

## ИЗБИРАТЕЛЬНАЯ ТОКСИЧНОСТЬ АЦЕТАМИПРИДА И ФИПРОНИЛА В СОСТАВЕ ИНСЕКТИЦИДНЫХ ПРИМАНОК

ЛЕВЧЕНКО Михаил Алексеевич, ВНИИВЭА – филиал ТюмНЦ СО РАН

СИЛИВАНОВА Елена Анатольевна, ВНИИВЭА – филиал ТюмНЦ СО РАН

БИКИНЯЕВА Рузиля Хусановна, ВНИИВЭА – филиал ТюмНЦ СО РАН

Для борьбы с комнатной мухой *Musca domestica* на животноводческих объектах предложены монокомпонентные и комбинированные инсектицидные приманочные средства, в состав которых входят ацетамиприд и фипронил. Дана оценка избирательной токсичности ацетамиприда и фипронила для теплокровных животных в составе моно- и бикомпонентного инсектицидных средств. Кишечное действие инсектицидов на имаго комнатных мух оценивали методом безальтернативного кормления. Острую токсичность инсектицидных средств для применения на теплокровных определяли при скармливании белым мышам. Для расчета полужетельных доз действующих веществ и инсектицидных препаратов использовали пробит-анализ. Избирательность действия оценивали по коэффициенту избирательной токсичности (КИТ), который рассчитывали как отношение полужетельных доз действующих веществ для белых мышей и для имаго мух. Полужетельные дозы ацетамиприда и фипронила для имаго мух составили 2,412 (2,023–2,862) и 0,087 (0,0285–0,2659) мкг действующего вещества/г массы насекомых соответственно при раздельном испытании. При испытании ацетамиприда и фипронила в комбинации их инсектицидность против имаго мух увеличилась в 15 и 5 раз соответственно. Полужетельные дозы ацетамиприда и фипронила для белых мышей в препаративных формах, содержащих только одно из действующих веществ, составили 94,9 (88,5–101,8) мг/кг и более 22,5 мг/кг массы животного соответственно. Коэффициент избирательной токсичности фипронила в составе монокомпонентного препарата был больше в 6,8 раза, чем КИТ ацетамиприда. В бикомпонентном препарате избирательность их действия оказалась одинаковой. Комбинирование ацетамиприда и фипронила привело к увеличению их токсичности для имаго *Musca domestica* и для белых мышей и изменению избирательности их действия по сравнению с монокомпонентными препаратами.

**Введение.** Инсектициды являются важным инструментом контроля численности вредных насекомых на объектах ветеринарно-санитарного надзора [8, 17]. Современные инсектицидные средства должны обладать высокой эффективностью в отношении целевых объектов и минимальным риском для человека и окружающей среды. Один из способов повышения инсектицидной эффективности препаратов заключается в сочетании двух или более действующих веществ с разными механизмами действия [2, 12]. Преимуществом комбинированных препаратов является также возможность с помощью их применения предупреждать формирование резистентных популяций насекомых [10, 20]. Нами разработано комбинированное инсектицидное приманочное средство, предназначенное для снижения численности комнатных мух на объектах ветеринарно-санитарного надзора.

Разработанное средство является бикомпонентным и содержит два действующих вещества (д.в.): неоникотиноид ацетамиприд и фенилпиразол фипронил. Неоникотиноиды и фипронил получили широкое распространение в мировой практике для борьбы с вредными насекомыми [18]. В нашей стране

неоникотиноиды также широко применяются, а использование фипронила ограничено препаративной формой в виде приманок [6]. По механизму действия неоникотиноиды являются антагонистами никотин-ацетилхолинового рецептора, фенилпиразолы – антагонистами ГАМК-зависимых хлор-ионных каналов нервных клеток [18, 19].

С точки зрения практического применения инсектицидов большое значение имеет избирательность их действия на целевые объекты (вредных насекомых) [3]. Поскольку токсичность инсектицидов зависит от препаративной формы [5] и от взаимодействия с другими компонентами комбинированных препаратов [14], то целью настоящей работы явилась оценка избирательной токсичности ацетамиприда и фипронила для теплокровных в составе моно- и бикомпонентного инсектицидных средств.

