

УДК 615.9+613.6+632.95+616.037:001.5

# ОЦІНЮВАННЯ БЕЗПЕЧНОСТІ БІОПРЕПАРАТУ ІНСЕКТИЦИДНОЇ ДІЇ «ХЕЛІКОВЕКС, КС» НА ОСНОВІ ВІРУСУ ЯДЕРНОГО ПОЛІЕДРОЗУ БАВОВНЯНОЇ СОВКИ (*HEARNPV*)

Яструб Т. О., Кірсенко В. В.

ДУ «Інститут медицини праці НАМН України», м. Київ

*Вступ.* Виробництво та застосування біопрепаратів є все більш суттєвим доповненням хімічним засобам, а у випадках органічного землеробства – екологічно чистою альтернативою. Ефективними засобами біологічного контролю чисельності комах-шкідників є біопрепарати на основі бакуловірусів, які становлять частину природної мікробіоти й відіграють велику роль у підтриманні рівноваги комах у природних біоценозах.

*Мета дослідження.* Токсиколого-гігієнічна оцінка біопрепарату «Хеліковекс, КС» (діючий чинник – *Helicoverpa armigera nucleopolyhedrovirus (HearNPV)* ізолят BV-0003 – вірус ядерного поліедрозу бавовняної совки, титр –  $7,5 \cdot 10^{12}$  поліедрів/л) виробництва Андерматт Біоконтрол АГ (Швейцарія) з позицій безпечності для здоров'я людини та навколишнього природного середовища.

*Матеріали та методи дослідження.* Методи дослідження: експертно-аналітичні, токсикологічні, гігієнічні. Експериментальні токсикологічні дослідження виконані відповідно до вимог OECD 401, 402, 404, 405, 406 (OECD Guideline for the Testing of Chemicals «Acute Oral Toxicity», «Acute Dermal Toxicity», «Acute Dermal Irritation/Corrosion», «Acute Eye Irritation/Corrosion», «Skin Sensitisation») з дотриманням основних положень біоетичного поводження з тваринами. Обґрунтування санітарно-гігієнічних вимог застосування препарату проведено з використанням офіційних документів, що регламентують безпечність пестицидів на етапі післяреєстраційного застосування.

*Результати.* Встановлено, що біопрепарат «Хеліковекс, КС» відповідно до «Гігієнічної класифікації пестицидів за ступенем небезпечності» (ДСанПіН 8.8.1.002-98) за параметрами гострої пероральної, інгаляційної, шкірно-резорбтивної токсичності відноситься до 4 класу небезпечності (малонебезпечний), не проявляє подразнюючої дії на шкіру та слизові оболонки очей, не має сенсibilізуючих властивостей. Контроль об'єктів виробничого та навколишнього природного середовища, а також сільськогосподарської продукції, вирощеної з використанням препарату, не потрібний. Строк очікування до збирання урожаю сільськогосподарських культур, які вирощені із застосуванням препарату, не регламентується; строки виходу на оброблені ділянки для проведення механізованих/ручних робіт – 1 доба. Умови безпечного використання біопрепарату визначаються дотриманням інструкції із застосування, вимог ДСП 8.8.1.2.001-98 «Транспортування, зберігання і застосування пестицидів в народному господарстві».

*Висновки.* За результатами токсиколого-гігієнічної оцінки біопрепарату інсектицидної дії «Хеліковекс, КС» розроблена інструкція з його безпечного застосування в заявленій сфері та надані рекомендації на державну реєстрацію в Україні.

**Ключові слова:** бакуловіруси, біопрепарат інсектицидної дії «Хеліковекс, КС», оцінювання безпечності

## Вступ

Ефективними засобами біологічного контролю чисельності комах-фітофагів ряду лускокрилих (*Lepidoptera*), серед яких налічується найбільша кількість шкідників сільського та лісового господарства, є біопрепарати на основі бакуловірусів, які становлять частину природної мікробіоти й відіграють велику роль у підтриманні рівноваги комах у природних біоценозах.

Унікальність вірусів родини *Baculoviridae* полягає в їхній високій специфічності (вибірковості) дії,

яка є результатом довготривалої спільної еволюції цих організмів та певного біологічного виду комах [1]. Так, віруси ядерного поліедрозу *Heliothis zea NPV*, *Helicoverpa armigera nucleopolyhedrovirus (HearNPV)* проявляють виключну вибірковість патогенної дії відносно бавовняної совки (*Helicoverpa armigera*); перелік комах-шкідників, які вражаються грануловірусом *Cydia pomonella GV*, обмежується яблуневою плодожеркою (*Cydia pomonella*) та східною плодожеркою (*Grapholitha molesta*). Така специфічність гарантує безпеку для нецільової флори та фауни, навколишнього

природного середовища, що обумовлює екологічну доцільність біоінсектицидів на їхній основі [2–5].

Іншою унікальною властивістю цих ентомопатогенних вірусів є їхній морфогенез, який не закінчується на стадії утворення вібріонів, а продовжується формуванням у клітинах хворої комахи специфічних тілець включень (ТВ) – поліедрів або гранул, масове утворення яких веде до лізису клітин, руйнування тканин та до загибелі гусениці (зазвичай хвороба уражає личинкову стадію комахи). Маса тілець-включень у загиблій гусениці може становити понад 30 % загальної ваги. Цей феномен, притаманний бакуловірусам, сприяє розробці біотехнології виготовлення препаратів, оскільки полегшує одержання значної маси вірусного продукту.

