

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

«УТВЕРЖДАЮ»
Заместитель Министра
здравоохранения – Главный
государственный санитарный
врач Республики Беларусь

Н.П.Жукова
«*Н.П. Жукова*» 2019 г.
Регистрационный № 017-1118



МЕТОД ГИГИЕНИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ СРЕДСТВ ЗАЩИТЫ
РАСТЕНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИНДИКАТОРНЫХ ТЕСТОВ

Инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: Республиканское унитарное
предприятие «Научно-практический центр гигиены»
АВТОРЫ: к.м.н. Ильюкова И.И., к.м.н. Юркевич Е.С., Попель А.А.,
Лисовская Г.В., Сергейчик Е.А.

Минск, 2019

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ
Заместитель министра —
Главный государственный
санитарный врач
Республики Беларусь

_____ Н. П. Жукова
23.04.2019
Регистрационный № 017-1118

**МЕТОД ГИГИЕНИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ СРЕДСТВ ЗАЩИТЫ
РАСТЕНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИНДИКАТОРНЫХ ТЕСТОВ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: РУП «Научно-практический центр
гигиены»

АВТОРЫ: канд. мед. наук И. И. Ильюкова, канд. мед. наук Е. С. Юркевич,
А. А. Штурич, Г. В. Лисовская, Е. А. Сергейчик

Минск 2019

ГЛАВА 1 НАЗНАЧЕНИЕ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

1. В настоящей инструкции по применению (далее — инструкция) изложен метод гигиенической оценки средств защиты растений с использованием индикаторных тестов, который может быть использован для токсикологической оценки и обоснования недействующих доз средств защиты растений с целью нормирования в объектах среды обитания и гигиенической регламентации, и направлен на профилактику неблагоприятного воздействия пестицидов/средств защиты растений на здоровье человека.

2. Настоящая инструкция предназначена для организаций (учреждений), осуществляющих государственный санитарный надзор.

ГЛАВА 2 ИНДИКАТОРНЫЕ ТЕСТЫ. БИОМАРКЕРЫ СПЕЦИФИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ

1. Метод индикаторных тестов базируется на перечне основных химических групп пестицидов, применяемых в республике, и характерных для данных групп тестов (биохимических, клинических), с указанием уровней колебаний значений как в сторону увеличения, так и снижения изучаемых показателей, наиболее вероятных сроков их определения, а также перечне других соматических заболеваний, имеющих подобные биохимические сдвиги в организме человека, с которыми необходимо проводить дифференциальную диагностику отравлений химической этиологии.

2. Перечень тестов основан на вызываемых некоторыми химическими группами пестицидов характерных изменениях клинических и биохимических показателей работы органов и систем организма человека (приложения 1–2).

3. Характеристика используемых индикаторных тестов

3.1. Фосфорорганические соединения (ФОС):

- угнетение эстеразных ферментов (ХЭ);
- повышение содержания гемоглобина;
- снижение уровня метгемоглобина;
- появление телец Гейнца.

3.2. Хлорорганические соединения (ХОС):

- блокирование SH-группы тканевых белков
- нарушение биосинтеза белка

3.3. Ртутьорганические соединения (РОС):

- блокирование SH-групп клеточных белков;
- наличие в моче и других биосредах.

3.4. Производные карбаминовой, тиокарбаминовой кислот:

- обратимые изменения ХЭ.

3.5. Производные дитиокарбаминовой кислоты:

- уменьшение количества эритроцитов;
- снижение уровня гемоглобина;

- уменьшение количества ретикулоцитов;
- снижение уровня лейкоцитов и эозинофилов;
- уменьшение содержания сульфгидрильных групп в сыворотке и цельной крови.

3.6. Производные хлорфенилуксусной, хлорфеноксимасяной, пропионовой и бензойной кислот:

- нарушение процессов фосфорилирования;
- сдвиги углеводного обмена;
- угнетение тканевого дыхания.

3.7. Производные мочевины и гуанидина:

- снижение содержания гемоглобина (%);
- уменьшение количества эритроцитов;
- снижение содержания аскарбиновой кислоты в печени и почках;
- уменьшение SH-групп белков;
- ↓снижение активности сывороточной оксидазы.

3.8. Мышьяксодержащие соединения:

- мышьяк в крови;
- мышьяк в кале;
- мышьяк в моче;
- мышьяк в волосах;
- мышьяк в костях.

3.9. Соединения меди:

- медь в сыворотке крови, печени;
- уменьшение уровня SH-групп крови;
- снижение содержания аскорбиновой кислоты в печени и надпочечниках;
- уменьшение количества гемоглобина;
- лейкоцитоз;
- эозинофилия.

3.10. Препараты серы:

- гемолиз;
- билирубин в плазме и моче;
- белок в моче.

3.11. Циановые и родановые соединения:

- белок в моче;
- метгемоглобин;
- уменьшение количества эритроцитов и гемоглобина;
- появление ретикулоцитов и телец Гейнца.

3.12. Углеводороды и их производные:

- снижение уровня SH-белков;
- уменьшение содержания низкомолекулярных соединений в крови.

3.13. Альдегиды и их производные:

- увеличение количества эритроцитов;
- повышение уровня гемоглобина;
- рост активности трансаминаз;
- снижение активности альдолаз;

- повышение содержания нуклеиновых кислот.

3.14. Гетероциклические соединения:

- уменьшение содержания гемоглобина;
- снижение содержания альбуминов в крови;
- увеличение уровня глобулинов;
- снижение протромбинового индекса.

3.15. Нитро- и галоидопроизводные фенола и др.

- снижение содержания эритроцитов;
- уменьшение уровня гемоглобина;
- ретикулоцитоз.

3.16. Производные фосфоновых кислот:

- снижение активности холинэстеразы крови.

ГЛАВА 3

ИНДИКАТОРНЫЕ ТЕСТЫ. БИОМАРКЕРЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ

1. Перечень рекомендуемых биологических маркеров неспецифического действия разработан с помощью анализа основных компонентов препаративных форм средств защиты растений, в которых помимо действующего вещества большую часть препаративной формы составляют органические растворители и консерванты (приложение 3).

