої інгаляційної токсичності препарату упродовж експозиції насичуючими концентраціями загибелі тварин не зафіксовано. Клінічна картина інтоксикації характеризувалась наступними ознаками: адинамією, порушенням ритму дихання, наприкінці експозиції спостерігали активний ґрумінг. В дослідних групах у цей період спостереження, маса тварин достовірно не відрізнялася від показників контролю.

Препарат «Bardap 26» володіє помірними токсичними властивостями при внутрішньошлунковому шляху надходження. Встановлена середньосмертельна доза (DL_{50}) для щурів складає $1438 \pm 350 \text{ мг/кг}$, для мишей – $478 \pm 109 \text{ мг/кг}$, що дозволяє віднести його до 3 класу небезпеки [«Методів проведення досліджень специфічної активності, безпечності, якості (ефективності) дезінфекційних засобів та їх випробування на практиці» (Затверджених Наказом Міністерства охорони здоров'я України від 03 вересня 2020 р. №2024)]. Коефіцієнт видової чутливості дорівнював $3,0$, що свідчить про виражену видову чутливість. В клінічній картині спостерігались симптоми ураження центральної нервової системи, змінювався зовнішній вигляд тварин.

При епікутанному впливі препарату «Bardap 26» у експериментальних тварин спостерігались: виражена еритема, тріщини та сухість шкірних покривів. Товщина шкірної складки після шести експозицій збільшилась на $1,7\text{-}2,0 \text{ мм}$. Середній сумарний бал подразнювальної дії препарату складав 6 балів. За даним критерієм речовина володіє

помірними подразнюючим властивостями. Наприкінці експерименту після періоду реконвалесценції зовнішній вигляд тварин не відрізнявся від контрольних, на місці нанесення препарату шкіра помітно заростала шерстю. В усіх дослідних групах наприкінці періоду спостереження маса тварин достовірно не відрізнялася від показників контролю ($p > 0,05$). За критерієм перкутанної токсичності препарат можна віднести до 2 класу небезпеки [13].

У тесті на хоріоалантоїсній оболонці (ХАО) курячих ембріонів препарат «Bardap 26» (2% розчин) викликав геморагії і лізис судин та коагуляцію білків. Середній бал подразнюючої дії становив 10,7 балів, що свідчить про виражену подразнюючу дію.

4. За показниками досліджень кумулятивних властивостей, сполука володіє вираженими кумулятивними властивостями. Встановлений коефіцієнт кумуляції ($K_{\text{кум}}$) дорівнює 1,2. За даним критерієм його можна віднести до 2 класу небезпеки [13].

Дослідженнями сенсibiliзуючої активності речовини встановлено, що нанесення на неушкоджену шкіру піддослідних морських свинок 5% розчину препарату «Bardap 26» починаючи із сьомої доби викликає подразнення шкіри, про що свідчить розвиток гіперемії та утворення у 2 з 8 тварин струпів. У сенсibiliзованих тварин достовірних змін у лейкоформулі порівняно з контрольною групою не виявлено, за виключенням зниження моноцитів у дослідній групі. Але даний показник був у межах фізіологічної норми [14]. Показники реакції специфічного лізису лейкоцитів (РСЛЛ) та специфічної агломерації лейкоцитів (РСАЛ) не мали достовірних відмінностей порівняно з контролем та не перевищували критичних значень.

5. В умовах хронічного інгаляційного дослідження препарат «Bardap 26» не викликав клінічних ознак інтоксикації. За весь період спостереження загинуло тварин не відмічено. Зовнішній вигляд та реакції на больові та звукові подразники у тварин дослідної групи не відрізнялись від тварин у контрольній групі. Поведінкові реакції: горизонтальна активність, вертикальна активність, норковий рефлекс та СПП в межах фізіологічної норми. Клінічний аналіз крові тварин експериментальної групи виявив деякі коливання у лейкоцитарній формулі у порівнянні з контрольною групою. Але ці зміни не виходили за межі фізіологічних норм.

Висновки

Проведеними дослідженнями встановлено, що за критерієм гострої пероральної токсичності препарат «Bardap 26» (діюча речовина – біс(децил)(2-гідроксиетил)метилазаніум пропаноат) відноситься до 3 класу небезпеки. Не володіє шкірно-резорбтивним ефектом. Проявляє сильну подразнювальну дію на шкіру та слизові оболонки. Кумулятивна активність виражена (2 клас небезпеки). Не викликає сенсibiliзації організму. При попаданні у організм уражає центральну нервову систему.

Враховуючи встановлені параметри токсичності, відсутність передумов для утворення аерозолу препарату як у процесі виготовлення готових дезінфекційних засобів, так і у процесі їх застосування, результати дослідження хімічного складу суміші речовин, що мігрують з препарату «Bardap 26» в модельних умовах, доцільно проводити контроль повітряного середовища за концентрацією маркерної сполуки – аміаком.

