



**ИЗСЛЕДВАНЕ НА ЕФЕКТА ОТ ВЛИЯНИЕТО НА АКТАРА И КОНФИДОР ВЪРХУ ЗАЙЦИ
ПРИ ХРОНИЧНА ИНТОКСИКАЦИЯ
STUDY ON THE EFFECT OF ACTARA AND CONFIDOR ON RABBITS SUBMITTED TO CHRONIC INTOXICATION**

**Румяна Иванова
Rumyana Ivanova**

Аграрен университет – Пловдив, бул. „Менделеев” № 12, Агрономически факултет
Катедра „Животновъдни науки”
Agricultural University – Plovdiv, 12, Mendeleev Str., Faculty of Agronomy
Department of Animal Sciences

E-mail: r.ivanova@au-plovdiv.bg

Резюме

Актара и Конфидор са неоникотиноидни препарати от нов голям клас инсектициди, чиито активни вещества са органични съединения, получени по синтетичен път. Наличната информация за влиянието на неоникотиноидните инсектициди върху гръбначните животни е изключително оскъдна. Целта на настоящото изследване е да се установи ефектът от влиянието на Актара и Конфидор върху зайци при хронична интоксикация чрез биохимичен анализ на кръв (кръвна захар, общ белтък, холестерол, АФ, АСАТ, АЛАТ) и етологични наблюдения. Сформирани бяха две опитни и една контролна група. Към храната на зайците ежедневно сутрин в продължение на 45 дни беше прибавяно съответно по 50 mg/kg жива маса Актара на група O_2 и 4,6 mg/kg Конфидор на група O_1 . На 46-ия ден беше взета кръв от всички животни чрез пункция на ушната вена. Хроничното третиране на зайци с неоникотиноидните инсектициди Актара и Конфидор води до достоверно повишаване на кръвната захар, на АСАТ, АФ и на общия белтък. Не се наблюдава по-различно от физиологичното поведение.

Abstract

Actara and Confidor are neonicotinoid products of a new large insecticide class, its active substances being organic compounds obtained synthetically. The available data about the effect of the neonicotinoid insecticides on vertebrates are quite limited. The aim of the present study was to establish the effect of Actara and Confidor on rabbits submitted to chronic intoxication, by carrying out biochemical blood analysis (blood glucose, total protein, cholesterol, APh, ASAT, ALAT) and by ethological observations. Two experimental groups and a control group were formed. Every morning 50 mg of Actara per kg of live weight of the rabbits in group O_2 and 4,6 mg/kg in group O_1 was added to the food for a 45-day period. On 46th day blood was taken from all the animals by marginal ear vein puncture. Chronic treatment of the rabbits with the neonicotinoid insecticides Actara and Confidor causes a statistically significant increase of the blood glucose values, increases the activities of ASAT and APh and decreases the total protein values. The behavior observed was not different from physiological one.

Ключови думи: зайци, имидаклоприд, тиаметоксам, хронична интоксикация.

Key words: rabbits, imidacloprid, tiametoxam, chronic intoxication.

Абревиатури: АСАТ - аспартатаминотрансфераза, АЛАТ - аланинаминотрансфераза, АФ - алкална фосфатаза, LD₅₀ - летална доза 50%.

Abbreviations: ASAT - aspartateaminotransferase, ALAT - alanineaminotransferase, APh, alkaline phosphatase, LD₅₀ - lethal dose 50%.

ВЪВЕДЕНИЕ

Неоникотиноидните препарати са нов голям клас инсектициди, чиито активни вещества са органични съединения, получени по синтетичен път. Те проявяват висока селективност към мястото на действие при

насекомите заедно с висока граница на безопасност при бозайниците. Независимо от екотоксикологичните проблеми, които създават, прогнозата за бъдещата им употреба е положителна. Това се налага от огромната им икономическа и социална полза във връзка с

увеличеното производство на хранителни продукти, необходими за задоволяване на потребностите на нарастващата човешка популация, както и за ликвидиране на някои паразитни заболявания при хората и животните (Mencke and Jeschke, 2002).

