

ASSESSMENT OF THE TOXICITY OF DISHWASHING DETERGENTS FOR THE TREATMENT OF CHILDREN'S WARES ON THE SPERMATOZOID TEST-CULTURE

Yalovenko O., Raietska O., Golichenkov O., Liashenko V., Kondratenko O., Kushch M., Spaska Y., Kucherenko O., Umanets G.

ОЦІНКА ТОКСИЧНОСТІ ЗАСОБІВ ДЛЯ МИТТЯ ПОСУДУ, ПРИЗНАЧЕНИХ ДЛЯ ОБРОБКИ ВИРОБІВ ДЛЯ ДІТЕЙ, НА ТЕСТ-КУЛЬТУРІ СПЕРМАТОЗОЇДІВ

Токсикологічні випробування продукції посідають важливе місце в оцінці ризиків впливу екзогенних сполук на здоров'я людини. Разом з класичними випробуваннями на тваринах усе більше використовуються альтернативні методи. Мотивацій до впровадження альтернативних методів виділяють декілька: по-перше, етичні (гуманне ставлення до тварин, сумнівна необхідність у деяких випадках дослідів на тваринах), по-друге – необхідність здешевлення випробувань, скорочення часу їх проведення [1]. Через недосконалість сучасних альтернативних моделей і неможливість цілком відмовитися від досліджень на тваринах єдиний можливий шлях модернізувати стратегію оцінки безпеки без втрати науково-обґрунтованих доказів визначення рівня токсичності засобу є створення комплексної стратегії оцінки безпеки з використанням скринінгових альтернативних моделей та/або розрахунку токсичності методів і традиційних токсикологічних досліджень.

Метою роботи було визначення інформативності і доцільності використання експрес-методу випробування токсичності продукції на культурі рухливих клітин (сперматозоїдів) при застосуванні у програмі оцінки безпеки засобів для миття посуду, призначених для догляду за дитячими виробами.

Матеріали та методи досліджень. Матеріали досліджень – засоби для миття посуду та мила господарчі, призначені для очищення дитячих виробів, придбаних у торговельній мережі м. Києва, або експериментальні зразки засобу, надані виробником; лабораторні тварини (статевозрілі щури та морські свинки), короткотривала суспензійна

культура рухливих клітин (сперматозоїдів бика).

Для дослідження токсичної дії засобів на скринінговому етапі обрано експрес-метод визначення загальнотоксичної та шкірно-подразнювальної дії *in vitro* біотестуванням на культурі сперматозоїдів бика згідно з методичними рекомендаціями «Оценка токсичности товаров бытовой химии. Экспрес-метод оценки токсичности моющих средств с использованием в качестве тест-объектов спермы рогатого скота: МР № 29 ФЦ/4746» [2]. Тестування продукції за цим методом проводиться з застосуванням специфічного обладнання – аналізатора токсичності АТ-05. Методичні рекомендації (МР № 29 ФЦ/4746) [2] входять до обов'язкового комплексу інструкції з застосування приладу-системи – аналізатора токсичності АТ-05, який надається виробником, і визначають порядок проведення випробувань таких товарів побутової хімії (ТБХ), як синтетичні мийні засоби, засоби, що використовуються для обробки посуду, іншого інвентарю та обладнання, які мають контакт з харчовими продуктами та слизовою оболонкою ротової порожнини. Згідно з МР № 29 ФЦ/4746 у випробуваннях з використанням тест-культури сперматозоїдів бика на аналізаторі токсичності АТ-05 визначають сумарний індекс токсичності витяжки засобів (I_t^s) у концентрації 0,04%:

$$I_t^s = S_{\text{ср. дослід.}} / S_{\text{ср. контр.}} \cdot 100\%$$

де $S_{\text{ср. дослід.}}$ – середнє арифметичне значення сумарної рухової активності сперматозоїдів у досліді; $S_{\text{ср. контр.}}$ – середнє арифметичне значення сумарної рухової активності сперматозоїдів у контролі [2].

Дослідження базових токсикологічних параметрів: гострої токсичності при введенні у

шлунок, нанесенні на шкіру та шкірно-подразнювальної дії проводили на щурах та морських свинках відповідно до вимог [3, 4].

Результати досліджень та їх обговорення. Використання як тест-об'єкта клітин ссавців та наявність нормативних значень індексу токсичності представляють разом достатню умову для отримання за допомогою альтернативного методу результатів, які мають високу токсиколого-гігієнічну значимість. Цей метод було розроблено російськими науковцями. Нині його стандартизовано, валідовано і сертифіковано у Російській Федерації. Він поширений у державній експертизі на рівні Держсанепіднагляду Росії. Його характеризує висока технологічність та низька собівартість. Перевагою методу є те, що у ньому використовується тест-об'єкт короткочасної суспензійної культури клітин, для збереження якої немає потреби підтримувати стерильні умови та застосовувати технології довготривалої підтримки культури, внаслідок чого різко знижується трудомісткість та вартість випробувань.

