

Государственное учреждение  
Научно-исследовательский институт экологии человека и гигиены  
окружающей среды им. А.Н.Сысина РАМН  
(ГУ НИИ ЭЧ и ГОС им. А.Н.Сысина)

**«УТВЕРЖДАЮ»**

*Директор ГУ НИИЭЧиГОС*

*им. А.Н.Сысина РАМН,*

*академик РАМН \_\_\_\_\_ Ю.А.Рахманин*

*«\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2005 г.*

**О Т Ч Е Т**

**о выполнении НИР на тему:**

**«САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ И  
ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА «ДЕЗАВИД», ПРИМЕНЯЕМОГО ДЛЯ  
ДЕЗИНФЕКЦИИ ВОДЫ ПЛАВАТЕЛЬНЫХ БАССЕЙНОВ»  
(протокол № 3/114-05 от 28.11.05 г.)**

**Научный руководитель,  
профессор, д.м.н.**

**З.И.Жолдакова**

**Ответственный исполнитель,  
д.м.н.**

**О.О.Синицына**

**Москва – 2005 г.**

**СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ**

Научный руководитель темы,  
д.м.н., профессор

Жолдакова З.И

Ответственный исполнитель,  
д.м.н.

Синицына О.О.

Исполнители:

с.н.с., к.м.н.

н.с., к.б.н.

ст.н.с., к.х.н.

ст.н.с., к.б.н.

н.с.

н.с.

зав.лаб., к.м.н.

ст.н.с., к.б.н.

ст.н.с., к.б.н.

вед.н.с., к.б.н.

ст.н.с., к.м.н.

зав.лаб, к.м.н.

ст.н.с., к.м.н.

н.с., к.м.н.

Зайцев Н.А.  
Полякова Е.Е.  
Харчевникова Н.В.  
Тульская Е.А.  
Одинцов Е.Е.  
Карамзин К.Б.  
Недачин А.Е.  
Иванова Л.В.  
Артемова Т.З.  
Дмитриева Р.А.  
Доскина Т.В.  
Иванов В.Д.  
Маковецкая А.К.  
Миславский О.В.

## СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
1. Введение.....	4
2. Обзор литературы.....	6
2.1. Токсикологическая и санитарно-гигиеническая характеристика четвертичных аммониевых соединений.....	6
2.2. Токсикологическая и санитарно-гигиеническая характеристика гуанидиновых соединений.....	10
3. Собственные исследования.....	16
3.1. Изучение токсичности препарата «Дезавид» по смертельному эффекту при энтеральном поступлении.....	17
3.2. Изучение токсического действия препарата «Дезавид» в условиях субхронического эксперимента.....	18
3.3. Изучение местного раздражающего действия и сенсibiliзирующих свойств дезинфицирующего средства «Дезавид» в эксперименте на лабораторных животных.....	18
3.4. Изучение иммунотоксического действия дезинфицирующего средства «Дезавид» на организм лабораторных животных.....	20
3.5. Изучение влияния дезинфицирующего средства «Дезавид» на органолептические свойства воды.....	23
3.6. Обоснование максимальной допустимой концентрации дезинфицирующего средства «Дезавид» в воде плавательных бассейнов.....	25
3.7. Разработка методики выполнения измерений массовой концентрации полигексаметиленгуанидина в воде.....	26
3.8. Оценка обеззараживающей эффективности препарата «Дезавид» в отношении музейных штаммов санитарно-показательных и патогенных микроорганизмов в лабораторных условиях.....	35
3.9. Полупроизводственные испытания эффективности обеззараживания воды плавательного бассейна с использованием средства «Дезавид».....	39
4. Заключение.....	45
Список литературы.....	47
Приложения.....	50

## 1. ВВЕДЕНИЕ

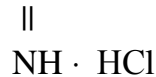
На исследование представлен препарат «Дезавид, производимый по ТУ 9392-001-49340960-2003 с изменениями №1 и №2 ООО «АДЕКВАТНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ» (Россия) с целью обоснования условий его применения для обеззараживания воды плавательных бассейнов.

Препарат представляет собой раствор смеси Полисепта (полигексаметиленгуанидин гидрохлорида) и катамина АБ (алкилбензилдиметиламмоний хлорида фракций C<sub>10</sub>-C<sub>18</sub>). Количественный состав препарата следующий:

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

Катамин АБ представляет собой вязкую жидкость коричневого цвета, хорошо растворимую в воде. Полисепт (полигексаметиленгуанидин гидрохлорид (ПГМГ-ГХ) - прозрачное стеклообразное твердое вещество без запаха в виде гранул, молекулярная масса 800-15000, хорошо растворимо в воде и в спирте. Полисепт получают путем термической поликонденсация гуанидин гидрохлорида с гексаметилендиамином при температуре 150-2200<sup>0</sup> С в течение 10-15 часов. Содержание основного вещества – не менее 95%. Бицидная активность Полисепта обусловлена присутствием в макромолекулярной цепи гуанидиновой группировки.

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



Препарат «Дезавид» прошел государственную регистрацию (Свидетельство №77.99.19.939.Р.000074.02.04 от 24.02.2004 г.) в качестве средства для дезинфекции поверхностей в помещениях, жесткой мебели, санитарно-технического оборудования, белья, посуды, предметов ухода за больными, игрушек, уборочного инвентаря, изделий медицинского назначения, включая стоматологические инструменты при инфекциях бактериальной (включая туберкулез), вирусной и грибковой этиологии; для применения в быту; для очистки и обеззараживания городских, промышленных сточных и оборотных вод и систем охлаждения оборудования. Государственная регистрация препарата «Дезавид» в качестве дезинфицирующего средства в перечисленных областях применения произведена на основании научных исследований, изложенных в следующих научных отчетах:

- «Оценка токсичности и опасности дезинфицирующего средства «Дезавид» производства ООО «Адекватные технологии» (Россия)» от 11.08.2003 г. – НИИД МЗ РФ;
- «Лабораторно-экспериментальное изучение дезинфицирующих свойств средства «Дезавид» ООО «Адекватные технологии», Россия» от 11.08.2003 г. – НИИД МЗ РФ;

- «Химико-аналитическое исследование дезинфицирующего средства «Дезавид» производства ООО «Адекватные технологии», Россия» от 11.08.2003 г. – НИИД МЗ РФ;
- «Оценка возможности регистрации препарата «Дезавид» в качестве дезинфицирующего средства» №3/94/03 от 5.09.2003 г. – ГУ НИИ ЭЧ и ГОС им.А.Н.Сысина РАМН.

В лаборатории экологического мониторинга, анализа и кондиционирования воды ГУП «МосводоканалНИИпроект» в 2001 году была проведена оценка технологической и санитарно-гигиенической эффективности применения средства «Дезавид» для обеззараживания речной воды (р.Москва) в процессе получения питьевой воды [64]. Эффективность обеззараживания оценивалась по таким показателям, как общее микробное число (ОМЧ) и коли-индекс, в осенний и зимний период. Установлено, что в осенний период снижение ОМЧ и коли-индекса до нормативов по микробиологическим показателям в соответствии с СанПиН 2.1.4.559-96 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества» наблюдалось при дозе средства «Дезавид» 0,3 мг/л (ОМЧ — не более 50, коли-индекс — отсутствие). Достижение эффекта обеззараживания речной воды до требований СанПиН 2.1.4.559-96 в зимний период года наблюдалось при дозе средства «Дезавид», равной 0,4 мг/л. Необходимая по СанПиН 2.1.4.559-96 степень обеззараживания той же воды достигалась при концентрациях хлора 3—4 мг/л, гипохлорита натрия 2-2,5 мг/л осенью и, соответственно, 3-4,5 мг/л и 2-2,5 мг/л зимой.

Для контроля за содержанием препарата в воде Заказчиком разработана методика визуального полуколичественного определения содержания дезинфицирующего средства «Дезавид» в воде в диапазоне концентраций от 0 до 10 мг/л по препарату с использованием микролаборатории «АГФ-полисепт», (Сертификат соответствия №РОСС RU.ХП12.Н00136 от 12.04.2005 г.).

## 2. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.

### 2.1. Токсикологическая и санитарно-гигиеническая характеристика четвертичных аммониевых соединений.

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 пентавалентного азота в составе молекулы. Наиболее важным физико-химическим свойством четвертичных аммониевых соединений является то, что они активно абсорбируются большим количеством материалов [1]. Абсорбция происходит одинаково легко и по отношению к естественным отложениям, и в сточных водах, и в активном иле. В [2] 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 осадков и глины, четвертичные аммониевые соединения сорбируются минералами, содержащими галогены, сульфиты, окиси и сульфаты [2], и белками [3-9]. 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 [1].

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 [10]. Этим объясняется их влияние на санитарный режим водоемов. ЧАМС подавляют процессы нитрификации [11,12]. 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 незначительно – на 6 % [13].  $EC_{50}$  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 [14] 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 [15-17]. Наиболее чувствительными являются рачки *Daphnia magna* [18]. 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  $LC_{50}$  [16].

Показано, что катионные полиэлектролиты проявляют острую токсичность в отношении водных организмов, нарушая проницаемость мембран жабр и таким образом препятствуя кислородному обмену [19]. 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 [20]. 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 [10]. 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 подавляют процессы биохимического потребления кислорода и нитрификации, тормозят развитие микрофлоры. Пороговые концентрации по влиянию на санитарный режим водоемов (процессы БПК) приведены в таблице 2.1.

Таблица 2.1.

Пороговые концентрации алкилбензилдиметиламмоний хлорида с различной длиной алкильной цепи по влиянию 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

Пороговые концентрации по влиянию алкилбензилдиметиламмоний хлорида с различной длиной алкильной цепи на органолептические свойства воды приведены в таблице 2.2. Различие значений пороговых величин веществ с разной длиной алкильной цепи, в частности низкие величины порогов по запаху веществ с  $R = C_{10}-C_{16}$  и  $R = C_{17}-C_{20}$  определяется, скорее всего, наличием примесей в изученных образцах, т.к. известно, что ЧАМС не обладают специфическим запахом.

ЧАМС относительно мало токсичны для млекопитающих. При введении в желудочно-кишечный тракт ЧАМС связываются с мембранами щеточной каемки эпителиальных клеток [21]. Степень связывания с мембранами и абсорбции определяется размером гидрофобной части молекулы ЧАМС, например длиной

Таблица 2.2.

Пороговые концентрации алкилбензилдиметиламмоний хлорида с различной длиной алкильной цепи по влиянию на органолептические свойства воды.

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 <sub>10</sub> -C <sub>16</sub>	0,3	51	50	16
R = C <sub>12</sub> -C <sub>14</sub>	50,3	4,85	-	1
R = C <sub>17</sub> -C <sub>20</sub>	0,5	8,3	25	2,0

углеводородной цепи. ЧАМС, обладающие гидрофобной группой, не являются субстратами систем, осуществляющих транспорт холина через мембраны кишечника крыс [22]. Параметры острой токсичности ЧАМС с различной длиной алкильной цепи представлены в таблице 2.3.

Таблица 2.3.

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

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

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<sub>10</sub>-C<sub>16</sub> составляет 0,3 мг/кг. Пороговая доза хронического эксперимента алкилбензилдиметиламмоний хлорида с R = C<sub>12</sub>-C<sub>14</sub> 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 2.4.

Таблица 2.4.

Максимально недействующие дозы хронического эксперимента алкилбензилдиметиламмоний хлорида с различной длиной алкильной цепи.

Алкильный радикал R	МНД (мг/кг)
R = C <sub>10</sub> -C <sub>16</sub>	0,03
R = C <sub>12</sub> -C <sub>14</sub>	0,1
R = C <sub>17</sub> -C <sub>20</sub>	0,2

Вещества оказывают раздражающее действие на слизистую глаз и кожу крыс и кроликов. Малорастворимые ЧАМС оказывают менее выраженное раздражающее действие, поскольку не абсорбируются тканями кожи и глаз [1].

Максимальной концентрацией алкилбензилдиметиламмоний хлорида с R = C<sub>10</sub>-C<sub>16</sub>, 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<sub>12</sub> – C<sub>14</sub> 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. ЛК<sub>50</sub> катамина АБ фракции C<sub>12</sub> – C<sub>14</sub> 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<sub>12</sub>-C<sub>14</sub> вызывает гонадотоксический эффект. На уровне порога общетоксического действия (0,3 мг/кг) алкилбензилдиметиламмоний хлорид с R=C<sub>10</sub>-C<sub>16</sub> не вызывает эмбриотоксический эффект. Максимальная недействующая доза катамина АБ фракции C<sub>12</sub>-C<sub>14</sub> по влиянию на генеративную функцию совпадает с МНД хронического эксперимента (0,1 мг/кг).