Наличната информация за влиянието на неоникотиноидните инсектициди върху гръбначните животни е изключително оскъдна. Най-богат източник за токсичността на тези препарати е базата данни, която се създава от промишлеността за растителната защита в подкрепа на регистрацията на продукти за търговска употреба. Единственото изключение от това обобщение е кратко съобщение за невротоксичност при остро и хронично третиране с имидаклоприд, и то пак направено в подкрепа на регистрацията на препарат за растителна защита (Thyssen and Machemer, 1999).

Неоникотиноидните инсектициди са с много по-ниска активност в тъканите на гръбначните животни в сравнение с тези на насекомите, дължащо се на различия в строежа на рецепторите. Това обуславя и тяхната по-ниска токсичност за тези животни (Tomizawa and Casida, 2005).

Слабото преодоляване на кръвно-мозъчната бариера е допълнителен фактор, който влияе върху понижаване на токсичността на неоникотиноидните инсектициди при гръбначните животни (I-Wen Wu et al., 2001; Tomizawa and Casida, 1999).

Като имат ограничен достъп до рецепторите в централната нервна система, централно медираните ефекти са склонни да се проявят само при по-високи нива на експозиция в сравнение с тези, които засягат периферните тъкани. Редица изследвания с лабораторни животни са в подкрепа на това твърдение. Така например при остра орална токсичност с актампиприд (Yamada et al., 1999), нитерпирам (Akayama and Minamida, 1999), имидаклоприд (Thyssen and Machemer, 1999) и тиаметоксам (Maienfisch et al., 1999) се установява LD₅₀ в интервал от 200 до 1600 mg/kg. Тези дози са доста високи, сравнени със същите, прилагани при насекомите.

Проучване, направено от Chao and Cauda (1997), информира за тремор и конвулсии при мишки, третирани с представител на тези съединения. Няма публикации, които да докладват за проучване на невротоксичния ефект на неоникотиноидните инсектициди след многократна експозиция.

Други автори (I-Wen Wu et al., 2001) съобщават за дезориентация, повишаване на телесната температура, орални и гастроезофагиални ерозии, хеморагичен гастрит, левкоцитоза и хиперглицемия при плъхове след еднократно прилагане на имидаклоприд.

Имидаклоприд бързо и почти напълно (>92%) се абсорбира от стомашно-чревния тракт на плъхове и се елиминира от организма без данни за биоакмулиране

на основното съединение или неговите метаболити. Като цяло 75% от приетата доза се екскретира с урината, а останалата част – чрез фекалиите.

Черният дроб е другият основен прицелен орган след многократно приложение на имидаклоприд при мишки, плъхове и кучета, съответно в дози > 410 mg/kg телесно тегло на ден, >17 mg/kg телесно тегло на ден и >31 mg/kg телесно тегло на ден. Спектърът от промени включва индукция на чернодробните микрозомални ензими, нарушения на чернодробната функция и хистологично доказани дистрофични промени (хепатоцелуларна хипертрофия, некрози, клетъчна инфилтрация и увеличено тегло на черния дроб). Достоверно се променят серумните концентрации на холестерол, триглицериди, протеин и албумин, както и повишаване на активността на аланинаминотрансферазата, алкалната фосфатаза и лактатдеhidrogenазата (Jamamoto and Casida, 1999).

След прилагане на имидаклоприд и тиаметоксам при мишки слабо се инхибира активността на холинестеразата. И двете активни вещества имат хепатотоксично действие, особено второто, защото то има специфично метаболизиране при мишките (Green et al., 2005).

В едно изследване за токсичност върху развитието на зайци, третирани с дози от 24 mg/kg на ден имидаклоприд, даван със сонда през ден в периода на 6-19-тия ден на бременността, се установява намаляване на телесното тегло и скелетни аномалии при новородените (Federal Register, 1995, 60-128).

