

ОБОСНОВАНИЕ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМОГО УРОВНЯ ЗАГРЯЗНЕНИЯ СРЕДСТВ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ ВЕЩЕСТВОМ Vx

Фролова И.Г.*, Жуков В.Е.

ФГУП “Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии”

ФМБА России 400048 г. Волгоград, ул. Землячки, 12

Телефон/факс: (8442) 78-62-57, e-mail:niigtp@rihtop.ru

Резюме. Цель исследования – экспериментальное обоснование предельно допустимого уровня (ПДУ) загрязнения средств индивидуальной защиты (СИЗ) веществом Vx. В настоящей работе изучена эффективность применения Vx в условиях многократных кожных аппликаций зараженной ткани костюма Л-1. На основе зависимости “доза-эффект” определен Lim_{ch}^{integr} вещества Vx. Выявлены маркеры хронического действия соединения в моделируемых условиях применения.

Ключевые слова. Vx, изолирующий костюм Л-1, порог хронического общетоксического действия (Lim_{ch}^{integr}), предельно допустимый уровень (ПДУ).

THE SUBSTANTIATION OF THE MAXIMUM PERMISSIBLE LEVEL OF PERSONAL PROTECTIVE EQUIPMENT CONTAMINATION WITH Vx

Frolova I.G.*, Zhukov V.E.

Research Institute of Hygiene, Toxicology and Occupational Pathology of Federal Medical and Biological Agency of Russia

Summary. The objective was to experimentally substantiate the maximum permissible level (MPL) of personal protective equipment (PPE) contamination with Vx. The present research explored the effects of Vx exposure through repeated skin applications of the contaminated L-1 fabric. Lim_{ch}^{integr} was established for Vx based on the “dose – effect” dependence. The markers of chronic action were identified in the simulated application conditions.

Key words. Vx, self-contained atmospheric protection suit L-1, limit of integral chronic toxicity (Lim_{ch}^{integr}), maximum permissible level (MPL).

Введение. Комплекс мер, направленных на обеспечение безопасности персонала объектов по уничтожению отравляющих веществ, включает в себя использование изолирующего костюма Л-1, эксплуатация которого предусматривает его многократное

применение после проведения соответствующих обеззараживающих мероприятий [1]. Однако отсутствие критерия эффективности дегазации не позволяло объективно решать вопрос о степени чистоты наружной поверхности костюма Л-1. В связи с чем, было признано целесообразным в качестве такого критерия разработать новый вид гигиенического регламента – предельно допустимый уровень (ПДУ) загрязнения СИЗ веществом Vx.

Научно-исследовательская работа выполнена в рамках Федеральной целевой программы “Уничтожение запасов химического оружия в Российской Федерации” [2, 3]. Планирование и проведение исследований осуществляли в соответствии с рядом нормативных документов, а также согласно положениям разработанной “Программы...” [4, 5].

Цель исследования заключалась в экспериментальном обосновании ПДУ загрязнения СИЗ веществом Vx. Задачей настоящей работы являлось определение величины порога хронического действия ($\text{Lim}_{\text{ch}}^{\text{integr}}$) Vx – токсикометрического параметра, необходимого для обоснования величины ПДУ.

Материалы и методы исследования. Объектами изучения являлись Vx (с массовой долей основного вещества 92,0 %) и ткань УНКЛ-3, из которой изготавливается изолирующий защитный костюм Л-1. Вещество использовали в виде водно-спиртовых растворов. Соотношение воды и спирта составляло от 2000:1 до 50000:1 и зависело от уровня испытываемой дозы соединения.

Моделирование интоксикации осуществляли следующим образом: Vx наносили на “лицевую” сторону фрагмента костюмной ткани (на площади 16 см²), после чего апплицировали зараженной поверхностью на участке спины животного, лишенного шерстного покрова. Материал фиксировали с помощью специальных металлических пластин, изготовленных из нержавеющей стали марки Х18Н10ОТ. Время экспозиции составляло 4 часа.

Исследования выполнены на 160 белых беспородных крысах-самцах массой 200-210 грамм. Опыты проводили с учетом принципов гуманного обращения с экспериментальными животными [6].