**Методика исследований.** В опытах были использованы такие инсектициды, как ацетамиприд (техн., 97 %, King Quenson Industry Group Limited, Китай), фипронил (техн., 97 %, King Quenson Industry Group Limited, Китай). Кроме того, использовали инсектицидные приманочные средства собс-





твенной разработки: «Мухнет Ф», содержащее 0,15 % фипронила (патент РФ 2540553), и «Мухнет ФА», содержащее 0,15 % ацетамиприда и 0,015 % фипронила (патент РФ 2646044) [7].

Кишечное действие инсектицидов на имаго 3–5-дневного возраста лабораторной культуры комнатной мухи *Musca domestica* оценивали методом безальтернативного кормления. Ацетоновыми растворами (0,3 мл) ацетамиприда, фипронила или их смесями смачивали кубики быстрорастворимого сахара (2–5 г), рассчитывали дозу инсектицидов в мкг д.в./г сахара. Для каждого инсектицида готовили 5–6 доз, каждую испытывали не менее трех раз. В контроле сахар смачивали ацетоном. После испарения ацетона сахар помещали в стеклянные стаканчики, куда запускали по 20 мух, предварительно выдержанных без корма в течение 12 ч. Сверху стаканчики закрывали поршнем с сеткой, мух снабжали поилками с водой. Гибель насекомых учитывали через 24 ч. В предварительных опытах оценивали поедаемость мухами сахара, которая составила  $0,172 \pm 0,0129$  г сахара/г массы насекомых. Расчетные летальные дозы инсектицида умножали на коэффициент 0,172 для установления доз в расчете на массу насекомых.

Острую токсичность инсектицидных средств для теплокровных определяли при скармливании белым мышам [11, с. 41–47]. В опытах использовали белых нелинейных мышей массой 18–25 г, обоего пола, содержащихся в виварии в стандартных условиях, на стандартной диете. Перед опытами животных выдерживали на карантине в течение 7 суток, за 24 ч до опытов их держали на голодной диете. Животным опытных групп давали инсектицидное средство, навески которого предварительно смачивали водой до загустения. Дозу средства выражали в мг препарата/кг массы и в мг д.в./кг массы. Диапазон исследованных доз средства «Мухнет Ф» составил 100–24 000 мг/кг массы, а средства «Мухнет ФА» – 50–14 500 мг/массы по препарату. Животные контрольной группы получали стандартный корм в таком же количестве. Наблюдение за состоянием опытных и контрольных мышей вели в течение 10 суток после скармливания приманки.

Расчет промежуточных летальных доз ( $LD_{10}$ ,  $LD_{50}$ ,  $LD_{95}$ ) действующего вещества для 95%-го доверительного интервала для имаго комнатной мухи и белых мышей проводили методом пробит-анализа с использо-

ванием программы MedCalc (версия 18.2.1). Оценку избирательности действия проводили с помощью КИТ, который рассчитывали как отношение  $LD_{50}$  д.в. для белых мышей при скармливании инсектицидного средства к  $LD_{50}$  д.в. для имаго мух при скармливании обработанного инсектицидом сахара.

Инсектицидные средства «Мухнет Ф» и «Мухнет ФА» были также испытаны в производственных условиях, для чего их смешивали с водой в соотношении 1:3 и наносили на подложки – 250 мл на 1 м<sup>2</sup>. Затем подложки размещали в животноводческих помещениях, в местах скопления мух (на окнах, дверных проемах, водонагревательных приборах, углах помещений, в кормокухне и др.). До применения инсектицидных средств и спустя 24 ч проводили учет численности насекомых путем отлова на липкие листы размером 10×50 см, которые располагали в 8 учетных точках по периметру помещений.

