

УДК 619:615.015.35–285

БАЗАКА Г.Я., аспірант

ДУХНИЦЬКИЙ В.Б., д-р вет. наук

ІЩЕНКО В.Д., канд. вет. наук

Національний університет біоресурсів і природокористування України

bazaka82@mail.ru

ГОСТРА ТОКСИЧНІСТЬ ТІАМЕТОКСАМУ У ФОРМІ ПРЕПАРАТУ АКТАРА ДЛЯ БІЛИХ МИШЕЙ

У статті визначено параметри гострої токсичності інсектицидного препарату Актара, у складі якого основною діючою речовиною є тіаметоксам. Встановлено, що відповідно до визначеної середньосмертельної дози препарату для лабораторних мишей ($DL_{50}=907,81\pm 24,03$ мг/кг м.т. за ДР, $DL_{50}=3631,24\pm 96,12$ мг/кг м. т. за препаратом), згідно із класифікацією хімічних речовин за ступенем небезпечності він відповідає III класу, за токсичністю належить до малотоксичних.

Ключові слова: інсектициди, неонікотинοїди, актара, тіаметоксам, гостра токсичність, смертельна доза, середньосмертельна доза, лабораторні миші, ступінь небезпечності.

Постановка проблеми. Неонікотинοїди – відносно новий клас пестицидів, що широко застосовуються у сільському господарстві як системні інсектициди для боротьби із сисними і листогризучими комахами [1]. У ветеринарії неонікотинοїди застосовують для лікування і профілактики ентомозів дрібних домашніх тварин, у побуті – для знищення комах у житлових і виробничих приміщеннях.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. За хімічною будовою неонікотинοїди належать до класу нітрометиленгетероциклічних сполук. Вважають, що ці інсектициди являють відносно незначний ризик для нецільових організмів і навколишнього середовища, володіють високою ефективністю за низьких норм витрат [2]. Проте існують дані щодо токсичності неонікотинοїдів для медоносних бджіл та інших комах-запилювачів. Ця обставина була підставою для введення обмежень у використанні імідаклоприду, тіаметоксаму і клотіанідину у ряді країн Європи. Експериментальні дані підтверджують можливу потенційну небезпеку неонікотинοїдів для ссавців. Японські вчені довели високу чутливість рецепторів головного мозку щурів до дії низьких доз імідаклоприду і ацетаміприду [3]. Крім того, в досліджах на щурах було встановлено негативну дію імідаклоприду на репродуктивні органи самців, зокрема відмічено зниження якості сперми і рівня тестостерону в крові, активацію апоптозу статевих клітин, фрагментацію ДНК, зміну складу жирних кислот [4].

Основними причинами отруєнь пестицидами тварин є грубі порушення регламентів їх застосування, недотримання термінів очікування після обробки вегетуючих рослин, згодовування протруєного посівного матеріалу, напування водою, що містить їх залишкові кількості. Неонікотинοїдні пестициди погано проникають через неушкоджену шкіру внаслідок низької ліофільності, тому є малотоксичними сполуками. Гостра токсичність більше проявляється за перорального їх надходження в організм і меншою мірою за інгаляційного. За параметрами гострої токсичності для тварин препарати групи неонікотинοїдів належать, в основному, до помірно небезпечних та малонебезпечних речовин. За субхронічного і хронічного впливу діючих речовин цієї групи на лабораторних тварин характерною є загальнотоксична дія із переважно гепатотоксичним ефектом. У науковій літературі існують дані, що діючі речовини групи неонікотинοїдів слабо проникають через гематоенцефалічний бар'єр ссавців [5].

Представниками неонікотинοїдних інсектицидів є діючі речовини: імідаклоприд (входить до складу препарату Конфідор, 20 % в.р.к.), тіаклоприд (препарат Каліпсо, 48 % к.с.); ацетаміприд (препарат Моспілан, 20 % з.п.); тіаметоксам (препарат Актара 25 WG). Ці препаративні форми рекомендовані для застосування в Україні для захисту садів (яблуня, слива), виноградників, польових культур (кукурудза, картопля, томати, огірки, хміль, цукрові буряки, зернові злакові культури, ріпак, соняшник), для обробок вегетуючих культур і як протруйники насіння в умовах відкритого та захищеного ґрунтів [6].

