

УДК 619:615.099.036.11:632.954

ДОЦЕНКО Р.В., канд. вет. наук, ст. наук. сп. romdtox@ukr.net

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» НААН

ГОСТРА ТОКСИЧНІСТЬ ІМІДАКЛОПРИДУ ДЛЯ ПЕРЕПЕЛІВ

У статті наведені результати визначення гострої токсичності імідаклоприду для перепелів за перорального введення. Отруєння в перепелів характеризувалося пригніченням, (сопор – птиця сиділа на одному місці). В окремих перепелів відмічали хитку ходу. Загибель птиці відбувалася протягом перших двох годин після введення імідаклоприду. Патологоанатомічна картина, за гострого отруєння, характеризувалася збільшенням передсердь, кровонаповненням судин внутрішніх органів; збільшенням печінки. За результатами досліджень встановили, що LD_{50} імідаклоприду, за одноразового перорального уведення перепелам самцям, складає $32,5 \pm 6,97$ мг/кг маси тіла, що дозволяє віднести його, згідно з гігієнічною класифікацією пестицидів за Л. І. Медведьом (1987) та ДСП 8.8.1.2.002-98, до речовин високо токсичних (1-й клас небезпеки).

Ключові слова: імідаклоприд, перепели, гостре отруєння, LD_{50} .

Вступ. Імідаклоприд [4,5-дігідро-N-нітро-1-[(6-хлор-3-піридил)-метил]-імідазолідин-2-ілен-амін] – інсектицид селективної дії, що відноситься до групи нітрозовмістних неонікотиноїдів, є діючою речовиною таких пестицидів як Конфідор, Копфідор, Адмір, Гаучо та ін. Неонікотиноїди – нейротропні отрути. Токсичний вплив неонікотиноїдів аналогічний дії нікотину. Двофазний характер дії проявляється деполяризацією мембран гангліонарних нейронів – перша фаза збудження, яка змінюється на другу – пригнічення [1].

У разі широкого впровадження нових форм пестицидів у сільському господарстві, важливе значення має визначення їхнього токсичного впливу на організм тварин і птиці. Одним з перспективних напрямів у птахівництві є перепелівництво, головне завдання якого – забезпечення якісним та екологічно безпечним м'ясом і яйцем, що володіють дієтичними властивостями [2].

Головною метою проведення дослідів зі встановлення гострої токсичності є класифікація речовин, яка виражається показником середньої летальної дози (LD_{50}), що визначається як статистично вірогідна доза речовини, від якої може загинути 50 % тварин експериментальної групи [1]. Тому, **метою нашої роботи** було визначити гостру токсичність імідаклоприду на моделі перепелів техаських.

Матеріали і методи досліджень. В експериментах використовували препаративну форму імідаклоприду концентрацією 600 г/дм³. Експерименти були проведені на 84 самцях перепелу породи техаський, середньою масою $200,0 \pm 20,0$ г, що утримувались за оптимальних умов у віварії. Птиця мала вільний доступ до води та корму [3].

За принципом аналогів було сформовано 4 дослідні групи, яким вводили імідаклоприд у формі водної емульсії у дозах – 2, 20, 200 і 2000 мг/кг маси тіла, відповідно (n=7). У другому експерименті, за принципом аналогів було

сформовано 6 дослідних груп птиці, із застосуванням наступних доз: 5, 10, 20, 40, 60 і 80 мг/кг маси тіла, відповідно ($n=7$). Також було сформовано дві контрольні групи птиці. У кожній групі було по 7 перепелів.

Досліди проводили відповідно до існуючих нормативних документів, що регламентують організацію робіт із використанням експериментальних тварин і дотримання принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986) [4].

За клінічним станом дослідної птиці спостерігали упродовж 14 діб. Відмічали появу та розвиток клінічних ознак отруєння, терміни загибелі або відновлення стану організму до норми. Після загибелі птиці проводили патологоанатомічний розтин для виявлення макроскопічних змін [5].