**Результаты исследований.** Комбинирование действующих веществ может значительно увеличивать инсектицидность препаратов за счет синергического эффекта [2], однако одновременно может возрастать их токсичность для теплокровных животных [14]. Чтобы установить избирательность действия, необходимо знать значения полулетальных доз инсектицидов для насекомых и теплокровных животных при одинаковом пути поступления. Результаты определения полулетальных доз ацетамиприда и фипронила, испытанных отдельно и в смеси, для имаго *M. domestica* представлены в табл. 1. Использование смеси привело к увеличению токсичности ацетамиприда и фипронила против имаго мух в 15 и 5 раз соответственно. По инсектицидности фипронил превосходил ацетамиприд как при испытании отдельных субстанций ( $LD_{50}$  фипронила меньше  $LD_{50}$  ацетамиприда в 28 раз), так и при испытании их смеси ( $LD_{50}$  фипронила в смеси меньше  $LD_{50}$  ацетамиприда в 10 раз). По литературным данным, фипронил обладает в большей степени инсектицидностью по сравнению с неоникотиноидами при контактном и кишечном воздействии [4].

Параметры острой токсичности ацетамиприда и фипронила в составе моно- и бикомпонентных инсектицидных средств для белых мышей представлены в табл. 2. Острая оральная токсичность для белых мышей монокомпонентного средства «Мухнет А», содержащего 1,5 % ацетамиприда, была определена нами ранее [9]. Признаки интоксикации (мышечные сокращения, тремор,

вялость, отсутствие аппетита) и гибель животных отмечали в опытных группах мышей, которым давали указанный препарат в дозах от 5300 до 9000 мг/кг массы. Полулетальная доза (ЛД<sub>50</sub>) ацетамиприда в составе «Мухнет А» составила 94,9 (88,5–101,8) мг д.в./кг массы животного.

В ходе изучения токсичности инсектицидных средств «Мухнет Ф» и «Мухнет ФА» было установлено, что за короткий промежуток времени (не более 6 ч), рекомендованный для изучения острой токсичности препаратов [11], максимальное их количество, которое возможно было скормить мышам, составило от 14 500 до 24 000 мг/кг массы. У части мышей, получавших «Мухнет Ф» в дозе выше 15 000 мг/кг массы, отмечали снижение подвижности и отказ от корма в первые 24 ч после скормливания препарата. Описанные в литературе признаки интоксикации неоникотиноидами [13] или фипронилем [16] не были отмечены в наших опытах при скормливания «Мухнет ФА».

В опытных группах мышей, которые получали средство «Мухнет Ф» в дозах 15 000, 15 500, 16 000 и 16 500 мг/г массы, была зафиксирована гибель животных: по 1 особи из четырех в каждой группе. Поскольку

при скормливания «Мухнет Ф» в дозе выше 15 000 мг/кг массы не отмечали увеличения количества погибших, полулетальная доза средства должна превышать 15 000 мг/кг массы, а фипронила в составе средства – больше 22,5 мг/кг массы. При скормливания максимально возможной дозы средства «Мухнет ФА» летальный эффект не был достигнут, следовательно, его полулетальная доза будет больше 14 500 мг/кг массы, а ЛД<sub>50</sub> ацетамиприда и фипронила в составе средства – больше 21,75 и 2,175 мг/кг массы соответственно.

О токсичности ацетамипридсодержащих и фипронилсодержащих монокомпонентных препаратов для лабораторных животных известно [1, 5]. По данным Г.Я. Базака и др. [1], полулетальная доза препарата «Моспилан» (содержит 20 % ацетамиприда) при внутрижелудочном введении лабораторным мышам составила 656,25±80,10 мг/кг массы тела. Для крыс при введении в желудок установлена более высокая полулетальная доза отечественного аналога, препарата «Аспид» (20%-й водорастворимый порошок) – 950 мг/кг [5]. Для крыс полулетальные дозы препаративных форм, содержащих фипронил, с рабочими концентрациями действующего вещества 0,05 % не превышают

