

СОГЛАСОВАНО»

Директор НИИ Дезинфектологии
Минздрава России
Академик РАМН

_____ М.Г.Шандала

_____ 2004 г.

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ОАО «Биохиммаш»
_____ А.Г.Мошкин

_____ 2004г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

**инсектицидного микробиологического средства
«ЛАРВИОЛЬ-ПАСТА»
для уничтожения личинок кровососущих комаров
(«ОАО «Биохиммаш», Россия)**

Москва 2004 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению инсектицидного микробиологического средства «ЛАРВИОЛЬ-ПАСТА» для уничтожения личинок кровососущих комаров (ОАО «Биохиммаш», Россия)

Инструкция разработана в ОАО «Биохиммаш», Россия

Авторы: Соколова Э.И., Кулиева Н.М.

Инструкция предназначена для специалистов, имеющих право заниматься дезинсекционной деятельностью.

1. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

1.1. «ЛАРВИОЛЬ-ПАСТА» (далее «ЛАРВИОЛЬ») - инсектицидное микробиологическое средство, полученное на основе энтомопатогенной бактерии *Bacillus thuringiensis* 14 серотипа (штамм ИПМ -1501, В-6562).

Средство «ЛАРВИОЛЬ» представляет собой однородную жидкую пасту от светло-коричневого до светло-кремового цвета, pH 4,5.

Действующим началом средства «ЛАРВИОЛЬ» являются кристаллы дельта эндотоксина, которые в виде кристаллических образований синтезируются клетками.

Средство является кишечным ядом для личинок любых видов кровососущих комаров. Токсин, попадая с кормом в организм личинок, вызывает нарушение пищеварительного процесса, токсикоз и гибель.

Средство «ЛАРВИОЛЬ» расфасовано в пластиковую тару, предназначенную для жидкой или пастообразной продукции по ГОСТ 284710, объемом 0,5 - 40 л. По согласованию с потребителем допускается фасовка в бочки вместимостью 200 л.

Срок годности - 12 месяцев. Срок хранения во вскрытой таре не более 3 месяцев. При хранении средство может расслаиваться. При применении интенсивно взболтать.

Средство «ЛАРВИОЛЬ» разработано ОАО «Биохиммаш» (Москва, Россия). Изготовитель ОАО «Биохиммаш»

1.2. Средство «ЛАРВИОЛЬ» относится к 1У классу малоопасных веществ (ГОСТ 12.1.007-76). По величине DL_{50} при введении в желудок, не обладает кумулятивной активностью, не проникает через неповрежденную кожу, не оказывает местно-раздражающего действия на кожные покровы и конъюнктиву глаз. Обладает слабым сенсibiliзирующим действием.

1.3. Средство «ЛАРВИОЛЬ» предназначено для уничтожения личинок всех видов кровососущих комаров в открытых водоемах (пруды, в том числе и рыбохозяйственные, лужи, копанки, рисовые чеки, плавни) и в закрытых - подвалах жилых домов и зданий иного назначения, залитых грунтовыми и канализационными водами. ПДК средства «Ларвиоль» для воды рыбохозяйственных водоемов составляет 1 мг/л.

1.4. Эффективность средства «ЛАРВИОЛЬ» зависит от многих факторов: дозировки, возраста и вида личинок, экологических особенностей водоемов, тщательности обработки.

Личинки комаров погибают в течение суток после обработки водоемов.

2. СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ «ЛАРВИОЛЬ» И НОРМЫ РАСХОДА

21. Средство «ЛАРВИОЛЬ» рекомендуется для наземного применения в виде водной суспензии путем опрыскивания поверхности водоемов - мест выплода личинок комаров.

22. Обработку следует начинать в период массового появления личинок на второй и третьей стадиях развития. Число обработок зависит от числа генераций комаров за сезон: одна - в тундре и лесотундре, 3 и более - лесной, лесостепной, 4 и более в аридной зонах.

23. Дозировка средства «ЛАРВИОЛЬ» зависит от типа и глубины и составляет от 0,2 до 0,8 г/м².

