

ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ХИМИЧЕСКОГО СРЕДСТВА ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

С. Ю. Петрова, Т. Н. Гомолко, О. А. Борис*

Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены»,
г. Минск, Республика Беларусь, *e-mail: petrova524a@mail.ru

Поступила в редакцию 20.04.2017 г.

Представлены результаты токсиколого-гигиенических исследований химического средства защиты растений - протравителя ВИАЛ Трио, который представляет собой водно-суспензионный концентрат композиции на основе трех фунгицидов: прохлораза, тиабендазола и ципроконазола. Исследования проведены с учетом принципов идентификации и классификации опасностей химической продукции. Показано, что по параметрам острой токсичности при однократном внутрижелудочном и дермальном путях поступления препарат относится к малоопасным веществам (4 класс опасности). По результатам изучения раздражающих свойств на кожу и слизистую оболочку глаз лабораторных животных, изучаемый препарат относится к веществам, не обладающим раздражающим действием на кожные покровы и умеренным раздражающим действием на слизистые оболочки, не обладает кумулятивным эффектом, не оказывает сенсибилизирующего действия в тесте опухания лапы мыши.

Ключевые слова: токсичность, среднесмертельная доза (LD_{50}), кумулятивные свойства, раздражающее действие, кожно-раздражающее действие, сенсибилизирующее действие.

ВВЕДЕНИЕ

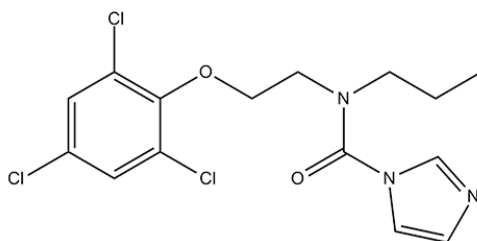
Неуклонное развитие химической индустрии, отраслей промышленности и сельского хозяйства, связанных с применением химических веществ, в том числе токсичных и потенциально опасных, вызывает острую необходимость наличия достоверной информации о токсических свойствах этих веществ с целью разработки профилактических и превентивных мер при обращении с ними. Как и в большинстве стран мира, в Беларуси отмечается тенденция к увеличению числа используемых средств защиты растений, что позволяет производить ротацию пестицидов во избежание появления популяций вредителей, устойчивых к действию применяемых препаратов.

Для предупреждения неблагоприятных последствий применения вновь синтезированных средств защиты растений необходимо проводить исследования по изучению их токсических свойств.

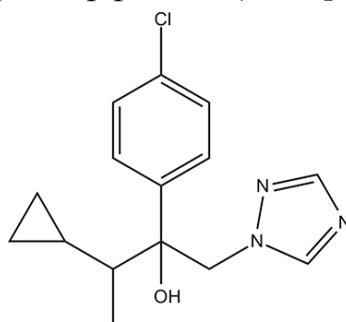
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалом исследований являлось вновь синтезированное средство защиты растений – протравитель ВИАЛ Трио, ВСК (водно-суспензионный концентрат). Препарат предназначен для применения в сельском хозяйстве в

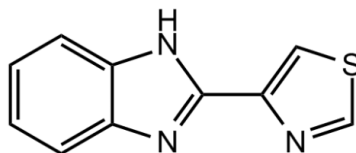
качестве системного фунгицида для протравливания семенного материала сельскохозяйственных культур от комплекса болезней и представляет собой водно-суспензионный концентрат, содержащий следующие действующие вещества: 120 г/л прохлораз, 30 г/л тиабендазола и 5 г/л ципроконазола. Структуры данных соединений представлены на рис. 1.



Прохлораз $C_{15}H_{16}Cl_3N_3O_2$
[N-пропил-N-[2-(2,4,6-трихлорфенокси)этил]имидазол-1-карбоксамид]



Ципроконазол $C_{15}H_{18}ClN_3O$
[(2*RS*,3*RS*;2*RS*,3*SR*)-2-(4-хлорфенил)-3-циклопропил-1-(1*H*-1,2,4-триазол-1-ил)бутан-2-ол]



Тиабендазол $C_{10}H_7N_3S$
[2-(4-тиазолил)-1*H*-бензимидазол]

Рис. 1. Химические структуры соединений, входящих в состав протравителя ВИАЛ Трио.

