Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

3.5.2. ДЕЗИНСЕКЦИЯ

Определение уровня чувствительности синантропных насекомых к инсектицидам

Методические указания
МУ 3.5.2.2358—08

Издание официальное

Москва • 2009

gost.e-ecolog.ru

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

3.5.2. ДЕЗИНСЕКЦИЯ

Определение уровня чувствительности синантропных насекомых к инсектицидам

Методические указания
МУ 3.5.2.2358—08

ББК 51.9
О63

О63 **Определение** уровня чувствительности синантропных насекомых к инсектицидам: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009.—35 с.

ISBN 978—5—7508—0864—9

1. Разработаны ФГУН НИИ дезинфектологии Роспотребнадзора (С. А. Рославцева, О. Ю. Еремина, Ю. В. Лопатина, Е. И. Баканова, А. И. Фролова, И. В. Ибрагимхалилова, М. А. Алексеев, Е. Н. Басова).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 3 апреля 2008 г. № 1).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 4 мая 2008 г. Введены в действие с 1 августа 2008 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.9

Редакторы Л. С. Кучурова, Е. В. Николаева
Технический редактор Е. В. Ломанова

Подписано в печать 01.12.09

Формат 60x88/16 Печ. л. 2,25

Тираж 500 экз. Заказ 90

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18, стр. 5, 7

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел./факс 952-50-89

© Роспотребнадзор, 2009
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009

Содержание

1. Область применения 5
2. Общие положения 5
2.1. Приготовление растворов инсектицидов 7
2.2. Расчет среднесмертельных концентраций и доз 8
2.3. Использование диагностической концентрации 8
2.4. Критерии оценки уровня чувствительности насекомых, собранных на объектах 9
2.5. Статистическая обработка полученных результатов 9
2.6. Наборы для опытов 10
3. Методы определения уровня чувствительности к инсектицидам рыжих тараканов *Blattella germanica* 10
3.1. Установление исходного уровня чувствительности и диагностических концентраций методом топикального нанесения растворов инсектицидов 10
3.2. Установление исходного уровня чувствительности и диагностических концентраций методом контактирования тараканов с обработанными тест-поверхностями 12
3.3. Метод определения уровня чувствительности к инсектицидам популяций рыжих тараканов, собранных на объектах 14
4. Методы определения уровня чувствительности к инсектицидам платяных вшей *Pediculus humanus humanus* 15
4.1. Метод определения чувствительности вшей к педикулицидам и установления диагностической концентрации в лабораторных условиях 15
4.2. Модифицированный метод ВОЗ 16
4.3. Метод определения уровня чувствительности к инсектицидам вшей, собранных на людях, одежде или в помещениях 16
5. Метод определения уровня чувствительности к инсектицидам постельных клопов *Cimex lectularius* 17
5.1. Метод определения уровня чувствительности клопов к инсектицидам в лабораторных условиях 17
5.2. Метод определения уровня чувствительности к инсектицидам популяций клопов, собранных на объектах 18
6. Метод определения уровня чувствительности к инсектицидам крысиных блох *Xenopsylla cheopis* 19
6.1. Установление исходного уровня чувствительности к инсектицидам имаго блох 19
6.2. Метод определения уровня чувствительности к инсектицидам популяций крысиных блох, собранных на объектах 21
7. Методы определения уровня чувствительности к инсектицидам комнатных мух *Musca domestica* 22
7.1. Метод установления уровня чувствительности и диагностической концентрации (дозы) инсектицида для имаго комнатных мух лабораторной чувствительной культуры путем топикального нанесения растворов инсектицидов 22

7.2. Метод установления уровня чувствительности и диагностической концентрации инсектицида для имаго комнатных мух лабораторной чувствительной культуры при кишечном воздействии 24
7.3. Методы определения уровня чувствительности к инсектицидам популяций комнатных мух, собранных на объектах 26
8. Методы определения уровня чувствительности к инсектицидам комаров родов *Aedes*, *Culex* и *Anopheles* 27
8.1. Метод установления исходного уровня чувствительности и диагностической концентрации ларвицидов для личинок комаров лабораторной чувствительной культуры 27
8.2. Метод определения уровня чувствительности к ларвицидам личинок комаров, собранных на объектах 29
8.3. Метод установления уровня чувствительности и диагностической концентрации инсектицидов для имаго комаров лабораторной чувствительной культуры 29
8.4. Метод определения уровня чувствительности к инсектицидам имаго комаров, собранных на объектах 31
8.5. Метод изучения раздражимости имаго комаров 32
9. Меры предосторожности при работе с природными популяциями насекомых или популяциями, собранными на объектах 32
Библиографические данные 34
Список сокращений 36

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
4 мая 2008 г.
Дата введения: 1 августа 2008 г.

3.5.2. ДЕЗИНСЕКЦИЯ

Определение уровня чувствительности синантропных насекомых к инсектицидам

Методические указания МУ 3.5.2.2358—08

1. Область применения

Методические указания предназначены для специалистов органов и учреждений государственного санитарно-эпидемиологического надзора, разрабатывающих стратегию и тактику применения инсектицидов и занимающихся дезинфекционной деятельностью, исследованием инсектицидной активности различных веществ и препаративных форм на их основе, рекомендуемых для целей медицинской дезинсекции, а также могут быть использованы другими организациями.

2. Общие положения

Устойчивость насекомых к инсектицидам подразделяется на природную и приобретенную. Насекомые на разных стадиях развития обладают различной природной чувствительностью к инсектицидам, относящимся к разнообразным группам химических веществ. Так, куколки насекомых значительно устойчивее к действию инсектицидов по сравнению с другими стадиями развития. Чувствительность к инсектицидам зависит от физиологического состояния насекомых и может также различаться у голодных и напитавшихся особей.

Приобретенная устойчивость к инсектицидам напрямую связана с инсектоакарицидным прессом. Формирование резистентных популяций вредных организмов под воздействием пресса пестицидов является од-

ной из центральных проблем их эффективного использования. Резистентность (приобретенная устойчивость) рассматривается как адаптация популяции определенного вида насекомых к воздействию пестицидов, и поэтому она входит в круг вопросов, относящихся к химической экологии.

Резистентность является общебиологическим понятием. В настоящее время приобретенная устойчивость к инсектоакарицидам, фунгицидам и гербицидам выявлена как у вредных, так и у полезных организмов. Среди вредных членистоногих резистентные популяции обнаружены у вредителей сельскохозяйственных культур и животных, а также у членистоногих, имеющих эпидемиологическое и санитарно-гигиеническое значение.

Количество видов членистоногих, у которых сформировались резистентные к инсектоакарицидам популяции, неуклонно возрастает. Если в 1945 г. были обнаружены резистентные популяции членистоногих, относящихся к 12 видам, то в 1967 г. – к 224, в 1975 г. – к 364 видам. По данным Дж. Кригер [19], более 500 видов насекомых к середине 80-х годов XX в. имели популяции, резистентные к инсектицидам.

Наиболее полный перечень видов членистоногих, имеющих эпидемиологическое и санитарно-гигиеническое значение, у которых выявлены резистентные популяции, приведен в 15-м Докладе Комитета Экспертов ВОЗ [11]. Согласно этим данным у 147 видов членистоногих, имеющих эпидемиологическое и санитарно-гигиеническое значение, сформировались популяции, резистентные к различным по химической структуре инсектоакарицидам. В 2000 г. сообщалось о 198 видах таких членистоногих [17]. В 2006 г. эти материалы были дополнены [12].

Определение уровня чувствительности членистоногих к используемым и рекомендуемым действующим веществам (ДВ) инсектицидов является необходимым элементом при планировании и осуществлении программ истребительных мероприятий. Резистентность – динамичное явление, развивающееся в различных пределах у разных видов и даже у одного и того же вида при различном прессе применяемых инсектицидов [2].

Разработанные методические указания посвящены определению уровней чувствительности основных видов насекомых, имеющих эпидемиологическое и санитарно-гигиеническое значение.

Для обнаружения и последующего мониторинга резистентности у популяций насекомых, собранных на объектах, необходимо пользоваться относительно простыми методами, позволяющими ограниченному по

численности персоналу проводить исследования в короткие сроки. Оперативным методом, рекомендованным Комитетом экспертов ВОЗ по инсектицидам [14], является использование диагностических (дискриминирующих) концентраций или доз.

В основу данных методических указаний положены стандартные методы, рекомендуемые ВОЗ, в ряде случаев – модифицированные в НИИ дезинфектологии (НИИД) или в Институте медицинской паразитологии и тропической медицины им. Е. И. Марциновского (ИМПиТМ). Главным образом эти изменения касаются времени контакта насекомых с тест-поверхностями, обработанными диагностическими дозами. Согласно методам ВОЗ контакт насекомых с обработанными тест-поверхностями продолжается от нескольких часов (5—10) до нескольких суток (1—5). Однако некоторые насекомые в естественных условиях не контактируют столь длительное время с поверхностями, обработанными инсектицидами, поэтому для установления уровня чувствительности природных популяций ряда видов насекомых целесообразно определить не время контакта членистоногого с поверхностью, обработанной диагностической дозой или концентрацией, а концентрацию (дозу) инсектицида, которая за относительно короткий отрезок времени обеспечивает их максимальную смертность.