За результатами загибелі птиці вираховували DL_{50} , DL_{16} , DL_{84} , DL_{100} та похибку DL_{50} методом пробіт-аналізу в модифікації В. Б. Прозоровського [6].

Токсикометричні параметри розраховували за методом найменших квадратів для пробіт-аналізу кривих летальності. Встановлено відсоток летальності, пробіти (Y), вагові коефіцієнти пробітів (Z). Для побудови графіка, обчислення DL_{50} та її помилки використовували формулу (1) прямої пропорційної залежності:

$$Y = A + B X \quad (1),$$

де: X – аргумент (місце дози),

Y – функція (пробіт),

A – вихідна точка на осі відсотків проти дози 1,

B – коефіцієнт пропорційності.

Коефіцієнти A і B знаходили із системи рівнянь другого ступеня: $(\sum K) A + (\sum XK) B = (\sum YK) (\sum XK) A + (\sum X^2 K) B = (\sum XYK)$.

Отримані результати оброблені методами варіаційної статистики з використанням пакету програм StatPlus 5.9.8.5 і представлені у вигляді середніх значень зі стандартним відхиленням за рівня довірчої ймовірності 95 %.

Результати дослідження та їх обговорення. У першому досліді встановили, що одноразове внутрішньошлункове введення водної емульсії імідаклоприду перепелам I дослідної групи не викликало їхньої загибелі. Птиця була активною, добре реагувала на зовнішні подразники, активно споживала корм і воду. Загибель птиці відмічали у II–IV групах протягом перших двох годин після введення імідаклоприду (табл. 1).

В другому досліді, під час спостереження за перепелами I і II дослідних груп, не відмічали картини гострого отруєння.

У птиці ж III–VI дослідних груп, протягом перших трьох годин досліді реєстрували пригнічення (сопор – слабка реакція на зовнішні подразники). Загибель птиці відмічали протягом перших двох годин після введення імідаклоприду (табл. 2).

Таблиця 1

Динаміка загибелі перепелів у першому досліді визначення гострої токсичності імідаклоприду, n=7

Термін загибелі птиці	Групи птиці і дози пестициду, мг/кг маси тіла				
	Контроль	I (2,0)	II (20,0)	III (200,0)	IV (2000,0)
0–1 год	–	–	2	7	7
2–3 год	–	–	1	–	–
4–24 год	–	–	–	–	–
2–14 діб	–	–	–	–	–
Усього загинуло	–	–	3	7	7

Таблиця 2

Динаміка загибелі перепелів у другому досліді при визначенні гострої токсичності імідаклоприду, n=7

Терміни загибелі птиці	Групи птиці і дози препарату, мг/кг маси тіла						
	контроль	I (5,0)	II (10,0)	III (20,0)	IV (40,0)	V (60,0)	VI (80,0)
0–1 год	–	–	–	2	3	5	5
2–3 год	–	–	–	1	2	1	2
4–24 год	–	–	–	–	–	–	–
2–14 діб	–	–	–	–	–	–	–
Усього загинуло	–	–	–	3	5	6	7

У перепелів, що залишилися живими протягом першої доби, спостерігали пригнічення (ступор) та відсутність апетиту. На 2-гу добу спостерігали поступову нормалізацію загального стану птиці. Клінічний стан характеризувався незначним пригніченням (апатія), перепела почали вживати корм і воду. Вже на третю добу, в птиці не виявляли ознак отруєння, до завершення досліді їхній загальний стан не відрізнявся від такого у птиці контрольної групи.