Мета досліджень – експериментальне вивчення гострої токсичності інсектициду з групи неонікотинοїдів – Актари (діюча речовина – тіаметоксам).

Матеріали і методи. Досліди проводили на базі кафедри фармакології і токсикології Національного університету біоресурсів і природокористування України та віварію факультету ветеринарної медицини НУБіП України.

Об'єктом дослідження був обраний препарат групи неонікотиноїдів – Актара, що містить 25 % тіаметоксаму.

Дослідження щодо визначення токсичності актари проводили за методикою, викладеною у виданні «Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів», схваленого на засіданні науково-технічної ради Державного департаменту ветеринарної медицини (19.12.2004 р., протокол № 2) [7]. Для розрахунку середньосмертельної дози (DL_{50}) застосовували метод Г. Кербера. Особливістю методу є швидкість розрахунків через відсутність потреби у побудові графічного зображення характерної кривої. Для вирахування DL_{50} використовуються безпосередні результати експерименту, у кожній групі має бути однакова кількість тварин (не менше 6), а інтервал між досліджуваними дозами не обов'язково повинен бути однаковим. Використовуючи зазначений метод, достатньо дослідження 4–5 доз, які включають, з одного боку, дозу, що не спричиняє загибелі жодної тварини в групі, з іншого – дозу, за якої виникає загибель усіх тварин групи.

Визначення гострої токсичності (DL_{50}) проводили на білих мишах масою 18–20 г. Лабораторних тварин утримували в умовах віварію згідно з діючими «Санітарними правилами щодо устрою, обладнання та утримання експериментально-біологічних клінік (віваріїв)» за стабільного температурного режиму 18–20 °С та вологості 50–55 %. Годівлю їх здійснювали повнораціонним комбікормом, потребу у воді не обмежували. Перед початком експерименту тварин протягом 7 діб витримували в адаптаційному періоді, під час якого проводили щоденне ретельне спостереження їх клінічного стану. Перед початком досліду мишей утримували впродовж

3–4 годин на голодній дієті. Розчини препаратів вводили за допомогою шприца з голкою, що мала на кінці булавоподібне потовщення, в шлунок. Об'єм розчину має не перевищувати 0,4 см³. Дозу обчислювали у мг діючої речовини (ДР) на 1 кг маси тіла.

Для проведення досліджень щодо визначення параметрів гострої токсичності актари було сформовано шість дослідних груп тварин і одна контрольна (n=8). Тваринам першої дослідної групи експериментальний препарат вводили з розрахунку 1200,0; другої – 1000,0; третьої – 875,0; четвертої – 600,0; п'ятої – 437,5; шостої – 218,8 мг/кг маси тіла за ДР. Мишам контрольної групи вводили дистильовану воду в дозі 0,4 мл. За тваринами проводили спостереження упродовж 14 діб та відзначали в динаміці зміни їх клінічного стану. У першу добу тварини перебували під безперервним наглядом.

За результатами експерименту було встановлено летальну (DL_{100}) та напівлетальну (DL_{50}) дози досліджуваного препарату.

Результати досліджень та їх обговорення. Реакція тварин дослідних груп на введення препарату була такою ж, як і тварин контрольної групи на введення води – реакція на стрес від проведених з тваринами маніпуляцій. Спостерігали незначне збудження упродовж перших секунд з наступним заспокоєнням тварин. Зміни загального стану тварин, спричинені введенням досліджуваного препарату, спостерігали за 5–10 хв у тварин 1-ї та 2-ї груп (за доз 1200 і 1000 мг/кг м.т.). Відмічали тахіпное, клоніко-тонічні судоми, тремор, тварини підскакували та поодинокі пересувалися по клітці. Надалі короткочасне збудження змінювалось пригніченням. З часом, через 10–20 хв після введення препарату, ознаки пригнічення наростали і миші приймали лежаче положення. Середній час загибелі тварин 1-ї групи (загинули всі) становив 15 хв. У 2-й групі упродовж години загинуло 7 мишей із 8-ми, у 3-й групі протягом 2-х годин загинуло 2 тварини із 8. Надалі загибелі не спостерігали. У тварин 4-ї групи описані симптоми були менш вираженими і "розтягнутими" в часі, загибелі не спостерігали. У мишей 5-ї групи відзначали слабовиражене пригнічення упродовж перших 1,5–2 год. Стан мишей 6 групи не відрізнявся від тварин 7 (контрольної) групи.