В настоящих методических указаниях изложены методы определения уровня чувствительности к инсектицидам рыжих тараканов (*Blattella germanica*), платяных вшей (*Pediculus humanus humanus*), постельных клопов (*Cimex lectularius*), блох на примере крысиной блохи (*Xenopsylla cheopis*), комнатных мух (*Musca domestica*), комаров (личинок и имаго) родов *Culex, Aedes и Anopheles*.

Изучение уровня чувствительности насекомых, собранных на объектах, позволит оптимизировать комплекс дезинсекционных мероприятий.

2.1. Приготовление растворов инсектицидов

Для топикальной обработки насекомых используют не менее 5 концентраций ацетоновых или спиртовых растворов ДВ инсектицидов, полученных путем последовательного разбавления (с шагом разбавления 2 или другим в зависимости от необходимости).

Тест-поверхности обрабатывают, исходя из норм расхода 100 мл/м^2 (1 мл/дм^2) впитывающей поверхности (фанера, ткань, фильтровальная бумага и др.) и 50 мл/м^2 (0,5 мл/дм^2) невпитывающей поверхности

(стекло). Для обработки контрольных тест-поверхностей используют те же растворители, что и в опытных вариантах.

2.2. Расчет среднесмертельных концентраций и доз

Показатели $СК_{50}$ или $СД_{50}$ ($СК_{95}$ или $СД_{95}$ и другие величины) для каждого инсектицида определяют методом пробит-анализа путем построения линии регрессии «доза-смертность» («концентрация-смертность») [10].

Для пересчета величины $СК_{50}$ ($СК_{95, 99}$), % в величину $СД_{50}$ ($СД_{95, 99}$), мкг/г определяют среднюю массу одного насекомого в мг. Для этого до опыта взвешивают не менее 50 предварительно анестезированных особей. Вычисление проводят по формуле:

$$СД_{50}\ \text{мкг/г} = \frac{А \cdot 10 \cdot Б \cdot 1000}{В}, \text{ где}$$

А – концентрация, $СК_{50}$, %;

Б – объем нанесенного раствора, мкл;

В – масса насекомого, мг.

2.3. Использование диагностической концентрации

По данным экспериментов, проведенных в лабораторных условиях, рассчитывают диагностические концентрации (ДК) или дозы (ДД). Дозу или концентрацию, равную двум дозам или концентрациям, вызывающим смертность 95 % (99 %) членистоногих, считают диагностической [18].

Обработка насекомых растворами инсектицидов в диагностической концентрации должна проводиться в 3—5 повторностях. Случайное появление оставшихся в живых особей (например, в 3-х последовательных опытах) служит сигналом, указывающим на необходимость дальнейших исследований. Таким образом, можно обнаружить наличие приобретенной резистентности и установить приблизительно, какую часть в популяции членистоногих составляют резистентные особи. Если в эксперименте погибли все особи, то популяция является чувствительной. Если погибли 80 % особей, то в популяции содержится 20 % устойчивых особей и т. д. Если в эксперименте погибли 50 % особей, то популяция является устойчивой и необходимо установить показатель резистентности (ПР).

Данные, полученные при использовании диагностической концентрации, можно использовать для практических целей при принятии решения о возможности использования данного инсектицида для обработ-

ки объекта. Так, если при обработке насекомых растворами инсектицидов в диагностической концентрации погибли менее 40 % насекомых, такое средство не следует использовать на данном объекте.

2.4. Критерии оценки уровня чувствительности насекомых, собранных на объектах

Оценку уровня чувствительности насекомых, собранных на объектах или с человека, проводят путем вычисления показателей резистентности (ПР) – соотношения показателей ($СД_{50}$, $СД_{95}$, $СД_{99}$; $СК_{50}$, $СК_{95}$, $СК_{99}$), полученных для инсектарной культуры и популяции, собранной на объекте, например:

$$ПР = \frac{СД_{50}\ (СК_{50})\ популяции,\ собранной\ на\ объекте}{СД_{50}\ (СК_{50})\ лабораторной\ чувствительной\ культуры}$$

В зависимости от величины ПР популяция оценивается как «чувствительная», «толерантная» или «устойчивая».

Поскольку уровень чувствительности к инсектицидам у членистоногих в популяциях, собранных на объектах, может значительно различаться, их относят к одной из приведенных ниже групп по степени установленной у них устойчивости. Чувствительность насекомых инсектарной культуры принимают за единицу [18].

I группа. ПР менее 1 – насекомые высокочувствительны к инсектициду.

II группа. ПР равен 1 – насекомые чувствительны к инсектициду.

III группа. ПР в пределах 2—10 – насекомые толерантны к инсектициду.

IV группа. ПР 10 и более – насекомые резистентны к инсектициду.

2.5. Статистическая обработка полученных результатов

Смертность насекомых в опыте в каждой повторности и в контроле вычисляют в процентах по отношению к общему количеству насекомых в повторности. В случае смертности в контроле 5—20 % особей в результаты опытов вводят поправку по формуле Аббота [4]. Если смертность членистоногих в контроле превышает 20 %, результаты опыта считают недействительными.

Доверительные пределы к показателям $СК_{50}$ ($СД_{50}$) и стандартные отклонения рассчитывают по П. В. Попову [10], П. Ф. Рокитскому [13], Г. Ф. Лакину [4] и др.

2.6. Наборы для опытов

Для проведения опытов необходима биологическая лаборатория, оснащенная термостатами, холодильниками, аналитическими весами, вытяжными шкафами и пр.

Набор для проведения опытов состоит из следующих предметов:

1) стаканы стеклянные или полимерные; 2) бутылки полимерные объемом 2 л; 3) стеклянные пластины размером (10 × 20) см; 4) чашки Петри D = 10 см; 5) чашки Петри D = 4 см; 6) часовые стекла или стеклянные чашки; 7) экспозиметры (D = 9 см) согласно МУ 3.5.2.1759—03 [9]; 8) пипетки; 9) цилиндры; 10) сосуды для отстаивания воды; 11) пробирки стеклянные химические; 12) штативы для пробирок; 13) микродозаторы (петли) или микропипетки; 14) эксгаустеры; 15) стеклянные воронки; 16) энтомологический сачок D = 4 см; 17) вазелин технический; 18) мелкоячеистая марля для завязывания стаканов; 19) крышки пластиковые с маленькими отверстиями; 20) хлопчатобумажная ткань; 21) резиновые кольца; 22) глазной пинцет; 23) мягкий пинцет; 24) флаконы пенициллиновые с резиновыми крышками; 25) химические пробирки с пробками; 26) лейкопластырь; 27) маркер; 28) ацетон; 29) этиловый спирт; 30) эфир медицинский; 31) резиновые перчатки; 32) фильтровальная бумага (фильтры обеззоленные); 33) ножницы; 34) вата; 35) пробит-логарифмическая бумага для построения линий регрессии; 36) грифельный карандаш; 37) прозрачная линейка; 38) журнал учета данных опытов.

3. Методы определения уровня чувствительности к инсектицидам рыжих тараканов *Blattella germanica*

В лабораторных условиях определение уровня чувствительности и диагностической концентрации (дозы) ДВ инсектицида проводят на имаго рыжих тараканов лабораторной чувствительной культуры методом топикального нанесения инсектицида и методом контактирования с обработанными тест-поверхностями.

3.1. Установление исходного уровня чувствительности и диагностических концентраций методом топикального нанесения растворов инсектицидов

Опыты проводят на однородном биоматериале – самцах рыжих тараканов в возрасте от 5 до 15 дней после имагинальной линьки. Для определения качества биоматериала насекомых за 24 ч до начала опыта отбирают из ёмкости для выращивания и отсаживают в плоский кристаллизатор с кормом и водой.

Ацетоновые или спиртовые растворы ДВ инсектицида наносят из микропипетки или с помощью микродозатора на мезостернум (среднегрудь) анестезированных тараканов по 1 мкл на каждое насекомое. В контрольном варианте на тараканов наносят 1 мкл растворителя, использованного при приготовлении растворов инсектицида. После нанесения инсектицида насекомых помещают в чистые стаканы (стеклянные или полимерные) со смазанными вазелином краями.

Опыты проводят не менее чем в трёх повторностях для каждой концентрации. В каждой повторности используют не менее 10 насекомых, в контрольном варианте – не менее 20 особей. Опыты проводят при температуре воздуха (23 ± 2) °С и относительной влажности 50—70 %. Учёт гибели насекомых проводят через 24 и 48 ч. В категорию «поражённых» включают мертвых и парализованных насекомых. Парализованными считают тараканов, не способных к самостоятельному передвижению.