Після загибелі птиці проводили патологоанатомічний розтин. У більшості особин було відсутнє або слабко виражене трупне задубіння, змін пір'яного покриву та видимих слизових оболонок не відмічали. На розтині встановили: в ротовій порожнині – залишки препарату зі слизом (однак, змін слизових оболонок ротової порожнини, трахеї глотки та стравоходу не відмічали); передсердя збільшені; печінка – збільшена, темно-вишневого кольору, кровонаповнена; у м'язовому шлунку – кормові маси жовто-зеленого кольору, ймовірно, внаслідок значного виходу жовчі; у тонкому кишечнику відмічали кровонаповнення судин і ознаки запалення слизової оболонки; нирки темно-рожевого кольору з сірим відтінком.

Наступним етапом вивчення токсикологічних характеристик імідаклоприду було визначення середньолетальної дози DL_{50} та її стандартної похибки, DL_{16} , DL_{84} , DL_{100} (рис 1).

Середньолетальну дозу (DL_{50}) розраховували методом графічного пробіт-аналізу. Для побудови графіка на осі абсцис відкладали значення доз (мг/кг), а

на осі ординат – значення ефекту (%). Графічне зображення кривої, що характеризує залежність «доза-ефект» для самців перепелів відображено на рис. 1.

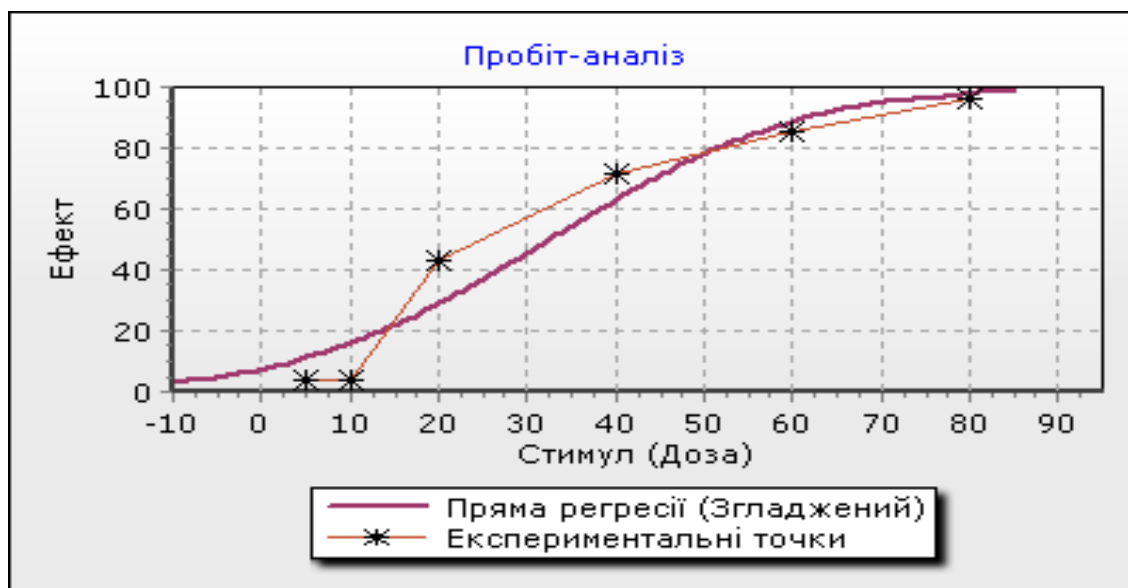


Рис. 1. Крива летальності перепелів за умов одноразового введення імідаклоприду.

За результатами досліджень встановили, що LD_{50} імідаклоприду за одноразового перорального введення складає $32,5 \pm 6,97$ мг/кг, $LD_{16} = 9,92$ мг/кг, $LD_{84} = 55,15$ мг/кг, $LD_{100} = 66,46$ мг/кг маси тіла, відповідно (табл. 3).

Отже, згідно з гігієнічною класифікацією пестицидів за Л. І. Медведьом [7, 8] та ДСП 8.8.1.2.002-98 імідаклоприд за ступенем токсичності слід віднести до речовин високо токсичних (1-й клас небезпеки).