Першим зареєстрованим у світі вірусним інсектицидом був препарат *Viron-H*, виготовлений на основі вірусу ядерного поліедрозу бавовняної совки *Heliothis zea NPV*. Цей вірус був першим у світі ентомопатогенів, звільнених від вимог толерантності. Це означає, що вірус пройшов усі етапи досліджень за програмою ВООЗ та визнаний як такий, що є безпечним для всіх форм життя, окрім свого хазяїна та ряду близькоспоріднених видів комах.

Біологічна ефективність вірусних інсектицидів не поступається хімічним пестицидам та становить від 75 до 95 %. Дози внесення вірусного препарату на 1 га незначні і становлять від 10 до 100 мл концентрату з титром  $10^9$ – $10^{12}$  поліедрів або гранул в 1 мл препарату. Такі концентрації не забруднюють навколишнє середовище і навіть не перевищують того навантаження в природі, яке може скластися внаслідок природної епізоотії під час масового розмноження шкідників [8].

Оцінку безпечності вірусних інсектицидів, що вироблялися в колишньому СРСР більше 20 років, здійснював Інститут епідеміології та інфекційних хвороб імені Л. В. Громашевського (м. Київ). Результатом таких досліджень є впровадження в практику сільськогосподарського виробництва 8 біопрепаратів. Це препарати: вірин ЕНШ – проти непарного шовкопряда, вірин АББ – проти американського білого метелика, вірин КШ – проти кільчастого шовкопряда, вірин ЕКС – проти капустяної совки, вірин ГЯП – проти яблуневої плодожерки, вірин БС – проти бавовняної совки, вірин-ОС – проти озимої совки, вірин-дипріон – проти рудого соснового пильщика [6].

Виробництво та застосування біопрепаратів стає все більш суттєвим доповненням хімічним засобам, а у випадках органічного землеробства – екологічно чистою альтернативою. Частка таких препаратів на світовому ринку пестицидів становить понад 2 %, проте їхнє застосування щорічно зростає на 20 %, а прогноз глобального ринку біопестицидів до 2015 року сягне 2,8 млрд доларів.

Одним із біопрепаратів інсектицидної дії на основі бакуловірусу є «Хеліковекс, КС» (діючий чинник – *Helicoverpa armigera nucleopolyhedrovirus* (*HearNPV*) ізолят BV-0003 – вірус ядерного поліедрозу бавовняної совки, титр –  $7,5 \cdot 10^{12}$  поліедрів/л) виробництва Андерматт Біоконтрол АГ (Швейцарія), який був включений до плану проведення державних випробувань в Україні з метою застосування в сільському господарстві та приватному секторі на помідорах, сої, перці шляхом обприскування рослин у період вегетації за наявності шкідника (бавовняної совки) з нормою витрати препарату 0,05–0,20 л/га на 200–500 л робочої рідини або 2 мл/100 м<sup>2</sup> на 5 л робочої рідини з максимальною кількістю обробок – 6.

Препарат пройшов апробацію та використовується в країнах ЄС, США, Центральній та Латинській Америці.

*Мета дослідження* – токсиколого-гігієнічна оцінка біопрепарату «Хеліковекс, КС» з позицій безпечності для здоров'я людини та навколишнього природного середовища.

Щоб досягти мети необхідно було вирішити наступні завдання: провести експертизу матеріалів фірми-виробника на препарат та діючий чинник; надати токсикологічну оцінку та визначити клас небезпечності біопрепарату; розробити санітарно-гігієнічні вимоги та регламенти безпечного використання біопрепарату в заявленій сфері застосування.

## Матеріали та методи дослідження

Препарат «Хеліковекс, КС» виготовлений із бакуловірусу *Helicoverpa armigera nucleopolyhedrovirus* (*HearNPV*) ізолят BV-0003, який проявляє виключну вибірковість патогенної дії відносно бавовняної совки (*Helicoverpa armigera*) – небезпечного поліфітофага, що пошкоджує сільськогосподарські культури, зокрема, помідори, сою, перець.

Експериментальні дослідження в межах первинної токсикологічної оцінки препарату проводили

відповідно до вимог OECD 401, 402, 404, 405, 406 (OECD Guideline for the Testing of Chemicals «Acute Oral Toxicity», «Acute Dermal Toxicity», «Acute Dermal Irritation/Corrosion», «Acute Eye Irritation/Corrosion», «Skin Sensitisation», дотримуючись основних положень біоетичного поводження з тваринами [7].

Загальну характеристику бакуловірусів приведено за матеріалами фірми-виробника та даними літератури [8, 9]. Обґрунтування санітарно-гігієнічних вимог застосування препарату проведено з використанням офіційних документів, що регламентують безпечність пестицидів на етапі їхнього післяреєстраційного застосування.