Исходный уровень чувствительности самцов рыжих тараканов лабораторной чувствительной культуры приведен в табл. 1.

Таблица 1

Исходный уровень чувствительности самцов рыжих тараканов лабораторной чувствительной культуры и диагностические концентрации при топикальном нанесении ДВ инсектицидов (учет через 24 ч)

Инсектицид	$СК_{50}$, %	$СК_{95}$, %	ДК, %	$СД_{50}$, мкг/г	$СД_{95}$, мкг/г	$ДД_{95}$, мкг/г
1	2	3	4	5	6	7
Хлорорганические соединения						
ДДТ	2,00	6,6	13,2	396,5	1 308,5	2 617,0
Метоксихлор	4,66	8,0	16,0	655,0	1 143,0	2 286,0
Фосфорорганические соединения						
ДДВФ	0,018	0,054	0,108	2,50	7,70	15,4
Диазинон	0,020	0,033	0,066	4,00	6,60	13,2
Карбофос	0,166	0,600	1,20	24,00	85,70	171,4
Малатион	> 5	–	–	> 1 000	–	–
Фенитротион	0,017	0,030	0,060	3,52	6,21	12,42
Хлорофос	1,40	2,60	5,80	280,0	520,0	1 040,0
Хлорпирифос	0,200	0,29	0,58	40,78	59,13	118,3
Фентион	0,032	0,045	0,09	6,33	8,90	17,8
Производные карбаминовой кислоты						
Метомил	0,032	0,100	0,20	6,56	20,28	40,6
Пропоксур	0,029	0,062	0,124	5,70	12,19	24,4

Продолжение табл. 1

1	2	3	4	5	6	7
Пиретроиды						
Пиретроиды, не содержащие CN-группу						
Праллетрин	0,012	0,03	0,06	2,26	5,65	11,3
d-Фенотрин	0,020	0,20	0,40	3,10	28,50	57,0
Тетраметрин	0,230	0,35	0,70	32,60	50,00	100,0
Неопинамин-форте	0,090	0,20	0,40	12,30	28,50	57,0
Имипротрин	0,032	0,064	0,128	6,11	12,21	24,4
Перметрин	0,012	0,042	0,084	1,70	6,00	12,0
Пиретроиды, содержащие CN-группу						
Альфациперметрин	0,0003	0,0012	0,0024	0,06	0,24	0,5
Циперметрин	0,0012	0,007	0,014	0,24	1,40	2,8
Дельтаметрин	0,00085	0,0022	0,0044	0,12	0,31	0,6
Цифенотрин	0,0054	0,015	0,030	0,67	2,10	4,2
Фенвалерат	0,0036	0,006	0,012	0,45	0,85	1,7
Аминогидразоны*						
Гидраметилнон	0,300	1,50	3,0	58,82	294,12	588,2
Фенилпиразолы						
Фипронил	0,00014	0,00019	0,00038	0,028	0,038	0,08
Неоникотиноиды**						
Имидаклоприд	0,0110	0,045	0,090	2,20	9,00	18,0
Тиаметоксам	0,0023	0,0052	0,0104	0,46	1,00	2,0
Ацетамиприд	0,0250	0,050	0,100	5,00	10,00	20,0
Авермектины						
Аверсектин С	0,0100	0,080	0,160	1,97	15,91	31,8
Абамектин	0,0020	0,011	0,022	0,38	2,10	4,2
* Учет через 72 ч; ** Учет через 48 ч						

3.2. Установление исходного уровня чувствительности и диагностических концентраций методом контактирования тараканов с обработанными тест-поверхностями

Данный метод непригоден для установления уровня резистентности к ДВ инсектицидов, обладающих низкой контактной активностью, например, имидаклоприду, ацетамиприду, гидраметилнону, сульфофторамидам.

3.2.1. Метод подсадки тараканов в обработанные стеклянные сосуды

Опыты проводят в стеклянных сосудах емкостью 0,5 л, обработанных инсектицидом за 1 сут. до опыта. На внутреннюю поверхность сосудов наносят 2,5 мл раствора ДВ инсектицида из расчета 100 мл/м^2, затем сосуды вращают, равномерно распределяя раствор по внутренней стенке и дну, до полного испарения растворителя. Работу проводят в вытяжном шкафу.

Насекомых помещают в обработанные сосуды, края которых предварительно смазывают вазелином. Все концентрации инсектицида испытывают не менее чем в трех повторностях, используя не менее 10 насекомых в каждой. Контролем служат насекомые (не менее 20 особей), помещенные в сосуды, обработанные растворителем. После контакта в течение 1 ч тараканов переносят в чистые стаканы с кормом и водой. Учет смертности проводят через 24 и 48 ч.

Опыты проводят на самцах рыжих тараканов в возрасте 5—15 сут. после имагинальной линьки, при температуре воздуха (23 ± 2) °С и относительной влажности 50—70 %.

Диагностические дозы инсектицидов для рыжих тараканов лабораторной культуры, полученные при использовании данного метода, приведены в табл. 2.

Таблица 2

Диагностические дозы инсектицидов для самцов рыжих тараканов при использовании метода контакта с обработанной поверхностью в течение 1 ч

Инсектицид	Диагностическая доза, г/м^2
Фосфорорганические соединения	
Хлорофос	3,40
Хлорпирифос	0,50
Фентион	0,04
Пиретроиды	
Пиретроиды, не содержащие CN-группу	
Перметрин	0,020
Пиретроиды, содержащие CN-группу	
Циперметрин	0,003
Альфациперметрин	0,0005
Фенвалерат	0,0065
Неоникотиноиды	
Тиаметоксам	0,30

3.2.2. Метод подсадки тараканов на обработанные стеклянные поверхности

На стеклянные поверхности – пластины стекла размером (10 × 20) см наносят ацетоновые растворы ДВ инсектицидов из расчета 50 мл/м^2 (1 мл на пластину) и высушивают в горизонтальном положении. Все концентрации инсектицида испытывают не менее чем в трех повторностях, используя по 10 насекомых в каждой. Контролем служат насекомые (не менее 20 особей), помещенные на пластины, обработанные растворителем.

Контакт тараканов с обработанными поверхностями осуществляют в течение 1 ч в больших экспозиметрах (D = 9 см), нижний край которых смазан вазелином (МУ 3.5.2.1759—03) [9]. После контакта с обработанными пластинами насекомых переносят в чистые сосуды со смазанными вазелином краями и регистрируют их состояние через 24 и 48 ч.

Опыты проводят на самцах рыжих тараканов в возрасте 5—15 сут. после имагинальной линьки, при температуре воздуха (23 ± 2) °С и относительной влажности 50—70 %.

3.3. Метод определения уровня чувствительности к инсектицидам популяций рыжих тараканов, собранных на объектах

Отлов насекомых на объектах проводят с помощью банок-ловушек или пластиковых ловушек различной конструкции, в которых отловленные тараканы остаются живыми. Перед расстановкой банок-ловушек их края смазывают тонким слоем вазелина, на дно помещают приманку (хлеб с подсолнечным маслом и пивом), банку обвязывают узкой полоской марли или ткани так, чтобы один конец находился на полу рядом с банкой, а другой – внутри, не доставая дна банки. Банки расставляют в местах обитания тараканов на 48—72 ч.

Отловленных насекомых помещают в емкости для культивирования с укрытиями из картона в виде трубок или гармошек, кормом и водой. Для проведения опытов из ёмкости для культивирования отбирают личинок первого поколения (F_1) 5—6 возраста и помещают в отдельный сосуд, из которого затем выбирают самцов рыжих тараканов в возрасте 5—15 дней после имагинальной линьки.

При определении уровня чувствительности популяций рыжих тараканов, собранных на объектах, используют методы, указанные в п.п. 3.1 и 3.2. Первичную оценку уровня чувствительности популяции к инсектицидам проводят методом контактирования с использованием диагностических концентраций (п. 3.2, более точное определение уровня чувствительности – методом топикального нанесения микродоз препарата (п. 3.1).