Таблиця 3

Результати обчислення летальних доз імідаклоприду за умов одноразового перорального введення перепелам

Стимул (Доза)	Відсоток (%)	N	Пробіт (Y)	Ваговий коефіцієнт (Z)
5,0	0,03	7	3,19	1,39
10,0	0,03	7	3,19	1,39
20,0	0,42	7	4,82	4,82
40,0	0,71	7	5,56	4,36
60,0	0,85	7	6,06	3,29
80,0	0,96	7	6,81	1,39
Регресійна статистика				
LD_{50}	32,53	LD_{50} Стандартна похибка		6,97
LD_{16}	9,92			
LD_{84}	55,15			
LD_{100}	66,46			

Висновки та перспективи подальших досліджень:

1. LD₅₀ імідаклоприду, за одноразового перорального уведення перепелам самцям, складає 32,5±6,97 мг/кг маси тіла, що дозволяє віднести його до речовин високо токсичних (1-й клас небезпеки).

2. Гостре отруєння імідаклопридом перепелів техаських проявляється сопором та анорексією. Загибель птиці настає протягом перших двох годин після введення препарату. За результатами проведеного патологоанатомічного розтину виявляли: збільшення передсердь і печінки, кровонаповнення судин внутрішніх органів; у м'язовому шлунку – кормові маси жовто-зеленого кольору.

3. Наступним етапом буде проведення досліджень щодо визначення параметрів токсикокінетики та токсикодинаміки імідаклоприду на перепелах.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Neonicotinoids: insecticides acting on insect nicotinic acetylcholine receptors [Electronic resource] / K. Matsuda [et al.] // Trends Pharmacol Sci. – 2001. – Vol. 22 (11). – P. 573–580. – URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11698101>.

2. Харчук Ю. Разведение и содержание перепелов / Ю. Харчук // Ростов н/Д: Феникс, 2005. – 96 с. ISBN 5-222-07498-6.

3. US Environmental Protection Agency. Avian acute oral toxicity test / Washington, DC: 2012. Ecological effects test guidelines OCSPP 850.2100.

4. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes // Official Journal of the European Communities L 358. – 1986. – P. 1–29.

5. Жаров А.В. Вскрытие и патоморфологическая диагностика болезней животных / А.В. Жаров, И.В. Иванов, А.П. Стрельников. – М.: Колос, 2003. – 400 с.

6. Прозоровский В.Б. Статистическая обработка результатов фармакологических исследований / В.Б. Прозоровский // Психофармакология и биологическая наркология. – 2007. – Т. 7. – Вып. 3–4. – С. 2090–2120.

7. Медведь Л.И. Гигиеническая классификация пестицидов по основным параметрам вредности / Л.И. Медведь, Ю.С. Каган, Е.И. Спыну // Ветеринарная токсикология. – М., 1987. – 187 с.

8. Державні санітарні правила і гігієнічні норми «Гігієнічна класифікація пестицидів за ступенем небезпечності». ДСП 8.8.1.2.002-98.

ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ ИМИДАКЛОПРИДА ДЛЯ ПЕРЕПЕЛОВ /

Доценко Р.В.

В статье приведены данные определения острой токсичности имидаклоприда для перепелов при пероральном введении. Отравление у перепелов характеризовалось угнетением, (сопор, птица сидела на одном месте). У отдельных перепелов отмечали шаткую походку. Гибель птицы происходила на протяжении первых двух часов после введения имидаклоприда. Патологоанатомическая картина, при остром отравлении, характеризовалась увеличением предсердий, кровенаполнением сосудов внутренних органов; увеличением печени. По результатам исследований установили, что LD₅₀ имидаклоприда при одноразовом пероральном введении перепелам самцам составляет 32,5±6,97 мг/кг массы тела, что позволяет отнести его согласно гигиеничной классификации пестицидов за Л. И. Медведем (1987) и ДСП 8.8.1.2.002-98 к веществам высокотоксичным (1-й класс опасности).