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<sub>10</sub> – C<sub>16</sub> установлена на уровне 0,3 мг/л, лимитирующий признак вредности органолептический (запах), класс опасности 3 [25]. ПДК

алкилбензилдиметиламмоний хлорида с алкильной цепью  $C_{17} - C_{20}$  установлена на уровне 0,5 мг/л, лимитирующий признак вредности органолептический (запах), класс опасности 3 [24]. 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.

## **2.2. Токсикологическая и санитарно-гигиеническая характеристика гуанидиновых соединений.**

Токсичность гуанидиновых соединений подробно освещена в литературе.

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

В работе [63] изучена токсичность и опасность гуанидин гидрохлорид (ГГХ), одного из мономеров полигексаметиленгуанидина гидрохлорида.  $LD_{50}$  при внутрижелудочном введении белым крысам составила 800 мг/кг. В хроническом токсикологическом эксперименте гемато-, гепато-, нейро-, рено- и адренотоксического действия ГГХ в дозах 2, 0,25, 0,05 и 0,01 мг/кг не установлено. Вместе с тем, оценка гонадотоксического эффекта вещества по морфометрическим и функциональным показателям сперматогенеза показала, что ГГХ в дозе 2 мг/кг вызывал достоверное снижение относительной массы семенников и времени подвижности сперматозоидов. Цито-гистологические показатели семенников опытных животных не отличались от контрольных. Мутагенный эффект (микроядерный тест) при внутрижелудочном введении ГГХ мышам в дозах 1/10, 1/50, 1/250  $LD_{50}$  в подостром эксперименте выявлен не был. Пороговая доза по токсикологическому признаку вредности составила 2 мг/кг, максимальная недействующая – 0,2 мг/кг. Пороговая концентрация по общесанитарному признаку вредности установлена на уровне 3 мг/л, по органолептическому – 70 мг/л, лимитирующий показатель – привкус.

В результате проведенных исследований рекомендована ПДК ГГХ в воде на уровне 4 мг/л по санитарно-токсикологическому признаку вредности, класс опасности – 3.

Соли полигексаметиленгуанидина 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) [33].

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 [34,35]. Гуазатин является известным пестицидом и входит в коммерческие составы как заменитель ртутноорганических протравителей для семян [36,37]. Синтеллины обладают бактерицидными и фунгицидными свойствами, эффективны против трипаносом [38].

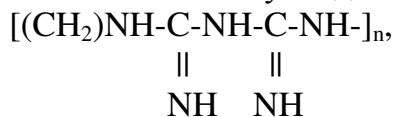
Гуанидиновый аналог хлорамина - N-хлор-бис (гуанидин) медленно выделяет хлор и обладает гербицидными свойствами, благодаря способности непосредственно взаимодействовать с белками клеточных мембран и ферментами [39].

К эффективным фунгицидам и антимикробным препаратам также относятся соли алкиленгуанидинов, содержащие у одного из атомов азота гуанидиновой группировки большой углеводородный радикал R (C<sub>8-18</sub>) [36,40].

Алкиленаминобигуанидины рекомендованы для антисептирования моющих средств и для подавления развития сульфатредуцирующих бактерий при вторичной разработке месторождений нефти [37,40].

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 [41,42, 33,44,45].

В настоящее время наиболее распространенными гуанидиновыми антисептическими препаратами в мире являются разработанные английской фирмой "ICI" вантоцил [46,47,48] и хлоргексидин [39]. Вантоцил (в США выпускается под торговым названием космоцил CQ) представляет собой олигомер полигексаметиленбигуанидина [50] -



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 [53].

Отличительной особенностью данного реагента является наличие флоккулирующих и биоцидных свойств, благодаря чему остаточные концентрации этого соединения обеспечивают профилактику биообрастания в системе трубопроводов [33].

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 [55]. 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 2.5.

Таблица 2.5.

## 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.

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.

При вскрытии наблюдались полнокровие внутренних

органов, особенно печени, уплотнение селезенки, отечность легких, вздутие желудка и кишечника. Как видно из таблицы 2.5, 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 молекулярной массой 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  $LD_{50}$ ) 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 ЛД<sub>50</sub>. Полученные результаты показали, что только при дозе 1/10 ЛД<sub>50</sub> (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 вызывала достоверное увеличение общей эмбриональной смертности за счет доимплантационной гибели, снижение индекса оплодотворения и плодоплацентарного коэффициента. Доза 0,1 мг/кг оказалась недействующей.

В работе [65] установлена пороговая концентрация одного из образцов ПГМГ-ГХ по влиянию на органолептические свойства воды, которая составила 1 мг/л, лимитирующий признак – пенообразование.

В Ангарском НИИ медицины труда и экологии человека токсичность изучена при нанесении на кожу [54] и при нормировании в воздухе рабочей зоны. Проведено обоснование ПДК ПГМГ-ГХ в воде водных объектов [55]. Изучен механизм и характер действия вещества (общетоксический, раздражающий, сенсibiliзирующий, отдаленные проявления интоксикации). Обоснован ПДУ на кожные покровы (0,2 мг/дм<sup>3</sup>) и ПДК в воде водных объектов 0,1 мг/л (по общесанитарному признаку вредности, 3 класс опасности).

Таким образом, обобщая данные литературы о токсикологических и санитарно-гигиенических характеристиках четвертичных аммониевых и гуанидиновых соединений можно сделать следующие выводы.

1. Компоненты дезинфицирующего средства «Дезавид» - Полисепт и Катамин АБ – являются хорошо изученными с токсикологической точки зрения соединениями. Их ПДК в воде водных объектов установлены:

- Полисепт (полигексаметиленгуанидин гидрохлорид) - **0,1 мг/л**, лимитирующий признак вредности общесанитарный, класс опасности 3.
- Катамин АБ (алкилбензилдиметиламмоний хлорид фракций C<sub>10</sub>-C<sub>18</sub>) - **0,3 мг/л**, лимитирующий признак вредности органолептический (запах), класс опасности 3.

2. Эффективные бактерицидные концентрации средства «Дезавид» по показателям ОМЧ и коли-индекс для обеззараживания речной воды до качества питьевой воды установлены на уровне 0,3-0,4 мг/л (по препарату).

### 3. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.

Программа настоящих исследований включала следующие разделы:

1. оценка комбинированного действия компонентов препарата «Дезавид» по смертельному эффекту и в условиях субхронического эксперимента по изменению функциональных показателей;
2. изучение местного раздражающего действия и сенсibiliзирующих свойств препарата «Дезавид» в эксперименте на лабораторных животных;
3. оценка иммунотоксического действия препарата «Дезавид» на организм лабораторных животных;
4. установление пороговых концентраций препарата по влиянию на органолептические свойства воды;
5. обоснование максимальной допустимой концентрации дезинфицирующего средства «Дезавид» в воде плавательных бассейнов;
6. разработка методики выполнения измерений массовой концентрации полигексаметиленгуанидина в воде;
7. изучение обеззараживающей эффективности препарата «Дезавид» в отношении музейных штаммов санитарно-показательных и патогенных микроорганизмов в лабораторных условиях;
8. проведение полупроизводственных испытаний препарата «Дезавид» в условиях действующего плавательного бассейна с целью изучения эффективности обеззараживания воды по микробиологическим показателям, регламентируемым СанПиН 2.1.2.1188-03 [57].

Учитывая, что препарат «Дезавид» обладает бактерицидной активностью, в том числе и в отношении водной сапрофитной микрофлоры, определяющей его назначение и область применения, эксперименты по установлению его пороговой концентрации по общесанитарному признаку вредности не проводились, и этот критерий не учитывался при обосновании максимальной допустимой концентрации в воде плавательных бассейнов.

В связи с тем, что препарат «Дезавид» представляет собой смесь постоянного состава, основным компонентом в которой является Полисепт (полигексаметиленгуанидин-гидрохлорид (ПГМГ-ГХ)) – содержание  $2,7\pm 0,3$  масс.%, все дозы и концентрации, исследованные в разделах 1-5, приведены в пересчете на ПГМГ-ГХ.

### **3.1. ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ ПРЕПАРАТА «ДЕЗАВИД» ПО СМЕРТЕЛЬНОМУ ЭФФЕКТУ ПРИ ЭНТЕРАЛЬНОМ ПОСТУПЛЕНИИ.**

Задачей настоящего эксперимента явилось изучение комбинированного действия компонентов препарата «Дезавид» по смертельному эффекту.

Дозы препарата для острого эксперимента выбирались с учетом данных литературы о параметрах острой токсичности полигексаметиленгуанидин-гидрохлорида:  $LD_{50} = 630$  мг/кг и Катамина АБ  $LD_{50} = 478-667$  [60]. Исходя из рецептуры данного препарата, содержание действующих веществ в нём крайне мало, поэтому достигнуть смертельного эффекта в остром опыте не представлялось 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. Испытывали дозы препарата от 5000 до 20000 мг/кг.

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 в пересчете на ПГМГ-ГХ 150, 225, 300, 375, 450 и 600 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.

Анализируя результат исследования, в качестве  $LD_{50}$  препарата в настоящем эксперименте можно принять дозу 600 мг/кг ПГМГ-ГХ, что полностью совпадает с ранее установленной величиной среднесмертельной дозы и свидетельствует об отсутствии усиления токсических свойств Полисепта в Катамином АБ.

Таким образом, комбинированное действие двух компонентов препарата «Дезавид» (Полисепта и Катамина АБ) не сопровождалось потенцированием эффекта при однократном воздействии.  $LD_{50}$  средства «Дезавид» превышает 20000 мг/кг, что позволяет отнести его к 4 классу опасности по острой токсичности (по ГОСТ 12.1.007-76).



### **3.2. 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 ( $ПД_{пэр}$ ) и недействующей доз и оценки характера комбинированного действия компонентов препарата по степени изменения показателей функционального состояния подопытных животных, проведен субхронический эксперимент.

В субхроническом опыте продолжительностью 30 дней использовалось 50 белых половозрелых крысах-самцах с исходной массой тела 210-270 г. Выбор доз производили с учетом химического состава препарата, ранее экспериментально полученных величин ПД и МНД ПГМГ-ГХ [60], 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 ПГМГ-ГХ.

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.

С учетом данных литературы о механизме токсического действия гуанидиновых соединений функциональное состояние подопытных животных оценивалось по изменению содержания гемоглобина и эритроцитов в крови на 1, 5, 10, 15, 20 и 30-е сутки эксперимента, а также морфофункциональному состоянию гонад (размер, относительная масса семенников; количество, осмотическая резистентность и подвижность сперматозоидов) на 30 сутки опыта.

Результаты исследований представлены в приложениях 1-3.

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 (приложения 1,2).

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, изучение зависимости «доза-время-эффект» показало, что препарат «Дезавид» при внутрижелудочном поступлении в изученных дозах в течение 30 суток не обладает гемато- и гонадотоксическим действием. Максимальная недействующая доза (МНД) смеси в пересчете на действующее вещество составила 0,5 мг/кг, что в 5 раз выше МНД при изолированном поступлении ПГМГ-ГХ. Максимальная недействующая концентрация (МНК) по токсикологическому признаку вредности установлена на уровне 10 мг/л, что составляет 330 мг/л по препарату.

Полученные результаты свидетельствуют, что при комбинированном субхроническом воздействии Полисепта и Катамина АБ в составе препарата

«Дезавид» на организм лабораторных животных потенцирования эффектов не выявлено.

### **3.3. ИЗУЧЕНИЕ МЕСТНОГО РАЗДРАЖАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ И СЕНСИБИЛИЗИРУЮЩИХ СВОЙСТВ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО СРЕДСТВА «ДЕЗАВИД» В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ.**

Изучение местного раздражающего действия и возможных алергизирующих свойств препарата «Дезавид» проводили в соответствии с Методическими указаниями по оценке алергизирующих свойств фармакологических веществ [58]. В эксперименте использовались 15 белых морских свинок (самцах с массой тела 200-250 г), разделенные на 3 группы.

Эксперимент проводился по методу накожных аппликаций.

Выбор концентраций препарата для исследований осуществляли с учетом рабочих доз, рекомендуемых для обеззараживания воды плавательных бассейнов. В результате в эксперименте изучалось сенсibiliзирующее действие веществ, входящих в состав средства «Дезавид», в концентрациях (по ПГМГ-ГХ) 0,25 мг/л (группа №1) и 0,045 мг/л (группа №2). Контрольной группе животных аппликации производили с дистиллированной водой.

На выстриженный участок кожи размером 25 см<sup>2</sup> на боковой поверхности туловища морских свинок наносили дистиллированную воду и исследуемые растворы в объеме 0,5 мл, равномерно распределяя шпателем по поверхности участка. Исследование сенсibiliзирующего действия препарата проводили путем 15 повторных накожных аппликаций по одной аппликации в сутки.