2. В качестве дополнительных (неспецифических) индикаторов токсического действия на состояние здоровья организма и/или отдельных органов и систем используют стандартный набор клинических анализов крови (общий анализ крови и мочи, лейкограмма и др.).

Приложение 1
к инструкции по применению
«Метод гигиенической оценки средств
защиты растений с использованием
индикаторных тестов»
Рекомендуемое

**НЕКОТОРЫЕ ПАРАМЕТРЫ МЕТОДИК ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИЗУЧАЕМЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ
В БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТАХ**

Определяемый показатель	Метрологические параметры				
	Принцип метода	Условия измерения	Вычисление/ Диапазон измерения	Референтные пределы	Примечания
Активность холинэстеразы в сыворотке, плазме – снижение – повышение	Специфический субстрат — бутирилтиохолин. ХЭ катализирует гидролиз бутирилтиохолина с образованием бутирата и тиохолина. Тиохолин восстанавливает железо (III) в гексацианоферрате до (II). Снижение оптической плотности раствора прямо пропорционально активности ХЭ в пробе	Длина волны — 405 нм Оптический путь — 1 см Температура 37 °С Измерение: кинетическое, реакция уменьшением оптической плотности	Расчет активности ХЭ: Активность ХЭ Е/л (37 °С) = (АА/30 среднее пробы — АА/30 среднее бланка) x 131,6x10 ³ Диапазон измерений: 160–25 000 Е/л	Взрослые (37 °С): Мужчины: 5 100–11 700 Е/л Женщины: 4 000–12 600 Е/л	Присутствие в пробе гемоглобина в концентрации до 5,0 г/л, билирубина в концентрации до 342 мкмоль/л и триглицеридов в концентрации до 8,6 ммоль/л оказывает незначительное влияние на результат (интерференция не более 5 %). Повышение активности сывороточной холинэстеразы отмечено при хроническом Гентингтона, сосудистомозговых заболеваниях, заболеваниях почек, ожирении. Снижение активности наблюдается при ревматизме, инфаркте миокарда, вегетативных кризах, гипотиреозе, заболеваниях печени

Продолжение таблицы

<p>Гемоглобин – снижение – увеличение</p>	<p>Унифицированный гемиглобинцианидный метод Гемоглобин окисляют в метгемоглобин (гемиглобин) железосинеродистым калием (красная кровяная соль); образующийся с ацетонциангидрином окрашенный цианметгемоглобин (гемиглобинцианид) определяют колориметрически</p>	<p>Содержание гемоглобина минимально утром и максимально вечером. Значимым изменением уровня гемоглобина считается 15 г/л или более</p>	<p>Расчет по формуле: $Hb (г/л) = E_{оп}/E_{ст.} \times C \times K \times 0,01$, где $E_{оп}$ — экстинкция опытной пробы; $E_{ст.}$ — экстинкция стандартного раствора; C — концентрация гемиглобинцианида в стандартном растворе, мг/100мл; K — коэффициент разведения крови; 0,01 — коэффициент для пересчета в г/л</p>	<p>У здоровых людей концентрация гемоглобина в крови составляет: у мужчин — 13,2–16,4 г/100 мл (132–164 г/л в международной системе единиц — СИ) у женщин — 11,5–14,5 г/100 мл (115–145 г/л)</p>	<p>Дифференциацию производных гемоглобина проводят спектроскопически. Повышение концентрации гемоглобина в крови может наблюдаться при миелопролиферативных заболеваниях (эритремии) и симптоматических эритроцитозах, сопутствующих различным состояниям. Снижение концентрации гемоглобина в крови является основным лабораторным симптомом анемии, характерно для острой кровопотери, гипопластической анемии, гемолитической анемии в стадии гемолитического криза, рецидива V_{12}-дефицитной анемии</p>
<p>Появление телец Гейнца</p>	<p>В основе образования телец Гейнца лежит окисление или блокада двух реактивных тиоловых групп глобина при условии, что превращение феррогема в ферригем (т. е. переход гемоглобина в метгемоглобин) значительно повышает вероятность окисления тиоловых групп глобина, а следовательно, и денатурированного пигмента</p>	<p>Тельца Гейнца появляются при отравлении метгемоглобинизирующими веществами, в случаях неустойчивого гемоглобина и при отдельных энзимопатиях</p>	<p>Тельца Гейнца появляются при отравлении метгемоглобинизирующими веществами, в случаях неустойчивого гемоглобина и при отдельных энзимопатиях</p>	<p>В нормальных эритроцитах количество телец составляет от 1 до 4. При патологии количество телец составляет 5 и более</p>	<p>Гейнца — Эрлиха тельца (R. Heinz, 1865–1924, нем. патолог); P. Ehrlich, 1854–1915, нем. ученый; син. Эрлиха тельца) — округлые эозинфильные (при окраске по Романовскому — Гимзе) или темно-фиолетовые (при окраске по Маю — Грюнвальду) включения, обнаруживаемые в зрелых эритроцитах при метгемоглобинемии</p>

Продолжение таблицы

					Тельца Гейнца появляются при передозировке сульфаниламидов, при отравлении анилиновыми красителями, при дефиците других ферментов (глутатионредуктазы, 6-фосфоглюконатдегидрогеназы), у носителей нестабильных гемоглобинов
SH-группы тканевых белков – снижение – увеличение	Реакция тиолдисульфидного обмена, в ходе которой высвобождается анион 2-нитро-5-тиобензоата. Коэффициент молярной экстинкции 2-нитро-5-тиобензоата зависит от pH. Данный метод может использоваться для определения количества сульфгидрильных групп в низкомолекулярных тиолах, нативных и денатурированных белках	Длина волны — 412 нм Значения pH -8,0–9,0 $\epsilon_{412} = 14\ 000$ М ⁻¹ см ⁻¹	Содержание тиоловых групп находят по формуле: $C_0 = A/\epsilon \times D$, где C_0 — искомая концентрация SH-групп (моль/л); A — прирост оптической плотности опытной пробы за время, достаточное для завершения реакции; ϵ — коэффициент молярной экстинкции ТНФР ($\epsilon=11\ 400$); D — фактор разведения		Для тепловой денатурации белков особенно характерно увеличение реактивности SH-групп