При определении $\text{Lim}_{\text{ch}}^{\text{integr}}$ соединение применяли в следующих дозах: $2,50 \times 10^{-4}$ мг/кг (I группа), $5,0 \times 10^{-5}$ мг/кг (II группа) и $1,0 \times 10^{-5}$ мг/кг (III группа); IV группа являлась контрольной. Условия воздействия Vx моделировали ежедневно 5 раз в неделю на

протяжении 4 месяцев [5]. Тестирование подопытных животных осуществляли ежемесячно, а также по окончании восстановительного периода (1 месяц). Эффективность действия Vx оценивали по комплексу тестов, отражающих состояние, как целостного организма, так и отдельных органов и систем [7-11].

Полученные экспериментальные данные подвергали обработке с применением методов вариационной статистики [12]. Для выявления вредного действия вещества использовали общепринятые статистические критерии, а также прием проведения параллелей между результатами физиологических, биохимических и морфологических исследований [13, 14]. Все зарегистрированные отклонения были статистически достоверны при $P \leq 0,05$.

Аналитический контроль за содержанием вещества Vx в смывах с поверхностей исследуемой ткани и кожных покровов животного осуществляли по соответствующим биохимическим методикам [15, 16].

Результаты и обсуждение. Результаты исследования длительного применения Vx в моделируемых условиях воздействия представлены в таблице.

Комплексная оценка полученных данных показала отсутствие ингибирования АХЭ эритроцитов во всех подопытных группах и на всех сроках тестирования.

Кроме того, следует отметить наличие определенной динамики изменений показателей при действии Vx в дозе $2,50 \times 10^{-4}$ мг/кг.

Так, для ЦНС была характерна смена процессов торможения и возбуждения, при этом на протяжении эксперимента менялся и спектр маркеров: через 1 месяц и по окончании восстановительного периода – спонтанные поведенческие реакции, а при втором и четвертом исследованиях – суммационно-пороговый показатель (СПП).

Реакция иммунной системы по завершении 1 месяца хронического опыта заключалась в повышении числа лейкоцитов и моноцитов, а также в снижении уровня иммуноглобулинов. В последующие сроки тестирования имело место ингибирование клеточного компонента (наличие лимфоцитопении), протекавшее на фоне эозинофилии.

Таблица – Статистически достоверные (при $P \leq 0,05$) изменения показателей подопытных белых крыс-♂♂ в моделируемых условиях длительного применения Vx на следующих уровнях: $2,50 \times 10^{-4}$ мг/кг (I группа) и $5,0 \times 10^{-5}$ мг/кг (II группа)