После завершения проведения аппликаций, животных 7 суток содержали в стандартных условиях. По окончании указанного срока проводили скарификационные и конъюнктивальные пробы. Каждому экспериментальному животному на противоположной от места постановки аппликаций боковой стороне туловища выстригали два участка кожи площадью 2 см<sup>2</sup>, разделенных шерстью. На один из них контрольным и опытным морским свинкам наносили 0,1 мл дистиллированной воды из шприца объемом 2 мл, нанося царапину иглой. На другой наносили 0,1 мл раствора с содержанием ПГМГ-ГХ 0,3 мг/л из шприца объемом 2 мл, также нанося царапину иглой. Гиперчувствительность немедленного типа оценивали через 1-5 мин, 15 мин, 30 мин и 1ч. Гиперчувствительность замедленного типа определяли через 24 ч и 48 ч и 72 ч.

На заключительном этапе работы были проведены конъюнктивальные пробы. Для этого 1 каплю водного раствора препарата «Дезавид» с концентрацией 0,15 мг/л вводили глазной пипеткой с вытянутым тонким концом под верхнее веко подопытным и контрольным морским свинкам. Во второй глаз (контрольный) вводили каплю дистиллированной воды. Закапывание проводили при положении каждого животного лежа головой вниз. Гиперчувствительность немедленного типа оценивали через 15 мин, 30 мин и 1ч. Гиперчувствительность замедленного типа определяли через 24 ч, 48 ч и 72 ч.

Оценку возможной реакции гиперчувствительности немедленного типа, после проведения аллергических проб, использовали шкалу Weigle [59], применяемую для исследования анафилактической активности, по следующим показателям:

- + - кратковременное почесывание, взъерошивание шерсти (на 10 с);
- + + - четко выраженные частые почесывания, единичные чихания (на 10 с);
- + + + - спастический кашель, боковое положение животного, отделение кала и мочи;
- + + + + - спазм дыхательных путей, конвульсивные прыжки, судороги, животное погибает (как правило, на 5 мин).

Оценку реакции гиперчувствительности замедленного типа, после постановки скарификационных проб, проводили с помощью колориметрической линейки С.В. Суворова, по уровню интенсивности эритемной реакции кожи животных оцениваемой в баллах по следующей шкале [58]:

- 0 – видимой реакции нет;
- 1 – бледно-розовая эритема по всему участку или его периферии;
- 2 – ярко-розовая эритема по всему участку или его периферии;
- 3 – красная эритема по всему участку;
- 4 – инфильтрация и отек кожи (утолщение кожной складки) при наличии или отсутствии эритемы;
- 5 – эритема, выраженная инфильтрация очаговые изъязвления (некроз), возможны геморрагии, образование корочек.

Оценку реакций гиперчувствительности немедленного типа и гиперчувствительности замедленного типа, после постановки конъюнктивальных проб, проводили по следующей шкале оцениваемой в баллах [58]:

- 1 – легкое покраснение слезного протока;
- 2 – покраснение слезного протока и склеры по направлению к роговице;
- 3 – покраснение всей конъюнктивы и склеры.

*Результаты исследований.* После проведения скарификационных проб во всех исследованных группах животных не выявлено признаков реакций гиперчувствительности немедленного типа и гиперчувствительности замедленного типа, что свидетельствует об отсутствии у препарата «Дезавид» анафилактической активности и раздражающего действия на кожу.

При постановке конъюнктивальных проб установлено, что «Дезавид» не оказывал раздражающего действия на слизистую оболочку глаз экспериментальных животных.

В период проведенных исследований все животные оставались активными, без уменьшения массы тела и видимых признаков отклонения от нормальных поведенческих реакций.

Таким образом, Препарат «Дезавид» в исследованных концентрациях (0,25 мг/л, 0,045 мг/л по ПГМГ-ГХ) не обладает алергизирующим действием. Свидетельством этого является отсутствие системной анафилактической реакции у сенсibilизированных морских свинок при проведении аллергических проб.

Препарат «Дезавид» не оказывает раздражающего действия на кожные покровы и слизистую оболочку глаз морских свинок.

### **3.4. ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО СРЕДСТВА «ДЕЗАВИД» НА ОРГАНИЗМ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ.**

Иммунотоксическое действие препарата «Дезавид» оценивалось по изменению способности к синтезу специфических IgG-антител в сыворотке крови в соответствии с Методическими рекомендациями [66]. В эксперименте использовано 30 белых мышей генетической линии Balb/c (самцы, масса тела 18 - 20 г), разделенных на 2 экспериментальные (по 10 животных) и 2 контрольные (по 5 животных) группы.

Экспериментальным животным проводилось однократное внутрижелудочное введение препарата «Дезавид». Выбор доз осуществлялся с учетом существующих в литературе данных об LD50 ПГМГ-ГХ, входящего в состав данного препарата, установленной для белых крыс и равной 630 мг/кг [55]. У крыс и мышей отсутствуют различия по характеру и выраженности иммунных реакций при воздействии одного и того же антигена. В результате для изучения иммунотоксического действия препарата «Дезавид» были взяты следующие дозы в пересчете на ПГМГ: 63 мг/кг и 6,3 мг/кг.

Спустя сутки после введения препарата «Дезавид» животным двух экспериментальных групп и одной контрольной группы была проведена однократная сенсibilизация известным белковым агентом (Бычий сывороточный альбумин (БСА), V фракция, производства компании «ДиА-М», Москва) в дозе 100 мкг/животное [67], вводимым внутрижелудочно. Животным второй контрольной группы белковый агент не вводили. Распределение животных по группам, дозы введенных «Дезавид» и белкового агента, а также количество животных, участвовавших в эксперименте, представлены в таблице 3.1.

Таблица 3.1.

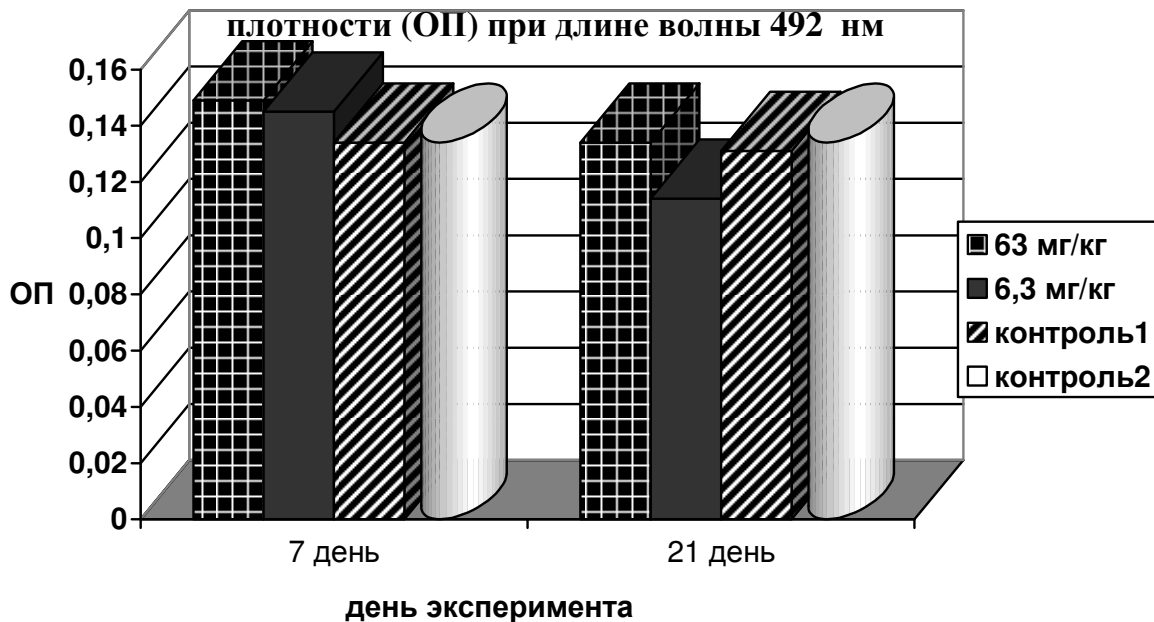
Распределение экспериментальных животных (мыши) по группам в эксперименте по изучению иммунотоксического действия препарата «Дезавид».

Препарат	Группа	Доза введенного ПГМГ мг/кг на 1 животное	Доза введенного белкового агента на 1 животное, мкг	Количество животных в эксперименте, шт.
1	2	3	4	5
«Дезавид»	1	63,00	100	10
	2	6,3	100	10
Контрольная-1	К-1	Нет	100	5
Контрольная-2 (интактная)	К-2	Нет	Нет	5

На 7-й и 21-й день после иммунизации животных умерщвляли для последующего измерения пула специфического IgG в образцах сыворотки крови. Уровни содержания специфических IgG – антител методом иммуноферментного анализа [66, 68-70], с использованием моноклональных антител против IgG мыши, меченных пероксидазой хрена («Полигност», С-Петербург). В работе использовались полистироловые планшеты высокой сорбции (ГосНИИмедполимер, Москва).

*Результаты исследований.* Внутривентриальное введение всем лабораторным животным (как на фоне употребления ими образцов препарата «Дезавид», так и в первой контрольной группе) раствора БСА, вызвало эффект стимуляции специфического IgG – ответа по сравнению с неиммунизированной контрольной группой ( $p < 0,05$ ). Однако сила и продолжительность специфического ответа в исследуемых группах не различалась. Результаты исследований представлены на рисунке 3.1.

**Рис. 3.1** Уровни специфического IgG в образцах сывороток крови мышей в динамике, определяемые по оптической



Таким образом, результаты исследований биологических эффектов «Дезавид» на гуморальное звено иммунитета позволяют сделать вывод, что препарат в изученных дозах не обладает иммунотоксическим действием.

### 3.5. ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО СРЕДСТВА «ДЕЗАВИД» НА ОРГАНОЛЕПТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВОДЫ.

Изучение органолептических свойств воды с различным содержанием в ней препарата «Дезавид» (в пересчете на ПГМГ-ГХ) проводилось в соответствии с Методическими указаниями [56]. Оценка интенсивности изменений органолептических свойств воды (запах, привкуса, цветности, мутности, способность к образованию пены и пленки на поверхности воды) осуществлялась опытными одораторами и дегустаторами. В качестве контрольной и для приготовления растворов использовалась дехлорированная московская водопроводная вода.

При внесении в воду препарата в концентрации 30 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 3.2. Исследования проводили в цилиндрах объемом 1 л по методу Штюпеля в модификации Е.А.Можаева.

Таблица 3.2.

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

№	Концентрация, мг/л	I серия	II серия	III серия	IV серия
1	30	++++	++++	++++	++++
2	15	++++	++++	++++	++++
3	7,5	++++	++++	++++	++++
4	3,75	+++-	++++	+++-	++++
5	1,87	+++-	+++-	+++-	+++-
6	0,94	++--	+++-	++--	+++-
7	0,47	++--	++--	++--	++--
8	0,235	+---	+---	+---	+---
9	уровень контроля	+---	+---	+---	+---

При внесении вещества в концентрации 30 мг/л образуется плотная мелкопузырчатая пена. При разбавлении в 16 раз (концентрация 1,87 мг/л) образуется среднепузырчатая пена, а при разбавлении в 64 раза (концентрация 0,47 мг/л) наблюдается образование крупнопузырчатой пены. При кратности разбавления 1:128 изучаемый показатель не отличается от уровня контрольной воды. Таким образом, пороговая концентрация препарата «Дезавид» по способности к образованию пены на поверхности воды находится на уровне 0,47 мг/л.

Интенсивность запаха раствора реагента с концентрацией 1000 мг/л оценивалась на уровне 3 баллов. Запах характеризовался как слабодифференцируемый технический. Результаты ориентировочного опыта представлены в таблице 3.3.

Таблица 3.3.

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

Концентр., мг/л	Интенсивность запаха, баллы									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	М <sub>ср</sub>
30	3	3	3	3	3	2-3	3	3	2-3	2,9
15	2-3	2-3	2-3	2-3	2-3	2	2-3	2-3	2	2,4
7,5	2	2	2	2	2	1-2	2	2	1-2	1,9
3,75	1-2	1	1	1	1-2	1	1	1-2	1	1,2
1,87	1	0	0	0	1	0-1	0	1	0-1	0,4

Интенсивность привкуса водного раствора средства «Дезавид» в концентрации 0,47 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<sub>орг</sub> для препарата «Дезавид» по его влиянию на запах и привкус воды.

Сопоставление полученных величин пороговых концентраций препарата «Дезавид» по влиянию на органолептические свойства воды представлено в таблице 3.4.

Таблица 3.4.

Величины пороговых концентраций препарата «Дезавид» по влиянию на органолептические свойства воды, мг/л.