Продолжение таблицы

<p>Нарушение биосинтеза белка</p>	<p>Пептидная связь в щелочной среде образует с медью комплексное соединение (биуретовая реакция). Интенсивность развивающегося сине-фиолетового окрашивания пропорциональна содержанию белка</p>	<p>Время выдержки 15 мин. Измеряют оптическую плотность проб против воды на ФЭК при длине волны 540 нм</p>	<p>Концентрация белка, г/л = $E_{оп}/E_{ст} \times C_{ст}$, где $E_{оп}$ и $E_{ст}$ — оптическая плотность опытной и стандартной проб, $C_{ст}$ — концентрация белка стандартной пробе</p>	<p>В сыворотке крови у детей от 1 года до 3 лет — 54–85 г/л, у старших детей и взрослых — 65–85 г/л</p>	<p>Нарушения белкового обмена наблюдается при низкой биологической ценности пищевых белков, дефиците незаменимых аминокислот. При расстройстве переваривания и всасывания белковых продуктов (гастроэнтерите, язвенном колите), повышенном распаде белка в тканях (стрессе, инфекционных болезнях), усиленной потере эндогенных белков (кровопотерях, нефрозе, травмах), нарушении синтеза белка (гепатитах), белковой недостаточности с характерным отрицательным азотистым балансом</p>
<p>Количество эритроцитов — снижение — увеличение</p>	<p>Подсчет эритроцитов под микроскопом в определенном количестве квадратов счетной сетки и пересчет на 1 мкл крови, исходя из объема квадратов и разведения крови</p>	<p>Расчет эритроцитов производится в ближайшие 2–3 ч после взятия крови, а при гемолитических и В₁₂-дефицитных анемиях — сразу после взятия, так как эритроциты могут разрушиться</p>	<p>Расчет количества эритроцитов в 1 мкл крови производят, исходя из разведения крови (200), числа сосчитанных квадратов (80) и объема 1 малого квадрата (1/4 000 мкл), по следующей формуле: $X = a \times 4000 \times 200 / 80$,</p>	<p>Количество эритроцитов в крови составляет 4 - 5,1 x 10⁶ в 1 мкл (4 - 5,1 x 10¹²/л) у мужчин и 3,7 - 4,7 x 10⁶ в 1 мкл (или 3,7 - 4,7 x 10¹²/л) у женщин</p>	<p>Снижение числа эритроцитов в крови наблюдается при анемии, острой кровопотере, В₁₂-дефицитной анемии (в стадии рецидива), гипопластической анемии, гемолитических анемиях (в период криза). Повышение — эритремия, абсолютный эритроцитоз сопутствуют хроническим обструктивным заболеваниям легких, врожденным порокам сердца, первичной легочной гипертензии, синдрому Пиквика, наследственным гемоглобинопатиям,</p>

Продолжение таблицы

			где X — число эритроцитов в 1 мкл крови; а — число сосчитанных эритроцитов. В результате сокращения $X = a \times 10\,000$		гипернефроидному раку, гемангиобластоме мозжечка, гепатоме, гормонально активным опухолям, заболеваниям, сопровождающимся стенозом почечных артерий, заболеваниям ЦНС
Метгемоглобин	Метгемоглобин образуется в результате реакции окисления железа в геме гемоглобина. При интоксикации анилином, нитро- и динитробензолом, бертолетовой солью и другими соединениями, способными окислять железо гемоглобина, происходит образование метгемоглобина с переходом железа из двух- в трехвалентное его соединение. Качественная реакция на метгемоглобин осуществляется при помощи спектрального анализа	Длина волны — 600 нм	Расчет производится по формуле: где X % — концентрация метгемоглобина в исследуемой крови; Дкр — оптическая плотность исследуемого раствора при 600 нм; Дhb02 — остаточное светопоглощение оксигемоглобина раствора крови, использованной для калибровки при 600 нм (0,1481)	Уровень метгемоглобина у здорового человека не превышает 1 % по отношению ко всему гемоглобину крови	Диагностическими признаками массивного метгемоглинообразования является коричнево-черное окрашивание мочи, а также появление в ней белка

Продолжение таблицы

<p>Снижение количества ретикулоцитов</p>	<p>Унифицированный метод подсчета количества ретикулоцитов после окраски их бриллиантовым крезильным синим, азуром I или II непосредственно на стекле или в пробирке. Суправитальная окраска красителями, выявляющими зернистонитчатую субстанцию ретикулоцитов</p>	<p>Хранение красителей в посуде из темного стекла</p>	<p>В мазках эритроциты окрашены в желтовато-зеленоватый цвет, зернисто нитчатая субстанция — в синий или синевато-фиолетовый цвет</p>	<p>В норме число ретикулоцитов составляет 2–12⁰/₁₀₀, или 0,2–1,2 %</p>	<p>Снижение количества ретикулоцитов характерно для гипопластической анемии, редицива анемии Аддисона–Бирмера</p>
<p>Снижение количества лейкоцитов</p>	<p>Подсчет лейкоцитов под микроскопом в определенном количестве квадратов счетной сетки и пересчет на 1 мкл крови (или 1 л по системе СИ), исходя из объема квадратов и разведения крови</p>	<p>Допускается счет лейкоцитов не более чем через 2–4 ч после взятия крови</p>	<p>Расчет числа лейкоцитов производят, исходя из разведения крови (20), числа сосчитанных квадратов (100) и объема одного большого квадрата $X = a \times 250 \times 20/100$, т. е. $X = a \times 50$, где X — число лейкоцитов в 1 мкл крови; а — число лейкоцитов в 100 больших квадратах</p>	<p>Количество лейкоцитов в крови колеблется в пределах 4 000–8 800 в 1 мкл, или $4 - 8,8 \times 10^9$ в 1 л (по системе СИ)</p>	<p>Снижение количества лейкоцитов наблюдается при вирусных инфекциях, некоторых хронических инфекциях, сепсисе, циррозе печени, хроническом активном гепатите, аутоиммунных заболеваниях, после приема цитостатических препаратов, антибиотиков, сульфаниламидов и других медикаментов. Особенно резкая лейкопения наблюдается при апластической анемии, агранулоцитозе, после лучевых воздействий</p>