Ключевые слова: имидаклоприд, перепела, острое отравление, LD₅₀.

ACUTE TOXICITY OF THE IMIDACLOPRID IN QUAILS / Dotsenko R.V.

Introduction. Results of the determination of acute toxicity for classification of substances, which is expressed in median lethal dose index (LD_{50}) that defines statistically significant dose of a substance which causes death of 50% of the animals in the experimental group are presented in the article.

The goal of the work. The aim of our work was to determine the acute oral toxicity of imidacloprid in quail's model.

Materials and methods. Range of doses was defined in the preliminary experiment. 4 test groups were administered imidacloprid as aqueous emulsion in doses 2, 20, 200 and 2000 mg/kg of body weight. In the second experiment 6 groups of quails were formed for preparation application in doses 5, 10, 20, 40, 60 and 80 mg/kg of body weight. Also, two control groups were formed. Each group had 7 quail ($n = 7$).

Results of research and discussion. Acute poisoning of quails with imidacloprid showed the following clinical symptoms: depression, lack of appetite, decreased reaction to external stimuli. The death of the birds observed during the first two hours after administration of imidacloprid. Pathologic signs of acute poisoning characterized by increase in atrial and liver size, vessels of the internal organs were filled with blood; crop the yellow-green fodder mass were found in gizzard probably due to a significant biliation.

Conclusions and prospects for further research. It has been determined, that the LD_{50} value of imidacloprid after single oral treatment in male quail is $32,53 \pm 6,97$ mg/kg of body weight, which can be attributed to highly toxic substances (1st class of danger) in accordance with hygienic classification of pesticides by Medved L.I. (1987) and DSP 8.8.1.2.002-98 to. Determination of toxicokinetic and toxicodynamic parameters of imidacloprid for quail will be next stage of our research.

Keywords: imidacloprid, quail, acute poisoning, LD_{50} .

REFERENCES

1. Matsuda, K. (2001). Neonicotinoids: insecticides acting on insect nicotinic acetylcholine receptors. *Trends in Pharmacological Sciences*, Vol. 22 (11), 573-580. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11698101>.
2. Kharchuk, Iu. (2005). *Razvedenie i sodержanie perepelov [Cultivation and the content quails]*. Rostov-on-Don: Feniks [in Russian].
3. US Environmental Protection Agency. (2012). Ecological effects test guidelines OCSPP 850.2100, Avian acute oral toxicity test. Washington, DC.
4. Council Directive 86 609 EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes (1986). *Official Journal of the European Communities*.
5. Zharov, A.V., Ivanov, I.V., & Strelnikov, A.P. (2003). *Vskrytie i patomorfologicheskaja diagnostika boleznei zhivotnykh [Dissecting and pathomorphological diagnostics of illnesses of animals]*. Moscow: Kolos [in Russian].
6. Prozorovskii, V.B. (2007). Statisticheskaja obrabotka rezultatov farmakologicheskikh issledovanii [Statistical processing of results of pharmacological researches]. *Psikhofarmakologiya i biologicheskaja narkologiya – Psychopharmacology and biological narcology*, Vol. 7, 3–4, 2090-2120 [in Russian].
7. Medved, L.I., Kagan, Iu.S., & Spyn, E.I. (1987). Gigienicheskaja klassifikatsiya pestitsidov po osnovnym parametram vrednosti [Hygienic classification of pesticides by harm key parameters]. *Veterinarnaja toksikologiya – Veterinary toxicology*, 187 [in Russian].
8. Derzhavni sanitarni pravyla i hiihyenichni normy Hiihyenichna klasyfikatsiya pestytsydiv za stupenem nebezpechnosti. DSP 8.8.1.2.002 98 [The state sanitary rules and hygienic norms «hygienic classification of pesticides behind danger degree»]. (1998). Kiev: Ministerstvo Ohoroni Zdorov'ja Ukrai'ny [in Ukrainian].