Показатели, единицы измерения	Срок тестирования	Группы животных		
		контроль	I группа	II группа
1	2	3	4	5
Масса тела, г	1 месяц	231,25±2,95	211,67±4,17**	215,0±6,56*
СПП, v	2 месяца	3,43±0,05	2,88±0,25**	2,63±0,21**
	4 месяца	2,31±0,10	3,21±0,11**	-
Горизонтальная активность	1 месяц	16,13±1,32	9,88±1,25*	-
Вертикальная активность	1 месяц	7,13±0,85	4,11±0,68*	-
	восст. пер.	4,02±0,48	6,43±0,90*	-
Суммарная активность	1 месяц	25,25±1,75	15,18±1,46**	-
	восст. пер.	16,38±1,06	21,71±1,57*	-
Гемоглобин, г/л	восст. пер.	165,00±3,14	153,51±3,91*	-
Эритроциты, $10^{12}/л$	4 месяца	4,66±0,06	4,38±0,11*	4,44±0,06*
	восст. пер.	5,01±0,04	5,14±0,02*	-
Лейкоциты, $10^9/л$	1 месяц	11,83±0,18	12,48±0,18*	-
Эозинофилы, %	2 месяца	4,51±0,73	7,25±0,49*	7,14±0,99*
	3 месяца	3,03±0,51	4,61±0,52*	5,00±0,61*
	4 месяца	4,01±0,65	6,38±0,63*	6,75±0,81*
	восст. пер.	3,13±0,69	5,33±0,70*	-
Моноциты, %	1 месяц	2,14±0,28	4,33±0,13**	3,29±0,42*
Лимфоциты, %	2 месяца	65,13±3,25	54,88±2,56*	-
	3 месяца	77,38±2,06	67,13±2,28*	-
	4 месяца	63,13±1,44	58,38±1,29*	-
Общий белок, мг/мл	2 месяца	78,06±0,99	74,85±0,85*	-
	4 месяца	78,13±1,77	85,50±0,99*	-
Мочевина, мМ/л	1 месяц	6,41±0,13	5,58±0,16**	5,45±0,31**
	2 месяца	5,86±0,17	4,71±0,18**	5,35±0,11*
	3 месяца	5,77±0,18	4,26±0,28**	4,93±0,19*
	4 месяца	5,96±0,08	6,30±0,04*	-
Глюкоза, мМ/л	2 месяца	5,91±0,11	4,91±0,09**	-
	3 месяца	5,29±0,11	6,29±0,19**	5,71±0,14*
ПВК, мкМ/л	2 месяца	83,52±3,52	70,41±2,74*	-
	4 месяца	72,04±1,78	64,99±2,42*	62,26±1,82*
МК, мМ/л	1 месяц	2,54±0,19	3,14±0,19*	-
	2 месяца	2,91±0,16	2,08±0,08*	2,22±0,17*
	3 месяца	2,73±0,11	2,07±0,17**	2,12±0,14*
МК/ПВК, усл. ед.	1 месяц	33,67±1,94	43,93±2,33*	-
	2 месяца	34,68±1,20	26,51±2,98**	28,85±2,29*
	3 месяца	36,79±1,34	27,33±3,46**	29,54±1,53*

Окончание таблицы

1	2	3	4	5
Иммуноглобулины, усл. ед.	1 месяц	10,40±1,85	5,07±0,61*	-
Печень	1 месяц	36,52±1,30	31,21±1,11*	-
Почки	1 месяц	6,13±0,21	5,42±0,20*	-
Примечания 1 “*” показатели, статистически значимо отличающиеся от контроля при $P \leq 0,05$ 2 “**” показатели, статистически значимо отличающиеся от контроля при $P \leq 0,05$ и выходящие за пределы физиологических колебаний ($M \pm 2\sigma$)				

О достаточно выраженном напряжении иммунитета свидетельствовали также гиперплазия вилочковой железы (1 и 3 месяцы) и повышенное количество гипертрофированных лимфоидных структур в стенках желудка и тонкого кишечника, которые наблюдали на протяжении всего эксперимента, а также по окончании восстановительного периода.

Изменения состава форменных элементов красной крови были зафиксированы только на завершающей стадии эксперимента: на четвертом месяце регистрировали уменьшение количества эритроцитов, а в восстановительном периоде – снижение уровня гемоглобина и эритроцитоз.

Длительное применение Vx в моделируемых условиях воздействия оказывало влияние, практически, и на все виды обмена веществ. В частности, нарушение липидного обмена заключалось в развитии жировой дистрофии гепатоцитов, регистрировавшейся на протяжении первых двух месяцев.

Отклонения в метаболизме протеинов характеризовались появлением белкового экссудата в просвете почечных канальцев (1 месяц), уменьшением содержания общего белка (через 2 месяца) и мочевины (с 1 по 3 месяцы) в крови. Следствием подавления белково-синтетической функции печени, очевидно, являются снижение через 1 месяц массы тела, а также относительной массы печени и почек [17]. На завершающей стадии эксперимента (4 месяц) имело место увеличение в сыворотке крови концентрации мочевины и общего белка.

По-видимому, структурные изменения в гепатоцитах повлекли за собой и отклонения в углеводном обмене. В течение 1 месяца воздействия Vx наблюдали

увеличение роли анаэробного пути утилизации глюкозы, поскольку содержание молочной кислоты в крови и соотношение МК/ПВК были повышенными. В последующем расщепление сахара происходило, преимущественно, по аэробному пути [18, 19].

Изложенная токсикодинамика вещества Vx свидетельствует о наличии определенных стадий в изменении состояния подопытных животных (фазы первичных реакций, фазы компенсации). Однако полного восстановления нарушенных функций не произошло, что позволило классифицировать данный уровень воздействия как действующий.