Таблица 1

**Параметры токсичности ацетамиприда и фипронила для имаго *M. domestica* при кишечном действии**

Инсектицидный состав	Летальная доза, мкг д.в./г массы насекомых		
	ЛД <sub>10</sub>	ЛД <sub>50</sub>	ЛД <sub>95</sub>
Ацетамиприд	0,369 (0,258-0,491)	2,412 (2,023-2,862)	26,81 (19,69-39,55)
Фипронил	0,014×10 <sup>-3</sup> (0,005×10 <sup>-3</sup> – 0,044×10 <sup>-3</sup> )	0,087 (0,0285-0,2659)	–
Ацетамиприд (в смеси А+Ф)	0,0022 (0,0014-0,0038)	0,1596 (0,0958-0,2578)	37,06 (22,88-60,04)
Фипронил (в смеси А+Ф)	0,00023 (0,00014-0,00037)	0,0160 (0,0099-0,0258)	3,706 (2,2879-6,0038)

Таблица 2

**Параметры токсичности ацетамиприда и фипронила в составе моно- и бикомпонентного инсектицидных средств для белых мышей**

Инсектицидное средство	МЛД средства*, мг/кг массы	Полулетальная доза ЛД <sub>50</sub>		КИТ д.в.
		по препарату, мг /кг массы	по д.в., мг д.в./кг массы	
Ацетамиприд (в составе «Мухнет А»)	5300 [2]	6326 (5898-6785)	94,9 (88,5-101,8)	39,3
Фипронил (в составе «Мухнет Ф»)	15000	>15000	>22,5	258,6
Ацетамиприд (в составе «Мухнет ФА»)	>14500	>14500	>21,75	>136,3
Фипронил (в составе «Мухнет ФА»)			>2,175	>135,9

\*МЛД – минимальная летальная доза.





5000 мг/кг массы при пероральном поступлении [5]. Техническая субстанция фипронила обладает большей токсичностью для лабораторных животных по сравнению с ацетамипридом. Полулетальная доза фипронила при пероральном поступлении составляет 97 мг/кг для крыс и 95 мг/кг для мышей [15]. Согласно данным М.Н. Костиной и др. [5], ЛД<sub>50</sub> ацетамиприда при поступлении в желудок находится в диапазоне доз 146–217 мг/кг для крыс и 184–198 мг/кг для мышей.

Анализ полулетальных доз ацетамиприда и фипронила для белых мышей в составе моно- и бикомпонентного инсектицидных средств показал, что сочетание действующих веществ в одном препарате привело к увеличению их токсичности по сравнению с монокомпонентными препаратами. Одновременно можно отметить изменение избирательности их действия. Фипронил в составе монокомпонентного препарата превосходил ацетамиприд по селективности действия в 6,8 раза. В бинарном составе избирательность их действия оказалась одинаковой, на что указывают близкие значения КИТ, рассчитанные для фипронила и ацетамиприда в составе «Мухнет ФА» (см. табл. 2).

В ходе производственных испытаний предложенных приманочных средств «Мухнет Ф» и «Мухнет ФА» было установлено, что в первые сутки после их применения количество мух в животноводческих помещениях (телятнике и коровнике) снижалось на 93,7 и 92 % по сравнению с первоначальной численностью соответственно [7]. Таким образом, монокомпонентный препарат и комбинированный препарат, в котором содержание действующего вещества фипронила было в 10 раз меньше, оказались сопоставимы по инсектицидной эффективности в производственных условиях.

**Заключение.** Комбинирование ацетамиприда и фипронила привело к увеличению их инсектицидности в отношении имаго *Musca domestica*. Одновременно увеличилась токсичность действующих веществ для теплокровных и изменилась избирательность их действия в составе бинарной смеси. Однако токсичность комбинированной препаративной формы, содержащей ацетамиприд и фипронил, не увеличилась по сравнению с монокомпонентными препаратами, содержащими данные действующие вещества.

По параметрам острой токсичности для теплокровных при поступлении в желудок разработанные инсектицидные средства

«Мухнет Ф» и «Мухнет ФА» сопоставимы с известными инсектицидными препаратами, содержащими фипронил и ацетамиприд, и могут быть отнесены к IV классу малоопасных препаратов в соответствии с ГОСТ 12.1.007.76.