З наведених у табл. 1 даних видно, що токсичний вплив актари за внутрішньошлункового введення білим мишам проявлявся в дозах 875 мг/кг м. т. за ДР і вище. При цьому загибель мишей у дослідних групах становила від двох до восьми. Цих даних достатньо, щоб мати можливість провести розрахунки щодо визначення DL_{50} .

Таблиця 1 – Протокол результатів гострого дослідження за внутрішньошлункового введення актари білим мишам

Доза, мг/кг м. т.		Кількість тварин у групі	Кількість загиблих тварин					Середній термін загибелі, год
			за добами			всього	у процентах	
ДР	препарату		1	2	5			
1200	4800	8	8	-	-	8	100	0,25
1000	4000	8	7	-	-	7	87,5	1
875	3500	8	2	-	-	2	25	2
600	2400	8	0	-	-	0	0	-
437,5	1750	8	0	-	-	0	0	-
218,8	875,2	8	0	-	-	0	0	-

$$DL_{50} = DL_{100} - \frac{\sum zd}{m},$$

де DL_{100} – доза речовини, яка вивчається і спричиняє загибель всіх тварин групи;

d – інтервал між кожними двома суміжними дозами;

z – середньоарифметичне із кількості тварин, які загинули під впливом двох суміжних доз;

m – кількість тварин у кожній групі.

Результати цих розрахунків наведені у таблиці 2.

Таблиця 2 – Визначення токсичності актари з використанням методу Г. Кербера

Доза, мг/кг м. т. (за ДР)	600	875	1000	1200
Вижило	8	6	1	0
Загинуло	0	2	7	8
Z	1	4,5	7,5	
D	275	125	200	
Zd	275	562,5	1500	
$\sum zd$				2337,5

У нашому випадку: $m=8$; $DL_{100}=1200$ мг/кг;

$$DL_{50} = 1200 - (2337,5 : 8) = 1200 - 292,19 = 907,81 \text{ мг/кг.}$$

Середня похибка (m) середньосмертельної дози дорівнює:

$$m = \frac{2\sigma}{\sqrt{N' \times 2}},$$

де N' – загальна кількість тварин у групах, у яких загинула або вижила хоча б одна тварина.

У цьому разі (за методом К. Міллера та М. Тейнтера): $2\sigma = DL_{84} - DL_{16}$. Показники DL_{84} та DL_{16} розраховуємо, використовуючи метод двох точок, що передбачає дослідження двох доз речовин, підібраних з таким розрахунком, щоб частота альтернативного ефекту в одному випадку була менша 50 %, в іншому – більша. Використовуємо рівняння прямої, яка проходить через дві точки:

$$\frac{Y - Y_1}{Y_2 - Y_1} = \frac{X - X_1}{X_2 - X_1},$$

де X_1 та X_2 – значення двох досліджених доз;

Y_1 та Y_2 – відповідні проценти летальності.

Після проведених розрахунків за відповідними показниками 2 та 3-ї дослідних груп було встановлено, що $DL_{84} = 993$ мг/кг, $DL_{16} = 857,0$ мг/кг м.т. Якщо $2\sigma = 993 - 857 = 136$, то:

$$m = \frac{136}{\sqrt{16 \times 2}} = \frac{136}{5,66} = 24,03.$$

Таким чином:

$$DL_{50} = 907,81 \pm 24,03 \text{ мг/кг м. т. (за ДР).}$$

$$DL_{50} = 3631,24 \pm 96,12 \text{ мг/кг м. т. (за препаратом).}$$

Висновки. 1. Напівлетальна доза (DL_{50}) інсектицидного препарату Актара для білих мишей складає $907,81 \pm 24,03$ мг/кг м. т. за ДР та $3631,24 \pm 96,12$ мг/кг м. т. за препаратом; летальна доза (DL_{100}) – 1200 мг/кг м. т. за ДР та 4800 мг/кг м. т. за препаратом.

2. На основі визначених показників гострої токсичності згідно із класифікацією речовин за токсичністю (ГОСТ 12.1.007–76) досліджений інсектицидний препарат Актара належить до IV

класу – малотоксичні ($DL_{50} = 501\text{--}5000$ мг/кг м. т.); згідно з класифікацією хімічних речовин за ступенем небезпечності – до 3-го класу ($DL_{50} = 151\text{--}5000$ мг/кг м.т.).