Особливо спрощує ситуацію застосування як тест-об'єкта сперми бика, яка повсюдно використовується для запліднення тварин, що забезпечує методу не тільки його дешевизну, а й доступність. Крім того, культура зручна у зберіганні (рідкий азот) та транспортуванні. Чутливість цього методу достатня для оцінки загальної токсичності і місцево-подразнювальної дії матеріалів та виробів найширшого спектра, що доведено науковцями [5].

У попередніх роботах нами було проведено порівняльний аналіз цитотоксичної дії деяких найпоширеніших ПАР (аніонних ПАР – лаурилсульфату натрію, лауретсульфату натрію, натрієвої солі поліетоксисульфосукцинату; амфотерних ПАР – динатрій кокамфодіацетату, алкілдиметилбетаїну, кокамідопропілбетаїну, натрієвої солі n-пальметилглютамінової кислоти; неіоногенних ПАР – кокоглюкозиду, діетаноламідів жирних кислот кокосового масла), що використовуються як діючі речовини у засобах побутової хімії та косметичі, на сперматозоїди у культурі *in vitro* та визначено індекс токсичності водних розчинів цих ПАР [6].

Аналіз отриманих результатів досліджень 0,04% водних розчинів ПАР показав, що їхній індекс токсичності (I_t^s) < 70%. Це означає, що усі вони є токсичними речовинами для живих клітин, клас небезпеки їх може бути нижчим за 4 згідно з ГОСТ 12.1.007 «СБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности», і вони можуть спричинити шкірно-подразнювальну дію. За методичними рекомендаціями (МР № 29 ФЦ/4746), це означає, що усі речовини мають далі бути направлені на розширені токсикологічні дослідження, під час проведення яких було доведено, що вищеназвані ПАР належать до 3 або 4 класу

Таблиця
Індекс токсичності
нормативних водних
розчинів засобів побутової
хімії, призначених для
обробки виробів для дітей

Скорочена назва засобу	Сумарний індекс токсичності (I_t^s) водних розчинів засобів 0,04% концентрацій, %
«ЕКО 202»	125,8*
«ЕКО 795»	94,2
3 «ЕКО 875»	121,7*
«Biosphere 653 (200)»	103,9
«Biosphere 840»	96,6
«Biosphere 839»	76,9
«Biosphere 841 (895)»	103,8
«Фрекен Бок 201»	116,3
«Де Ла Марк»	83,3
«Нейчез Саншайн»	70,4
«Фрекен Бок Бальзам з олією ромашки»	119,6
«Карапуз ромашка»	114,4
«Ушастый нянь»	88,1
«Органічний 199»	110,6
«Аленка»	150,0*
«Біо няня»	124,1*
«БІОПЛАНТ»	127,1*
«Frosch baby»	143,3*
«Sonett»	101,3
«Чистий дім»	98,2
Мило «Друг»	72,0
Мило «Clean & White»	100,0
Мило «Кроха»	70,0

Примітка: індекс токсичності виходить за межі нормативу ($I_t^s < 70\%$ або $I_t^s > 120\%$).

небезпеки у разі введення у шлунок, у концентрованому стані можуть подразнювати шкіру [2]. Тобто ймовірність загальнотоксичної та шкірно-подразнювальної дії продукції на основі ПАР виключити неможливо.

Засоби для миття посуду, призначені для обробки виробів для дітей, містять комбінацію зазначених вище синтетичних ПАР, структуроутворювачів, корисних добавок у водному розчині. До складу мил господарчих входять натрієві солі жирних кислот рослинного чи тваринного походження (природні АПАР) та інші допоміжні компоненти. Загальна кількість синтетичних ПАР у складі зазначених засобів для миття посуду – до 15%, жирних кислот у милах – до 72%. Інші речовини використовуються у концентраціях, в яких їхній можливий подразнювальний потенціал (якщо такий є) не проявляється. Враховуючи те, що концентрація ПАР у складі засобів достатня для спричинення високої токсичної дії на живі клітини, тобто засоби належать до таких, які можуть проявляти значну цитотоксичну дію, дослідження було проведено на нормативних розведеннях розчинів згідно з МР № 29 ФЦ/4746 (1 : 2500). Це нормативне розведення визначене експериментально авторами методу і означає мінімальні розведення розчину, за яких залежно від відхиленя у той чи інший бік від попередньо обраного значення індексу токсичності (нормативного значення) розчин може бути визнаний нетоксичним [5]. Отримання значень при тестуванні продукції у межах нормативу дозволяє у наступних випробуваннях робити прогноз токсичної дії, не проводячи досліди на тваринах. Усі дослідження індексу токсичності засобів побутової хімії, призначених для миття виробів для дітей, біотестуванням *in vitro* методом оцінки з застосуванням культури сперматозоїдів бика було проведено за суворого додержання рекомендацій МР № 29 ФЦ/4746.