4. Методы определения уровня чувствительности к инсектицидам платяных вшей *Pediculus humanus humanus*

4.1. Метод определения чувствительности вшей к педикулицидам и установления диагностической концентрации в лабораторных условиях

Опыты проводят на однородном биологическом материале – платяных вшах чувствительной лабораторной культуры (*Pediculus humanus humanus*, синонимы – *Pediculus vestimenti* и *Pediculus corporis*). В опытах используют сытых насекомых (накормленных за 2—3 ч до постановки опыта) без разделения по полу, в возрасте 7 дней. Хлопчатобумажную ткань (бязь) размером (10 × 10) см обрабатывают серией спиртовых растворов разных концентраций инсектицида при норме расхода 1 мл на 100 см^2. Затем ткань высушивают в течение 15—60 мин, нарезают на кусочки размером (3 × 4) см и помещают в стеклянные сосуды [14]. На обработанные образцы ткани с помощью пинцета подсаживают имаго вшей (не менее 10 особей на каждый образец). Каждый опыт ставят не менее чем в 3 повторностях. Контрольных насекомых (не менее 20 особей) содержат на ткани, обработанной растворителем. Время контакта имаго вшей с обработанной тканью составляет 15 мин. После окончания экспозиции насекомых пинцетом переносят на необработанную ткань в чистые стаканы или чашки Петри, которые затем до окончания опыта помещают в термостат (температура (28 ± 2) °С, относительная влажность 75 %). Учет смертности насекомых проводят через 24 ч. В категорию «пораженных» включают мертвых и парализованных вшей. Рассчитывают величины $СК_{50}$, $СК_{99}$, г/м^2 и диагностическую концентрацию, равную ($СК_{99}$ × 2), г/м^2.

Показатели $СК_{50}$ и $СК_{99}$, г/м^2 и диагностические концентрации для чувствительной культуры вшей приведены в табл. 3.

Таблица 3

Величины $СК_{50}$ и $СК_{99}$ для имаго чувствительной культуры платяных вшей, г/м^2

Инсектицид	$СК_{50}$	$СК_{99}$	ДК
Хлорорганические соединения			
ДДТ	–	5,0	10,0
Фосфорорганические соединения			
ДДВФ	0,05	0,5	1,0
Фентион	0,02	0,25	0,50
Фенитротион	–	0,5	1,0
Карбофос	–	0,15	0,30
Пиретроиды			
Перметрин	–	0,001	0,002
Тетраметрин	0,5	1,0	2,0

4.2. Модифицированный метод ВОЗ

Модификация метода ВОЗ предложена B. Zeichner [20]. Чувствительных платяных вшей лабораторной популяции помещают в чашки Петри, выстланные фильтровальной бумагой, обработанной спиртовыми растворами инсектицидов. Через 6 ч чашки переворачивают и слегка постукивают ими по столу. Вшей, которые не могут держаться на поверхности бумаги, считают парализованными (в состоянии нокдауна). Величины концентраций, вызывающих нокдаун (паралич) у 50 и 99 % особей вшей – $КН_{50}$ и $КН_{99}$, мг/мл, полученные этим методом, приведены в табл. 4. В табл. 4 также приведены диагностические концентрации в процентах, которые рекомендует ВОЗ.

Таблица 4

Величины $КН_{50}$ и $КН_{99}$, мг/мл для чувствительной культуры платяных вшей (цит. по [20])

Инсектицид	$КН_{50}$, мг/мл	$КН_{99}$, мг/мл	ДК $КН_{99} \times 2$, мг/мл	ДК ВОЗ $КН_{99} \times 2$, %
Линдан	0,060	0,184	0,368	0,132
Малатион	1,008	2,606	5,212	2,020
Перметрин	0,115	0,249	0,498	0,206
d-Фенотрин	0,554	1,340	2,680	1,107

Поскольку головные вши *Pediculus humanus capitis* более чувствительны к инсектицидам, чем платяные, диагностические концентрации, рекомендованные для платяных вшей, можно использовать и для выявления резистентности в популяциях головных вшей. Если при этих концентрациях в выборке из популяции будут выжившие особи, то популяция резистентна к изучаемому педикулициду, и его следует заменить на другой, содержащий в качестве ДВ инсектицид из другого класса химических соединений.

4.3. Метод определения уровня чувствительности к инсектицидам вшей, собранных на людях, одежде или в помещениях

Методика определения чувствительности к инсектицидам популяций вшей, собранных на людях, одежде и в помещениях, основана на установлении величины смертности от диагностической концентрации (в %), а также величин $СК_{50}$ и $СК_{99}$ при контакте с тканью, обработанной серией растворов инсектицида. В опытах используют половозрелых вшей обоего пола, непосредственно после сбора насекомых с одного или

нескольких человек (или с их вещей). Вид собранных вшей определяют по методическим рекомендациям «Вши человека» [5].

Спиртовым раствором инсектицида в диагностической концентрации обрабатывают ткань размером (10 × 10) см при норме расхода 1 мл/100 $см^2$. Ткань высушивают, разрезают на кусочки размером (3 × 4) см, помещают в чистые сосуды. С помощью пинцета переносят от 5 до 30 особей вшей на каждый кусочек ткани в зависимости от общего числа собранных насекомых. Каждый опыт ставят не менее чем в трех повторностях. В контрольном варианте насекомых помещают на необработанную ткань. Сосуды с насекомыми содержат в термостате при температуре воздуха (28 ± 2) °С и относительной влажности 70—75 %. Учет смертности насекомых проводят через 24 ч.

Критерием чувствительности к инсектицидам популяции вшей служит смертность от диагностической концентрации (в %). Для точного установления уровня резистентности определяют показатель резистентности. Для установления показателей резистентности рекомендуется иметь стандартную чувствительную культуру вшей или использовать базовые показатели $СК_{50}$ и $СК_{99}$, г/$м^2$ и диагностические концентрации для чувствительной культуры вшей (табл. 3).

5. Метод определения уровня чувствительности к инсектицидам постельных клопов *Cimex lectularius*

5.1. Метод определения уровня чувствительности клопов к инсектицидам в лабораторных условиях

В сухие чистые химические пробирки с полосками бумаги размером (1 × 5) см, сложенными в виде «гармошки», помещают по 10 имаго клопов без разделения по полу. Клопы должны быть одинаковыми по размеру и степени накормленности. Готовят серии ацетоновых растворов ДВ инсектицидов. Концентрации подбирают так, чтобы можно было рассчитать величины $СК_{50}$ и $СК_{95}$, % и $СД_{50}$ и $СД_{95}$, мкг/г массы насекомого. По величине $СК_{95}$ ($СД_{95}$) рассчитывают диагностическую концентрацию, равную удвоенной $СК_{95}$, %. Клопов переносят в стеклянные чашки Петри и обрабатывают растворами инсектицидов, начиная с наименьшей концентрации. Растворы наносят микродозатором или микрошприцем каплями объемом 0,5 мкл на вентральную часть тела насекомого. После нанесения раствора каждое насекомое мягким пинцетом переносят обратно в этикетированные пробирки. Повторность экспериментов трехкратная, по три пробирки оставляют в качестве контрольных

(без обработки) и обработанных растворителем. Учет смертности проводят через 24 ч после обработки. Величины $СК_{50}$ и $СК_{95}$, % и $СД_{50}$ и $СД_{95}$, мкг/г и диагностические концентрации (дозы) приведены в табл. 5.

Таблица 5

Исходный уровень чувствительности постельных клопов лабораторной чувствительной культуры и диагностические концентрации (ДК) и дозы (ДД) при топикальном нанесении ДВ инсектицидов

Инсектицид	$СК_{50}$, %	$СК_{95}$, %	ДК, %	$СД_{50}$, мкг/г	$СД_{95}$, мкг/г	ДД, мкг/г
Фосфорорганические соединения						
Малатион	0,0004	0,0035	0,007	0,67	5,3	10,6
Диазинон	0,0003	0,010	0,020	0,47	15,6	31,2
Хлорофос	0,0090	0,70	1,40	14,00	1 093,0	2 186
Хлорпирифос	0,00002	0,007	0,014	0,031	0,014	0,028
Пиретроиды						
Пиретроиды, не содержащие CN-группу						
Тетраметрин	0,0050	–	–	7,80	–	–
Имипротрин	0,0019	0,014	0,038	3,06	21,8	43,6
Перметрин	0,0056	0,015	0,030	8,47	23,4	46,8
Пиретроиды, содержащие CN-группу						
Циперметрин	0,000003	0,000038	0,000076	0,004	0,059	0,118
Альфациперметрин	$2,5 \times 10^{-8}$	$6,0 \times 10^{-7}$	$1,2 \times 10^{-6}$	$3,9 \times 10^{-5}$	$9,4 \times 10^{-4}$	$2,0 \times 10^{-3}$
Дельтаметрин	0,000004	0,00004	0,00008	0,006	0,063	0,126
Неоникотиноиды						
Имидаклоприд	0,00026	0,0007	0,0015	0,43	1,2	2,4
Ацетамиприд	0,00034	0,0022	0,0044	0,59	4,2	8,4

5.2. Метод определения уровня чувствительности к инсектицидам популяций клопов, собранных на объектах

Для оценки степени чувствительности популяций клопов, собранных на объектах, их топикально обрабатывают раствором выбранного инсектицида в диагностической концентрации, как указано в п. 5.1. При наличии выживших особей, определяют величины $СК_{50}$ ($СД_{50}$) или $СК_{95}$ ($СД_{95}$) и показатель резистентности.