### Результати дослідження та їх обговорення

Біопрепарат «Хеліковекс, КС» — рідина від сірого до коричневого кольору із слабким запахом, водневий показник (рН) — 6–7, густина 1,1 г/см<sup>3</sup> (20 °С), тиск пари < 0,1 Па (20 °С), в'язкість — 1200 мПа · с. Препарат стабільний не менше 3 років при зберіганні в закритій оригінальній упаковці в сухих, захищених від прямих сонячних променів приміщеннях за температури не вище плюс 5 °С; при зберіганні за температури мінус 18 °С — термін придатності необмежений. Препарат сумісний з більшістю пестицидів та агрохімікатів, включаючи сірку. Його не рекомендується змішувати із сильними кислотами та лугами (рН < 5 та рН > 8), а також препаратами, що містять мідь.

Діючим чинником препарату є поліедри експериментального штаму *HearNPV* ізолят вірусу ядерного поліедрозу *Helicoverpa armigera nucleopolyhedrovirus*, який був виділений у 1976 році в Китаї із личинки бавовняної совки та депонований в Німецькій колекції мікроорганізмів та клітинних культур (DSMZ Braunschweig, Germany) під інвентарним номером BV-0003. Концентрація діючого чинника в препараті —  $7,5 \cdot 10^{12}$  поліедрів/л. Складовими препарату є також залишки поживного середовища та гліцерин (стабілізатор, бактеріостатична речовина).

*Культурально-морфологічна характеристика.* Бакуловіруси характеризуються складним реплікаційним циклом, який завершується включенням вібріонів у кристалічний білковий матрикс [10]. Вони мають великий двоспіральний ДНК-геном розміром (88–160) тисяч пар нуклеотидів. Розмір вірусного геному визначає довжину нуклеокапсиду —

200–400 мкм. У вірусів ядерного поліедрозу один чи декілька нуклеокапсидів упаковані всередині ліпопротеїнової оболонки, утворюючи віріон. Декілька таких структур формують так звані тільця-включення (ТВ) у вигляді поліедрів, які розміщені в ядрах інфікованої клітини та складаються в основному із одного білка — поліедрину. Поліедри мають розміри 1–15 мкм, видимі в світловому мікроскопі, різко заломлюють світло і, на відміну від інших клітинних структур, не фарбуються звичайними гістологічними фарбниками без попередньої спеціальної обробки. *HearNPV* ізолят BV-0003, який використовується у виробництві препарату «Хеліковекс, КС», не має яких-небудь морфологічних характеристик, відмінних від класичного виду. Штам за послідовністю нуклеотидів на 98,1 % співпадає з вірусом поліедрозу *Heliothis zea NPV* — діючим чинником біопрепарату *Viron-H* (США).

*Токсикологічна оцінка препарату Хеліковекс, КС.* Гостру пероральну та шкірно-резорбтивну токсичність препарату вивчали на щурах лінії *Wistar Han* (змішана група — самці та самки,  $n = 6$ ). Перед початком дослідження тварини не вживали корму протягом 24 год. Піддослідним тваринам вводили препарат у шлунок за допомогою металевого зонда в дозі 2000 мг/кг маси тіла. Контрольним тваринам вводили аналогічну кількість питної води. Клінічних симптомів інтоксикації, загибелі тварин протягом усього періоду спостережень не відмічено. Статистично вірогідних змін у масі тіла піддослідних тварин порівняно з контролем не виявлено.  $LD_{50} > 2000$  мг/кг. За даними фірми,  $LD_{50}$  препаративної форми — 12 600 мг/кг.

Шкірно-резорбтивну дію вивчали на щурах лінії *Wistar Han* (змішана група — самці та самки,  $n = 6$ ). За одну добу до проведення експерименту на тулубі тварин ретельно вистригали шерстяний покрив розміром 2 × 2 см. Препарат наносили на шкіру в нерозведеному вигляді в дозі 4000 мг/кг. Симптомів інтоксикації та загибелі тварин протягом 14 діб спостереження не виявлено.  $LD_{50} > 4000$  мг/кг.

Подразнюючу дію на шкіру досліджували на кролях породи Шиншила. На вистрижені (за 24 год до проведення дослідження) ділянки шкіри розміром 2 × 3 см наносили препарат у нативному вигляді об'ємом 0,5 мл під оклюзивну пов'язку на 4 год з подальшим його змиванням водопровідною водою. Основними ефектами при вивченні подразнюючої дії були еритема та набряк шкіри, оцінку яких проводили через 1, 24, 48, 72 год після експозиції та через 14 діб. На

місці аплікації ознак подразнення шкіри не спостерігали протягом усього експерименту. За даними фірми, при 4-год аплікації препарату на шкіру в дозі  $10^6$  ТВ/мм<sup>2</sup> шкіри клінічних ознак інтоксикації, які б підтверджували факт проникнення препарату через шкіру та його системну дію, а також місцево-подразнюючої дії не відмічено.

Подразнюючу дію на слизові оболонки очей вивчали шляхом одноразового внесення в кон'юнктивальний мішок лівого ока кроля 2 крапель (0,1 мл) препарату в нативному вигляді (праве око слугувало контролем). Спостереження за станом слизових оболонок очей проводили протягом 14 діб. За результатами проведеного дослідження не виявлено подразнюючої дії на слизові оболонки очей.