Для проведения токсиколого-гигиенических исследований использовались общепринятые в лабораторной практике методы исследований: токсикологические, биохимические, гематологические. Эксперименты на животных проведены с соблюдением правил биоэтики. Исследования проведены в соответствии с техническими нормативными правовыми актами, руководствами. Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием компьютерной программы STATISTICA 6 [1, 2].

Определение параметров острой внутрижелудочной токсичности препарата

Параметры острой пероральной токсичности определяли в серии экспериментов на белых беспородных крысах (самцы) при интрагастральном введении препаратов в дозах 5010, 6340, 7940, 10000 мг/кг. Препарат интрагастрально с помощью иглы-зонда вводили белым крысам массой 220 ± 10 г, дозы объемно не превышали физиологической вместимости желудка. Динамику выживания и развития явлений интоксикации (раздражающий эффект слизистой рта, угнетение животных, адинамию и некоторые другие признаки отравления), а также гибель животных регистрировали в течение 14 суток.

Определение параметров острой дермальной токсичности препарата

Параметры острой дермальной токсичности определяли в эксперименте на белых беспородных крысах (самки) при нанесении на кожу в нативном виде в дозе 2000 мг/кг.

Определение ирритативного и кожно-раздражающего действия

Кожно-раздражающее действие образца определяли путем нанесения препарата в дозе 20 мг/см² на выстриженные участки кожи белых крыс размером 4 x 4 см.

Ирритативное действие протравителя изучали путем однократной инстилляции 50%-ного раствора препарата в нижний конъюнктивальный свод глаз кроликов.

Определение кумулятивных свойств

Кумулятивные свойства изучены при 20-кратном дозмонотонном внутрижелудочном введении в дозе 500,0 мг/кг для гербицида и в дозе 194,0 мг/кг для адьюванта. Животным контрольной группы внутрижелудочно вводили дистиллированную воду в эквивалентных объемах.

Определение сенсibilизирующего действия

Эксперименты проведены *in vivo*. Для изучения сенсibilизирующей способности во внутрикожном тесте опухания лапы мыши (ВТОЛ) использованы взрослые самцы мышей весом 20 ± 2 г.

Состояние сенсibilизации воспроизводили с помощью смеси 0,33% раствора препарата в физиологическом растворе и полного адьюванта Фрейнда (ПАФ) при соотношении 1:1. В объеме 60 мкл смесь внутрикожно вводили подопытным животным в основание хвоста. В контроле использовали смесь физиологического раствора и ПАФ в эквивалентном объеме. На шестые сутки после введения препарата для определения гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) внутрикожно вводили разрешающую дозу препарата (по 40 мкг 0,33%-ного раствора каждого препарата в физиологическом растворе на животное) в апоневроз задней лапы. Результаты провокационного внутрикожного теста опухания лапы (ТОЛМ) учитывали через 24 часа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В условиях однократного внутрижелудочного введения средняя смертельная доз препарата для белых крыс составляет 7710 мг/кг, что позволяет отнести препарат к малоопасным веществам (4 класс опасности) при однократном внутрижелудочном введении [3, 4].

При нанесении на кожу протравителя гибель животных и выраженные симптомы интоксикации отсутствовали. LD₅₀ препарата при нанесении на кожу белых крыс составляет более 2000 мг/кг, что позволяет отнести препарат к малоопасным веществам (4 класс опасности) при однократном нанесении на кожу [3, 4].

Однократное нанесение протравителя ВИАЛ Трио, ВСК (в дозе 20 мг/см² на выстриженные участки кожи белых крыс размером 4 x 4 см на 4 часа приводило к развитию эритемы и отеку. Среднесуммарный балл выраженности раздражающего действия составляет 0 баллов. Следовательно, препарат относится к веществам, не обладающим раздражающим действием на кожные покровы по выраженности раздражающего действия [1, 3, 4].

Однократные инстилляций 50%-ного раствора препарата в нижний конъюнктивальный свод глаз кроликов приводил к гиперемии слизистой у экспериментальных животных, наблюдающихся в течение последующих суток наблюдения. Среднесуммарный балл выраженности раздражающего действия составляет 1,0 балл. Следовательно, препарат относится к веществам, обладающим слабым раздражающим действием на слизистые оболочки глаз по выраженности раздражающего действия [1, 3, 4].

В таблицах 1-5 приведены данные по влиянию протравителя ВИАЛ Трио, ВСК на физиологические и биохимические показатели белых крыс при дозозависимом внутрижелудочном поступлении препарата в течение месяца (5 раз в неделю).