Продолжение таблицы

<p>Снижение количества эозинофилов</p>	<p>Микроскопия сухих фиксированных и окрашенных мазков крови с дифференцированием эозинофилов. Этапы исследования, включающие приготовление мазков крови, подготовку предметных стекол, фиксацию мазков и их окраску</p>		<p>Эозинофилы определяются при подсчете лейкоформулы</p>	<p>Норма для эозинофилов составляет: более $0,45 \times 10^9/\text{л}$ у взрослых и более $0,07 \times 10^9/\text{л}$ у детей</p>	<p>Снижение количества эозинофилов наблюдается при раздражении коры надпочечников во время лечения кортикостероидами; раздражении нервной системы; в послеоперационных состояниях; при дизентерии, сепсисе, брюшном тифе, перитоните, пневмонии, дифтерии, а также некоторых прочих тяжелых острых инфекционных заболеваниях, интоксикации эндо- и экзогенного происхождения (острый гемолиз, порфирия, уремиическая и диабетическая кома), во время ознобов, судорог</p>
<p>Нарушение процессов фосфорилирования</p>	<p>Процесс фосфорилирования осуществляется АТФ-синтетазой (Н⁺-АТФаза), которая потребляет 40–45 % свободной энергии, выделившейся при окислении. Н⁺-АТФаза интегральный белок внутренней мембраны митохондрий, состоит из 2 белковых комплексов F₀ и F₁</p>	<p>Коэффициент фосфорилирования (P/O) — число атомов неорганического фосфата, включенных в молекулы АТФ, в пересчете на один атом</p>			<p>Нарушение процессов фосфорилирования ведет к задержке всасывания стенкой кишечника глюкозы и замедляет поступление ее в печеночные клетки, что способствует повышению количества глюкозы в крови</p>

Продолжение таблицы

		использованного поглощенного кислорода			Нарушение процессов при недостатке субстратов окисления (углеводов, липидов, т. е. пищи); нарушения работы ферментов дыхательной цепи: дефект апофермента, дефект кофермента (нарушение синтеза кофермента, недостаток витаминов В ₂ , В ₅ , К).
Нарушение углеводного обмена					Причины нарушения углеводного обмена: нарушения гидролиза и всасывания углеводов; нарушения синтеза и расщепления гликогена; нарушения промежуточного обмена углеводов; гипергликемия
Угнетение тканевого дыхания					Причины угнетения тканевого дыхания: неспецифическое ингибирование ферментов биологического окисления ионами металлов (Ag ²⁺ , Hg ²⁺ , Cu ²⁺); конкурентное ингибирование ферментов биологического окисления, изменение физикохимических параметров в тканях (температуры, электролитного состава, рН, фазового состояния мембранных компонентов) в более или менее выраженной мере снижают эффективность

Продолжение таблицы

					биологического окисления; могут наблюдаться при общем или частичном (особенно белковом) голодании, большинстве гипо- и дисвитаминозов, нарушении обмена минеральных веществ, необходимых для синтеза ферментов
Снижение содержания аскорбиновой кислоты в печени и почках		Аскорбиновая кислота оказывает метаболическое действие, не образуется в организме человека, а поступает только с пищей	Аскорбиновая кислота метаболизируется в печени и почках, подвергаясь серии последовательных превращений, конечным результатом которых является образование щавелевой кислоты, выводимой мочой	Норма в крови — 4–20 мкг/мл	При дефиците нарушается процесс формирования соединительной ткани. Возможны различные кровоизлияния. При недостаточности у детей нарушаются рост и развитие. Пациенты разного возраста становятся восприимчивыми к инфекционным заболеваниям. Недостаток витамина С возможен в период вынашивания ребенка и при ревматической патологии

Продолжение таблицы

<p>Снижение активности сывороточной оксидазы</p>	<p>Активность оксидаз в экстракте культур рассчитывали по приросту H_2O_2, количество которой определяли спектрофотометрическим микрометодом. Сущность его заключается во взаимодействии всей образующейся в реакции H_2O_2 с ортодианизидингидрохлоридом и измерении интенсивности образовавшегося окрашенного раствора</p>	<p>После 10 мин инкубирования пробы в термостате при $37\text{ }^\circ\text{C}$ охлаждали до $4\text{ }^\circ\text{C}$ и добавляли 1 мл концентрированной HCl до $0-4\text{ }^\circ\text{C}$. Оптическую плотность окрашенных растворов проб измеряли спектрофотометрически при 540 нм против второй контрольной пробы</p>	<p>Активность определяли спектрофотометрически по количеству образующейся в процессе ферментивной реакции H_2O_2. За единицу активности фермента принимали количество фермента, катализирующего образование $1\text{ мк-моль } H_2O_2$ за 1 мин при $37\text{ }^\circ\text{C}$. Удельную активность фермента выражали числом единиц активности на 1 мг белка или 1 мл водного экстракта культуры</p>		
--	--	--	---	--	--

Продолжение таблицы

Наличие мышьяка в биосредах	Определение токсичных и эссенциальных элементов в моче масс-спектрометрическим методом с индуктивно связанной плазмой	Взятие крови предпочтительно производить утром натощак после 8–14 ч ночного периода голодания (воду пить можно) допустимо днем через 4 ч после легкого приема пищи		В норме 0–0,01 мкг/мл	Дефицит (показан в экспериментальных исследованиях на животных) приводит к нарушению фертильности, выкидышам, мертворождению, снижению противоопухолевого иммунитета, а в органах и тканях при дефиците мышьяка повышается концентрация меди и марганца
Наличие меди в сыворотке крови, печени	Количество меди в сыворотке крови определяется колориметрическим методом	Не принимать пищу 2–3 ч до анализа, можно пить чистую негазированную воду. Не курить в течение 30 мин до сдачи крови		Для мужчин: 700–1 400 мкг/л. для женщин: 800–1 550 мкг/л	Перенасыщение организма медью связано с нарушением ее обмена либо хроническим отравлением. Наследственное заболевание, приводящее к повышенному отложению меди в тканях организма, называется болезнью Вильсона-Коновалова