За даними фірми, при одноразовому внесенні в кон'юнктивальний мішок ока новозеландського кролика препарату *per se* у кількості до  $10^6$  вірусних тілець подразнюючої дії на слизові оболонки очей не спостерігалось.

Сенсибілізуючі властивості препарату вивчали на морських свинках за методом Бюхлера — «закритий епікутанний тест»: 3-разове (на 1, 7 та 14 дні експерименту) нанесення на вистрижені ділянки бокової поверхні шкіри (4 см<sup>2</sup>) нативного препарату (3 краплі) на 6 год під оклюзивну пов'язку (період сенсибілізації) з наступним (на 28 день) тестуванням у тій самій концентрації (дана концентрація не викликала в тварин проявів контактної дерматиту). Спостереження за реакцією шкіри після нанесення тестової концентрації проводили через 6 год (після зняття оклюзивної пов'язки) та через 24 год. Ознак подразнюючої дії не відмічено (реакція шкіри «0» балів за уніфікованою шкалою). За результатами проведених досліджень зроблено висновок, що препарат за умов даного дослідження не чинить сенсибілізуючої дії на шкіру морських свинок.

За даними фірми, нашкірні аплікації в дозі 1000 мг/кг протягом 20 днів та одноразове введення у шлунок у дозі 1000 мг/кг не приводять до розвитку сенсибілізації. При інтраназальному введенні мишам у дозі  $3 \cdot 10^9$  вірусних тілець протягом 30 днів не приводило до імунотоксичної дії.

При одноразовій 4-год інгаляційній експозиції  $NOEC > 2 \cdot 10^{12}$  ТВ/л (морські свинки, *Cydia pomonella GV*).

Таким чином, біопрепарат «Хеліковекс, КС» відповідно до «Гігієнічної класифікації пестицидів за ступенем небезпечності» (ДСанПіН 8.8.1.002-98)

за параметрами гострої пероральної, інгаляційної, шкірно-резорбтивної токсичності відноситься до 4 класу небезпечності (малонебезпечний), не чинить подразнюючої дії на шкіру та слизові оболонки очей, не проявляє сенсибілізуючих властивостей.

*Загальна токсикологічна характеристика бакуловірусів.* Безпечність бакуловірусів для теплокровних тварин підтверджується результатами досліджень, проведених як за традиційною схемою постановки токсикологічних експериментів, так і на тест-об'єктах, які в медичній вірусології вважаються найчутливішими для виявлення вірусної інфекції, можливої адаптації вірусу та розмноження його в організмі експериментальних тварин [9].

Узагальнені дані з дослідження токсикологічних властивостей бакуловірусів наведено в таблиці 1.

Результати проведених досліджень свідчать, що бакуловіруси не викликають явної чи прихованої патології за різних шляхів введення до організму лабораторних тварин (щурів, мишей, морських свинок, собак, макак резус) у різних дозах за умов одноразового впливу та в процесі тривалих субхронічних (90–180 днів) та хронічних (2 роки) експозицій.

За допомогою імуноферментного методу було показано, що вірус у 10–30 % випадків проникає у кров, фіксується на паренхіматозних органах та зникає через 7–10 днів. Виявляються також антитіла у відповідь на надходження вірусного антигена в реакції пасивної гемаглютинації в низьких титрах через 5–7 днів після інфікування. Відсутність антитіл через 21 день свідчить про те, що інфекційний процес не розвивається й репродукції вірусу не відбувається.

Мутагенні (генотоксичні) властивості були вивчені в умовах *in vivo* та *in vitro* в тестах на індукцію аберацій хромосом у культурі клітин ссавців, сестринських хроматидних обмінів, хромосомних аберацій у клітинах кісткового мозку китайського хом'ячка після гострого або підгострого перорального впливу. Проведені дослідження не виявили в бакуловірусів мутагенної активності.

Досліди на клітинному рівні не виявили цитопатичної дії та реплікації вірусу після інфікування різними дозами ( $10^2$ – $10^8$  пдр/мл) первинно-трипсинізованих культур (людська, куряча чи мишача ембріональна тканина) чи культур клітин HeLa, Her-2, L-41 та ін. Збільшена в деяких випадках мітотична активність клітин після внесення вібро-