Применение Vx в дозе $5,0 \times 10^{-5}$ мг/кг характеризовалось влиянием вещества на ЦНС только в начальный период интоксикации (уменьшение СПП через 2 месяца).

Наиболее стойкими изменениями были снижение синтетической функции печени, так как падение уровня мочевины в крови наблюдали на протяжении 3-х месяцев, а также напряжение иммуногенеза, о чем, косвенно, свидетельствовали соотношение форменных элементов белой крови и морфоструктурные изменения в селезенке (1 и 2 месяца). Утилизация глюкозы происходила, преимущественно, по аэробному пути, так как содержание метаболитов углеводно-энергетического обмена, практически, на всем протяжении эксперимента было ниже нормы [18,19].

В целом, данный уровень воздействия Vx характеризовался меньшим (в сравнении с максимальной дозой) количеством прореагировавших тестов, в том числе и отвечающим общепринятым критериям вредного действия вещества.

Однако к проявлениям, свойственным Vx в обеих дозах, можно отнести снижение концентрации мочевины и лактата, а также эозинофилию, которые на протяжении хронического опыта были зарегистрированы неоднократно. Обращает на себя внимание и наличие стойкой лимфоцитопении при применении максимального уровня. По-видимому, данные показатели можно рассматривать в качестве маркеров хронической интоксикации O-изобутилдиэтиламиноэтилтиометилфосфонатом.

Аппликация ткани УНКЛ-3 с наименьшей плотностью заражения Vx ($1,25 \times 10^{-7}$ мг/см² или $1,0 \times 10^{-5}$ мг/кг) не вызвала каких-либо отклонений в состоянии подопытных особей.

Поскольку воздействие Vx на уровне $5,0 \times 10^{-5}$ мг/кг сопровождалось наименьшими и обратимыми проявлениями вредного действия, он был признан близким к пороговому. С учетом химико-аналитических исследований по определению остаточного количества

вещества на ткани и кожных покровах величина $\text{Lim}_{\text{ch}}^{\text{integr}}$ подверглась корректировке и составила $4,70 \times 10^{-5}$ мг/кг или $5,88 \times 10^{-7}$ см².

Опираясь на результаты настоящего исследования, а также на данные, полученные при изучении однократного действия Vx в моделируемых условиях применения [20], для перехода от $\text{Lim}_{\text{ch}}^{\text{integr}}$ к ПДУ был применен коэффициент запаса, равный 5. Учитывая среднюю массу тела и площадь кожных покровов человека ПДУ загрязнения СИЗ веществом Vx составил: $((4,70 \times 10^{-5} \text{ мг/кг} / 5) \times 70 \text{ кг}) / 16000 \text{ см}^2 = 4,1 \times 10^{-8} \text{ мг/см}^2$.

В связи с тем, что при аппликации зараженной ткани УНКЛ-3 и перкутанном воздействии Vx в дозах, соответствующих $\text{Lim}_{\text{ch}}^{\text{integr}}$, установлена, практически, полная идентичность токсикодинамики [21], представлялось целесообразным в качестве ПДУ загрязнения СИЗ веществом Vx использовать величину ПДУ для незащищенных кожных покровов, а именно $3,0 \times 10^{-8}$ мг/см².

Выводы.

1. В моделируемых условиях длительного применения Vx выявлена зависимость “доза-эффект”, позволившая определить $\text{Lim}_{\text{ch}}^{\text{integr}}$ на уровне $4,70 \times 10^{-5}$ мг/кг.

2. В качестве маркеров действия Vx при многократных накожных аппликациях зараженной ткани костюма Л-1 можно рассматривать стойкое снижение концентрации мочевины и молочной кислоты в сыворотке крови, а также наличие эозинофилии и лимфоцитопении.

3. Впервые установлена и утверждена в законодательном порядке (ГН 2.2.5.2219-07) величина ПДУ загрязнения СИЗ веществом Vx – $3,0 \times 10^{-8}$ мг/см².

Литература.