В подобно изследване при проучване на ефекта на имидаклоприд, добавян в храната, между шестия и осемнадесетия ден от бременността на зайкини се отчита разностепенното му влияние върху тяхната репродукция. При доза от 72 mg/kg на ден се увеличават честотата на спонтанните аборти и броят на потомствата с необичайни скелети (Northwest Coalition for Alternatives to Pesticides, 2001, 15-21).

Не са регистрирани никакви ефекти след аплициране на имидаклоприд дермално при мъжки и женски новозеландски бели зайци в доза от 1000 mg/kg телесно тегло ежедневно за 6 часа в продължение на 15 дни (Flucke, 1990).

При едногодишно проучване на кучета, захранвани с ниски дози неоникотиноиди, са били установени повишени нива на холестерола в кръвта, както и промени в структурата на черния дроб (Federal Register, 1995, 60-128).

Хроничната експозиция на имидаклоприд е предизвикала оксидативен стрес и възпаление чрез промяна на антиоксидантните системи, проинфламаторно действие в черния дроб и централната нервна система на гръбначните животни (Vesile and Erdogan, 2012).



Целта на настоящото изследване беше да се установи ефектът от влиянието на Актара и Конфидор върху зайци при хронична интоксикация върху някои биохимични показатели на кръвта и поведенческите им реакции.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Дозирание на препаратите

За създаване на модел на хронична токсикоза никотиноидният инсектицид беше размесван с храната на опитните животни, като предварително се разреждаше с вода.

Вземане на кръвни проби

Кръвните проби се вземаха по общоприетите методи със спазване на правилата за асептика и антисептика. Получената кръв се центрофугираше, като серумът се използваше за определяне на кръвните биохимични показатели с тестове на фирма «Биомед».

Материали

- Актара е неоникотиноиден инсектицид с 250 g/kg активно вещество тиаметоксикам.

- Конфидор е неоникотиноиден инсектицид с 700 g/kg активно вещество имидаклоприд.

Опитни постановки

Експериментът беше проведен в базата на катедра „Животновъдни науки“ на АУ – Пловдив. Животните бяха закупени от Селекционен център, гр. Сливен. Зайците бяха ваксинирани, маркирани и снабдени с племенни свидетелства за произход. След 7-дневен период на адаптация животните бяха разпределени в три групи, както следва: по 4 женски и едно мъжко животно, изравнени по живо тегло (1,8 kg).

Зайците бяха хранени с готова стандартна смеска, към която ежедневно сутрин в продължение на 45 дни беше прибавяно съответно по 50 mg/kg жива маса Актара на група O₂ и 4,6 mg/kg Конфидор на група O₁. На 46-ия ден беше взета кръв от всички животни чрез пункция на ушната вена, а по две животни от група бяха декапитирани след предварителна етерна наркоза.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Хроничният опит моделира ефекта на ниските дози или концентрации на токсичния агент при експозиция с голяма продължителност върху неспецифичната реактивност и адаптивните промени в организма.

При интерпретацията на данните имамхе предвид, че поради използването на ниски нива на експозиция в хроничния експеримент наблюдаваните промени може да останат в границите на физиологичните норми.

При нашия експеримент избрахме оралното прилагане на неоникотиноидните инсектициди поради опасността от попадане на тези вещества именно през устата. Отравянето с инсектици е възможно при всички селскостопански животни както на пасището, така и в обора.

В таблица 2 представяме стойностите на кръвната захар при зайци след хронично третиране с Актара и Конфидор. Резултатите показват достоверно покачване на кръвната захар при група O₂ и незначително при група O₁ (p<0,05) в сравнение с контролната група.