Таблиця 1

## Результати токсикологічних досліджень бакуловірусів

Вид дослідження	Вид тварин	Назва вірусу	Доза, ТВ/кг м.т.	Ефект
Одноразова пероральна експозиція	щури	<i>Autographa californica NPV</i> <i>Orgyia pseudotsugata NPV</i>	$5 \cdot 10^9$ $1,8 \cdot 10^{11}$	NOEL*
	миші	<i>Cydia pomonella GV</i>	$5 \cdot 10^{11}$	NOEL
	макаки резус	<i>Heliothis zea NPV</i>	$6 \cdot 10^8$	NOEL
Гостра інгаляційна експозиція	морські свинки	<i>Cydia pomonella GV</i>	$2 \cdot 10^{12}$ ТВ/л	NOEL
	щури	<i>Orgyia pseudotsugata NPV</i>	$3,6 \cdot 10^{10}$ ТВ/л	NOEL
Одноразова внутрішньоочеревинна експозиція	миші	<i>Cydia pomonella GV</i>	$1 \cdot 10^{11}$	NOEL
		<i>Mamestra brassicae NPV</i>	$5 \cdot 10^8$	
		<i>Orgyia pseudotsugata NPV</i>	$1,5 \cdot 10^7$	
Одноразова підшкірна експозиція	макаки резус	<i>Heliothis zea NPV</i>	$1,2 \cdot 10^8$	NOEL
Одноразова внутрішньовенна експозиція	щури	<i>Spodoptera litura NPV</i>	$6 \cdot 10^8$	NOEL
Субхронічна пероральна експозиція	миші	<i>Mamestra brassicae NPV</i>	$10^8$ ТВ/мишу	NOEL
		<i>Cydia pomonella GV</i>	$1,5 \cdot 10^{10}$ ТВ/мишу	
	морські свинки	<i>Mamestra brassicae NPV</i>	$1,5 \cdot 10^{10}$	NOEL
	щури	<i>N. lecontei NPV</i>	не вказана	відсутній
	хом'ячки	<i>Cydia pomonella GV</i>	$1,6 \cdot 10^{10}$	NOEL
	собаки	<i>Lymantria dispar NPV</i>	не вказана	відсутній
макаки резус	<i>Heliothis zea NPV</i>	$6 \cdot 10^8$	NOEL	
Інгаляційна та підшкірна експозиція (26 тижнів)	макаки резус	<i>Heliothis zea NPV</i>	$1,2 \cdot 10^8$	NOEL
Онкогенність	щури	<i>Heliothis zea NPV</i>	$6 \cdot 10^{10}$ ТВ/кг корму	NOEL
Тератогенність та вплив на розвиток	щури	<i>Heliothis zea NPV</i>	$1 \cdot 10^9$	NOEL

Примітка. \*NOEL – no-observed-effect level – максимальний неефективний рівень, який не викликає ніякого ефекту на дію.

на в культурі клітин теплокровних тварин, очевидно, не є специфічним явищем для бакуловірусів, оскільки відома й для інших вірусів людини та тварин.

Бакуловіруси проявляють сенсibiliзуючу активність і можуть, індукуючи імунологічну перебудову в організмі, приводити до розвитку гіперчутливості уповільненого типу та виробленню антитіл. Експериментальні дані були підтвержені в натурних умовах. Майже в усіх працівників вірусного цеху біохімічного заводу з виробництва вірусних інсектицидів спостерігали імуноалергічні порушення. Вивчення амбулаторних карт працюючих виявило в кількох випадках постійні імунопатологічні реакції типу кон'юнктивітів, ринітів,

фарингітів тощо. Цю патологію можна трактувати як професійну [11].

Для контролю за безпечним виробництвом вірусних інсектицидів в Україні був розроблений гігієнічний норматив: ГДК у повітрі робочої зони –  $10^3$  пдр/м<sup>3</sup> (методи контролю: люмінесцентна мікроскопія, метод імунофлуоресцентного аналізу) [6].

*Поведінка у навколишньому середовищі.* Бакуловіруси є звичними компонентами мікробіоти, і при штучному внесенні в природу вони або збільшують чисельність місцевого вірусу через епізоотію, або стають новим компонентом біоти й стримують чисельність комах завдяки передачі латентної інфекції. У період природної спонтанної епізоотії вірозу забруднення поліедрами навколиш-

нього середовища може бути значним і сягати  $10^{14}$  поліедрів на 1 га, а наступного року зберігається лише 0,00025 % від цієї величини. Найефективнішим інактиватором вірусу є УФ сонячне опромінення. Головним резервуаром збереження вірусу є ґрунт і прошарок органічної підстилки. За сприятливих умов вони можуть зберігатися роками, однак кумуляції чи накопичення не відбувається, оскільки бакуловіруси здатні до репродукції лише в організмі чутливої до вірусу комахи.

Дослідженнями щодо впливу бакуловірусів на різні групи гідробіонтів встановлено, що за концентрації  $3,5 \cdot 10^8$  пдр/л загибелі риби та водних безхребетних не спостерігалось.

В атмосферне повітря бакуловіруси потрапляють при обприскуванні рослин, а також у результаті викидів виробничих підприємств. Дослідженням показано, що максимальні концентрації поліедрів в атмосферному повітрі спостерігались на рівні  $3,5 \cdot 10^4$  пдр/м<sup>3</sup>, проте вже через 2–3 год в атмосферному повітрі — не виявлені [6].

**Гігієнічна характеристика.** Санітарно-гігієнічна регламентація вірусного інсектициду «Хеліковекс, КС» має здійснюватися з урахуванням біології та екології бакуловірусів та їхніх біологічних господарів. Препарат являє собою концентровану суспензію ТВ — поліедрів вірусу *Helicoverpa armigera*, кількість яких складає  $7,5 \cdot 10^{12}$  /л.

Узагальнену інформацію щодо застосування препарату в сільському господарстві та приватному секторі наведено в таблиці 2.