Отримані результати досліджень представлено у таблиці.

Оцінка рівня токсичності досліджених мийних засобів згідно з МР № 29 ФЦ/4746 проводиться шляхом порівняння отриманого результату індексу токсичності для досліджуваного зразка та допустимого інтерва-

лу індексу токсичності. Авторами методичних рекомендацій експериментально доведено, що індекс токсичності водних розчинів засобів в інтервалі від 70% до 120% свідчить про те, що мийний засіб не спричиняє загальнотоксичної та шкірно-подразнювальної дії з додержанням умов використання згідно з інструкцією та відповідає гігієнічним вимогам до мийних засобів.

Аналіз отриманих результатів досліджень показав, що 17 засобів мають індекс токсичності в інтервалі $70\% < (I_t^s) < 120\%$, тобто його значення цілком відповідають нормативному інтервалу. Це означає, що на основі проведених досліджень скринінговим методом можна стверджувати, що ці засоби не спричиняють загальнотоксичної та шкірно-подразнювальної дії у разі додержання умов застосування згідно з інструкцією і за цими показниками відповідають гігієнічним вимогам до мийних засобів. При дослідженні 6 з 23 засобів («ЕКО 202», «ЕКО 875», «Аленка», «Біо няня», «Frosch baby», «БІОПЛАНТ») отримано значення показника індекс токсичності $> 120\%$, що свідчить про необхідність подальших додаткових досліджень зазначених засобів на тваринах для уточнення значень показників гострої токсичності у разі введення у шлунок, нанесення на шкіру та шкірно-подразнювальної дії.

Класичні токсикологічні дослідження на ссавцях з оцінки трьох базових токсикологічних параметрів: LD_{50} при введенні у шлунок, LD_{50} при нанесенні на шкіру, шкірно-подразнювальна дія з одноразовим нанесенням у дозі 20 мг/см² показали, що «ЕКО 202», «ЕКО 875», «Аленка», «Біо няня», «Frosch baby», «БІОПЛАНТ» теж належать до групи засобів 4 класу небезпеки у разі введення у шлунок та нанесення на шкіру згідно з ГОСТ 12.1.007 та не спричиняють шкірно-подразнювальної дії за одноразового нанесення.

Висновки

1. За аналізом результатів досліджень альтернативним (*in vitro*) та традиційними токсикологічними (*in vivo*) методами можна зробити висновок, що усі досліджені 23 засоби побутової хімії, призначені для догляду за виробами для дітей, належать до 4 класу небезпеки у разі вве-

ASSESSMENT OF THE TOXICITY OF DISHWASHING DETERGENTS FOR THE TREATMENT OF CHILDREN'S WARES ON THE SPERMATOZOID TEST-CULTURE
Yalovenko O., Raietska O., Golichenkov O., Liashenko V., Kondratenko O., Kushch M., Spaska Y., Kucherenko O., Umanets G.
 State Institution «O.M. Marzieiev Institute for Public Health, National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv

Objectives: We determined the informativeness and feasibility of the use of rapid method for the testing of the toxicity of the products on the culture of motile cells (spermatozooids) at the use in the program for the assessment of the safety of dishwashing detergents for the treatment of children's wares.

Materials and methods: In the investigation we used 23 dishwashing detergents for the treatment of the children's wares, outbred rats, guinea pigs, bull spermatozoid culture. Methods: alternative – express method for the toxicity assessment with a use of bull spermatozooids as a test object; classical – an assessment of acute toxicity at the injection into the stomach, application on the skin, skin irritating effect.

Results and discussion: It was established in the in

vitro investigations that the 17 detergents of the 23 ones have a toxicity index in the range of $70\% < (I_t^s) < 120\%$, i.e. don't manifest general toxic and skin-irritating effects. For the 6 detergents, $I_t^s > 120\%$. The hazard class (hazard class 4) and the absence of skin irritating effect at a single application on the skin of these 6 detergents were established in the investigation by the classical methods on the animals.

Conclusions: All the studied agents belong to the 4th hazard class and do not have the skin irritating effect at a single application on the skin. The basic toxicological parameters (acute toxicity when injected into the stomach, application on the skin, and skin irritating effect) of the 17 studied agents of the 23 ones were determined without testing on the laboratory animals with the help of the in vitro method (on a bull spermatozoid culture), which indicates the feasibility of the use of this method at the screening stage in the examination of the safety of dishwashing detergents for the treatment of children's wares.