Внески авторів:

Туркіна В.А – розробка концепції, оформлення тексту рукопису, затвердження остаточного варіанта статті;

Кузьмін Б.П. – розробка дизайну дослідження, визначення аспектів, що становлять найбільший науковий та практичний інтерес, затвердження остаточного варіанта статті;

Третякова О.В. – проведення дослідження, підготовка та редагування тексту, затвердження остаточного варіанта статті;

Лукаsevич Н.Ф. – аналіз релевантних наукових публікацій на тему, збір та аналіз даних;

Щурко Г.В. – ресурсне забезпечення, дослідження, підготовка та редагування тексту.
Фінансування. Дослідження проведено без спонсорського фінансування.
Конфлікт інтересів. Відсутній

REFERENCES

1. Serdiuk AM, Polka NS, Koblianska AV, Tsyhulova OM, Taran VV, Surmasheva OV, et al. [National review of the current situation in the field of biocides management in Ukraine: monograph] [Internet]. Kyiv: Medinform; 2017 [cited 2022 Jul 20]. 270 p. Ukrainian. Available from: <http://www.health.gov.ua/docs/NationalReport/National%20Report%20on%20biocides%20in%20Ukraine%202017.pdf>
2. [Regulations on hygienic regulation and state registration of dangerous factors: Resolution of the Cabinet of Ministers of Ukraine No. 420 of June 13, 1995] [Internet]. 1995 [cited 2022 Jul 29]. Ukrainian. Available from: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/420-95-п#Text>
3. Assessment Report – Didecylmethylpoly(oxyethyl)ammonium propionate Product-type 8 (Wood Preservative). [Internet]. ECHA [cited 2022 Jul 29]. Available from: <https://echa.europa.eu/documents/10162/c2869e58-023f-f788-04a8-5af24df96dad>
4. Opinion on the application for approval of the active substance: Didecylmethylpoly(oxyethyl)ammonium propionate Product type: 8. [Internet]. ECHA. [cited 2022 Jul 29]. Available from: <https://echa.europa.eu/documents/10162/1c0ba851-8f48-459a-a624-8d25092c9190>
5. Registration dossier [Internet]. ECHA. [cited 2022 Jul 29]. Available from: <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/15837>
6. [MU 1637-77. Guidelines for the photometric determination of ammonia in the air]. 1977 [cited 2022 Jul 29]. 18 p. Russian.
7. [On the protection of animals from cruel treatment: Law of Ukraine dated February 21, 2006 No. 3447-IV: as of August 8 2021] [Internet]. 2006 [cited 2022 Jul 29]. Ukrainian. Available from: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15>
8. [On the approval of the Procedure for conducting experiments and experiments on animals by scientific institutions: Order of the Ministry of Education, Youth and Sports of Ukraine dated March 1, 2012 No. 249] [Internet]. 2012 [cited 2022 Jul 29]. Ukrainian. Available from: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0416-12>
9. [MU №2163-80. Guidelines for the formulation of studies to substantiate sanitary standards for harmful substances in the air of the working area]. 1980 [cited 2022 Jul 29]. Russian.
10. [MU №2102-79. Guidelines for assessing the impact of harmful chemicals on the skin and the rationale for the MPC for skin contamination]. 1979 [cited 2022 Jul 29]. 12 p. Russian.
11. Kuzminov BP, Turkina VA, Bec NG, Chemodurova NY. [Assessment of the irritating effect of chemicals on the chorioallantoic membrane of the chicken embryo: methodological recommendations]. Lviv; 2021. 19 p. Ukrainian.
12. [MR 2121-80. Organization of research on hygienic regulation of industrial allergens in the air of the working area]. 1980 [cited 2022 Jul 29]. Russian.
13. [Methods of conducting studies of the specific activity, safety, quality (effectiveness) of disinfectants and their testing in practice: Order of the Ministry of Health of Ukraine dated September 3, 2020 No. 2024] [Internet]. 2020 [cited 2022 Jul 29]. Ukrainian. Available from: <https://moz.gov.ua/article/ministry-mandates/nakaz-moz-ukraini-vid-03092020--2024-pro-zatverdzhennja-metodiv-provedennja-doslidzen-specifichnoi-aktivnosti-bezpechnosti-jakosti-efektivnosti-dezinfekcijnih-zasobiv-ta-ih-viprobuvannja-na-praktici>
14. Makarov VG, Makarova MN. [Physiological, biochemical and biometric indicators of the norm of experimental animals]. SPB: LEMA; 2013. 116 p. Russian.

Надійшла до редакції / Received: 05.08.2022