При обприскуванні робочим розчином препарату на листя рослин може потрапити до  $1,5 \cdot 10^9$  пдр/см<sup>2</sup>. Ці ТВ за 5–10 днів ініціюють захворювання серед гусениць чутливого виду, внаслідок чого розвивається епізоотія вірозу в популяції. Кутикула хворих гусениць розривається, і ТВ з тіла гусениці потрапляють в навколишнє середови-

ще в кількостях, що в 10–20 разів перевищують норму витрати препарату. У процесі розвитку епізоотії патогенного впливу на людину та інших нецілювих тварин не було помічено.

Максимально прогнозована кількість поліедрів, яка може надійти в навколишнє середовище впродовж одного вегетаційного періоду становить  $9 \cdot 10^{12}$  пдр/га: (6 обробок  $\times$  0,2 л/га  $\times$   $7,5 \cdot 10^{12}$  пдр/л препарату). Якщо зробити припущення, що на рослинах після обприскування залишається до 50 % від цієї кількості діючого чинника, то в ґрунт глибиною 5 см надходить  $6 \cdot 10^6$  пдр/кг (густина ґрунту — 1,5 г/см<sup>3</sup>). Виходячи із ГДК пилу в повітрі робочої зони (6 мг/м<sup>3</sup>), концентрація поліедрів, привнесених у повітря із пилом, буде становити 36 пдр/м<sup>3</sup> або 0,036 % від величини ГДК поліедрів у повітрі робочої зони.

При застосуванні препарату в сільському господарстві немає необхідності контролювати об'єкти виробничого та навколишнього середовища, зважаючи на його токсикологічну безпеку.

Регламентів щодо кратності обробок не потрібно, бо кожна з обробок обумовлена біологією шкідника, і привнесена штучно концентрація вірусу з препаратом ніколи не перевищує природного вірусного фону.

Термін «строки очікування до збору врожаю» також тісно пов'язаний з біологією шкідника. Вірусні інсектициди застосовують на ранніх стадіях розвитку шкідника — період яйцекладки або молоді стадії розвитку гусениць, які найчутливіші до вірусу та з'являються в період ранньої вегетації рослин, коли до моменту збору врожаю ще далеко (2–3 місяці). Тому строки очікування до збирання врожаю сільськогосподарських культур, які вирощені із застосуванням препарату, не регламентуються. Строки виходу на оброблені ділянки для проведення механізованих/ручних робіт — 1 доба.

Таблиця 2

Умови застосування препарату «Хеліковекс, КС»

Уміст діючого чинника в препараті	Умова застосування препарату					Концентрація діючого чинника	
	місце обробки	культура	норма витрат	кількість обробок	робочий розчин	у нормі витрат	у робочому розчині
<i>Helicoverpa armigera</i> — $7,5 \cdot 10^{12}$ пдр/л препарату	поле	соя, томати, перець	мін.–макс.: 0,05–0,20 л/га	6	мін.–макс.: 200–500 л/га	мін.–макс.: $3,8 \cdot 10^{11}$ – $1,5 \cdot 10^{12}$ пдр/га	мін.–макс.: $7,6 \cdot 10^5$ – $7,5 \cdot 10^6$ пдр/мл
	присадибна ділянка	соя, томати, перець	0,2 мл/ 100 м <sup>2</sup>	6	5 л/100 м <sup>2</sup>	$1,5 \cdot 10^9$ пдр/100 м <sup>2</sup>	$3 \cdot 10^5$ пдр/мл

## Висновок

Біопрепарат «Хеліковекс, КС» (д. ч. *Helicoverpa armigera nucleopolyhedrovirus* (HearNPV) ізолят BV-0003 – вірус ядерного поліедру бавовняної совки, титр –  $7,5 \cdot 10^{12}$  поліедрів/л) виробництва Андерматт Біоконтрол АГ (Швейцарія) рекомендований для включення до «Переліку пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні» зі статусом «постійна реєстрація» для застосування в сільському господарстві та приват-

ному секторі на помідорах, сої, перці шляхом обприскування рослин у період вегетації за наявності шкідника – бавовняної совки з нормою витрати для агропромислового використання 0,05–0,20 л/га на 200–500 л робочої рідини, у приватному секторі – 2 мл/100 м<sup>2</sup> на 5 л робочої рідини.

Для забезпечення охорони праці та виробничої санітарії при роботі з біопрепаратом необхідно дотримуватись інструкції із застосування, вимог ДСП 8.8.1.2.001-98 «Транспортування, зберігання і застосування пестицидів в народному господарстві».

## Література

1. The role of food plant and pathogen-induced behavior in the persistence of a nucleopolyhedrovirus / B. Raymond, S. Hartley, J. Cory [et al.] // J. Invertebrate Pathology. – 2005. – № 88. – P. 49–57.

2. Baculovirus biopesticides – a safe alternative to chemical protection of plants / B. Szewczyk, L. Rabalski, E. Krol [et al.] // J. Biopesticides. – 2009. – № 2. – P. 209–216.

3. Baculovirus pesticides – present state and future perspectives / F. Moscardi, M. Lobo de Souza, M. Batista de Castro [et al.] // Microbes and Microbial Technology. – 2011. – ISBN 978-1-4419-7930-8. – P. 415–445.