Keywords: dishwashing detergents, wares for children, method on the culture of spermatozoa of bull, toxicity assessment, safety.

дення у шлунок та нанесення на шкіру згідно з ГОСТ 12.1.007, тобто за дослідженими показниками належать до однієї групи небезпеки.

2. Базові токсикологічні параметри (гостра токсичність за введення у шлунок, нанесення на шкіру та шкірноподрознювальна дія за одноразового нанесення) 17 з 23 досліджених засобів визначено на скринінговому етапі випробування альтернативним методом з використанням тест-об'єкта сперми великої рогатої худоби.

3. Використання скринінгового методу дозволяє значно скоротити об'єм досліджень на тваринах групи засобів побутової хімії, призначених для догляду за виробами для дітей, тому його доцільно застосовувати в експертизі продукції цієї групи.

ЛІТЕРАТУРА

1. Лебедева А.М., Гиндюк Н.Т., Михнович Э.М. Новые парадигмы оценки токсичности химических веществ. *Здоровье и окружающая среда*. 2015. Т. 2, № 25. С. 116-119.

2. Оценка токсичности товаров бытовой химии. Экспресс-метод оценки токсичности моющих средств с использованием в качестве тест-объекта спермы крупного рогатого скота : метод. рек. МР 29 ФЦ/4746 / Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава Российской Федерации. М., 2002. 8 с.

3. К постановке исследования для обоснования санитарных стандартов вредных

веществ в воздухе рабочей зоны : метод. указания МУ 2163-80 / Минздрав СССР. Москва, 1980. 21 с.

4. Оценка воздействия вредных химических соединений на кожные покровы и обоснование предельно-допустимых уровней загрязнения кожи : методические указания МУ 2102-79. Москва, 1979. 23 с.

5. Есков А.П., Каюмов Р.И., Соколов А.Е. Токсикологические испытания. Альтернативные методы. *Токсикологический вестник*. 2003. № 5. С. 25-28.

6. Яловенко О.І., Раецька О.В., Голіченков О.М., Бабій В.Ф., Кондратенко О.Є., Пімушина М.В. Оцінка токсичності поверхнево-активних речовин на культурі рухливих клітин. *Довкілля та здоров'я*. 2014. № 3 (70). С. 15-18.

REFERENCES

1. Lebedeva A.M., Gindiuk N.T., Mikhnovich E.M. *Zdorovie I okruzhayushchaia sreda*. 2015 ; 2 (25) : 116-119 (in Russian).

2. Federalnyi tseentr Gossanepidnadzora Ministerstva Zdravookhraneniya Rossiyskoy Federatsii. Otsenka toksichnosti tovarov bytovoi khimii. Ekspress-metod otsenki toksichnosti moyushchikh sredstv s ispolzovaniem v kachestve test-obekta spermy krupnogo rogatogo skota : metodicheskoe rekomendatsii MR 29 FTs/4746 [Federal Center for Sanitary and Epidemiological Surveillance of the Ministry of Public Health of the Russian Federation. Assessment of the

Toxicity of Household Chemicals. Express Method for the Assessment of the Toxicity of the Detergents Using Cattle Sperm as a Test Object: Guidelines MR 29 FTs / 4746]. Moscow ; 2002 : 8 p. (in Russian).

3. К постановке исследования для обоснования санитарных стандартов вредных веществ в воздухе рабочей зоны : методические указания МУ 2163-80 [For the Formulation of the Investigations to Rationalize the Sanitary Standards of Harmful Substances in the Air of the Working Area: Methodical Guidelines MG 2163-80]. Moscow ; 1980 : 21 p. (in Russian).

4. Otsenka vozdeystviya vrednykh khimicheskikh soedineniy na kozhnye pokrovy I obosnovanie predelno-dopustimyykh urovnei zagriazneniya kozhy: metodicheskieskie ukazaniya MU 2102-79 [Assessment of the Effects of Harmful Chemical Compounds on the Skin and Rationalization of Maximum Allowable Levels of Skin Contamination: Methodical Guidelines MG 2102-79]. Moscow ; 1979 : 23 p. (in Russian).

5. Eskov A.P., Kayumov R.I. and Sokolov A.E. *Toksikologicheskii vestnik*. 2003 ; 5 : 25-28 (in Russian).

6. Yalovenko O.I., Raietska O.V., Holichenkov O.M., Babii V.F., Kondratenko O.Ye. and Pimushyna M.V. *Dovkillia ta zdorovia*. 2014 ; 3 (70) : 15-18 (in Ukrainian).

Надійшла до редакції 24.08.2019