Показатели			
Запах	Пена	Привкус	pH
>7,5	0,47	>0,47	>30

Таким образом, в качестве пороговой концентрации дезинфицирующего средства «Дезавид» по органолептическому признаку вредности установлена величина 0,5 мг/л (15 мг/л в пересчете на препарат), лимитирующий показатель – образование пены на поверхности воды. Полученные данные свидетельствуют, что в присутствии Катамина ПГМГ-ГХ способствует более выраженному пенообразованию (ПК изолированного влияния ПГМГ-ГХ на пенообразование – 1,0 мг/л).

### 3.6. ОБОСНОВАНИЕ МАКСИМАЛЬНОЙ ДОПУСТИМОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО СРЕДСТВА «ДЕЗАВИД» В ВОДЕ ПЛАВАТЕЛЬНЫХ БАССЕЙНОВ.

Обобщение результатов собственных исследований токсичности и опасности дезинфицирующего средства «Дезавид» и данных литературы показало, компоненты препарата (Полисепт и Катамин АБ) по острой токсичности относятся к 3 классу. При этом их комбинированное действие в составе препарата не сопровождалось потенцированием эффекта при однократном воздействии.  $LD_{50} > 600$  мг/кг (по ПГМГ-ГХ), что в пересчете на весь препарат составляет  $> 20000$  мг/кг.

Не выявлено потенцированного действия и при длительном поступлении препарата в организм лабораторных животных: МНД смеси в пересчете на действующее вещество составила 0,5 мг/кг, что в 5 раз выше МНД изолированного поступления ПГМГ-ГХ. Максимальная недействующая концентрация (МНК) по токсикологическому признаку вредности установлена на уровне 10 мг/л, что составляет 330 мг/л по препарату.

Дезинфицирующее средство «Дезавид» в концентрациях, рекомендованных для обеззараживания воды плавательных бассейнов, не оказывает аллергизирующего и раздражающего действия на кожные покровы и слизистую оболочку глаз. Не обладает иммунотоксическим действием в высоких дозах.

При изучении органолептических свойств воды установлено, что препарат «Дезавид» способствует образованию пены и придает воде посторонний запах. В качестве пороговой концентрации по органолептическому признаку вредности ( $ПК_{орг}$ ) установлена величина 0,5 мг/л (15 мг/л в пересчете на препарат), лимитирующий показатель – образование пены на поверхности воды.

Сопоставление экспериментально установленных величин МНК по санитарно-токсикологическому признаку вредности и  $ПК_{орг}$  позволяет рекомендовать в качестве **максимальной допустимой концентрации** дезинфицирующего средства «Дезавид» в воде плавательных бассейнов **0,5 мг/л (по ПГМГ-ГХ)**, что в пересчете на препарат составляет 15 мг/л, органолептический признак вредности, 4 класс опасности.



### 3.7. РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ВЫПОЛНЕНИЯ ИЗМЕРЕНИЙ МАССОВОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ПОЛИГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНИДИНА В ВОДЕ.

В связи с тем, что представленный Заказчиком метод предназначен для полуколичественного определения содержания препарата «Дезавид» в воде, возникла необходимость в разработке арбитражной методики, обеспечивающей измерения массовой концентрации индикаторного вещества – ПГМГ-ГХ в воде с нижним пределом не более 0,5 ПДК.

Совместно с химическим факультетом МГУ им.М.В.Ломоносова и Всероссийским масс-спектрометрическим обществом была разработана арбитражная методика выполнения измерений массовой концентрации полигексаметиленгуанидина в воде методом ВЭЖХ с флуорометрическим и масс-спектрометрическим детектированием.

#### 1. Назначение и область применения

Методика предназначена для определения концентрации полигексаметиленгуанидина в воде при его массовой концентрации от 0,05 мг/дм<sup>3</sup> до 1 мг/дм<sup>3</sup> методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

При анализе проб с массовой концентрацией вещества, превышающей верхний предел данного диапазона, для использования данной методики необходимо разбавление приготовленной пробы водой.

#### 2. Характеристики погрешности измерений

Относительная расширенная неопределенность измерений (при коэффициенте охвата 2):  $U_{отн} = 25 \%$  /Границы относительной суммарной погрешности измерений (при доверительной вероятности  $P = 0,95$ ):  $\Delta = \pm 25 \%$ .

#### 3. Метод измерения

Измерение концентрации полигексаметиленгуанидина в диапазоне концентрации от 0,05 мг/дм<sup>3</sup> до 1 мг/дм<sup>3</sup> проводится методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в обращено фазовом варианте с флуорометрическим и масс-спектрометрическим детектированием путем анализа производного, образующегося при взаимодействии продукта щелочного гидролиза анализируемого вещества с дансилхлоридом. Идентификацию вещества осуществляют по времени удерживания соответствующего производного и наличию в масс-спектре положительных ионов с величиной  $m/z$  350. Количественный анализ проводят на основе зависимости площади пика соединения от массовой концентрации определяемого вещества в градуировочных растворах. Градуировку проводят с помощью серии растворов анализируемого вещества заданной концентрации.

#### 4. Средства измерений, реактивы и материалы.

4.1. Средства измерений и оборудование

4.1.1. Высокоэффективный жидкостной хроматограф фирмы Agilent 1100 с флуоресцентным детектором (внесен в *Государственный реестр средств измерений утверждённых типов под №18331-02*)

- 4.1.2. Микроколонка ВЭЖХ ZORBAX SB\_C18 2.1x150 мм, размер частиц 3.5 мкм
- 4.1.3. Весы аналитические лабораторные типа ВЛА-200М второго класса точности, ГОСТ 24104-88Е или другие весы лабораторные.
- 4.1.4. Разновес типа Г01-20, 1 класса, ГОСТ 7328-82Е.
- 4.1.5. Колбы мерные: 8-1000-1 по ГОСТ 1770-74 с погрешностью  $\pm 0,4 \text{ см}^3$
- 4.1.6. Колбы мерные: 1-50-2 по ГОСТ 1770-74 с погрешностью  $\pm 0,05 \text{ см}^3$ ,
- 4.1.7. Пипетки градуированные: 2-2-1; 2-2-2; 2-2-10 и 2-2-20 по ГОСТ 29169-91 с погрешностью  $\pm 0,015$ ;  $\pm 0,02$ ;  $\pm 0,04$  и  $\pm 0,06 \text{ см}^3$ , соответственно.
- 4.1.8. Цилиндры мерные 2-500, 2-100, 2-50, 2-25 по ГОСТ 1770-74.
- 4.1.9. Слянки из темного стекла вместимостью до 2000  $\text{см}^3$  для отбора проб воды. ТУ 6-19-45
- 4.1.10. Стаканчик для взвешивания СВ 19/9 по ГОСТ 25336-82.
- 4.1.11. Устройство для фильтрования, включающее в себя фильтр стеклянный № 2 (по ГОСТ 9775); колбу Бунзена на 1,5 л (по ТУ 25-11-1173) насос водоструйный (по ГОСТ 10696)
- 4.1.12. Фильтры бумажные обеззоленные «синяя лента» ТУ 6-09-1678-83
- 4.1.13. Испаритель ротационный ИР-1М2 или аналогичный по ТУ 25-1173.102-84
- 4.1.14. Термостат (точность температуры 2°C)
- 4.1.15. Колбы стеклянные круглодонные на шлифах на 10 мл со стеклянными пробками.

Допускается применение других типов средств измерений, посуды и вспомогательного оборудования, в том числе импортных, с метрологическими и техническими характеристиками не хуже указанных в п. 4.1.

#### 4.2. Реактивы и материалы

- 4.2.1. Полигексаметиленгуанидин
- 4.2.2. Вода дистиллированная по ГОСТ 6709-72.
- 4.2.3. Метанол чистоты для ВЭЖХ.
- 4.2.4. Гексаметилендиамин
- 4.2.5. Дансилхлорид
- 4.2.6. Карбонат натрия
- 4.2.7. Гидроксид натрия
- 4.2.8. Соляная кислота, хч
- 4.2.9. Ацетон, хч
- 4.2.10. Толуол хч

Допускается применение реактивов, изготовленных по другой нормативно-технической документации, в том числе импортных, с квалификацией не ниже указанной в п. 4.2.

### 5. Требования безопасности

5.1. Соединение в пробах природных вод анализируется с соблюдением требований безопасности, установленных в «Правилах по технике безопасности при производстве наблюдений и работ на сети Госкомгидромета» Л. Гидрометеиздат. 1983

5.2. При проведении работ по отбору проб следует руководствоваться требованиями безопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76.

5.3. Эксплуатация ВЭЖХ и проведение измерений требует соблюдения правил электробезопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.019-79 и инструкцией по эксплуатации прибора.

## **6. Требования к квалификации персонала**

6.1. К отбору и обработке проб воды и приготовлению градуировочных растворов допускаются лица, имеющие квалификацию химика, инженера- или техника-химика и опыт работы в химической лаборатории.

6.2. К выполнению анализа на хроматографе допускаются лица, имеющие квалификацию не ниже инженера-химика или химика, прошедшие соответствующие курсы обучения и стажировку в лабораториях, аккредитованных на выполнение анализов с применением настоящей методики.

6.3. Весь персонал должен пройти проверку знаний по технике безопасности, в том числе при работе в химической лаборатории, включая общие правила работы с едкими и токсичными веществами, пожарной безопасности и промышленной санитарии.

## **7. Условия выполнения измерений**

### **7.1. Отбор проб, хранение и обращение с ними**

7.1.1. Отбор и хранение проб выполняют в соответствии с ГОСТ 17.1.5.05, ИСО 5667/1-4-82 и РД 52.24.476-95. Объем отбираемой пробы должен составлять не менее 1000 см<sup>3</sup>.

7.1.2. Пробы отбирают в чистые склянки из темного стекла. Склянки с пробами воды снабжают этикетками, на которых указывают номер и вид пробы, дату и место отбора.

7.1.3. В каждой точке отбора отбирают не менее двух параллельных проб воды.

7.1.4. Законсервированные пробы можно хранить до 3 суток при температуре от 0 до 5° С.

7.1.5. Подготовку проб и приготовление растворов проводят в вытяжном шкафу при температуре окружающего воздуха 18 -22° С.

7.1.6. Отобранную пробу перед проведением обработки выдерживают не менее 1 часа при температуре окружающего воздуха 18 - 22° С, после чего фильтруют.

### **7.2. Подготовка к выполнению измерений**

#### **7.2.1 Условия выполнения измерений**

При выполнении измерений соблюдают следующие условия: температура окружающего воздуха 20 ±5°С; атмосферное давление 84,0-106,7 кПа (630-800 мм рт.ст.); относительная влажность воздуха ниже 85% при 25°С; напряжение в сети питания переменного тока 220 ±22 В; концентрации мешающих определению и

агрессивных компонентов в воздухе не должны превышать ПДК для воздуха рабочей зоны.

#### 7.2.2. Подготовка посуды

Использованную стеклянную посуду перед дальнейшим употреблением ополаскивают применявшимся растворителем и тщательно моют горячей водой с содой, ополаскивают водопроводной, а затем дистиллированной водой.

#### 7.2.3. Приготовление растворов

##### 7.2.3.1. Приготовление раствора дансилхлорида

В мерную колбу емкостью 50 см<sup>3</sup> помещают 50 мг дансилхлорида и доводят до метки ацетоном. Раствор может храниться в темноте в течение недели.

##### 7.2.3.2. Исходный раствор анализируемого (с массовой концентрацией 50 мг/дм<sup>3</sup>)

В мерную колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup> помещают 50 мг анализируемого полимера и растворяют в 20 мл дистиллированной водой и разбавляют до метки дистиллированной водой. Раствор следует готовить непосредственно перед анализом

##### 7.2.3.3. Раствор гексаметилендиамина

В колбу вместимостью 1000 мл помещают 0,1 мл гексаметилендиамина и доводят до метки дистиллированной водой

##### 7.2.3.4. Градуировочные растворы

Градуировочные растворы готовят непосредственно перед каждой серией анализов в мерных колбах вместимостью 1000 см<sup>3</sup> методом последовательного разбавления из исходного раствора. (Под серией понимают измерения, выполненные в течение одного рабочего дня.) В таблице 3.5 указаны данные для приготовления градуировочных растворов с заданным значением массовой концентрации определяемого вещества. Указанные аликвоты отбирают соответствующими цилиндрами или пипетками по п. 4.1. Объем градуировочных растворов доводят до метки дистиллированной водой. Время хранения градуировочных растворов не может превышать 1 дня.

Таблица 3.5. Характеристика градуировочных растворов

№	Исходный раствор, мг/дм <sup>3</sup>	Объем исходного раствора, см <sup>3</sup>	Объем колбы, мл	Концентрация, мг/дм <sup>3</sup>
1	10	100	1000	1
2	10	60	1000	0,6
3	10	40	1000	0,4
4	10	30	1000	0,3
5	10	20	1000	0,20
6	10	10	1000	0,1
7	10	5	1000	0.05

Относительная погрешность приготовления градуировочных растворов не превышает  $\pm 4\%$ .