При наличии в лаборатории стандартной чувствительной культуры постельных клопов, величины $СК_{50}$ ($СД_{50}$) или $СК_{95}$ ($СД_{95}$) определяют параллельно на насекомых, собранных на объекте, и чувствительных

насекомых из культуры. В том случае если лабораторная культура отсутствует, используют для сравнения базовые показатели чувствительности (табл. 5).

6. Метод определения уровня чувствительности к инсектицидам крысиных блох *Xenopsylla cheopis*

Метод предназначен для установления величин $СК_{50}$ ($СК_{95}$) и диагностической концентрации инсектицидов для чувствительной лабораторной культуры крысиных блох. Метод не рекомендуется для установления уровня чувствительности блох к тиаметоксаму, $СК_{50}$ которого составляет более 1 %. Следует подчеркнуть, что метод не предназначен для оценки эффективности отложений препаративных форм инсектицидов. Для этой цели должны быть использованы другие энтомотоксикологические методы.

6.1. Установление исходного уровня чувствительности к инсектицидам имаго блох

Взрослых блох лабораторной культуры подсаживают на кусочки фильтровальной бумаги, обработанные ацетоновыми растворами ДВ инсектицида в разных концентрациях, определяют смертность (в %), вызванную каждой из этих концентраций. В предварительных опытах используют серию концентраций (4—5). Время контакта составляет 1 ч. Учет смертности проводят через 24 ч.

Последующие опыты проводят на основе полученных данных. Выбирают 5—7 концентраций таким образом, чтобы они вызывали смертность в пределах 15—99 %. Опыты повторяют не менее 3 раз. В экспериментах используют взрослых блох без разделения по полу. Рассчитывают величины $СК_{50}$ ($СК_{95}$), %. Эти данные являются основой для последующего расчета диагностической концентрации и показателя резистентности.

Приготовление импрегнированной инсектицидом бумаги. В колбах с притертыми пробками готовят серию ацетоновых растворов ДВ инсектицида с шагом разбавления, равным 2. Фильтровальную бумагу размером (10 × 10) см размечают карандашом на 20 частей размером (5 × 1) см и маркируют. Затем размеченную бумагу кладут на стеклянную поверхность и равномерно наносят 1 мл раствора инсектицида определенной концентрации. После полного испарения растворителя бумагу разрезают и используют для эксперимента или упаковывают в полиэтиленовый пакет. Использовать импрегнированную бумагу следует

не позднее трех суток после изготовления при хранении в заклеенных пакетах.

Методика проведения опытов. Блох, по возможности накормленных, рассаживают по 10 особей в чистые пробирки, которые ставят вертикально в штатив. В каждую пробирку помещают бумажный тест, импрегнированный инсектицидом. В контроле используют бумажный тест, импрегнированный только растворителем. После этого штатив убирают в темный термостат (температура 28—30 °С, относительная влажность 50—70 %). Через 1 ч из пробирок вынимают бумажные тесты в том же порядке, в каком они были туда помещены. Через 24 ч подсчитывают смертность блох. Блох, неспособных к передвижению, относят к погибшим.

Экспериментально установленные среднесмертельные концентрации при контакте блох *Xenopsylla cheopis* чувствительной лабораторной культуры с фильтровальной бумагой, импрегнированной ацетоновыми растворами ДВ инсектицидов, приведены в табл. 6.

Таблица 6

Среднесмертельные и диагностические концентрации при контакте блох *Xenopsylla cheopis* с фильтровальной бумагой, импрегнированной ацетоновыми растворами ДВ инсектицидов, %

Инсектицид	$СК_{50}$	$СК_{95}$	ДК
1	2	3	4
Хлорорганические соединения			
ДДТ	0,016	0,030	0,060
Фосфорорганические соединения			
Азаметифос	0,100	0,165	0,330
Малатион	0,018	0,030	0,060
Хлорофос	0,076	0,160	0,320
Хлорпирифос	0,010	0,023	0,046
Фентион	0,0029	0,0065	0,012
Фенитротион	0,0020	0,0049	0,0098
Диазинон	0,0030	0,0081	0,0162
Производные карбаминовой кислоты			
Метомил	0,0020	0,010	0,020
Пропоксур	0,0043	0,011	0,022
Пиретроиды			
Пиретроиды, не содержащие CN-группу			
Эсбиотрин	0,020	0,048	0,096

Продолжение табл. 6

1	2	3	4
Валортрин	0,0056	0,016	0,032
Фенотрин	0,030	0,056	0,112
Тетраметрин	1,035	1,50	3,00
Перметрин	0,005	0,040	0,080
Имипротрин	0,480	2,30	4,60
Пиретроиды, содержащие CN-группу			
Дельтаметрин	0,00030	0,0021	0,0042
Альфациперметрин	0,00064	0,0025	0,005
Циперметрин	0,0012	0,0087	0,017
Цифенотрин	0,0025	0,0100	0,020
Фенилпиразолы			
Фипронил	0,014	0,030	0,060
Неоникотиноиды			
Имидаклоприд	0,054	0,120	0,240
Ацетамиприд	0,017	0,032	0,064

6.2. Метод определения уровня чувствительности к инсектицидам популяций крысиных блох, собранных на объектах

Крысиных блох отлавливают в помещениях, которые или постоянно обрабатываются инсектицидами, или предназначены для обработки. Выловленных блох содержат в емкостях с песком в термостате при температуре 28—30 °С и относительной влажности 50—70 %. В качестве прокормителей используют лабораторных мышей.

Если отловлено недостаточное для проведения эксперимента количество блох, то получают от них потомство, и опыты проводят на блохах 1-го поколения (F_1).

При определении уровня чувствительности крысиных блох, собранных на объекте, к инсектициду, для которого установлена диагностическая концентрация, в опыте используют бумагу, импрегнированную ацетоновым раствором инсектицида в этой концентрации. Дальнейшие исследования проводят по этапам, изложенным в п. 6.1, находят величины $СК_{50}$ или $СК_{95}$ и рассчитывают показатель резистентности.

7. Методы определения уровня чувствительности к инсектицидам комнатных мух *Musca domestica*

7.1. Метод установления уровня чувствительности и диагностической концентрации (дозы) инсектицида для имаго комнатных мух лабораторной чувствительной культуры путем топикального нанесения растворов инсектицидов

Метод топикального нанесения рекомендуется использовать для установления уровня чувствительности комнатных мух к инсектицидам, обладающим выраженным контактным действием. Метод неприменим для работы с соединениями, не обладающими контактным действием для данного вида насекомых (например, имидаклопридом, CK_{95} которого превышает 1 %).

В опытах используют 3—4-дневных комнатных мух чувствительной лабораторной культуры без разделения по полу. Ацетоновый раствор ДВ инсектицида с помощью микродозатора или микропипетки наносят по 1 мкл на среднеспинку мух. В опыте используют мух, предварительно анестезированных эфиром или охлажденных в холодильнике. В контрольном варианте на мух наносят 1 мкл растворителя. При установлении показателей CK_{50} (CK_{95}) проводят 3 опыта не менее чем в 3 повторностях, используя не менее 60 насекомых на одну концентрацию; в контрольном варианте используют не менее 30 насекомых. После нанесения растворов инсектицида или растворителя мух по 20 особей помещают в стаканы (стеклянные или полимерные), которые закрывают марлевыми салфетками, смоченными водой, или на салфетку помещают увлажненную вату. Салфетки закрепляют резиновыми кольцами. Опыты проводят при температуре воздуха (23 ± 2) °С и относительной влажности 50—70 %. Учет смертности насекомых проводят через 24 ч. Мух, лежащих на спине, неспособных самостоятельно перевернуться и ползать, относят к погибшим.

Исходный уровень чувствительности комнатных мух лабораторной чувствительной культуры приведен в табл. 7.