Для всебічної токсикологічної оцінки інсектицидного препарату Актара, що належить до групи неонікотиноїдів, доцільним є визначення хронічної токсичності, ембріотоксичної та тератогенної дій, оскільки впровадження в практику великої кількості нових препаратів потребує суворого токсикологічного контролю.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Sravnitel'naya toksykologicheskaya kharakterystyka novykh neonykotynoydnykh ynsek-tytsydov [Comparative toxicological characteristics of new neonicotinoid insecticides] / [L.V. Yermolova, N.H. Prodanchuk, P.H. Zhmyн'ko, Y.V. Lepeshkyn]. *Sovremennye roblemy toksykologyy. – Modern Problems of Toxicology. – 2004. – № 2. – P. 4–7. Available at: http://www.medved.kiev.ua/arhiv_mg/st_2004/04_2_1.htm (Accessed 20 March 2013).*
2. Yeremyna O.Yu. Perspektivy pryumenenyya neonykotynoydov v sel'skom khozyaystve Rossyy y sopredel'nykh stran [Prospects of application of neonicotinoids in agriculture of Russia and adjacent countries] / O.Yu. Yeremyna, Yu.V. Lopatyna // *Ahrokhymyya – Agrochemistry. – 2005. – № 6. – P. 87–93. (In Russian).*
3. Kimura-Kuroda J. Nicotine-like effects of the neonicotinoid insecticides acetamiprid and imidacloprid on cerebellar neurons from neonatal rats. *PLoS One, 2012, no 7(2). Available at: <http://www.plosone.org/article/info> (Accessed 28 February 2013).*
4. Bal R. Assessment of imidacloprid toxicity on reproductive organ system of adult male rats / R. Bal, J. Environ // *Sci Health B. – 2012. – Iss. 47 (5). – P. 434–444.*
5. Felsot A. Admiring risk reduction. Does imidacloprid have what it takes? / A. Felsot // *Agric. Environ. News. – 2001, vol. 186. – P. 1–3.*
6. Yermolova L.V. Toksykologo-higiyenichna otsinka asortymentu novykh neonykotyno-yidnykh insektytsydiv (Ohlyad) [Toxicological and hygienic evaluation of the range new neonicotinoids insecticides] / L.V. Yermolova, I.V. Lep'oshkyn, I.V. Mudryy // *Sovremennye 27 problem toksykologyy – Modern Problems of Toxicology. – 2004. – № 4. – P. 5–7. Available at: http://www.medved.kiev.ua/arhiv_mg/st_2004/04_2_1.htm (Accessed 15 March 2013).*
7. Kotsyumbas I.Ya. Doklinichni doslidzhennya veterynarnykh likars'kykh zasobiv [Preclinical studies of veterinary medicinal products] / I.Ya. Kotsyumbas. – L'viv: Triada plus Publ., 2006. – 360 p. (In Ukrainian).
8. Mineau P., Palmer C. [The Impact of the Nation's Most Widely Used Insecticides on Birds](http://www.abcbirds.org/abcprograms/policy/toxins/Neonic_FINAL.pdf). Neonicotinoid Insecticides and Birds. American Bird Conservancy. Retrieved 19 March 2013. Available at: http://www.abcbirds.org/abcprograms/policy/toxins/Neonic_FINAL.pdf (Accessed 16 April 2013).

Острая токсичность препарата Актара для лабораторных животных

Г.Я. Базака, В.Б. Духницкий, В.Д. Ищенко

В статье определены параметры острой токсичности инсектицидного препарата Актара, в составе которого основным действующим веществом является тиаметоксам. Установлено, что в соответствии с определенной средней смертельной дозой препарата для лабораторных мышей ($DL_{50}=907,81\pm 24,03$ мг/кг м.т. по действующему веществу, $DL_{50}=3631,24\pm 96,12$ мг/кг м. т. по препарату) согласно классификации химических веществ он по степени опасности соответствует III классу, согласно классификации веществ по токсичности относится к малотоксичным.

Ключевые слова: инсектициды, неоникотиноиды, тиаметоксам, актара, острая токсичность, смертельная доза, среднесмертельная доза, лабораторные мыши, степень опасности.