#### 7.2.4. Подготовка хроматографа к выполнению измерений

Включают и настраивают хроматограф и детекторы в соответствии с “Инструкцией по эксплуатации” и описанием, прилагаемым к приборам. Устанавливают рабочие параметры, необходимые для проведения измерений (п.7.3.2). После этого, в зависимости от выбранного диапазона концентраций, колонку стабилизируют в рабочем режиме не менее 0,5 часа. Рабочие параметры хроматографа сохраняются постоянными при измерении во всем диапазоне концентраций.

#### 7.3. Проведение градуировки

7.3.1. Приготовленный исходный раствор по п. 7.2.3.3. вводят в реакцию с дансилхлоридом согласно п.8.2. В аналогичную реакцию вводят аналогичный объем дистиллированной воды. Полученные экстракты используют для определения времени удерживания образующихся производных при сравнении полученных хроматограмм. Идентификацию производного осуществляют по наличию в масс- спектре соответствующего пика положительно заряженного иона с массой 350 а.е.м. Далее приготовленные градуировочные растворы обрабатывают в соответствии с п.8.1-8.2 и полученные экстракты вводят в инжектор в последовательности: 7,6,5,4,3,2,1 с помощью автоматической системы ввода. Объем вводимой пробы – 50 мкл. Хроматограммы регистрируют для всех растворов. Используя систему компьютерной обработки, определяют на них площади соответствующих пиков

##### 7.3.2. Условия измерения

Подвижная фаза:

0 минут - 70 % метилового спирта, 30 % воды

4 минут - 70 % метилового спирта, 30 % воды

5 минут – 100 % метилового спирта, 30% воды

9 минут – 100 % метилового спирта, 30% воды

10 минут - 70 % метилового спирта, 30 % воды

18 минут - 70 % метилового спирта, 30 % воды

Колонка – ZORBAX SB\_C18 2.1x150 мм, размер частиц 3.5 мкм

Скорость потока 0.5 мл/мин

Длина волны возбуждающего излучения - 245 нм

Длина волны поглощающего излучения – 500 нм

Усиление до 6 минуты – 10, далее – 15

7.3.3. Для каждого из градуировочных растворов и каждого диапазона по трём параллельным измерениям определяют средние значения площади  $S$  в мкВ\*с как среднее арифметическое площадей, полученных при каждом из измерений. Далее при компьютерной обработке данных измерений проводят вычисление коэффициентов линейной регрессии для определения градуировочной зависимости для данного диапазона вида  $C = a \times S + b$ , где  $a$  и  $b$  -

эмпирические коэффициенты. Коэффициенты  $a$  и  $b$  определяются по следующим формулам:

$$a = \frac{\sum S_i^2 \times \sum C_i - \sum S_i \times \sum C_i \times S_i}{n \sum S_i^2 - (\sum S_i)^2} \quad (1)$$

$$b = \frac{n \sum C_i \times S_i - \sum C_i \times \sum S_i}{n \sum S_i^2 - (\sum S_i)^2} \quad (2)$$

где  $\tilde{S}_i$  – среднее значение площади пиков для  $i$ -го градуировочного раствора, мкВ\*с в данном диапазоне;

$C_i$  – величина концентрации определяемого вещества в  $i$ -ом градуировочном растворе согласно таблице 1;

$\tilde{n}$  – количество градуировочных растворов в данном диапазоне,

Коэффициенты  $a$  и  $b$  и статистические характеристики могут определяться с помощью специального или стандартного программного обеспечения. В условиях автоматической обработки данных с помощью приборного программного обеспечения градуировочная зависимость может определяться и другими статистическими и математическими методами, например, методом наименьших квадратов с весовыми коэффициентами или с использованием математической аппроксимации площади пиков

При определении градуировочной зависимости проводят оперативный контроль точности измерений для всего диапазона в соответствии с разделом 11 (п.11.1-11.2). В случае невыполнения требований по нормативам контроля точности проводят дополнительные измерения. Если и в этом случае не выполняется хотя бы один из нормативов, то необходимо выявить и устранить причины, приведшие к неудовлетворительным результатам.

## 8. Выполнение измерений

8.1. Отбирают 25 мл пробы и отгоняют досуха. Остаток растворяют в 5 мл дистиллированной воды, переносят в круглодонную колбу, добавляют к нему 0.5 г гидроксида натрия и нагревают в термостате при 80°C в течении 4 часов. Затем полученный раствор охлаждают, добавляют к нему 1.5 мл соляной кислоты.

8.2. Из полученного по п.8.1 раствора отбирают 2 мл, добавляют к ним 300 мг карбоната натрия и 0,5 мл раствора дансилхлорида. Смесь интенсивно встряхивают и выдерживают в термостате в течение 80 мин при температуре 70°C, после чего полученное производное экстрагируют 1 мл толуола.

8.3. Количественный анализ методом ВЭЖХ осуществляют в том же порядке и в тех же условиях, в которых проводилась градуировка (п. 7.3), используя полученный после модификации раствор и определяя площадь пика, соответствующего производному, для трёх параллельных измерений как и в случае проведения градуировки (п.7.3.2)

Для каждого анализа проводят повторные параллельные измерения массовой концентрации по двум или трем пробам, определяя площади пиков для трех параллельных измерений в каждом случае. При выполнении серии анализов (количество проб более 10 - 20 штук) проводят процедуру рандомизации: очередность анализа проб определяют с помощью ряда случайных чисел, таким

образом, чтобы параллельные пробы анализировались в разное время и в разной последовательности.

8.4. В случае возможного наличия в пробе гексаметилендиамина в количествах, сравнимых с анализируемым веществом, после концентрирования и до гидролиза к пробе добавляется 1.5 мл воды и проводится модификация 1 мл полученного раствора согласно п.8.2. Анализ методом ВЭЖХ осуществляют в том же порядке и в тех же условиях, в которых проводилась градуировка (п. 7.3), используя полученный после модификации раствор и определяя площадь пика, соответствующего производному, для трёх параллельных измерений как и в случае проведения градуировки

### 9. Обработка результатов измерений

По двум или трём найденным значениям площадей пиков вещества  $j$ -ой параллельной пробы вычисляют среднее арифметическое ( $S_j$ , см<sup>3</sup>) и по градуировочной характеристике находят массовую концентрацию вещества -  $C_j$  (мг/дм<sup>3</sup>).

Результат измерения (анализа) вычисляют по формуле:

$$C_k = \frac{\sum_{j=1}^k C_j}{k} \quad (3)$$

где  $k$  – количество параллельных проб воды ( $k \geq 2$ ).

В случае возможного наличия в пробе гексаметилендиамина по двум или трём полученным в результате анализа согласно п.8.4. находят значения площадей пиков гексаметилендиамина в  $j$ -ой параллельной пробе и вычисляют среднее арифметическое ( $S_j$ , см<sup>3</sup>), находя по градуировочной характеристике массовую концентрацию гексаметилендиамина -  $C_j$  (мг/дм<sup>3</sup>).

Результат измерения (анализа) вычисляют по формуле:

$$C_o = \frac{\sum_{j=1}^k C_j}{k} \quad (3)$$

где  $k$  – количество параллельных проб воды ( $k \geq 2$ ).

Конечный результат получают, вычитанием  $C_o$  из  $C_k$ :

$$C = C_k - C_o$$

### 10. Оформление результатов измерений

Результат измерения массовой концентрации анализируемого вещества представляют в следующей форме:

$$(C \pm 0,25 \times C) \text{ мг/дм}^3;$$

### 11. Контроль погрешности (неопределенности) измерений

11.1. Проверка приемлемости выходных аналитических сигналов.

Проверка приемлемости выходных аналитических сигналов выполняется в ходе трех параллельных измерений площади пиков на хроматограммах для каждой пробы анализируемой воды и каждого градуировочного раствора. Данная

операция контроля необходима для отслеживания погрешности, обусловленной кратковременными изменениями условий измерения, а также погрешности, связанных с эффектом матрицы, чистотой петли инжектора, процедурой ввода пробы, колебаниями скорости потока и т.д.

Выходные сигналы при коэффициенте охвата 2 признают приемлемыми при выполнении следующего условия:

$$\frac{S^{\max} - S^{\min}}{S} \times 100 \leq A \quad (5)$$

где  $S_{\max}$ ,  $S_{\min}$  и  $S$  – соответственно наибольшее, наименьшее и среднее значение площади в мВ\*с;  $A=20\%$

При невыполнении этого условия необходимо выявить причины низкой сходимости результатов измерений, устранить их, после чего повторить операции по п. 11.1.

#### 11.2. Проверка приемлемости градуировочной характеристики

Проверку приемлемости выполняют в ходе каждой градуировки. Проверяют выполнение условий:

$$\frac{|S_i - S_i^{pac}|}{S_i^{pac}} \times 100 \leq B \quad (6),$$

где  $S_i^{pac}$  - площадь пика определяемого вещества, полученная расчетным путем по градуировочной характеристике, исходя из известного значения массовой концентрации определяемого вещества в  $i$ -том градуировочном растворе  $C_i$  (мг/дм<sup>3</sup>);  $B= 20 \%$

11.3. Контроль приемлемости сходимости результатов измерений массовой концентрации анализируемого вещества в параллельных пробах.

Проверка проводится при каждом шаге анализа. Результат признается положительным при выполнении условия:

$$\frac{C^{\max} - C^{\min}}{C} \times 100 \leq d_n \quad (7),$$

где  $C^{\max}$  и  $C^{\min}$  – максимальное и минимальное значение массовой концентрации анализируемого вещества в параллельных пробах (мг/дм<sup>3</sup>),

$d_n$  – норматив контроля (для коэффициента охвата 2)%.

Для двух проб  $d_n = 20\%$ ; для трех – 30%

#### 11.4. Контроль правильности измерений методом добавок.

Контроль правильности измерений проводится с целью оценки возможности применения настоящей методики для вод, ранее не подвергавшихся анализу, а также при сомнении в результатах измерений, но не реже одного раза в неделю

Для контроля отбирается удвоенное количество воды (4 пробы). Две пробы анализируют согласно п.п. 8-10, получая результат измерений  $C$ . В две другие пробы вносят одинаковые количества исходного раствора анализируемого



вещества, формируя добавки  $D$  ( $\text{мг/дм}^3$ ), размер которых должен быть в интервале (0,8-1,2)  $C$ . Получают результат измерений для проб с добавкой  $C_d$ .

Результат контроля признается удовлетворительным (для  $P = 0,90$ ) при выполнении условия :

$$100|C_d - C - D|/D \leq R \quad (8)$$

$$R = 25\%$$

## 12. Верификация методики определения полигексаметиленгуанидина в воде

1. В первый день были приготовлены растворы из стандартного раствора

№	Концентрация определяемого компонента в растворе, $\text{мг/дм}^3$	Площадь пика в $\text{мв}^*\text{с}$		
		Закол № 1	Закол № 2	Закол № 3
1	0,05	182	152	195
2	0,1	305	274	339
3	0,2	395	511	415
4	0,3	605	670	584
5	0,4	815	745	842
6	0,6	1320	1240	1380
7	1	1910	2030	2140

Был проведен анализ растворов с концентрацией  $0,05 \text{ мг/дм}^3$  и  $0,2 \text{ мг/дм}^3$

Получены были следующие данные

Введено, $\text{мг/дм}^3$	Площадь 1-ый закол	Площадь 2-ой закол
0,16	410	451
0,26	595	602

2. Во второй день были приготовлены аналогичные растворы и проведена градуировка. Данные приведены в следующей таблице

№	Концентрация определяемого компонента в растворе, $\text{мг/дм}^3$	Площадь пика в $\text{мв}^*\text{с}$		
		Закол № 1	Закол № 2	Закол № 3
1	0,05	193	205	148
2	0,1	318	295	362
3	0,2	410	502	431
4	0,3	618	631	686
5	0,4	764	814	859
6	0,6	1380	1319	1296
7	1	2005	2140	2250

Разработанная методика прошла аттестацию в Федеральном агентстве по техническому регулированию и метрологии РФ (Свидетельство об аттестации методики выполнения измерений №242-141-2005 от 16.11.2005 г. (Приложение 4)).

### 3.8. ОЦЕНКА ОБЕЗЗАРАЖИВАЮЩЕЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА «ДЕЗАВИД» В ОТНОШЕНИИ МУЗЕЙНЫХ ШТАММОВ САНИТАРНО-ПОКАЗАТЕЛЬНЫХ И ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ.