4. Qualifield presumption of safety (QPS): a generic risk assessment for biological agents notified to the European Food Safety Authority (EFSA) / R. Leuschner, T. Robinson, M. Hugas [et al.] // Trends in Food Science & Technology. – 2010. – № 21. – P. 425–435.

5. OECD Consensus Document on Information Used in the Assessment of Environmental Applications Involving Baculovirus. 2002. [Електронний ресурс]. – Режим доступу : <http://www.rebeca-net.de/downloads/report/deliverable%2012.pdf>.

## References

1. Raymond, B., Hartley, S. E., Cory, J. S. [et al.]. 2005. «The role of food plant and pathogen-induced behavior in the persistence of a nucleopolyhedrovirus», Journal Invertebrate Pathology, no. 88, pp. 49–57.

2. Szewczyk, B., Rabalski, L., Krol, E. [et al.]. 2009. «Baculovirus biopesticides – a safe alternative to chemical protection of plants», Journal Biopesticides, no. 2, pp. 209–216.

3. Moscardi, F., Lobo de Souza, M., Batista de Castro, M. Ee. [et al.]. 2011. «Baculovirus pesticides – present state and future perspectives» In: Microbes and Microbial Technology, I. Ahmad, F. Ahmad, P. Pichtel, (Eds.), Springer, ISBN 978-1-4419-7930-8, pp. 415–445.

4. Leuschner, R. G. K., Robinson, T. P., Hugas, M. [et al.]. 2010. «Qualifield presumption of safety (QPS): a generic risk assessment for biological agents notified to the European Food Safety Authority (EFSA)», Trends in Food Science & Technology, no. 21, pp. 425–435.

5. OECD, 2002 «Consensus Document on Information Used in the Assessment of Environmental Applications

6. Васильєва В. Л. Вірусні інсектициди (безпека для здоров'я людини та довкілля) / В. Л. Васильєва, А. Л. Гураль. – Київ, 2009. – 450 с.

7. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg: Council of Europe. – 1986. – 51 p.

8. <http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/29618.pdf>

9. EFSA – Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance *Helicoverpa armigera nucleopolyhedrovirus*. EFSA Journal. – 2012. – V. 10 (9) : 2865. – 31 p. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: [www.efsa.europa.eu/efsajournal](http://www.efsa.europa.eu/efsajournal).

10. Строковська Л. Структурно-функціональна діагностика геномів бакуловірусів / Л. Строковська, І. Кіхно, Р. Мелешко // Біополімери і клітина. – 2002. – Т. 18, № 1. – С. 3–12.

11. Васильєва В. Л. Гігієнічна оцінка виробництва і застосування вірусних інсектицидів / В. Л. Васильєва, А. Л. Гураль, І. В. Трусов // Довкілля та здоров'я. – 2001. – № 1 (16). – С. 50–52.

Involving Baculovirus», Available online: <http://www.rebeca-net.de/downloads/report/deliverable%2012.pdf>.

6. Vasilieva, V. L., Gural, A. L. 2009, Viral insecticides (safety for human health and the environment). Kyiv, 450 p. (in Ukrainian).

7. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for experimental and other scientific purposes, 1986, Strasbourg: Council of Europe, 51 p.

8. <http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/29618.pdf>

9. EFSA, 2012 «Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance *Helicoverpa armigera nucleopolyhedrovirus*», EFSA Journal, V. 10 (9): 2865, 31 p., Available online: <http://www.efsa.europa.eu/efsajournal>.

10. Strokovskaya, L. I., Kikhno, I. M., Meleshko, R. A. 2002, «Structural and functional diagnostics of baculovirus genom», Biopolymers and cells. Scientific Journal, V. 18, no. 1, pp. 3–12 (in Ukrainian).

11. Vasilieva, V. L., Gural, A. L., Trusov, I. V. 2001, «Hygienic assessment of the production and use of viral insecticides», Environmental and Health, no. 1 (16), pp. 50–52 (in Ukrainian).

Яструб Т. А., Кирсенко В. В.

## ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ БИОПРЕПАРАТА ИНСЕКТИЦИДНОГО ДЕЙСТВИЯ «ХЕЛИКОВЕКС, КС» НА ОСНОВЕ ВИРУСА ЯДЕРНОГО ПОЛИЭДРОЗА ХЛОПКОВОЙ СОВКИ (*HEARNPV*)

ГУ «Институт медицины труда НАМН Украины», г. Киев

*Введение.* Производство и применение биопрепаратов становится все более существенным дополнением к химическим средствам, а в случаях органического земледелия – экологически чистой альтернативой. Эффективными средствами биологического контроля численности насекомых-вредителей являются биопрепараты на основе бакуловирусов, которые составляют часть естественной микробиоты и играют большую роль в поддержании равновесия насекомых в естественных биоценозах.

*Цель исследования.* Токсиколого-гигиеническая оценка биопрепарата «Хеликовекс, КС» (действующий фактор – *Helicoverpa armigera nucleopolyhedrovirus (HearNPV)* изолят BV-0003 – вирус ядерного полиэдрома хлопковой совки, титр  $7,5 \cdot 10^{12}$  полиэдров/л) производства Андерматт БиоКонтрол АГ (Швейцария) с позиций безопасности для здоровья человека и окружающей среды.