*Исследование выполнено при поддержке ФАНО России в рамках тем фундаментальных научных исследований РАН (тема № 0776-2014-0006, регистрационный номер АААА-А18-118020690244-1).*

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Базака Г.Я., Духницкий В.Б., Ищенко В.Д. Острая токсичность Моспилана для лабораторных животных // Биология тварин. – 2014. – Т. 16. – № 3. – С. 9–16.
2. Еремина О.Ю., Ибрагимхалилова И.В. Синергическое действие бинарных смесей неоникотиноидов и пиретроидов на насекомых // Агротехника. – 2010. – № 2. – С. 37–44.
3. Еремина О.Ю., Ибрагимхалилова И.В., Лопатина Ю.В. Сравнительное определение продолжительности остаточного действия инсектицидов из разных химических групп на имаго блох (*Siphonaptera*) // Сельскохозяйственная биология. – 2010. – № 6. – С. 108–117.
4. Ибрагимхалилова И.В., Еремина О.Ю. Разработка метода оценки отравленных приманок и сравнение контактного и кишечного действия инсектицидов на примере комнатной мухи *Musca domestica* L. // Агротехника. – 2007. – № 12. – С. 56–62.
5. Костина М.Н., Мальцева М.М., Лопатина Ю.В. Зависимость эффективности и безопасности соединений от препаративной формы // Медицинский алфавит. – 2011. – Т. 1. – № 5. – С. 48–50.
6. Костина М.Н. Синантропные мухи: современные способы воздействия на численность синантропных членистоногих и поиск новых технологий борьбы с ними // Современные вопросы дезинфектологии. Медицинская дезинсекция: объекты, средства, резистентность членистоногих к инсектоакарицидам. – М., 2017. – С. 198–221.
7. Левченко М.А, Силиванова Е.А., Балабанова Г.Ф. Способ борьбы с мухами в помещениях ветеринарно-санитарного надзора и инсектицидный состав для его осуществления // Патент РФ № 2646044. 2018.
8. Методические рекомендации по дезинсекции и деакаризации животноводческих объектов ветеринарно-санитарного надзора / Г.С. Сивков [и др.]. – Тюмень, 2010. – 45 с.
9. Острая токсичность ацетамипридсодержащей инсектицидной приманки для лабораторных животных / Г.Ф. Балабанова [и др.] // Тр. Всерос. науч.-исслед. ин-та ветеринарной энтомологии и арахнологии: сб. науч. тр. – Тюмень, 2016. – С. 24–29.
10. Производственные испытания средства «Абалдез» для дезинфекции поверхностей помещений на объектах ветеринарного надзора /

А.А. Прокопенко [и др.] // Аграрный научный журнал. – 2017. – № 7. – С. 36–40.

11. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. Р.У. Хабриева. – 2-е изд. – М.: Медицина, 2005. – 832 с.

12. Смирнов А.А. Скрининг инсектоакарицидов и их смесей, создание состава с синергическим эффектом // Ветеринарная патология. – 2006. – № 1. – С. 118–121.

13. Токсикологическая характеристика неоникотиноидов / Т.В. Бойко [и др.] // Вестник Омского государственного аграрного университета. – 2015. – № 4 (20). – С. 49–54.

14. Hernandez A.F., Gil F., Lacasana M. Toxicological interactions of pesticide mixtures: an update // Archives of Toxicology, 2017, Vol. 91, P. 3211–3223.

15. Jackson D., Cornell C.B., Luukinen B., Buhl K., Stone D. Fipronil Technical Fact Sheet; National Pesticide Information Center, Oregon State University Extension Services. – URL: // <http://npic.orst.edu/factsheets/archive/fiptech.html> (дата обращения: 16.04.2018).

16. Mohamed F., Senarathna L., Percy A., Abeywardene M., Eaglesham G. et al. Acute human self-poisoning with the N-phenylpyrazole insecticide fipronil - a GABA-gated chloride channel blocker // Journal of Toxicology: Clinical Toxicology, 2004, Vol. 42(7), P. 955–963.

17. Rutz D.A., Geden C.J., and Pitts C.W. Pest Management Recommendations for Dairy Cattle. Cornell and Penn State Cooperative Extension Pub-

lication. – URL: <http://hdl.handle.net/1813/42361> (дата обращения: 16.04.2018).