В лабораторных условиях изучалась эффективность обеззараживающего действия препарата «Дезавид» в концентрациях 1,5 и 6,0 мг/л (по препарату) в отношении музейных штаммов санитарно-показательных и патогенных микроорганизмов по следующим микробиологическим показателям: общее микробное число (ОМЧ), общие колиформные бактерии (ОКБ), термотолерантные колиформные бактерии (ТКБ), кишечная палочка (*E.coli*), золотистый стафилококк (*Staphylococcus aureus*), синегнойная палочка (*Pseudomonas aeruginosa*), сальмонеллы, колифаги, сульфитредуцирующие клостридии.

**ОМЧ** – общепринятая санитарно-показательная группа гетеротрофных микроорганизмов.

**Общие колиформные бактерии (ОКБ)** – грамотрицательные не образующие спор палочки, не обладающие оксидазной активностью, ферментирующие лактозу или маннит с образованием альдегида, кислоты и газа при  $t=37^{\circ}\text{C}$  в течение 24 часов. Являются наиболее типичным представителем санитарно-показательной кишечной микрофлоры, регламентируемой в нормативных документах водно-санитарного законодательства всего мира.

**Термотолерантные колиформные бактерии (ТКБ)** – обладают всеми необходимыми признаками санитарно-показательных бактерий, присущих исключительно для антропонозной группы кишечных палочек (фекальные колиформные бактерии), способных ферментировать лактозу до кислоты и газа при температуре  $44^{\circ}\text{C}$  в течение 24 часов.

**Стафилококки** являются характерными представителями высоко устойчивой кокковой условно-патогенной микрофлоры; широко распространены в водах различного вида водопользования, а также в воде плавательных бассейнов. **Золотистый стафилококк**, обладающий лецитовителлазной активностью (ЛВА) - индикатор попадания в воду микрофлоры верхних дыхательных путей, кожи, гениталий.

**Сальмонеллы** – *Salmonellae typhimurium*, наиболее типичные микроорганизмы из группы патогенных энтеробактерий, являющиеся характерными представителями возбудителей кишечных антропонозов, передающихся водным путем. Регламентируется их отсутствие в воде различного вида водопользования во всех нормативных документах водно-санитарного законодательства. В условиях данного эксперимента использовался аттенуированный не патогенный штамм сальмонелл, полученный путем пассирования через питательные среды, содержащие антибиотики.

**Колифаги** - вирусы бактерий, не патогенные для человека. Распространены во всех водных объектах, в т.ч. в воде плавательных бассейнов. В силу своей высокой устойчивости к воздействию физических и химических факторов сходны с энтеровирусами; являются оптимальными индикаторами вирусного загрязнения

воды в системе водоочистных сооружений, плавательных бассейнов; регламентируются в нормативных документах водно-санитарного законодательства.

***Pseudomonas aeruginosae*** – условно-патогенные бактерии (синегнойные палочки), широко распространены в водных объектах, способны вызывать отиты, поражения кожного покрова, септические заболевания у детей с летальным исходом, острые кишечные расстройства. Легко размножаются в водопроводных закрытых системах, воде плавательных бассейнов, устойчивы в объектах окружающей среды. Имеют высокое санитарно-эпидемическое значение. Регламентируются во многих нормативных документах водно-санитарного законодательства различных стран.

**Сульфитредуцирующие клостридии** – сульфитредуцирующие анаэробные спорообразующие бактерии, преимущественно ***C1.Perfringens***, широко распространены в водных объектах, и, в т.ч. в сточных, а также в поверхностных и питьевых водах. Характеризуются высокой устойчивостью к воздействию химических и физических факторов, а также дезинфектантов. Являются общепризнанными индикаторами оценки эффективности обработки питьевой воды на водопроводных сооружениях.

Исследования проводились на нативной речной воде, автоклавированной в течение 30 минут в режиме 1 атм, в которую искусственно вносились модельные микроорганизмы с таким расчетом, чтобы их концентрации соответствовали реально встречающимся в воде поверхностных водоисточников: ОМЧ - на уровне  $10^2$  КОЕ/мл; ОКБ - на уровне  $10^3 \sim 10^4$  КОЕ/100мл; колифаги - на уровне 10 БОЕ/100мл; синегнойная палочка - на уровне  $10^3$  КОЕ/л; сульфитредуцирующие клостридии - на уровне  $10^3$  КОЕ/20мл; стафилококки - на уровне  $10^3$  КОЕ/100мл. После тщательного перемешивания отбирались пробы для определения исходного уровня микроорганизмов в воде модельных водоемов. Затем в воду 2-х различных емкостей вносили препарат «Дезавид» в концентрациях 1,5 мг/л и 6,0 мг/л. После тщательного перемешивания и времени контакта - 30 мин и 60 мин. отбирали пробы для определения динамики инактивации модельных микроорганизмов и определения эффективности препарата «Дезавид». Расчет эффективности обеззараживания микроорганизмов производился по формуле:

$$K_{\text{эфф}} = \frac{(A-B) \times 100\%}{A};$$

A – исходная концентрация микроорганизмов  
B – концентрация микроорганизмов после обеззараживания

Микроорганизмы определяли согласно методическим документам, утвержденным МЗ РФ, методом мембранной фильтрации с инкубацией посевов на соответствующих дифференциальных питательных средах, установленных в МУК 4.2.1018-01 «Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды», МУК 4.2.1884-04 «Санитарно-микробиологический и санитарно-паразитологический анализ воды поверхностных водных объектов»; МУ 2.1.4.1184-2002 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды, расфасованной в емкости. Контроль качества».

Результаты исследований представлены в таблице 3.6, из которых следует, что препарат «Дезавид» в изучаемых концентрациях (1,5 и 6,0 мг/л) оказывает выраженное инактивирующее действие на различные группы санитарно-показательных и патогенных микроорганизмов.

Таблица 3.6.

Динамика инактивации музейных штаммов микроорганизмов в воде под влиянием 2-х концентраций препарата «Дезавид».

№ п/п опыта	Показатели заражения	Дезавид мг/л	Исходный уровень заражения	Экспозиция (мин.)		Эффективность инактивации, %	
				30	60	30 мин	60 мин
1	ОМЧ	1,5	400	50	0	87,5	100,0
		6,0	400	2	0	99,5	100,0
2	БГКП	1,5	11200	0	0	100,0	100,0
		6,0	10400	0	0	100,0	100,0
3	ОКБ	1,5	11000	0	0	100,0	100,0
		6,0	11400	0	0	100,0	100,0
4	ТКБ	1,5	10300	0	0	100,0	100,0
		6,0	10200	0	0	100,0	100,0
5	Ps.aeruginosae	1,5	1100	0	0	100,0	100,0
		6,0	1000	0	0	100,0	100,0
6	Сальмонелы	1,5	380	0	0	100,0	100,0
		6,0	380	0	0	100,0	100,0
7	Клостридии	1,5	200	2,1	0	98,95	100,0
		6,0	160	0	0	100,0	100,0
8	St.aureus	1,5	200	0	0	100,0	100,0
		6,0	200	0	0	100,0	100,0
9	Фаги	1,5	104	2,4	0	97,69	100,0
		6,0	108	0	0	100,0	100,0

Наиболее активная динамика инактивации, свидетельствующая о наименьшей устойчивости испытуемых микроорганизмов к воздействию препарата, отмечена у санитарно-показательных бактерий группы кишечной палочки – E.coli, ТКБ и ОКБ, для которых инактивирующая эффективность «Дезавид» при 1,5 и 6,0 мг/л через 30 и 60 мин составляла 100,0%.

Аналогичная эффективность инактивации в данном режиме воздействия препарата «Дезавид» была отмечена и в отношении микроорганизмов Ps.aeruginosae (100,0%), сальмонелл, и стафилококков - при 30 и 60 мин. экспозиции.

Санитарно-показательная группа бактерий ОМЧ была несколько более устойчивой к воздействию этих концентраций «Дезавид»; степень их

инактивации через 30 минут в концентрации 1,5 мг/л составила 87,5%, в концентрации 6 мг/л – 99,5%, и только через 60 мин. экспозиции была отмечена 100,0% инактивация. Вместе с тем, уже через 30 минут был достигнут уровень ОМЧ, регламентируемый СанПиН 2.1.2.1331-03 (100 КОЕ/мл) [62].

При содержании «Дезавид» в концентрации 1,5 мг/л инактивация колифагов 97,69% через 30 минут и 100,0% - через 60 минут экспозиции. Концентрация 6 мг/л проявила 100%-ную эффективность уже через 30 минут экспозиции.

Аналогичная зависимость обеззараживающей активности препарата «Дезавид» от концентрации и времени экспозиции выявлена и в отношении сульфитредуцирующих спорообразующих клостридий. Через 30 минут в концентрации 1,5 мг/л эффективность составляла 98,95%, в концентрации 6 мг/л – 100%.

Таким образом, в лабораторных условиях установлена 100%ная эффективность препарата «Дезавид» в концентрации 1,5 и 6 мг/л через 60 минут воздействия в отношении всех изученных модельных штаммах микроорганизмов, в том числе и в отношении наиболее устойчивых форм - сульфитредуцирующих клостридии, колифагов, ОМЧ. При этом санитарно-показательные бактерии ОКБ, ТКБ, БГКП, а также сальмонеллы, стафилококки и синегнойная палочка были инактивированы полностью через 30 минут.

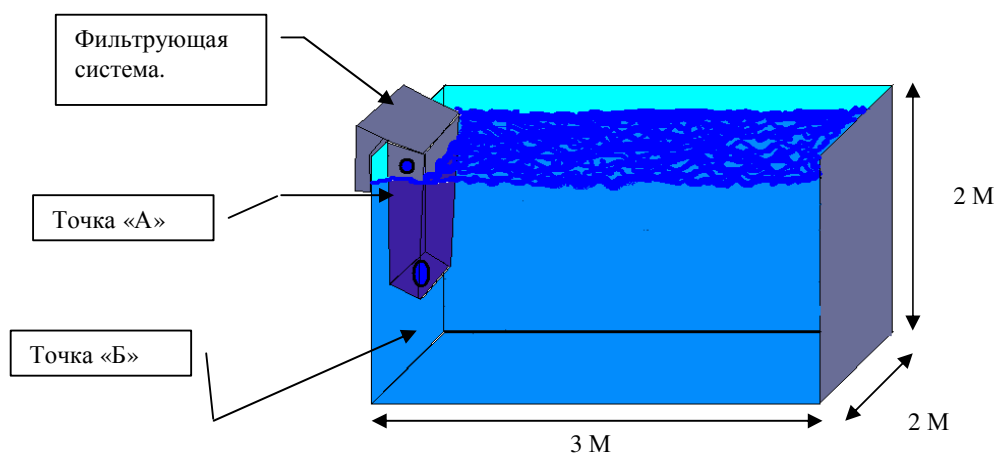
Результаты эксперимента свидетельствуют, что индикаторными показателями эффективности обеззараживания воды препаратом «Дезавид» являются ОМЧ и колифаги. Минимальная эффективная концентрация дезинфицирующего средства «Дезавид» составляет 1,5 мг/л (по препарату) при времени контакта 60 минут.

### 3.9. ПОЛУПРОИЗВОДСТВЕННЫЕ ИСПЫТАНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ ВОДЫ ПЛАВАТЕЛЬНОГО БАССЕЙНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СРЕДСТВА «ДЕЗАВИД».

Полупроизводственные испытания дезинфицирующего средства «Дезавид» проводились в частном бассейне на территории дачного посёлка Московской области.

Бассейн расположен на цокольном этаже жилого дома и имеет следующие размеры: длина 3 м, ширина 2 м, глубина 2 м.

Бассейн заполняется водой из артезианской скважины, глубина наполняемости составляет 2 м (см. рисунок 3.2). Таким образом, истинное водоизмещение бассейна составляет  $(3 \times 2 \times 2) 12 \text{ м}^3$ .



**Рис. 3.2. Схема устройства плавательного бассейна.**

Вода в бассейне непрерывно циркулирует через фильтрующую и водонагревающую системы. Время цикла прохождения всей воды бассейна через эти системы составляет около 2 часов.

Обработка воды бассейна средством «Дезавид» проводилась однократно 19.09.05 в дозе 4,0 мг/л (по препарату), что в пересчете на полигексаметиленгуанидин гидрохлорид (ПГМГ) составляет 0,12 мг/л. Содержание препарата в воде определяли полуколичественным методом с использованием микролаборатории «АГФ-полисепт» (Сертификат соответствия №РОСС RU.ХП12.Н00136 от 12.04.2005 г.) Концентрацию ПГМГ в воде контролировали разработанным арбитражным методом высоко эффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с флуорометрическим и масс-спектрометрическим детектированием (Свидетельство об аттестации методики выполнения измерений №242-141-2005).