В ходе эксперимента статистически значимых различий по массе тела по сравнению с контрольными животными не отмечено (таблица 1).

Таблица 1. Изменение массы тела белых крыс, Ме (25%; 75%, квартили)

Группы животных	Показатели
	Масса тела, г
Контроль	230,0 (230,0; 250,0)
Препарат	240,0 (220,0; 250,0) p = 0,06*

Примечание: Ме - медианы, *- статистически достоверные различия по отношению к контролю при p < 0,05 (аналогично в таблицах 2-6)

Установлено, что внутрижелудочное введение препарата приводит к снижению уровня глюкозы в крови подопытных животных. Статистически значимых изменений остальных показателей в сыворотке крови подопытных животных по сравнению с контрольной группой не отмечено (таблица 2).

Таблица 2. Биохимические показатели крови белых крыс, Ме (25%;75%, квартили)

Показатели	Группы животных	
	Контроль	1
АлАТ, Ед/л	82,50 (70,50; 87,30)	80,40 (69,50; 103,30) p = 0,95
АсАТ, Ед/л	311,2 (284,4; 341,9)	290,4 (256,6; 374,0) p = 0,65
Мочевина, ммоль/л	7,50(7,16; 8,62)	8,19 (6,93; 8,70) p = 0,95
Креатинин, мкмоль/л	49,60 (44,60; 52,30)	45,80 (44,80; 50,40) p = 0,61
Общий белок, г/л	86,40 (83,70; 88,50)	86,30 (79,50; 91,40) p = 0,70
Глюкоза, ммоль/л	6,64 (6,18; 7,59)	5,81 (5,15; 6,23) p = 0,02*

При повторном внутрижелудочном поступлении препарата отмечено достоверное снижение величин относительных коэффициентов массы (ОКМ) селезенки в опытной группе животных. ОКМ печени, почек, сердца и надпочечников не отличались от величин, полученных в контрольной группе лабораторных животных (таблица 3).

Таблица 3. Относительные коэффициенты массы внутренних органов белых крыс, Ме (25%;75%, квартили)

Изучаемые показатели, кг ⁻³ /кг	Группы животных	
	Контроль	1
ОКМ печени	29,70 (29,30; 31,90)	33,10 (31,10; 34,60) p = 0,07
ОКМ почек	6,10 (5,60; 6,60)	6,40 (5,70; 6,70) p = 0,41
ОКМ сердца	3,30 (3,10; 3,70)	3,20 (3,10; 3,50) p = 0,48
ОКМ селезенки	4,90 (4,40; 5,10)	4,10 (4,00; 4,50) p = 0,04*
ОКМ надпочечников	0,17 (0,15; 0,17)	0,16 (0,14; 0,17) p = 0,52

Дозомонотонное внутрижелудочное введение препарата привело к изменению содержания форменных элементов крови, а именно – повышенному содержанию тромбоцитов в периферической крови. Количество эритроцитов, лейкоцитов и гемоглобина у опытных животных не отличалось от контрольной группы (таблица 4).

Таблица 4. Морфологический состав периферической крови белых крыс, Ме (25%;75%, квартили)

Изучаемые показатели	Группы животных	
	Контроль	1
Эритроциты, $\cdot 10^{12}$ /л	7,74 (7,01; 8,13)	7,11 (6,85; 7,30) p = 0,08
Лейкоциты, $\cdot 10^9$ /л	19,00 (17,50; 22,00)	19,50 (18,90; 22,20) p = 0,52
Гемоглобин, г/л	150,0 (147,0; 155,0)	148,0 (142,0; 156,0) p = 0,61
Тромбоциты, $\cdot 10^9$ /л	825,0 (707,0; 832,0)	993,0 (931,0; 1166,0) p = 0,003*

При воздействии препарата со стороны показателей функционального состояния почек у подопытных животных отмечено снижение креатинина в сравнении с контролем. Достоверных отличий остальных показателей по сравнению с контрольной группой не выявлено (таблица 5).