Продолжение таблицы

<p>Лейкоциты — снижение — увеличение</p>	<p>Определение лейкоцитов с помощью гематологического анализатора</p>	<p>Взятие крови предпочтительно производить утром натощак после 8–14 ч ночного периода голодания (воду пить можно), допустимо днем через 4 ч после легкого приема пищи</p>		<p>Количество лейкоцитов в крови колеблется в пределах 4 000–8 800 в 1 мкл, или 4×10^9 (по системе СИ)</p>	<p>Повышение количества лейкоцитов наблюдается при различных воспалительных процессах, острых бактериальных инфекциях, интоксикациях, шоке, острых кровопотерях, коматозных состояниях, гемолитическом кризе, почечной колике, аллергических реакциях, опухолях. Снижение количества лейкоцитов наблюдается при вирусных инфекциях, некоторых хронических инфекциях, сепсисе, циррозе печени, хроническом активном гепатите, аутоиммунных заболеваниях, после приема цитостатических препаратов, антибиотиков, сульфаниламидов и других медикаментов</p>
--	---	--	--	--	--

Продолжение таблицы

<p>Гемолиз эритроцитов</p>	<p>Подсчет эритроцитов под микроскопом в определенном количестве квадратов счетной сетки и пересчет на 1 мкл крови (или 1 л по системе СИ), исходя из объема квадратов и разведения крови</p>	<p>Лабораторными признаками повышенного внутриклеточного гемолиза являются: увеличение содержания в крови неконъюгированного билирубина, стеркобилина кала и уробилина мочи, гемоглобинемия, гемоглобинурия, гемосидеринурия</p>	<p>При анализе пробы крови на развитие внутриклеточного гемолиза будут указывать следующие признаки: повышение стеркобилина, неконъюгированного билирубина, уробилина. Признаками внутрисосудистого разрушения эритроцитов будут гемоглобинемия, наличие гемоглобина в моче, гемосидеринурия</p>	<p>Уровень эритроцитов в норме составляет: $3,9-5,5 \times 10^{12}/л$ — для новорожденных; $2,7-4,9 \times 10^{12}/л$ — для детей двухмесячного возраста; $4-5,2 \times 10^{12}/л$ — для детей от 6 до 12 лет; $3,7-4,7 \times 10^{12}/л$ — для женщин; $4-5,5 \times 10^{12}/л$ — для мужчин</p>	
----------------------------	---	--	--	--	--

Продолжение таблицы

<p>Билирубин в плазме и моче</p>	<p>Билирубина глюкуронид (холебилирубин) при соединении с диазотированной сульфаниловой кислотой (диазобензосульфоновая кислота) дает розовую окраску за счет образования билирубина</p>		<p>Появление на фильтре синезеленых пятен говорит о присутствии билирубина</p>	<p>Моча здоровых людей содержит минимальные количества билирубина, которые не могут быть обнаружены качественными пробами, применяемыми в практической медицине. С мочой выделяется только билирубина глюкуронид (прямой билирубин), концентрация которого в норме в крови незначительна</p>	<p>Билирубинурию наблюдают главным образом при поражениях паренхимы печени (паренхиматозная желтуха) и нарушении оттока желчи (обтурационная желтуха). Для гемолитической желтухи билирубинурия не характерна, так как гемобилирубин (непрямой билирубин) не проходит через почечный фильтр</p>
----------------------------------	--	--	--	--	---

Продолжение таблицы

Белок в моче				В норме концентрация белка в моче не должна превышать 0,033 г/л	Белок в моче (альбуминурия) может появляться при воспалении в мочеточниках, мочевом пузыре и уретре. Иногда белок в моче появляется у здоровых людей после сильных физических нагрузок, долгой ходьбы пешком
Активность трансаминаз — снижение — повышение	Определение активности фотометрическим методом			<p>Норма аланинаминотрансферазы (АЛТ) для женщин составляет не выше 32 ед./л; для мужчин — менее 40 ед./л.</p> <p>Норма аспартатаминотрансферазы (АСТ): для женщин — от 20 до 40 ед./л; для мужчин — от 15 до 31 единиц/л; у новорожденных (5 сут) — до 140 ед./л; у детей до 9 лет — не более 55 ед./л.</p>	<p>Высокий уровень АЛТ характерен для: цирроза печени; острого гепатита (вирусного, алкогольного); острого панкреатита; злокачественной опухоли печени или метастазов; механической желтухи; распада опухоли; обширного инфаркта; заболеваний сердца, при которых происходит разрушение клеток сердечной мышцы; ожогов; обширных травматических повреждений мышц. Повышенная активность АСТ наблюдается при гепатитах различного происхождения;</p>

Продолжение таблицы

					инфаркте миокарда; миокардите; воспалении сердечной мышцы при острой ревматической лихорадке; раке печени и вторичных опухолях в печени; циррозе и некрозе печени; алкоголизме; аутоиммунных заболеваниях мышц; панкреатите
Активность альдолаз — повышение — снижение	Для определения активности в сыворотке крови применяют спектрофотометрические методы по непрямому оптическому тесту Варбурга; фотометрические методы, основанные на определении фосфора (фосфотриоз) по реакции с параоксидифенилом	В нераспечатанных флаконах реагенты стабильны вплоть до указанной даты при хранении от 2 до 8 °С. Длина волны 340 (334–365) нм Оптический путь 1 см Температура — 37 °С Измерение кинетическое против собственной холостой пробы	Рассчитать активность альдолазы в пробе по следующей формуле: Е/л пробы = 54,8 х ДА (340 нм)	Сыворотка, плазма: до 7,6 Е/л	Значительное увеличение уровня альдолазы может наблюдаться при мышечной дистрофии Дюшена. Менее выраженное увеличение встречается при дермато- и полимиозитах