В течение всего периода полупроизводственных испытаний обеспечивалась постоянная интенсивная биологическая нагрузка на бассейн - 4 человека в день без предварительного принятия душа.

Пробы воды для химического анализа отбирались через 2 часа после внесения препарата (после полного перемешивания воды), через 1, 2 и 7 суток после обработки бассейна.

Пробы воды для определения микробиологических показателей отбирались с глубины 0,3 м около впускной форсунки очищенной воды (точка А) и напротив отверстия донных сливов (точка Б). Микробиологические показатели качества воды бассейна определялись 3-кратно (19.09) до внесения «Дезавида», а также через 1, 2 и 7 дней после дозирования препарата.

Эффективность обеззараживания воды оценивалась по следующим микробиологическим показателям, регламентируемым СанПиН 2.1.2.1188-03 [57] и СанПиН 2.1.2.13...-03 [62]:

- общее микробное число (ОМЧ), уровень которого не должен быть выше 100 КОЕ/мл;
- общие колиформные бактерии (ОКБ), содержание которых должно быть не более 1 КОЕ/100 мл;
- термотолерантные колиформные бактерии (ТКБ) – отсутствие в 100 мл;
- *E.coli* – отсутствие в 100 мл;
- энтерококки – отсутствие в 100 мл;
- золотистый стафилококк (*Staphylococcus aureus*) – отсутствие в 100 мл;
- синегнойная палочка (*Pseudomonas aeruginosa*) – отсутствие в 100 мл.

Общие колиформные бактерии (ОКБ) являются показателями степени фекального загрязнения воды и потенциальной эпидемической опасности в отношении бактериальных кишечных инфекций. Термотолерантные колиформные бактерии (ТКБ) и *E.coli* характеризуют давность внесения фекального загрязнения. Энтерококки подтверждают наличие фекального загрязнения, отражая попадание фекальных кокков в воду.

Золотистый стафилококк, обладающий лецитовителлазной активностью (ЛВА) - индикатор попадания в воду микрофлоры верхних дыхательных путей, кожи, гениталий.

*Pseudomonas aeruginosa*-микроорганизм малотребователен в отношении питательных веществ и температуры размножения, вызывает целый ряд различных заболеваний кожных покровов, верхних дыхательных путей, глаз, половых органов. Некоторые штаммы капсулируются, но считаются вирулентными. Поэтому этот микроорганизм в первую очередь необходимо контролировать в воде плавательных бассейнов.

Микроорганизмы определяли согласно методическим документам, утвержденным МЗ РФ, методом мембранной фильтрации с инкубацией посевов на соответствующих дифференциальных питательных средах, установленных в МУК 4.2.1018-01 «Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды», МУК 4.2.1884-04 «Санитарно-микробиологический и санитарно-паразитологический анализ воды поверхностных водных объектов»; МУ 2.1.4.1184-2002 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды, расфасованной в емкости. Контроль качества».

Параллельно с определением бактериологических показателей общепринятыми методами мембранной фильтрации применены приемы по уменьшению пролонгированного действия «Дезавида» в процессе анализа в результате его концентрации на мембранном фильтре одновременно с микроорганизмами разбавление растворов с последующим инкубированием микроорганизмов.

Результаты химического анализа воды бассейна на содержание препарата «Дезавид» и ПГМГ представлены в таблице 3.7. Из таблицы видно, что в течение всего периода испытаний концентрация препарата, измеренная полуколичественным методом, оставалась на одном и том же уровне – 3,5-4,5 мг/л. По результатам арбитражного метода содержание ПГМГ было подвержено большим колебаниям: 90 – 120 мкг/л через 2 часа после внесения, 100 мкг/л – через сутки, 80 мкг/л – через 2 суток, 110 мкг/л – на 7-е сутки. Тем не менее, учитывая относительную суммарную погрешность измерений (при доверительной вероятности  $P = 0,95$ ), которая составляет 25%, полученные данные свидетельствуют о сохранении внесенной концентрации ПГМГ в течение 7 суток.

Таблица 3.7.

Содержание препарата «Дезавид» (внесенная доза – 4 мг/л) и ПГМГ (расчетная доза – 120 мкг/л) в воде плавательного бассейна в течение 7 суток.

Дата отбора проб	Концентрация препарата «Дезавид»*, мг/л	Концентрация ПГМГ**, мкг/л
19.09.05, 10 см от поверхности	3,5 – 4,5	90±18
19.09.05, 30 см от дна	3,5 – 4,5	120±24
20.09.05	3,5 – 4,5	100±20
21.09.05	3,5 – 4,5	80±20
26.09.05	3,5 – 4,5	110±22

\* - полуколичественный метод с использованием микролаборатории «АГФ-полисепт»

\*\* - арбитражный метод ВЭЖХ с флуорометрическим и масс-спектрометрическим детектированием

Результаты исследования микробиологических показателей представлены в таблице 3.8.

До внесения «Дезавида» санация бассейна и смена воды не проводилась. Поэтому бактериальное загрязнение воды в ванне бассейна (фон) превышало установленные СанПиН 2.1.2.1188-03 и СанПиН 2.1.2.1331-03 требования. Число ОКБ и ТКБ составляло 32 и 30 КОЕ/100 мл, соответственно, что более чем в 30 раз превышало норматив. В придонной пробе число колиформных бактерий было несколько ниже 20 и 10 КОЕ/100 мл.

Показатели недавно внесенного фекального загрязнения *E.coli* и энтерококки обнаружены не были. При этом в воде бассейна выявлен условно-патогенный микроорганизм синегнойная палочка (*Pseudomonas aeruginosa*) как в поверхностной, так и в придонной пробе. Это представляет эпидемическую опасность для купающихся, и в соответствии с СанПиН 2.1.2.1188-03, является



Таблица 3.8.

**Результаты санитарно-микробиологической оценки эффективности обеззараживающего действия средства «Дезавид» в концентрации 4 мг/л (по препарату) в условиях полупроизводственных испытаний.**

Дата	Место отбора	№ пробы	ОМЧ КОЕ/1мл		Общие колиформные бактерии, КОЕ/100 мл	Термотолерантные колиформные бактерии, КОЕ/100 мл	E.coli, КОЕ/100 мл	Энтерококки, КОЕ/100 мл	Стафилококки, КОЕ/100 мл	Pseudomonas aeruginosa, КОЕ/100 мл
			37°C	22°C						
19.09.05	10см от пов-ти	1 фон	390	380	32	30	0	0	60 ЛВА-	+
19.09.05	50см от дна	2 фон	350	380	20	10	0	0	250 ЛВА-	+
20.09.05	10см от пов-ти	3	420	550	0	0	0	1	5 ЛВА-	Псевдомонады
20.09.05	50см от дна	4	400	460	0	0	0	0	1, ЛВА+ 3, ЛВА -	Псевдомонады
21.09.05	10см от пов-ти	5	430	610	0	0	0	0	1 ЛВА-	Псевдомонады
21.09.05	50см от дна	6	415	660	0	0	0	0	0	Псевдомонады
26.09.05	10см от пов-ти	7	16000	12000	0	0	0	0	1 ЛВА-	Псевдомонады
26.09.05	50см от дна	8	12800	12000	0	0	0	0	0	псевдомонады

Примечание: ЛВА – лецитовителлазная активность.

основанием для проведения saniрующих мероприятий (смена воды, дезинфекция ванны).

Кроме того, в воде бассейна обнаружено большое количество стафилококков 60 КОЕ/100 мл и 250 КОЕ/10 мл в поверхностной и придонной пробе, соответственно. Однако лецитовителлазной активности у выделенных штаммов (одного из признаков патогенности) не отмечено (как у бактерий с белым пигментом, так и с желтым).

Большое количество сапрофитных бактерий (ОМЧ) (350-390 КОЕ/1 мл) при норме 100 КОЕ/мл [62] подтверждает наличие в воде легкоусвояемого органического вещества.

После отбора «фоновых» проб 19.09.2005 г. в воду бассейна был внесен реагент «Дезавид» в концентрации 4 мг/л по препарату.

Действие препарата оказалось наиболее эффективным в отношении колиформных бактерий. Через сутки контакта и в дальнейшие 7 дней при постоянной нагрузке на бассейн и, следовательно, добавлении фекального загрязнения колиформные бактерии ни разу обнаружены не были. Одна клетка энтерококков выделена только один раз через 1 сутки контакта. Это свидетельствует, что «Дезавид» в заданной концентрации обладает пролонгированным действием на колиформные бактерии и энтерококки на протяжении 7 суток наблюдения. Несмотря на постоянную интенсивную биологическую нагрузку общая численность микроорганизмов практически не менялась на протяжении 3 суток воздействия «Дезавида», что, по видимому, свидетельствует о бактериостатическом действии.

На 3 сутки контакта наметилась тенденция размножения сапрофитных бактерий (ОМЧ 22<sup>0</sup>С), численность которых возросла в 3 раза по сравнению с фоном. Через 7 суток число ОМЧ как при 37<sup>0</sup>С, так и при 22<sup>0</sup>С возросло на два порядка, показывая, что реагент уже не оказывает действия на эти группы микроорганизмов.

Что касается стафилококков, то их число под действием «Дезавида» снизилось на 1-2 порядка с 60 и 250 КОЕ/100 мл в поверхностной и придонной пробе, соответственно, до единичных клеток. Эффективность при этом составила 91,67% и 98,4%. В придонной пробе в одном случае был обнаружен патогенный стафилококк (ЛВА+), что указывает на несоответствие качества воды требованиям СанПиН.

Наиболее устойчивыми к действию «Дезавида» микроорганизмами оказались псевдомонады. При этом следует отметить, что если в фоновых пробах обнаружена типичная синегнойная палочка, то после контакта с «Дезавидом» в воде бассейна были обнаружены псевдомонады с измененными свойствами (отсутствовал пигмент – один из основных признаков *Pseudomonas aeruginosa*). Однако характерный блеск на соответствующей среде, лизис молока подтверждает наличие патогенных свойств выделенных из воды бассейнов штаммов.

Оценить эффективность «Дезавида» в отношении *E.coli* и энтерококков не представилось возможным из-за их отсутствия в воде до внесения реагента. Вместе с тем, об их чувствительности к дезинфектанту можно судить по тому

наблюдению, что, несмотря на интенсивное купание, эти бактерии не были обнаружены на протяжении 7 дней.

Таким образом, в результате полупроизводственных испытаний дезинфицирующего средства «Дезавид» (в концентрации 4 мг/л по препарату) в воде действующего бассейна при высокой нагрузке купающихся установлено, что показатели фекального загрязнения - колиформные бактерии, ОКБ и ТКБ оказались чувствительными к «Дезавиду». Число стафилококков существенно снижалось под действием «Дезавида», однако обнаружение патогенного стафилококка 20.09.05 в придонной пробе представляет эпидемическую опасность для купающихся.

Общее число микроорганизмов, хотя и держалось на одном уровне в присутствии «Дезавида», однако не снижалось до требуемого норматива СанПиН 2.1.2.1331-03. Присутствие в воде бассейна псевдомонад с измененными свойствам также не является безопасным для купающихся.

#### 4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

Результаты санитарно-эпидемиологической оценки безопасности и эффективности препарата «Дезавид, производимого по ТУ 9392-001-49340960-2003 с изменением №1 ООО «Адекватные технологии» (Москва), проведенной с целью обоснования условий его применения для обеззараживания воды плавательных бассейнов, позволяют сделать следующие выводы.

1. Препарат «Дезавид» представляет собой водный раствор смеси Полисепта (полигексаметиленгуанидин гидрохлорида,  $2,7 \pm 0,3$  мас.%) и катамина АБ (алкилбензилдиметиламмоний хлорида фракций  $C_{10}-C_{18}$ ,  $0,5 \pm 0,05$  мас.%).

2. Компоненты дезинфицирующего средства «Дезавид» - Полисепт и Катамин АБ – являются хорошо изученными с токсикологической точки зрения соединениями. Их ПДК в воде водных объектов установлены:

- Полисепт (полигексаметиленгуанидин гидрохлорид) - **0,1 мг/л**, лимитирующий признак вредности общесанитарный, класс опасности 3.

- Катамин АБ (алкилбензилдиметиламмоний хлорид фракций  $C_{10}-C_{18}$ ) - **0,3 мг/л**, лимитирующий признак вредности органолептический (запах), класс опасности 3.

3. Средство «Дезавид» по степени воздействия на организм (по ГОСТ 12.1.007-76) относится к 4 классу умеренно опасных веществ при введении в желудок и к 4 классу малоопасных веществ при нанесении на кожу (по ГОСТ 12.1.007-76).