Таблица 7

Величины $СК_{50}$ ($СД_{50}$) и $СК_{95}$ ($СД_{95}$) ДВ инсектицидов для имаго комнатных мух чувствительной культуры Cooper и диагностические концентрации (ДК) и дозы (ДД) (учет через 24 ч)

Инсектицид	$СК_{50}$, %	$СК_{95}$, %	ДК, %	$СД_{50}$, мкг/г	$СД_{95}$, мкг/г	ДД, мкг/г
1	2	3	4	5	6	7
Хлорорганические соединения						
ДДТ	0,320	0,890	1,78	177,8	494,4	988,8
Фосфорорганические соединения						
Азаметифос	0,025	0,08	0,16	16,7	53,3	106,6
ДДВФ	0,0008	0,0014	0,0028	0,4	7,0	14,0
Диазинон	0,007	0,022	0,044	5,26	16,5	33,1
Малатион	1,0	4,5	9,0	621,1	2 795,0	5 590,0
Фенитротион	0,030	0,135	0,27	18,2	81,2	162,4
Хлорофос	0,180	1,5	3,0	137,4	1 145,0	2 290,0
Хлорпирифос	0,015	0,040	0,08	10,0	26,7	53,4
Фентион	0,013	0,040	0,08	8,7	26,7	53,4
Производные карбаминовой кислоты						
Метомил	0,015	0,040	0,08	8,3	22,2	44,4
Пропоксур	0,059	1,80	3,60	34,5	1 052,6	2 105,2
Пиретроиды						
Пиретроиды, не содержащие CN-группу						
d-Аллетрин	0,020	0,074	0,148	10,0	37,0	74,0
Эсбиотрин	0,004	0,011	0,022	2,5	6,9	13,8
Праллетрин	0,004	0,065	0,130	2,4	37,7	75,4
Вапортрин	0,009	0,078	0,156	7,3	65,0	130,0
Тетраметрин	0,012	0,55	1,10	6,7	305,6	611,2
Неопинамин форте	0,007	0,070	0,14	3,5	35,0	70,0
d-Фенотрин	0,007	0,035	0,07	3,0	18,9	37,8
Перметрин	0,0012	0,0045	0,009	0,75	2,8	5,6
Имипротрин	0,047	0,105	0,210	39,7	125,0	250,0
Пиретроиды, содержащие CN-группу						
Альфациперметрин	0,000098	0,0006	0,0012	0,074	0,33	0,66
Циперметрин	0,0006	0,0012	0,0024	0,275	2,65	5,3
Дельтаметрин	0,000074	0,00035	0,0007	0,043	0,204	0,408
Цифенотрин	0,0019	0,0070	0,014	1,62	5,83	11,66
Цифлутрин	0,0000125	0,00024	0,00048	0,01	0,126	0,252
Фенвалерат	0,0130	0,115	0,230	7,3	66,5	133,0

Продолжение табл. 7

1	2	3	4	5	6	7
Эсфенвалерат	0,0033	0,011	0,022	1,44	4,81	9,62
Фенилпиразолы						
Фипронил	0,00025	0,00082	0,00164	0,20	0,61	1,22
Аминогидразоны*						
Гидраметилнон	0,018	0,045	0,090	10,91	27,27	54,54
Неоникотиноиды**						
Тиаметоксам	0,018	0,110	0,22	10,84	66,30	132,6
Ацетамиприд	0,110	1,180	2,36	73,33	786,67	1 573,3
Авермектины						
Аверсектин С	0,00008	0,0017	0,0034	0,043	0,92	1,84
Абамектин	0,001	0,0036	0,0072	0,39	1,4	2,8
Спиносины						
Спиносад	0,005	0,025	0,05	3,57	17,86	35,72
* Учет через 96 ч; ** Учет через 48 ч						

7.2. Метод установления уровня чувствительности и диагностической концентрации инсектицида для имаго комнатных мух лабораторной чувствительной культуры при кишечном воздействии

Метод рекомендуется для определения уровня чувствительности комнатных мух к ДВ, обладающим выраженным кишечным действием и не имеющим репеллентного действия в отношении этих насекомых.

В опытах используют голодных комнатных мух 3—4-дневного возраста чувствительной лабораторной культуры без разделения по полу. За 16 ч до начала эксперимента у мух отнимают корм, оставляя в садках только воду. Ацетоновыми растворами ДВ инсектицида обрабатывают сахарный песок из расчета одна часть раствора на две части сахарного песка. Сахарный песок раскладывают по 2 г на часовые стекла или стеклянные чашки Петри, затем смачивают его 1 мл раствора инсектицида и оставляют под тягой до полного испарения растворителя (не менее 12 ч). Следует учитывать, что при нанесении 1 мл 1 %-го раствора (т. е. 10 мг ДВ инсектицида в 1 мл ацетона) на 2 г сахара, концентрация инсектицида в приманке составляет 0,5 % (5 мг/г сахара).

В качестве емкостей для содержания мух используют марлевые садки размером (30 × 30 × 30) см или прозрачные полимерные емкости (бутылки) объемом 2 л. В последнем случае у бутылок срезают дно и закрывают его марлевыми салфетками. Салфетки закрепляют резино-

выми кольцами. Бутылку кладут горизонтально, в горлышко помещают ватный тампон, смоченный водой, в середину бутылки – сахарную приманку на подложке (маленькие чашки Петри и т. п.).

В опыте используют мух, предварительно анестезированных эфиром или охлажденных в холодильнике. В контрольном варианте сахарный песок смачивают 1 мл ацетона. Проводят 3 опыта, используя в каждом не менее 5 концентраций инсектицида в 3 повторностях. В одну емкость помещают не менее 40 мух. Опыты проводят при температуре воздуха (23 ± 2) °С и относительной влажности 50—70 %. Смертность насекомых учитывают через 48 ч. Мух, лежащих на спине, неспособных самостоятельно перевернуться и ползать, относят к погибшим.

Исходный уровень чувствительности комнатных мух лабораторной чувствительной культуры при скармливании отравленной приманки (кишечное действие) приведен в табл. 8.

Таблица 8

Величины $СК_{50}$, $СК_{95}$ и диагностические концентрации инсектицидов для имаго комнатных мух чувствительной культуры Cooper при скармливании отравленной приманки (кишечное действие) (учет через 48 ч), мг/г сахара

Инсектицид	$СК_{50}$	$СК_{95}$	ДК
Фосфорорганические соединения			
Хлорпирифос	0,0092	0,048	0,096
Хлорофос	0,200	0,800	1,600
Диазинон	0,035	0,085	0,170
Фентион	0,018	0,080	0,160
Фенитротион	0,040	0,220	0,44
Азаметифос	0,028	0,078	0,156
Производные карбаминовой кислоты			
Пропоксур	0,230	2,60	5,20
Метомил	0,032	0,14	0,28
Аминогидразоны*			
Гидраметилнон	0,10	0,35	0,70
Фенилпиразолы			
Фипронил	0,00033	0,0016	0,0032
Неоникотиноиды			
Имидаклоприд	0,051	0,540	1,08
Тиаметоксам	0,011	0,030	0,06
Ацетамиприд	0,034	0,240	0,48
* Учет через 96 ч			

7.3. Методы определения уровня чувствительности к инсектицидам популяций комнатных мух, собранных на объектах

Комнатных мух отлавливают в помещениях, которые или постоянно обрабатываются инсектицидами, или предназначены для обработки. Возможен отлов мух и вне помещений. Выловленных мух содержат в течение суток при температуре (23 ± 2) °С и влажности 50—70 % в марлевых садках. Если отловлено недостаточное для проведения эксперимента количество мух, то получают от них потомство, и опыты проводят на мухах 1-го поколения (F_1). В опытах используют насекомых без разделения по полу.

7.3.1. Метод топикальной обработки

При определении уровня чувствительности собранных на объекте комнатных мух к инсектициду, для которого установлена диагностическая концентрация (доза) (табл. 7), в опыте используют ацетоновый раствор инсектицида этой концентрации. Проводят по три опыта в 3 повторностях, используя по 20 насекомых в каждой. Опыты сопровождают контрольным вариантом.

Если при обработке раствором инсектицида в диагностической концентрации остаются выжившие особи, то определяют значения $СК_{50}$, % и $СК_{95}$, % ($СД_{50}$ и $СД_{95}$, мкг/г) и показатель резистентности для данной популяции мух. Методика проведения опыта приведена в п. 7.1. При наличии в лаборатории стандартной чувствительной культуры комнатных мух, величины $СК_{50}$ ($СД_{50}$) или $СК_{95}$ ($СД_{95}$) определяют параллельно на насекомых, собранных на объекте, и чувствительных насекомых из культуры. В том случае если лабораторная культура отсутствует, используют для сравнения базовые показатели чувствительности (табл. 7).

Необходимо учитывать, что уровень чувствительности мух, собранных на объектах, может изменяться в течение сезона их активности, поэтому определение этого уровня следует проводить не менее двух раз в сезон и анализировать результаты в целом по сезону.

7.3.2. Метод скармливания отравленных приманок

Метод скармливания приманок с инсектицидом, введенным в диагностической концентрации, применяется для установления уровня чувствительности мух, собранных на объектах, к инсектицидам, обладающим кишечным действием (табл. 8).

При выживании насекомых в опыте проводят более точное определение уровня чувствительности по п. 7.2. Определяют значения $СК_{50}$, и $СК_{95}$ (мкг/г сахара), сравнивают их с таковыми для чувствительной ла-

бораторной культуры или данными, приведенными в табл. 8, и определяют показатель резистентности.