Продолжение таблицы

<p>Содержание нуклеиновых кислот — снижение — повышение</p>	<p>Для определения концентрации нуклеиновой кислоты в растворе используют спектрофотометрический метод</p>	<p>Длина волны — 260 нм. Реакции с участием нуклеиновых кислот часто требуют точных сведений о количестве и чистоте препарата</p>			
<p>Альбумины в крови — повышение — снижение</p>	<p>При взаимодействии альбумина с бромкрезоловым зеленым в слабокислой среде в присутствии детергента образуется окрашенный комплекс синего цвета</p>	<p>При применении ацетатного буфера окраска развивается быстро и остается стабильной в течение 2 ч Интенсивность образования окрашенного соединения зависит от вида буфера. При применении ацетатного и лактатного буфера достигается наибольшая чувствительность метода</p>	<p>Расчет ведут по калибровочной кривой</p>	<p>Нормальные величины — 35–50г/л (3,5–5,0 г/100 мл)</p>	<p>Повышение уровня альбумина в крови может быть следствием обезвоживания организма при заболеваниях ЖКТ или ротавирусных инфекциях. Также растет этот показатель во время цирроза, диабета, волчанки. Падение уровня альбумина обычно обусловлено неполноценным питанием, табакокурением, печеночной недостаточностью</p>

Продолжение таблицы

<p>Глобулины — повышение — снижение</p>	<p>Для определения уровня глобулина в сыворотке крови используется метод электрофореза</p>			<p>У здоровых людей содержание альбумина составляет 56,3–68,8 %; α₁-глобулинов — 3–5,8 %; α₂-глобулинов — 6,9–10,5 %; β-глобулинов — 7,3–12,5 %; γ-глобулинов — 12,7–19,2 %.</p>	<p>Повышение концентрации глобулинов в крови может быть связано с: дегидратацией, обширными ожогами, приемом витамина А в высоких дозах. Снижение концентрации глобулинов возникает при различных нефритах, острой атрофии печени, токсическом гепатите, циррозе, увеличенной проницаемости капилляров, амилоидозе, ожогах, травмах, кровотечениях, застойной сердечной недостаточности, патологии желудочно-кишечного тракта, голодании, беременности и лактации, опухолях при синдроме мальабсорбции</p>
---	--	--	--	--	--

Продолжение таблицы

<p>Протромбиновый индекс — повышение — снижение</p>	<p>Определяют время свертывания плазмы при добавлении тромбопластина и хлорида кальция</p>	<p>Водяная баня на 37 °С</p>	<p>В пробирку наливают 0,1 мл плазмы донора и 0,1 мл раствора тромбопластина и ставят пробирку в водяную баню. Через 1 мин туда же добавляют 0,1 мл раствора хлорида кальция, немедленно включают секундомер и отмечают время образования сгустка. Исследование повторяют и вычисляют средний результат. Точно так же определяют время свертывания исследуемой плазмы</p>	<p>12–20 с (в зависимости от активности тромбопластина)</p>	<p>Удлинение протромбинового времени наблюдается при врожденной или приобретенной недостаточности факторов, отражающих функционирование внешнего механизма образования протромбиназы, ее действие на протромбин и последующее образование фибрина (факторов X, VII, V, II, I). Обычно отмечается у больных, принимающих оральные антикоагулянты (неодикумарин, фенисинкумар, омефин), при тяжелых поражениях паренхимы печени и недостаточности витамина К (механическая желтуха, нарушения всасывания в кишечнике, кишечный дисбактериоз)</p>
---	--	------------------------------	---	---	--

Приложение 2
к инструкции по применению
«Метод гигиенической оценки средств
защиты растений с использованием
индикаторных тестов»
Рекомендуемое

ПЕРЕЧЕНЬ ИНДИКАТОРНЫХ ТЕСТОВ БИОЛОГИЧЕСКИХ СРЕД ОРГАНИЗМА

Химический класс	Точки соприкосновения		
	системы	органы	клинико-биохимические показатели
1	2	3	4
Фосфорорганические соединения (ФОС)	ЦНС, мышцы (нарушение передачи нервного импульса)	печень (углеводная функция)	угнетение эстеразных ферментов (ХЭ) ↑ гемоглобина ↓ метгемоглобина Появление телец Гейнца
Хлорорганические соединения (ХОС)	ЦНС	Органы и ткани, богатые жиром и липидами (кумуляция) Паренхиматозные органы (печень, почки)	Блокируют SH-группы тканевых белков, нарушают биосинтез белка
Производные карбаминовой, тиокарбаминовой и дитиокарбаминовой кислот	Аллерген. Поражение эндокринных органов, нарушение окислительных процессов, нарушение обмена нуклеиновых кислот, выраженное влияние на генеративную функцию	Клоникотонические судороги, паралич, учащение дефекации и мочеиспускания	Обратимые изменения ХЭ

Продолжение таблицы

Производные тиокарбаминовой кислоты		Гиперсаливация, тремор, атаксия, клоникотонические судороги, гиперхромность и хромотолиз нервных клеток, в щитовидной железе — морфологические признаки угнетения, в гонадах самцов — сдушивание сперматогенного эпителия (в яичках набухание)	
Ртутьорганические соединения (РОС)	ЦНС мышечная	Печень, желчный пузырь, почки, головной мозг (кумуляция). В печени, почках, мышце сердца наблюдаются явления венозной гиперемии, белковая, жировая дистрофия	Блокируют SH-группы клеточных белков Моча и другие биосреды
Производные дитиокарбаминовой кислоты	Обладают эмбрио- и гонадотоксичностью, тератогенными свойствами, оказывают бласто- и мутагенное действие	Бронхиальная астма и дерматит. Максимальное накопление в надпочечниках, щитовидной и вилочковой железе, селезенке	
Поликарбацин	Атаксия, адинамия	Снижение или отсутствие рефлекторной активности, диарея	Уменьшение количества эритроцитов, гемоглобина, ретикулоцитов, лейкоцитов и эозинофилов, снижение содержания сульфгидрильных групп в сыворотке и цельной крови
Полимарцин	Атаксия, фибриллярные подергивания мышц	Нарушение ССС и печени	Снижение уровня гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов, фагоцитарной активности нейтрофилов
Фентиурам	Снижение двигательной и рефлекторной активности, угнетение дыхания, судороги тонического характера		Снижение содержания гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов, SH-групп периферической крови