18. Simon-Delso N., Amaral-Rogers V., Belzunces L.P. et al. Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action and metabolites // Environmental Science and Pollution Research., 2015, Vol. 22(1), P. 5–34.

19. Sparks T.C., Nauen R. IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management // Pesticide Biochemistry and Physiology, 2015, Vol. 121, P. 122–128.

20. Sudo M., Takahashi D., Andow D.A., Suzuki Y., and Yamanaka T. Optimal management strategy of insecticide resistance under various insect life histories: Heterogeneous timing of selection and inter-patch dispersal // Evolutionary Applications, 2017, Vol. 11 (2), P. 271–283.

**Левченко Михаил Алексеевич**, канд. вет. наук, зав. лабораторией ветеринарных проблем в животноводстве, ВНИИВЭА – филиал ТюмНЦ СО РАН. Россия.

**Силиванова Елена Анатольевна**, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории ветеринарных проблем в животноводстве, ВНИИВЭА – филиал ТюмНЦ СО РАН. Россия.

**Бикиняева Рузилья Хусановна**, научный сотрудник лаборатории ветеринарных проблем в животноводстве, ВНИИВЭА – филиал ТюмНЦ СО РАН. Россия. 625517, Тюменская обл., с. Мальково, ул. Мира, 5, стр. 7.

Тел.: (3452)25-85-58.

**Ключевые слова:** инсектицидные приманки; комнатная муха; белые мыши; острая токсичность; класс опасности.

## SELECTIVE TOXICITY OF ACETAMIPRID AND FIPRONIL AS A PART OF INSECTICIDAL BAITS

**Levchenko Mikhail Alekseevich**, Candidate of Veterinary Sciences, Head of the Laboratory of veterinary problems in livestock, ASRIVEA – Branch of Tyumen Scientific Centre SB RAS. Russia.

**Silivanova Elena Anatolyevna**, Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher of the Laboratory of veterinary problems in livestock, ASRIVEA – Branch of Tyumen Scientific Centre SB RAS.; Russia.

**Bikinyaeva Ruzilya Khusanovna**, Researcher of the Laboratory of veterinary problems in livestock, ASRIVEA – Branch of Tyumen Scientific Centre SB RAS. Russia.

**Keywords:** insecticidal baits; housefly; white mice; acute toxicity; hazard class.

**Monocomponent and combined insecticidal baits containing acetamiprid and fipronil are proposed to control the housefly *Musca domestica* at livestock facilities. The combination of active ingredients increases the insecticidal activity of formulations and simultaneously may lead to an increase in their toxicity to animals. The purpose of this work was to assess the selective toxicity of acetamiprid and fipronil parts of mono- and bicomponent insecticides. The intestinal activity of insecticides against adult houseflies was assessed by no-choice feeding tests. The acute toxic-**

**ity of insecticidal baits to animals was carried out by feeding to white mice. Probit analysis was used to calculate of median lethal doses of active ingredients and insecticidal baits. The selective toxicity was evaluated by the selective toxicity ratio, which was calculated by dividing the median lethal doses (LD50) of the active ingredients for white mice into LD50 for adult flies. The median lethal doses of acetamiprid and fipronil when applied alone for adult flies were 2.412 (2.023–2.862) and 0.087 (0.0285–0.2659) µg of active ingredient per g of insect weight, respectively. The insecticidal activity of active ingredients, applied in combination, against adult flies increased by 15 and 5 times, respectively. For the toxicity to mice, median lethal doses of acetamiprid and fipronil in formulations containing only one of the active substances were 94.9 (88.5 - 101.8) mg/kg and more than 22.5 mg/kg of animal weight, respectively. The selective toxicity ratio of fipronil in the monocomponent formulation was 6.8 times higher than that of acetamiprid. For the binary formulation, the selectivity of fipronil and acetamiprid activity was equal. The combination of acetamiprid and fipronil resulted in an increase in their toxicity for adults *Musca domestica* and for white mice and a change in the selectivity of their activity compared to monocomponent formulations.**