Таблица 5. Показатели функционального состояния почек белых крыс, Ме (25%;75%, квартили)

Показатели	Группы животных	
	Контроль	1
Диурез, мл/сутки	10,80 (8,80; 12,90)	11,50 (9,50; 12,70) p = 0,87
pH, у.е.	7,00 (7,00; 7,50)	7,00 (6,50; 8,00) p = 0,34
Мочевина, ммоль/л	159,00 (146,00; 166,00)	188,0 (153,0; 223,0) p = 0,23
Креатинин, ммоль/л	4825,0 (4550,0; 5050,0)	3800,0 (3550,0; 3850,0) p = 0,001*
Общий белок, моль/л	1,05 (1,00; 1,30)	0,90 (0,70; 1,00) p = 0,07

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что дозозависимое внутрижелудочное введение препарата в течение месяца (5 раз в неделю) не приводило к гибели 50% лабораторных животных. В условиях повторного 30-суточного внутрижелудочного введения препарата белым крысам в дозе, кратной 1/10 LD₅₀, кумулятивных эффектов по критерию смертности не выявлено. Коэффициент кумуляции – больше 5,1. Протравитель ВИАЛ Трио, ВСК оказывает общетоксическое действие с преимущественным нарушением функции печени и белкового обмена.

При изучении сенсибилизирующего действия препарата на белых мышах не выявлено наличия достоверных изменений среднегрупповых показателей теста опухания лапы мыши (ТОЛМ) опытных и контрольных животных, следовательно, у изучаемого препарата отсутствует существенная сенсибилизирующая способность (таблица 6).

Таблица 6. Показатели алергизации белых мышей, сенсибилизированных внутрикожно препаратом, Ме (25%, 75%, квартили)

Препарат, показатели	Группы сравнения	
	Контроль	Опыт
	0,012 ± 0,003	0,014 ± 0,005 p = 0,48

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенных исследований с учетом принципов идентификации и классификации опасностей, по параметрам острой токсичности при внутрижелудочном и дермальном путях химическое средство защиты растений - протравитель ВИАЛ Трио, ВСК (120 г/л прохлораз + 30 г/л тиабендазол + 5 г/л ципроконазол) относится к 4 классу опасности (малоопасное вещество). Препарат относится к веществам, не обладающим раздражающим действием на кожные покровы и обладающим умеренным раздражающим действием на слизистые оболочки глаз. В условиях повторного 30-суточного внутрижелудочного введения препарата белым крысам, кумулятивных эффектов по критерию смертности не выявлено. Коэффициент кумуляции препарата – больше 5,1. При этом установлено, что гербицид оказывает общетоксическое действие с преимущественным нарушением функции печени и белкового обмена. Снижение уровня креатинина в моче может свидетельствовать о нарушении метаболических процессов,

сопровождающихся расстройствами белкового обмена в организме, а также о возможном снижении активности щитовидной железы.

Препарат не оказывает сенсibilизирующего действия в тесте опухания лапы мыши.

Список литературы:

1. Инструкция 1.1.11-12-35-2004 «Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ (определение параметров острой токсичности)».
2. Методические указания по гигиенической оценке новых пестицидов № 4263-87: утв. МЗ СССР 13 марта 1987 г. Киев, 1988.
3. Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю). Раздел 15. Требования к пестицидам и агрохимикатам.
4. ГОСТ 12.1.007-76 ССБТ «Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности».
5. ГОСТ 31340-2007 «Предупредительная маркировка химической продукции. Общие требования».

STUDY OF TOXICOLOGICAL AND HYGIENIC CHARACTERISTICS OF PLANT PROTECTION AGENT

S. Yu. Petrova, T. N. Gomolko, and O. A. Boris*

Republican Unitary Enterprise “Scientific and Practical Centre of Hygiene”,
Minsk, Republic of Belarus, *e-mail: petrova524a@mail.ru

Received April 20, 2017

Abstract – The results are presented referring to studying toxicological and hygienic characteristics of a chemical agent for plant protection – VIAL Trio, disinfectant. The agent represents an aqueous suspension of concentrated composition involving three fungicides, i.e. prochloraz, thiabendazole, and cyproconazole. The research has been carried out taking into account the principles of identification and classification of hazardous chemical production. Acute toxicity experiments with single dose intestinal and dermal routes of administration have shown that the agent can be classified as a low-risk substance (hazard class 4). The results of testing agent’s skin irritant action and its irritant action on eye membrane sensibility of laboratory animals have revealed that the agent refers to substances that do not irritate skin and have moderate irritant effect on mucous membranes; also the agent does not exhibit a cumulative effect and has no sensitizing effect in mouse paw edema test.

Keywords: toxicity, average lethal dose (LD₅₀), cumulative properties, irritant action, skin irritant effect, sensitizing effect.