Продолжение таблицы

Нитро- и хлорпроизводные фенола	Усиление основного обмена, повышение температуры тела	Окрашивание в желтый цвет кожи, волос, конъюнктивы	Нарушение клеточного обмена и процессов фосфорилирования
Производные хлорфенилуксусной, хлорфеноксимасляной, пропионовой и бензойной кислот			Нарушение процессов фосфорилирования и углеводного обмена, угнетение тканевого дыхания
Производные симметриазинов			Антиметаболиты пиримидиновых оснований, антагонисты фолиевой кислоты
Производные мочевины и гуанидина		Нарушение функции щитовидной железы	
— гербан	повышение функции щитовидной железы,		увеличение весовых коэффициентов печени, селезенки, головного мозга, сердца
— диурон		изменения в селезенке	уменьшение количества эритроцитов,
— ленацил			повышение активности 1,6-дифосфата фруктозы в сыворотке крови и печени
— линурон	нарушение координации, фибриллярные подергивания мышц туловища, тремор, судороги, паралич конечностей	угнетение функции щитовидной железы	снижение процентного содержания гемоглобина, количества эритроцитов, изменение весовых коэффициентов печени и надпочечников
— монурон		в митохондриях печени — снижение содержания никотинамидных коферментов и изменение способности митохондрий оказывать регулирующее действие на гликолиз. Дистрофические изменения в сердечной мышце, печени, почках, гиперплазия фолликулов селезенки, отек ткани головного мозга	

Продолжение таблицы

— метурин		увеличение веса печени	изменение морфологического состава крови, снижение содержания аскорбиновой кислоты в печени и почках, снижения уровня SH-групп белков и активности сывороточной оксидазы
Мышьяксодержащие соединения	Блокирование сульфгидрильных групп ферментов, с которыми образует стойкие токсические соединения		Мышьяк в крови, кале, моче, волосах и костях
Соединения меди	«Меднопротравная» лихорадка (повышение температуры, озноб, разбитость, боль в мышцах конечностей, тахикардия, гипотония)		
— трихлорфенолат меди	поражение паренхиматозных органов и стенок кровеносных сосудов, нарушение белковообразовательной и антитоксической функции печени	межуточная пневмония, эмфизема количества жира в печени, образование гепатом	медь в сыворотке крови, печени, снижение уровня SH-групп крови, уменьшение содержания аскорбиновой кислоты в печени и надпочечниках
— хлорокись меди	снижение иммунобиологической реактивности организма (угнетение фагоцитоза)	паралич конечностей	снижение количества гемоглобина, лейкоцитоз, эозинофилия, угнетение фагоцитарной активности лейкоцитов крови
Алкалоидные препараты	Поражение ганглиев вегетативной нервной системы, затем — паралич		
Препараты серы		Острые и хронические неспецифические заболевания бронхолегочного аппарата	

Продолжение таблицы

— сернистый ангидрид	гипертермия, лихорадка	малокровие, жировая инфильтрация сердечной мышцы, дегенеративные изменения почек с омертвением эпителия извитых канальцев, блокада почечных канальцев гемоглобином	гемолитическое действие, билирубин в плазме и моче, белок в моче
Циановые и родановые соединения	Блокада тканевого дыхательного фермента, паралич органов дыхания, возникновение судорог, снижение кровяного давления, кровоизлияние	Зернистая дистрофия печени, почек, сердца, нистагм, увеличение щитовидной железы	Белок в моче
— цианамид кальция:	поражение дыхательных путей и сосудодвигательных центров, учащение пульса	дерматит, экзема, гнойный конъюнктивит	
— родан	нарушение ритма дыхания, клонико-тонические судороги, цианоз слизистых оболочек, остановка дыхания, дефицит свободного кислорода	помутнение роговицы и выделение серозной жидкости	метгемоглобин, снижение количества эритроцитов и гемоглобина, появление ретикулоцитов и телец Гейнца
Углеводороды и их производные; альдегиды и их производные			
— бромистый метил	ЦНС развитие эпилептиформных припадков повышение сухожильных рефлексов, гиперемия кожных покровов лица, гипотония	почки (анурия, уремия) легкие в печени — жировая инфильтрация, в почках — коагуляционный некроз эпителия	снижение уровня SH-белков и низкомолекулярных соединений в крови
— метальдегид	повышение рефлекторной возбудимости, клоникотонические судороги, параличи, нарушение дыхания	печень почки некротизация и мумификация тканей, гнойный ринит	увеличение уровня эритроцитов и гемоглобина, повышение активности трансаминаз снижение активности альдолаз, увеличение содержания нуклеиновых кислот

Продолжение таблицы

— формалин	ЦНС, зрительные бугры		
Гетероциклические соединения		Гемодинамические и дистрофические изменения в печени, почках, миокарде, головном мозге. Разрыхление и сглаженность складок слизистой оболочки желудка, гиперплазия коры надпочечников	Уменьшение содержания гемоглобина и эритроцитов, эозинофилов в периферической крови, уменьшение содержания альбуминов крови, Увеличение уровня глобулинов, снижение протромбинового индекса
Нитро- и галоидопроизводные фенола и др.	Судороги, дыхательный коллапс, желтуха, неврит	Резкое полнокровие органов, кровоизлияния, белковая и жировая дистрофия печеночной ткани, зернистая дистрофия эпителия извитых канальцев почек	Уменьшение содержания эритроцитов, гемоглобина, ретикулоцитоз
Производные фосфоновых кислот	Бронхоспазм, учащение пульса, повышение, затем снижение артериального давления, судороги, гипоксия, метаболический ацидоз с компенсированным газовым алкалозом, гипергидроз, возникновение астеновегетативного синдрома	Паренхиматозная дистрофия	Снижение активности холинэстеразы крови
Синтетические пиретроиды	Тремор, гиперактивность, возбуждение (агрессивное поведение), мышечные контрактуры, судороги и рецидивирующие судорожные припадки, гиперсаливация, хорееатетозы, гиперкинезы, функциональные изменения		