8. Методы определения уровня чувствительности к инсектицидам комаров родов *Aedes*, *Culex* и *Anopheles*

8.1. Метод установления исходного уровня чувствительности и диагностической концентрации ларвицидов для личинок комаров лабораторной чувствительной культуры

Опыты проводят по методу ВОЗ [14] на личинках комаров р.р. *Aedes, Culex* или *Anopheles* лабораторных чувствительных культур. Личинок комаров третьего или в начале четвертого возраста рассаживают при помощи петли диаметром 5 см, обтянутой сеткой, по 20—25 особей в маленькие емкости (пробирки, мензурки), в которые налито по 24 мл дехлорированной воды, предварительно отстоянной в течение 24 ч. Личинок выдерживают в сосудах 2 ч, после чего удаляют погибших или ослабленных и заменяют их активными.

Приготавливают рабочие растворы необходимых концентраций, растворяя действующее вещество в спирте, а затем последовательно разбавляя водой, или же готовят водные эмульсии или суспензии из соответствующих инсектицидных средств.

В сосуды емкостью 500 мл наливают по 225 мл дехлорированной водопроводной воды. В каждый сосуд вносят 1 мл раствора инсектицида и размешивают. Затем в приготовленные растворы переносят личинок вместе с водой из маленьких емкостей. Контролем служат личинки, помещенные в дехлорированную воду, в которую вносят 1 мл растворителя. Опыты проводят при температуре 22—25 °С. Сосуды с личинками во время проведения опыта должны находиться при рассеянном естественном освещении. Для стандартизации условий освещенности и биоритмов опыт начинают в 9—12 ч местного времени. Опыты с каждой концентрацией и контрольный вариант ставят в 3-кратной повторности. Учет смертности личинок проводят через 24 ч. В категорию погибших включают личинок, которые длительное время не всплывают на поверхность воды, и тех, которые не ныряют при колебании воды.

Всемирная организация здравоохранения рекомендует использовать диагностические концентрации для выявления наличия резистентности в популяциях разных видов комаров. В табл. 9 приведены (рекомендованные ВОЗ) диагностические концентрации инсектицидов для некоторых видов комаров [11].

Таблица 9

Диагностические концентрации (мг/л) для личинок комаров по данным ВОЗ [11]

Вид комаров	Инсектицид					
	ДДТ	Малатион	Фенитротион	Фентион	Хлорпирифос	Темефос (абат)
Aedes aegypti	0,012	0,125	0,020	0,025	0,002	0,012
Ae. caspius	0,012	0,125	–	0,012	–	–
Culex pipiens	0,004	0,050	0,025	0,0128	0,0020	0,002
Cx. tarsalis	0,025	–	–	–	–	–
Anopheles hyrcanus	–	–	–	–	0,025	0,025
An. sacharovi	5,00	–	–	0,050	0,025	0,625

В табл. 10 приведены показатели $СК_{50}$, $СК_{95}$ и диагностические концентрации произведенных в России микробиологических средств в отношении личинок III (начала IV) возраста лабораторных чувствительных культур комаров р.р. *Aedes*, *Culex* и *Anopheles*.

Таблица 10

Величины $СК_{50}$, $СК_{95}$ и диагностические концентрации микробиологических средств для личинок III (начала IV) возраста лабораторных чувствительных культур комаров р.р. *Aedes*, *Culex* и *Anopheles*, мг/л

Ларвицид	Виды комаров	$СК_{50}$	$СК_{95}$	ДК
Бактицид	*Ae. aegypti.*	0,024	0,045	0,090
	Cx. p. molestus	0,010	0,027	0,054
	An. stephensi **	0,050	0,103***	0,200
	An. atroparvus **	0,130	0,600***	1,80
	An. sacharovi *	1,720	–	–
Ларвиоль	*Ae. aegypti*	0,0035	0,0067	0,0134
	Cx. p. molestus	0,0043	0,0084	0,0168
	*An. atroparvus***	0,044	0,300	0,600
Антинат	*Ae. aegypti*	0,0055	0,0080	0,016
	Cx. p. molestus	0,0060	0,0130	0,026

Примечание. Средство Бактицид ранее называлось Бактокулицид.
* Данные приведены по [1];
** Данные приведены по [16];
*** $СК_{90}$, мг/л

8.2. Метод определения уровня чувствительности к ларвицидам личинок комаров, собранных на объектах

Личинок комаров собирают в природных биотопах или в подвалах домов при помощи водного сачка или кюветы согласно МУ 3.5.2.705—98 или МУ 3.2.974—00 [7, 8]. Для опытов отбирают личинок одного вида III (начала IV) возраста. Приготавливают спиртовой раствор ДВ инсектицида в диагностической концентрации или водную эмульсию или суспензию, приготовленную из препаративной формы в рекомендуемой диагностической концентрации. Опыт проводят по п. 8.1.

8.3. Метод установления уровня чувствительности и диагностической концентрации инсектицидов для имаго комаров лабораторной чувствительной культуры

Метод определения уровня чувствительности (резистентности) имаго комаров к инсектицидам был разработан ВОЗ [14]. Наборы для проведения опытов состоят из 20 пластмассовых цилиндров длиной 125 мм и диаметром 44 мм. Восемь из них маркируют красной меткой и используют для контакта насекомых с инсектицидом, 2 (с зеленой меткой) – для контрольного варианта без инсектицида и 10 (с зеленой меткой) – для содержания комаров. Каждый цилиндр с одного конца затягивают ячеистой сеткой из нейлона. Кроме того, необходимо иметь 10 рамок с выдвижной заслонкой, каждая с выступающей винтовой нарезкой с обеих сторон и впускным отверстием на заслонке диаметром 20 мм. Внутреннюю поверхность цилиндров для содержания комаров выстилают чистой бумагой (12 × 15) см.

Комары контактируют с бумагой, импрегнированной растворами инсектицидов. Такая бумага предоставляется по заявкам ВОЗ или же готовится экспериментатором. Для этого листы фильтровальной бумаги (площадью 100 см^2) разрезают на куски размером (12 × 15) см и на каждую наносят раствор инсектицида из расчета 100 мл/м^2. После обработки бумагу развешивают и просушивают в течение 1 ч.

Комаров (по 15—25 самок) впускают в цилиндр для их содержания с помощью эксгаустера, который имеет внутренний диаметр 12 мм и эластичную трубку длиной 60 см. В каждый цилиндр для контакта с инсектицидом вводят пропитанную раствором инсектицида в диагностической концентрации бумагу, свернутую в трубочку так, чтобы она прилегала к стенкам, и закрепляют ее в таком положении зажимами. Комаров, осторожно выдувая из цилиндра для содержания, перегоняют в цилиндр для контакта с инсектицидами, присоединив его к свободной нарезке на

обратной стороне рамки и выдвигая задвижку. Затем задвижку задвигают, отвинчивают цилиндр для содержания комаров и отставляют его в сторону. Цилиндры с комарами на время выбранных экспозиций оставляют стоять в вертикальном положении, засетченным концом кверху. По истечении экспозиции комаров в обратном порядке переводят в цилиндр для содержания и подсчитывают количество особей, впавших в состояние нокдауна. Через 24 ч подсчитывают количество погибших комаров.

В табл. 11 представлены данные ВОЗ [11] по диагностическим концентрациям и продолжительности их воздействия на некоторые виды комаров подсемейств *Culicinae и Anophelinae.*

Таблица 11

Диагностические концентрации и продолжительность их воздействия для взрослых особей некоторых видов комаров подсемейств *Culicinae* и *Anophelinae* (цит. по [11]), %/ч

Вид комаров	Инсектицид						
	ДДТ	Фенитротион	Фентион	Малатион	Пропоксур	Лямбда-цигалотрин	Перметрин
Aedes							
aegypti	4/0,5	–	0,25/1	0,8/1	0,1/1	0,03/1	0,25/1
albopictus	4/1	–	–	–	–	–	–
caspius	4/1	–	–	3,3/1	–	–	–
Culex							
pipiens f. molestus	4/1		–	–	–	–	–
Anopheles							
atroparvus	4/1		–	–	–	0,02/1	0,2/1
claviger	2/1	–	–	–	–	–	–
maculatus	4/1	1/1	–	–	–	–	–
maculipennis	4/2	1/2	2,5/1	3,2/1	–	–	–
messeae	–	–	2,5/1	3,2/1	–	–	–
sacharovi	4/1	1/2	–	5/0,5	–	0,1/1	
stephensi	4/2	1/2	–	3,2/1	–	0,01/1	0,1/1
superpictus	–		–	0,8/1	–	–	0,025/0,17

8.4. Метод определения уровня чувствительности к инсектицидам имаго комаров, собранных на объектах

Имаго комаров отлавливают в природных биотопах или на объектах при помощи энтомологического сачка, эксгаустера или пробирки. Комаров выпускают в садок из марли, капрона или мельничного газа и содержат при температуре 22—25 °С и относительной влажности 50—70 %. В случае низкой влажности воздуха (40 % и менее) садок с комарами следует накрыть влажной тканью. В садок ставят пузырек с ватным тампоном, пропитанным 10 %-м раствором сахара.