Повишаването на кръвната захар според нас вероятно е свързано с усиленото разпадане на

Таблица 1. Методи за определяне на кръвните биохимични показатели
Table 1. Methods for determination of biochemical blood parameters

Показател / Indicator	Метод/ Method
Кръвна захар Blood glucose (mmol/L)	Ензимен колориметричен тест на базата на Триндер реакция Enzymatic colorimetric test based on Trinder - reaction
Общ белтък Total protein g/L	Колориметрично определяне на общия белтък, основаващо се на биуретовата реакция/медни соли в алкална среда Colorimetric determination of total protein based on the biuret reaction/copper salts in an alkaline environment
Холестерол Cholesterol (mmol/L)	Ензимен колориметричен метод Enzymatic colorimetric method
Алкална фосфатаза АФ Alkaline phosphatase Aph (μmol/s/L)	Кинетичен метод Kinetic method
Аспартатаминотрансфераза АСАТ Aspartate aminotransferase ASAT (ηmol/s/L)	UV метод UV method
Аланинаминотрансфераза АЛАТ Alanine aminotransferase ALAT (ηmol/s/L)	UV метод UV method

Таблица 2. Влияние на неоникотиноидните инсектициди Актара и Конфидор прилагани многократно върху стойностите на изследваните показатели при зайци

Table 2. Effect of neonicotinoid insecticides Aktara and Confidor repeatedly applied on the values of the parameters studied in rabbits

	Групи Groups	Глюкоза Glucose (mmol/L)	Общ белтък Total protein (g/L)	Холестерол Cholesterol (mmol/L)	ACAT ASAT (ηmol/s/L)	АЛАТ ALAT (ηmol/s/L)	АФ APh (μmol/s/L)
\bar{X}	O ₁	11,14*	68,48*	23,66	2627,19**	247,38	4,33***
\bar{X}	O ₂	13,81	60,86	25,22	2440,49***	248,38	2,71***
\bar{X}	K	6,66	48,26	22,26	1636,99	218,04	1,52
SD	O ₁	0,699	2,849	2,056	296,71	38,06	0,58
SD	O ₂	1,231	1,124	1,642	382,79	45,84	0,43
SD	K	0,614	2,533	2,989	39,79	44,66	0,04
CV%	O ₁	6,275	4,160	8,689	188,25	256,45	0,23
CV%	O ₂	8,913	1,846	6,510	261,47	307,66	0,26
CV%	K	9,219	5,248	13,427	40,51	341,42	0,05

*P<0,05; **p<0,01; ***P<0,001

гликогена с последваща гликонеогенеза, диктувани от състоянието на чернодробния паренхим. В зависимост от степента на неговото увреждане може да се очакват нарушения и в някои от звената на въглехидратния метаболизъм.

Стойностите на холестерола и при двете опитни групи (табл. 2) остават в границите на физиологичната норма, но по-високи от контролната група. Известно е, че за поддържането на холестероловата хомеостаза основна заслуга има черният дроб. Поради това и промените в стойностите на холестерола са реципрочни на степента на въздействие на токсичния агент (Jamamoto and Casida, 1999).

Плазмената концентрация на общия белтък е съставена от почти 100 различни протеина, която също зависи от състоянието на черния дроб. При нашите изследвания установихме повишаване на концентрацията на общия серумен белтък и при двете опитни групи, в сравнение с контролната, като увеличението беше по-съществено при група O₁ (p<0,05) (табл. 2).

Въздействието на токсичния агент върху серумените трансминази е очевидно. Докато в здравия организъм тяхната активност запазва относително постоянство, то при патологични процеси това постоянство се нарушава и свидетелства за увреждане на хепатоцитите. Получените от нас резултати показват значимо и достоверно повишаване на активността на АСАТ спрямо контролната група (2627,19 (зmol/s/L) при група O₁ (p<0,01) и 2440,49 (зmol/s/L) при група O₂ (p<0,001). Колебанията в активността на АЛАТ обаче остават във физиологичните си граници и при двете опитни групи зайци (табл. 2).

Установихме покачване и на активността на АФ (табл. 2) при двете опитни групи зайци. При експерименти с плъхове Jamamoto and Casida (1999)

също съобщават за достоверно нарастване на АФ (p<0,001).

През целия период на изследване третираните животни не показаха поведение, различно от физиологичното. Jamamoto and Casida (1999) не съобщават за специфични симптоми в поведението при хронично третиране с неоникотиноиди. Не се съобщават промени в общото поведение и на зайци след аплициране на имдаклоприд дермално (Flucke, 1990).