Продолжение таблицы

	<p>постсинаптической нейрональной мембраны, воздействие на хемовозбудимые ионные каналы; достаточно высокое сродство к никотиновым ацетилхолиновым рецепторам. Вызывают функциональные нарушения в работе экстрапирамидной системы и спинальных промежуточных нейронов</p>		
<p>Неоникотиноиды</p>	<p>Тканевая гипоксия с развитием токсической энцефало-, гепато- и нефропатии, наблюдается центральный холинэргический, экстрапирамидный, периферический никотиноподобный и периферический адренэргический синдромы</p>		
<p>Минеральные масла</p>		<p>Пневмония, дерматиты, экземы, фолликулиты, образование папиллом и рака кожи</p>	

Приложение 3
к инструкции по применению
«Метод гигиенической оценки средств
защиты растений с использованием
индикаторных тестов»
Рекомендуемое

**ПЕРЕЧЕНЬ БИОМАРКЕРОВ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО И СПЕЦИФИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ С ЦЕЛЬЮ
ПРОВЕДЕНИЯ БИОМОНИТОРИНГА ЗДОРОВЬЯ РАБОТАЮЩИХ ДЛЯ НЕКОТОРЫХ ХИМИЧЕСКИХ
КЛАССОВ ПЕСТИЦИДОВ**

п/п	Химический класс	Биомаркеры		
		неспецифического действия		специфического действия
		растворители органические	консерванты	действующее вещество
	2	3	4	5
1	Триазолы,	транс, трансмуконовая кислота (неизменное соединение органических растворителей (бензола, толуола, этилбензола, ксилола (БТЭК)) в моче	мышьяк, свинец, медь (моча), ртуть (волосы)	активность ХЭ
2	Азоксистробины,	транс, трансмуконовая кислота (БТЭК) в моче	мышьяк, свинец, медь (моча), ртуть (волосы)	
3	ФОС,	Транс, трансмуконовая кислота (БТЭК) в моче	мышьяк, свинец, медь (моча), ртуть (волосы)	угнетение ХЭ
4	ХОП,	Транс, трансмуконовая кислота (БТЭК) в моче	мышьяк, свинец, медь (моча), ртуть (волосы)	блокирование SH-группы тканевых белков и нарушение биосинтеза белка
5	Ртутьсодержащие,	транс, трансмуконовая кислота (БТЭК) в моче	мышьяк, свинец, медь (моча), ртуть (волосы)	ртуть в моче и других биосредах, блокирование SH-групп клеточных белков
6	Производные карбаминовой, тиокарбаминовой кислот	транс, трансмуконовая кислота (БТЭК) в моче	мышьяк, свинец, медь (моча), ртуть (волосы)	изменения ХЭ
7	Производные хлорфенилуксусной, хлорфеноксимасляной, пропионовой и бензойной кислот,	транс, трансмуконовая кислота (БТЭК) в моче	мышьяк, свинец, медь (моча), ртуть (волосы)	нарушение процессов фосфорилирования, углеводного обмена и угнетение тканевого дыхания

8	Производные мочевины и гуанидина,	транс, трансмуконовая кислота (БТЭК) в моче	мышьяк, свинец, медь (моча), ртуть (волосы)	снижение содержания гемоглобина (%), количества эритроцитов, аскорбиновой кислоты в печени и почках, SH-групп белков и активности сывороточной оксидазы
9	Мышьяксодержащие соединения,	транс, трансмуконовая кислота (БТЭК) в моче	мышьяк, свинец, медь (моча), ртуть (волосы)	мышьяк в крови, кале, моче, волосах, костях
10	Соединения меди,	транс, трансмуконовая кислота (БТЭК) в моче	мышьяк, свинец, медь (моча), ртуть (волосы)	медь в сыворотке крови и в печени, снижение уровня SH-групп в крови, аскорбиновой кислоты в печени и надпочечниках, количества гемоглобина, лейкоцитоз и эозинофилия
11	Циановые и родановые соединения,	транс, трансмуконовая кислота (БТЭК) в моче	мышьяк, свинец, медь (моча), ртуть (волосы)	увеличение уровня белка в моче, метгемоглобин, снижение количества эритроцитов и гемоглобина и появление ретикулоцитов и телец Гейнца
12	Углеводороды и их производные,	транс, трансмуконовая кислота (БТЭК) в моче	мышьяк, свинец, медь (моча), ртуть (волосы)	снижение содержания SH-групп белков и низкомолекулярных белковых соединений в крови
13	Альдегиды и их производные,	транс, трансмуконовая кислота (БТЭК) в моче	мышьяк, свинец, медь (моча), ртуть (волосы)	увеличение количества эритроцитов, гемоглобина, активности трансаминаз и содержания нуклеиновых кислот, снижение активности альдолаз
14	Гетероциклические соединения	транс, трансмуконовая кислота (БТЭК) в моче	мышьяк, свинец, медь (моча), ртуть (волосы)	снижение уровня гемоглобина и эритроцитов, содержания альбуминов в крови, протромбинового индекса, характерно увеличение содержания глобулинов
15	Нитро- и галоидопроизводные фенола и др.	транс, трансмуконовая кислота (БТЭК) в моче	мышьяк, свинец, медь (моча), ртуть (волосы)	снижение уровня эритроцитов, гемоглобина, ретикулоцитоз
16	Производные фосфоновых кислот	транс, трансмуконовая кислота (БТЭК) в моче	мышьяк, свинец, медь (моча), ртуть (волосы)	снижение активности холинэстеразы крови