Имаго комаров для проведения опытов можно получить, выплаживая их из личинок, выловленных в природных биотопах. В этом случае вылетевших комаров подкармливают 10 % сахарным сиропом, а на 3—5-е сут. после окрыления кормят кровью на прокормителях – морских свинках, мышах или людях-донорах. Опыт проводят через 24—48 ч после кормления. Для проведения опыта используют только сытых самок одного вида.

Определение уровня чувствительности популяций, собранных на объектах, начинают с использования диагностических концентраций. Опыты проводят по методу ВОЗ (п. 8.3).

Поскольку метод ВОЗ по определению уровня резистентности требует специального оборудования, а импрегнированная бумага, используемая в методе, имеет короткий срок действия, что требует дополнительных регулярных ее закупок за рубежом, в ИМПиТМ был разработан экспресс-метод определения резистентности малярийных комаров к фосфорорганическим инсектицидам и ДДТ [6]. В экспериментах используются самки, выловленные на дневках. Кроме того, рекомендуется помимо тестирования самок, собранных на дневках, проводить тестирование молодых комаров в возрасте 0—2 дней, полученных из куколок, выловленных из контрольных водоемов.

Для приготовления импрегнированной бумаги рекомендуется использовать бумагу-ватман артикула 4 609 р., размером (15,0 × 10,5) см, разрезая ее на 4 равные части. С помощью пульверизатора бумагу, закрепленную на деревянной раме, опрыскивают водными эмульсиями или суспензиями препаратов на основе ДДТ или малатиона. Обработанную бумагу сушат в горизонтальном положении, затем помещают в цилиндры, закрытые прозрачными пластмассовыми крышками диаметром 4 см. Крышки должны быть двух типов: с отверстиями диаметром 1,3—1,5 см в центре крышки для запуска комаров и с мелкими отверстиями, размер которых не допускает вылета комаров. Крышка с мелкими от-

верстиями должна быть вверху, с одним большим отверстием – внизу. В каждый из собранных цилиндров через большое отверстие запускают по 15—20 комаров и цилиндр ставят вертикально на подставку большим отверстием вниз. Для ДДТ и малатиона рекомендуются 2 % рабочая жидкость и диагностическое время, равное 30 и 40 мин, соответственно.

8.5. Метод изучения раздражимости имаго комаров

Раздражимость комаров может быть вызвана воздействием самого действующего вещества инсектицида, компонентами, входящими в состав препаративной формы, а также может зависеть от уровня резистентности к инсектицидам. В работах В. П. Дробозиной и Н. И. Бондаревой [3] были установлены особенности поведения различных видов малярийных комаров после контакта с обработанной ДДТ поверхностью. У *An. sacharovi* и *An. sundaicus* агрессивность после контакта с обработанной ДДТ поверхностью увеличивалась в 2—6 раз, что способствовало усилению эпидемиологической значимости этих видов. У имаго комаров *An. martinius* и *An. pulcherrimus* найдены сезонные изменения как уровня резистентности, так и раздражимости [15]. Таким образом, раздражимость крайне важна при работе с эпидемиологически опасными видами комаров, поскольку она способствует перелету комаров из обработанных помещений (хлева, надворные постройки) в необработанные (жилые помещения).

Для определения раздражимости рекомендуется метод, предложенный ВОЗ и усовершенствованный ИМПиТМ. Фильтровальную бумагу обрабатывают из пульверизатора рабочим раствором инсектицида в концентрации, отобранной в первичном опыте. Исследования проводят через 1—2 сут. после обработки. В опыте используют не менее 50 имаго комаров. По окончании опыта подсчитывают распределение особей по степени раздражимости. Детальное проведение эксперимента и необходимое оборудование приведены в МУ 3.5.2.1759—03 [9].

9. Меры предосторожности при работе с природными популяциями насекомых или популяциями, собранными на объектах

Многие насекомые являются переносчиками возбудителей природноочаговых трансмиссивных болезней (малярия и чума, вирусные энцефалиты и желтая лихорадка, трипаносомозы и риккетсиозы, туляремия и др.). Насекомые – переносчики возбудителей этих болезней – чрезвычайно широко распространены в различных экосистемах. Некоторые из них,

получив возбудителя, сохраняют его в своем теле пожизненно и передают потомству. В связи с этим при сборе и последующей работе с природными популяциями насекомых или с популяциями, собранными на объектах, необходимо соблюдать меры предосторожности: необходимо работать в резиновых перчатках и халатах, эксгаустеры должны быть снабжены грушами или ватными фильтрами.

Насекомых, оставшихся в живых после проведения эксперимента, уничтожают кипящей водой, или замораживают в морозильной камере при – 20 °С и сливают в канализацию.

Библиографические данные

1. Ганушкина Л. А., Войцик А. А. Чувствительность разных видов и разных стадий личинок комаров к бактериальным препаратам //Мед. паразитол. 1986. № 6. С. 55—58.

2. Дремова В. П. Городская энтомология. Вредные членистоногие в городской среде. Екатеринбург: Издательский дом «ИздатНаукаСервис», 2005. 278 с.

3. Дробозина В. П. Бондарева Н. И. Нападение на добычу резистентных видов *Anopheles* после контакта с ДДТ //Современные направления мед. дезинсекции и дератизации. М.: Минздрав, 1981. С. 42—43.

4. Лакин Г. Ф. Биометрия. М., 1968. 284 с.

5. Методические рекомендации «Вши человека (диагностика, медицинское значение, меры борьбы)». М., 1990. 24 с.

6. Методические рекомендации по определению резистентности малярийных комаров к фосфорорганическим инсектицидам и ДДТ экспресс-методом. МЗ СССР № 15-6/14 утв. 01.10.91. Москва, 1991. 7 с.

7. МУ 3.5.2.705—98 «Борьба с комарами, выплаживающимися в подвальных помещениях». М.: «ИНТЕРСЭН», 1998. 23 с.

8. МУ 3.2.974—00 «Малярийные комары и борьба с ними на территории Российской Федерации». М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2000. 56 с.

9. МУ 3.5.2.1759—03 «Методы определения эффективности инсектицидов, акарицидов, регуляторов развития и репеллентов, используемых в медицинской дезинсекции». М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора МЗ России, 2004. 87 с.

10. Попов П. В. Статистический анализ опытных данных с помощью линии регрессии «доза пестицида – активность» //Химия в сельском хозяйстве. 1965. № 10. С. 72—74.

11. Пятнадцатый доклад Комитета экспертов ВОЗ по биологии переносчиков и борьбе с ними. Резистентность переносчиков болезней к пестицидам. Сер. техн. докл. ВОЗ № 818. Женева, 1995. 365 с.

12. Рославцева С. А. Резистентность к инсектоакарицидам членистоногих, имеющих эпидемиологическое и санитарно-гигиеническое значение. М.: Компания Спутник+, 2006. 130 с.

13. Рокитский П. Ф. Биологическая статистика. Высшая школа. Минск, 1967. 326 с.

14. Семнадцатый доклад Комитета экспертов ВОЗ по инсектицидам. Резистентность к инсектицидам и борьба с переносчиками //Сер. техн. докл. ВОЗ № 443. Женева, 1972. 365 с.

15. Сорокин Н. Н., Адамишина Т. А., Степнов А. П. и др. Сезонные изменения резистентности и раздражимости к инсектицидам у малярийных комаров в Каракалпакии //Мед. паразитол. 1992. Т. 3. № 4. С. 9—12.

16. Соколова Э. И., Кулиева Н. М., Эрлих В. Д., Шаталова И. А. Результаты испытаний препарата *Bacillus thuringiensis* Н-14 штамм BTS-393 //Мед. паразитол. 1986. № 1. С. 25—28.

17. Химические методы борьбы с переносчиками /Под ред. Chavasse C. D., Yap H. H. ВОЗ, Женева, 2000. 152 с.

18. Bull. Food and Agriculture Organization. Fast resistance to pesticides and crop loss. Rome, 1977.

19. Krieger J. Insect resistance to pesticides is growing problem //Chem. and Eng. News. 1987. V. 65. № 9. P. 32—33.

20. Zeichner B.C. Baseline susceptibility of laboratory strain of *Pediculus humanus humanus* (Anoplura: Pediculidae) using a modified World Health Organization testing protocol //J. Med. Entomol. 1999. V. 36. № 6. P. 903—905.

Список сокращений

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ДВ – действующие вещества

ДД – диагностическая доза

ДК – диагностическая концентрация

$КН_{50\ (99)}$ – концентрации, вызывающие паралич (нокдаун) 50 (99) % подопытных насекомых

ПР – показатель резистентности

$СД_{50\ (95,\ 99)}$ – смертельные дозы, вызывающие смертность 50 (95, 99) % подопытных насекомых

$СК_{50\ (95,\ 99)}$ – смертельные концентрации, вызывающие смертность 50 (95, 99) % подопытных насекомых

gost.e-ecolog.ru