ИЗВОДИ

1. Хроничното третиране на зайци с неоникотиноидните инсектициди Актара и Конфидор води до достоверно повишаване на кръвната захар, АСАТ, АФ и общия белтък.
2. При хронично третиране на зайци с Актара и Конфидор не се наблюдават промени в тяхното поведение.

LITERATURA

- Akayama, A. L., Minamida, 1999. Discovery of a new systemic insecticide, nitenpyram and its insecticidal properties, in Nicotinoid Insecticides and the Nicotinic Acetylcholine – In Yamamoto I. and Casida J. (Editors), Japan, Springer-Verlag, Tokyo, 127-148.
- Chao, S L., J. F. Cauda, 1997. Interaction of imidacloprid metabolites and analogs with the nicotinic acetylcholine receptor of mouse brain in relation to toxicity., *Pestic. Biochem. Physiol.* 58, 77-88.
- Federal Register. Imidacloprid; Pesticide Tolerances, July 5, 1995, 60(128): 34943-24945.
- Flucke, W., 1990, Study for subacute dermal toxicity in the rabbit., 11 June, Mannheim, Germany, Unpublished report from Bayer AG, report No.19152, Submitted to WHO by Bayer AG.



- I-Wen, Wu, Dr. Ja-Liang Lin, En-Tsung Cheng, Jan*, 2001. Acute poisoning with the Neonicotinoid Insecticide Imidacloprid in N-Methyl Pyrrolidone, *Clinical Toxicology*, Vol. 39, N6, 617-621.
- Jamamoto, I, J. Casida*, 1999. Nicotinoid insecticides and the nicotine acetylcholine receptor. ISBN 4-431-70213-X, Library Congress Cataloging in Publication Data.
- Maienfisch, P., F. Brandl, W. Kobel, A. Rindlisbacher, R. Senn*, 1999. CGA 293-343: A novel, broad-spectrum neonicotinoid insecticide, in *Nicotinoid Insecticides and the Nicotinic Acetylcholine Receptor* – In Yamamoto I. and Casida J. (Editors), Japan, Springer-Verlag, Tokyo, 177-209.
- Mencke, N., P Jeschke.*, 2002. Therapy and Prevention of Parasitic Insects in Veterinary Medicine using Imidacloprid., June, *Current Topics in Medicinal Chemistry*, Volume 2, Number 7, 1, 701-715.
- Northwest Coalition for Alternatives to Pesticides, *Journal of pesticide reform*, Spring 2001, Vol. 21, N1, 15-21.
- Green, T., A. Toghill, R. Lee, F. Waechter, E. Weber, J. Noakes*, 2005. Thiamethoxam induced mouse liver tumors and their relevance to humans. Part 1: Mode of action studies in the mouse. *Toxicol. Sci.*, 86, 36-47.
- Thyssen, J. L. Machermer*, 1999. Imidacloprid: toxicology and metabolism, in *Nicotinoid Insecticide and the Nicotinic Acetylcholine Receptor* – In Yamamoto I. and Casida J. (Editors), Japan, Springer-Verlag, Tokyo, 213-222.
- Tomizawa, M., J. E. Casida*, 1999. Minor structural changes in nicotinoid insecticides Confer differential subtype selectivity for mammalian nicotinic acetylcholine receptors. *Br. J. Pharmacol* 127, 115-122.
- Tomizawa, M, J.E. Casida*, 2005. Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action, February, *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, Vol. 45: 247-268.
- Vesile, Duzguner, Suar Erdogan*, 2012. Chronic exposure to imidacloprid induces inflammation and oxidative stress in the liver and central nervous system of rats, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, Vol. 104, September, 58-64.
- Yamada, T., H. Takashi, R. Hatano*, 1999. A novel insecticide. Acetamiprid, in *Nicotinoid Insecticides and the Nicotinic Acetylcholine Receptor* – In Yamamoto I. and Casida J. (Editors), Japan, Springer-Verlag, Tokyo, 149-176.

Статията е приета на 12.12.2012 г.
Рецензент – доц. д-р Христо Христов
E-mail: hrh.1234@abv.bg