4. В токсикологических экспериментах установлено, что комбинированное действие двух компонентов препарата (Полисепта и Катамина АБ) не сопровождается потенцированием эффекта при однократном и длительном поступлении в организм. Максимальная недействующая доза (МНД) смеси в пересчете на действующее вещество составляет 0,5 мг/кг. Максимальная недействующая концентрация (МНК) по токсикологическому признаку вредности установлена на уровне 10 мг/л, что составляет 330 мг/л по препарату.

5. Дезинфицирующее средство «Дезавид» в концентрациях, рекомендованных для обеззараживания воды плавательных бассейнов (0,045 – 0,25 мг/л по ПГМГ-ГХ), не оказывает алергизирующего и раздражающего действия на кожные покровы и слизистую оболочку глаз. Не обладает иммунотоксическим действием в высоких дозах.

6. Пороговая концентрация средства «Дезавид» по влиянию на органолептические свойства воды установлена на уровне 0,5 мг/л (15 мг/л в пересчете на препарат), лимитирующий показатель - пенообразование, что обусловлено поверхностно-активными свойствами компонентов.

7. На основании проведенных исследований обоснована **максимальная допустимая концентрация** средства «Дезавид» в воде плавательных бассейнов на уровне **0,5 мг/л (по ПГМГ-ГХ)**, что в пересчете на препарат составляет 15 мг/л, органолептический признак вредности (пенообразование), 4 класс опасности.

8. Для контроля за содержанием препарата в воде разработана арбитражная количественная методика измерения индикаторного вещества – ПГМГ-ГХ с

нижним пределом измерения 0,05 мг/л. Метод измерения - ВЭЖХ с флуорометрическим и масс-спектрометрическим детектированием (Свидетельство об аттестации методики выполнения измерений №242-141-2005).

9. В лабораторных условиях на музейных штаммах микроорганизмов установлено, что препарат обладает бактерицидным и вирулицидным действием в отношении санитарно-показательных и патогенных бактерий и вирусов (ОМЧ, ОКБ, ТКБ, E.coli, стафилококки, сальмонеллы, синегнойная палочка, сульфитредуцирующие клостридии, колифаги). Минимальная эффективная концентрация по результатам лабораторных исследований составляет 1,5 мг/л по препарату (0,45 мг/л по ПГМГ-ГХ) при времени контакта 60 минут, 6 мг/л (0,18 мг/л по ПГМГ-ГХ) – при времени контакта 30 минут.

10. В полупроизводственных испытаниях в условиях действующего бассейна выявлено стабильное сохранение заданных концентраций средства «Дезавид» (4 мг/л по препарату) и действующего вещества – ПГМГ-ГХ (0,12 мг/л) в течение 7 суток наблюдения.

11. В концентрации 4 мг/л по препарату (0,12 мг/л по ПГМГ-ГХ) в условиях регулярной повышенной биологической нагрузки на бассейн средство «Дезавид» обладает пролонгированным обеззараживающим действием в течение 7 суток на показатели фекального загрязнения и стафилококки, бактериостатическим действием в отношении ОМЧ.

12. Обобщение результатов лабораторных и полупроизводственных испытаний позволяет рекомендовать в качестве **минимальной рабочей дозы** средства «Дезавид» для обработки воды плавательных бассейнов **4 мг/л** по препарату (0,18 мг/л по ПГМГ-ГХ).

13. Периодичность внесения препарата «Дезавид» в воду бассейна должна определяться с учетом существующего в бассейне метода очистки воды и типа бассейна по результатам полуколичественного анализа с использованием микролаборатории «АГФ-полисепт». При использовании препарата впервые, при осуществлении государственного надзора, при возникновении спорных ситуаций и по эпидемическим показаниям должно осуществляться определение концентрации действующего вещества (ПГМГ-ГХ) арбитражным методом.

14. Индикаторными микробиологическими показателями для контроля за эффективностью обеззараживания воды являются ОМЧ, *Pseudomonas aeruginosa*, водные псевдоманады, колифаги.

Таким образом, препарат «Дезавид» производства ООО «Адекватные технологии», Россия, соответствует установленным Минздравом России требованиям по эффективности и безопасности и может быть рекомендован к государственной регистрации в качестве средства для обеззараживания воды в плавательных бассейнах.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Boethling R., Lynch G. Quaternary ammonium surfactants. In: The handbook of environmental chemistry. - V.3- Part F. - Anthropogenic compounds. Detergents. - P. 144-177.
2. Larson R.J., Vashon R.D. //Dev. Indust. Microbiol. - 1983. - V.24. -P.425.
3. Скрилев Л.Д., Стрелкова Е.А. // Ж. прикл. химии. – 1979. -Т.52. - С.149
4. Putnam F.M. //Advan. Protein Chem. - 1948. -V. 4. - P.49.
5. Knox W.E., Auerbach V.H. et al. J. Bacteriol. - 1949. - V.58. -P.443.
6. Klotz I.M. // Sci. Monthly. - 1950. - V.70. - P.24.
7. Chaplin C.E. // Can. J. Bot. - 1951. - V.29. - P.37
8. Mueller H., Krempl E. // Fette Seif. Anstrich. - 1963. - V.65. - P.532.
9. May A., Neufahrt A. //Tens. Deterg. - 1976. -V.13. -P.65.
10. Lawrence C.A. In: Jungermann E. (Ed.) Cationic surfactants. - New York: Marcel Dekker. - 1970. - P.491.
11. Van Beneden G. // Bull. CEBEDEAU. - 1970. - N17, p.159.
12. Manganelli R., Crosby E.S. //Sew. Indust. Wastes. - 1953. - V.25. P.262.
13. Pitter P. // Sb. Vysoke Skoly Chem. Technol. Praze, Technol. Vody. -1961. -V.5. - P.25.
14. Ventullo R.M., Larson R.J. // Appl. Environ. Microbiol. - 1986. -V.51. -P.356.
15. Kupfer W. //Tens. Deterg. - 1982. - V.19. - P.164.
16. Lewis M.A., Wee V.T. //Environ. Toxicol.Chem. - 1983. - V.2.-P.105.
17. Cooper J.C. Ecotoxicol. Environ. Saf. - 1988. - V.16. -P.65.
18. Woltering D.M., Larson R.J. et al. // Tens. Deterg. - 1987. - V.24. -P.286.
19. Beisinger K.E. Stokes G.N. // J. Water Pollut. Contr. Fed. - 1968. -V.58. -P.207.
20. Knezovich J.P., Lawton M.P. et al. //Bull. Environ. Contam. Toxicol. - 1989. - V.42. -P.87.
21. Saitoh H., Saitch N. et al. //J. Pharm. and Pharmacol. - 1991. -V.10. -P.736.
22. Saitoh H., Kobayashi M. et al. // Biochimica et Biophysica Acta. - 1992. - V.1112. - P.153.
23. Itano Y., Nomura Y. // Brain Research. - 1995. - V. 704. -P.240-245.
24. Armak Co. Toxicity data for aliphatic nitrogen compounds. Chicago –1996.
25. Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования ГН 2.1.5.1315-03. – М.: Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ Минздрава РФ, 2003. – 154 с.
26. 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.
27. Материалы по обоснованию ПДК алкилдиметилбензиламмоний хлорида C<sub>12</sub> – C<sub>14</sub> (катамина АБ фракции C<sub>12</sub> – C<sub>14</sub>) 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.
28. Еремеева Л.С., Трикуленко В.И.// Ж. Гигиена труда и проф. заболеваний. – 1976.-№9, с.50-51.
  29. Еремеева Л.С.//Гигиена и сан.-1974.-№10, с.114-117.
  - 30.Технические условия ТУ 9392-008-41547288-00 Субстанция дезинфицирующая БИОПАГ.
  - 31.Дезинфекционные средства. Справочник. Ч.1. (Под ред. А.А.Монисова, М.Г.Шандалы). ТОО “Рарогъ”, М., 1996.
  - 32.Биостойкость материалов. Справочник (Под ред. Б.В.Бочарова, АА.Герасименко, И.А.Коровина) АН СССР, Москва, 1986.
  - 33.Гембицкий П.А., Воинцева И.И. Полимерный биоцидный препарат полигексаметиленгуанидин. Запорожье, Полиграф, 1998, 42 с.
  - 34.Патент 2 867 562 США (1959).
  - 35.Писько Г.Т., Гудзь О.В.//Фармакол и токсикол. - 1980. – Т. 43. - С. 628.
  - 36.Патент 417 569 Швеции (1981).
  - 37.Kiyoshi S., Shinicki M.//Nippon Noyaku Gakkashi. - 1984. - 9. - p. 39.
  - 38.Ullmans Encyklopadie. 4 Aufl. 12. Weinheim, 1976.
  - 39.The Pesticide Book. Freeman and Co., San-Francisco, 1978. - p. 104.
  - 40.Патент 32 37 074 ФРГ (1985).
  - 41.Патент 0 003 999 ЕПВ (1980).
  - 42.Патент 60-23 643 Японии (1984).
  - 43.Патент 4 045 477 США (1977).
  - 44.Патент 234 782 ГДР (1977).
  - 45.Патент 2 325 586 США (1940).
  - 46.Патент 1 152 244 Англии (1969).
  - 47.Патент 24 37 844 ФРГ (1975).
  - 48.Патент 4 587 266 США (1986).
  - 49.Патент 2 830 006 США (1958).
  - 50.Патент 26 47 915 ФРГ (1977).
  - 51.Патент 35 37 627 ФРГ (1986).
  - 52.Патент 26 11 967 ФРГ (1977).
  - 53.Машковский. М.Д. Лекарственные средства. - 1997. - с. 402.
  - 54.Баркова Н.П. Дисс... доктора биол. наук. Иркутск, 1997.
  - 55.Кондрашов В.А. //Гигиена и санитария- 1992.-С.11-13.
  - 56.Обоснование гигиенических нормативов химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования: Методические указания МУ 2.1.5.720-98. – М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора МЗ РФ, 1998. – 44 с.
  - 57.Плавательные бассейны. Гигиенические требования к устройству, эксплуатации и качеству воды. Контроль качества: Санитарные правила и нормы СанПиН 2.1.2.1188-03. – М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2003. – 31 с.
  - 58.Любимов Б.И., Коваленко Л.П., В.Н. Федосеева В.Н. Методические указания по оценке алергизирующих свойств фармакологических веществ. В кн.:

- Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М.; МЗ РФ. – 2000. – С. 25 – 32.
59. Weigle W.O., Cochrane G., Dixon F.L. // J. Immune. - 1960. - V. - 95. - P. 5
60. Панкратова Г.П., Мальцева М.М. Материалы научного отчёта «Оценка токсичности и опасности дезинфицирующего средства «Дезавид» производства «Адекватные технологии» Россия. Москва 2003.
61. Баркова Н.П. Результаты исследований перспективных солей полигексаметиленгуанидина с целью внедрения в народное хозяйство и медицину. Ангарск, 1992 .
62. Гигиенические требования к устройству, эксплуатации и качеству воды аквапарков: Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы СанПиН 2.1.2.1331-03. – М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2003. – с.12
63. Жолдакова З.И., Одинцов Е.Е., Харчевникова Н.В. и соавт. Новые сведения о токсичности и опасности химических и биологических веществ: гуанидин гидрохлорид (ГГХ). // Токсикологический вестник. – 2004. - №6. – С.34-35.
64. Оценка эффективности обеззараживания природной, питьевой и сточной воды дезинфицирующим средством «Дезавид». Отчет №762-НИР. – М.: ГУП «МосводоканалНИИпроект», 2001. – 28 с.
65. Жолдакова З.И., Одинцов Е.Е., Харчевникова Н.В. и соавт. Новые сведения о токсичности и опасности химических и биологических веществ: полигексаметиленгуанидин гидрохлорид (ПГМГ-гидрохлорид). // Токсикологический вестник. – 2004. - №6. – С.35-36.
66. Федосеева В.Н., Шарецкий А.Н., Аристовская Л.В., Чередеев А.Н., Иванов В.В. и другие. Экспериментальное изучение иммунотоксических свойств химических факторов окружающей среды // Методические рекомендации. – М., 1989. – 47 с.
67. Остренок Л.И. Разработка аллерговакцины на основе аллергенов пыльцы полыни и полиионного иммуностимулятора полиоксидония // Дисс. канд. мед. наук. – М., 1998. – 112 с.
68. Асатиани А.С. // Ферментные методы анализа. – М., 1969. – С. 596 – 600.
69. Шестаков В.А. с соавт. // Хемилюминесценция плазмы крови в присутствии перекиси водорода // Вопросы мед. химии. – 1979. - №2. – С. 132-137
70. Aebi H. // Katalose Ju “Methoden der enzymatischen analysen”. - 1970. - № 2. - P.636-640.
71. ГОСТ 18190-72 «Вода питьевая. Методы определения содержания остаточного активного хлора».



**ПРИЛОЖЕНИЯ**