*Материалы и методы исследования.* Методы исследования: экспертно-аналитические, токсикологические, гигиенические. Экспериментальные токсикологические исследования выполнены в соответствии с требованиями OECD 401, 402, 404, 405, 406 (OECD Guideline for the Testing of Chemicals «Acute Oral Toxicity», «Acute Dermal Toxicity», «Acute Dermal Irritation/Corrosion», «Acute Eye Irritation/Corrosion», «Skin Sensitisation») с соблюдением основных положений биоэтического обращения с животными. Обоснование санитарно-гигиенических требований применения препарата проведено с использованием официальных документов, регламентирующих безопасность пестицидов на этапе их послерегистрационного применения.

*Результаты.* Установлено, что биопрепарат «Хеликовекс, КС» в соответствии с «Гигиенической классификацией пестицидов по степени опасности» (ДСанПиН 8.8.1.002-98) по параметрам острой пероральной, ингаляционной, дермальной токсичности относится к 4 классу опасности (малоопасен), не проявляет раздражающего действия на кожу и слизистые оболочки глаз, не обладает сенсibiliзирующими свойствами. Контроля объектов производственной и окружающей среды, а также сельскохозяйственной продукции, выращенной с использованием препарата, ввиду его токсикологической безопасности, не требуется. Сроки ожидания до сбора урожая сельскохозяйственных культур, выращенных с применением препарата, не регламентируются; сроки выхода на обработанные участки для проведения механизированных/ручных работ – 1 сутки. Условия безопасного использования биопрепарата определяются соблюдением инструкции по применению, требований ДСП 8.8.1.2.001-98 «Транспортировка, хранение и применение пестицидов в народном хозяйстве».

*Выводы.* По результатам токсиколого-гигиенической оценки биопрепарата инсектицидного действия «Хеликовекс, КС» разработана инструкция по его безопасному применению в заявленной сфере и даны рекомендации на государственную регистрацию в Украине.

**Ключевые слова:** бакуловирусы, биопрепарат инсектицидного действия «Хеликовекс, КС», оценка безопасности

Yastrub T. O., Kirsenko V. V.

## SAFETY EVALUATION OF THE BIOLOGICAL INSECTICIDE «HELIKOVEKS, SC» BASED ON *HELICOVERPA ARMIGERA NUCLEOPOLYHEDROVIRUS (HEARNPV)*

SI «Institute for Occupational Health of NAMS of Ukraine», Kyiv

*Introduction.* Production and use of biological products is becoming increasingly important additives to chemical agents, and in the case of organic farming - an environmentally pure alternative. Effective means of biological control of insect pests are based on baculovirus biologics, which are part of the natural microbiota and play an important role in maintaining the balance of insects in natural biocenosis.

*Purpose of the study.* Toxicological-hygienic evaluation of biopesticide Helikoveks, KS (acting ingredient – *Helicoverpa armigera nucleopolyhedrovirus (HearNPV)* isolate BV-0003, titer –  $7,5 \cdot 10^{12}$  polyedras/l) produced by Andermatt Biocontrol AG (Switzerland) from the point of view of safety to human health and the environment

*Materials and methods.* Methods: analytical, toxicological, hygienic. Experimental toxicological studies performed in accordance with the requirements of OECD 401, 402, 404, 405, 406 (OECD Guideline for the Testing of Chemicals: «Acute Oral Toxicity», «Acute Dermal Toxicity», «Acute Dermal Irritation/Corrosion», «Acute Eye Irritation/Corrosion», «Skin Sensitization») compliance with key provisions of bioethical treatment of animals. The grounding of sanitary requirements of the preparation was made using official documents regulating the safety of pesticides during their post-registration application.



*Results.* It is established that biological product Helikoveks COP according to the «Hygienic classification of pesticides by the degree of hazard safety» (DSanPiN 8.8.1.2.002-98) parameters for acute oral, inhalation, dermal toxicity refers to Class 4 of hazard (low hazard) (sanitary standards), it shows no irritating effect on skin and mucous membranes of eyes and have no sensitizing properties. The control of production and the environment, as well as agricultural products grown using this preparation, due to its toxicological safety, is not needed. Waiting periods to harvesting crops, cultivated with the use of this preparation are not regulated; re-entry periods for mechanized / manual works are 1 day. The conditions of safe use of this biological product are defined according to application instructions and requirements of DSanPiN 8.8.1.2.001-98 «Transport, storage and use of pesticides in the national economy».

*Conclusions.* According to the results of toxicological and hygienic assessment of this biopreparation of insecticidal activity «Helikoveks, KS», there have been developed instructions for its safe use in the studied field and recommendations are proposed for state registration in Ukraine.

**Key words:** baculovirus, biological insecticide Helikoveks, SC, safety assessment

*Надійшла:* 17.07.2014 р.

**Контактна особа:** Яструб Тетяна Олександрівна, старший науковий співробітник, лабораторія токсикології пестицидів та гігієни праці при їх застосуванні, ДУ «Інститут медицини праці НАМН України», буд. 75, вул. Саксаганського, м. Київ, 01033. Тел.: +38 0 44 289 41 88.