1. Методические рекомендации по эксплуатации средств индивидуальной защиты персонала объектов по уничтожению химического оружия: утв. и введены в действие Заместителем руководителя Федерального агентства по промышленности и Руководителем Федерального медико-биологического агентства 24.11.2006.

2. Постановление Правительства Российской Федерации от 21 марта 1996г. № 305 “Об утверждении Федеральной целевой программы “Уничтожение химического оружия в Российской Федерации”.

3. Федеральный закон Российской Федерации от 02 мая 1997г. № 76-ФЗ “Об уничтожении химического оружия”.

4. Программа исследований по разработке предельно допустимого уровня

загрязнения фосфорорганическими отравляющими веществами средств индивидуальной защиты персонала объектов по уничтожению химического оружия: утв. Главным государственным санитарным врачом по обслуживаемым организациям и обслуживаемым территориям ФМБА России 28.03. 2006.

5. Оценка воздействия вредных химических соединений на кожные покровы и обоснование предельно допустимых уровней загрязнения кожи (Методические указания): утв. Заместителем Главного государственного санитарного врача 01.11.79. – Рег. № 2102-79.

6. Приказ Минздрава России № 267 от 19 июня 2003 г. “Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных” (зарегистрировано в Минюсте РФ 25 июня 2003 г., регистрационный № 4809).

7. Иммунологические методы в гигиенических исследованиях / Под общ. ред. Э.Н. Шляхова. – Кишинев: Штиница, 1987. – С. 19-23.

8. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика: справочник в 2-х томах / Под ред. В.С. Камышникова. – Мн.: Интерпрессервис, 2003.

9. Меркулов, Г.А. Курс патогистологической техники / Г.А. Меркулов. – М.: Медицина, 1969. – 339 с.

10. Методические рекомендации по использованию поведенческих реакций в токсикологических исследованиях для целей гигиенического нормирования: утв. 14.04.80. – Рег. № 2166-80.

11. Сперанский, С.В. О преимуществах использования нарастающего тока при исследовании способности белых мышей к суммации подпороговых импульсов / С.В. Сперанский // Фармакология и токсикология. – 1965. – № 1. – С. 123-126.

12. Гланц, С. Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. / С. Гланц. – М.: Практика, 1999. – 459 с.

13. Методические указания к постановке исследований для обоснования санитарных стандартов вредных веществ в воздухе рабочей зоны: утв. Главным Государственным санитарным врачом СССР 04.04.80. – Рег. № 2163-80.

14. Саноцкий, И.В. Критерии вредности в гигиене и токсикологии при оценке опасности химических соединений / И.В. Саноцкий, И.П. Уланова. – М.: Медицина, 1975. – 328 с.

15. МУК Методика выполнения измерений содержания вещества Vx на

поверхности кожных покровов биохимическим методом. – Рег. № 4.1.020-2010.

16. МУК Методика измерений содержания вещества Vx на поверхности средств индивидуальной защиты биохимическим методом – Рег. № 4.1.047-2010.

17. Глашкина, Л.М. Оценка биохимических изменений у лабораторных животных при хроническом низкоуровневом воздействии отравляющего вещества типа RVx / Л.М. Глашкина [и др.] // III съезд токсикологов России: тезисы докладов. Москва, 2-5 декабря 2008 г. – М., 2008. – С. 78-79.

18. Городецкий, В.К. Патофизиология углеводного обмена / В.К. Городецкий. – Клиническая лабораторная диагностика. – 2006. – № 2. – С. 25-32.

19. Дементьева, И.И. Мониторинг концентрации лактата и кислородного статуса для диагностики и коррекции гипоксии у больных в критическом состоянии / И.И. Дементьева. – Клиническая лабораторная диагностика. – 2003. – № 3. – С. 25-32.

20. Фролова, И.Г. Параметры токсичности Vx в модифицированных условиях накожного воздействия / И.Г. Фролова, В.Е. Жуков // Токсикологический вестник. – 2009. – № 1. – С. 31-34.

21. Экспериментальное обоснование предельно допустимого уровня загрязнения кожи веществом Vx: отчет о НИР (заключит.) / ФГУП “НИИГТП”; рук. В.Г. Кирюхин; исполн.: А.А. Масленников [и др.]. – Волгоград, 2002. – 67 с.