Для уничтожения личинок р. Anopheles, Culex, Aedes в мало- и средне-заросших растительностью мелководных, глубиной до 0,3 м, водоемах используют дозировку 0,6 г/м².

В сильно заросших водоемах, например, рисовых чеках, и водоемах глубиной более 0,3 м, используют дозировку 0,8 г/м².

При обработке водоемов, глубиной менее 0,3 м, находящихся в подвальных помещениях, заселенных личинками р. Culex, используют дозировку 0,2 г/м²; при глубине водоема более 0,3 м используют дозировку 0,4 г/м².

24. Средство «ЛАРВИОЛЬ» используют в виде водной суспензии. Приготовление водной суспензии проводят непосредственно перед обработкой. При этом предварительно тщательно взбалтывают пасту, затем при непрерывном помешивании разводят в необходимом количестве воды и процеживают через сито. Температура воды не должна превышать 32⁰С.

25. Необходимое количество средства определяют исходя из типа и размера водоема.

Расчет количества средства «ЛАРВИОЛЬ» и его водных суспензий приведен в таблице 1.

Таблица 1

Тип водоема	Обрабатываемая площадь, м ²				
	1	10	100	1000	10000
	Норма расхода водной суспензии, л*				
	0,1	0,5	5,0	50,0	100,0
Расход препарата, г					
Открытые, мало и средне-заросшие мелководные (до 0,3 м) водоемы	0,6	6,0	60,0	600,0	6000,0
Открытые сильнозаросшие водоемы глубиной более 0,3 м (например, рисовые чеки)	0,8	8,0	80,0	800,0	8000,0
Затопленные подвалы глубиной до 0,3 м	0,2	2,0	20,0	200,0	2000,0
Затопленные подвалы глубиной более 0,3 м	0,4	4,0	40,0	400,0	4000,0

* Объем рабочей суспензии рассчитан на использование автомакса АО-2

26. В зависимости от объема работ используют гидропульты, автомаксы, механические и электрические опрыскиватели типа ОМР-2, ОЭС, КДУ, а также установки на автомашинах и тракторах типа ДУК, ВДМ, ЛСД, ОВТ.

27. Остаточное действие средства «ЛАРВИОЛЬ» в зависимости от типа водоема колеблется от 10 до 30 дней.

28. Повторные обработки необходимо проводить при массовом появлении личинок 2-3 возрастов следующей генерации.

3. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА СРЕДСТВА «ЛАРВИОЛЬ»

3.1. Определение биологической активности

Метод основан на определении концентрации средства «Ларвиоль», вызывающего 50%-ную гибель личинок комаров *Aedes aegypti* второй стадии развития при свободном поглощении ими частиц средства в среде обитания.

3.2. Аппаратура, материалы, реактивы:

размельчитель тканей или гомогенизатор лабораторный любого типа;

термостат любого типа, обеспечивающий температуру в рабочем пространстве $(28 \pm 1)^{\circ}\text{C}$; емкость вместимостью 10 л;

цилиндр мерный вместимостью 100 см^3 по ГОСТ 1770-74;

цилиндр мерный вместимостью 250 см^3 по ГОСТ 1770-74;

стаканы и колбы вместимостью 250, 400, 1000 см^3 любого класса точности по ГОСТ 25336-83;

пипетки исполнения 1 любого класса точности вместимостью 1 см^3 по ГОСТ 20292-74;

пипетки исполнения 3 любого класса точности вместимостью $1,2\text{ см}^3$ по ГОСТ 20292-74;

палочка стеклянная;

сетка капроновая;

лейкопластырь;

марля;

вода питьевая по ГОСТ 2874-82;

дрожжи кормовые паприн по ГОСТ 28179-89;

аскорбиновая кислота по ст. 6 ГФ СССР изд. X.

3.3. Приготовление среды обитания

Сухую чистую емкость вместимостью 10 л наполняют водопроводной питьевой водой, накрывают марлей и выдерживают при комнатной температуре в течение 24 ± 1 ч

Срок годности среды обитания - 3 суток.

3.4. Приготовление тест-объекта

В качестве тест-объекта используют личинок лабораторной культуры комаров *Aedes aegypti* второй стадии, отродившихся из яиц одной популяции.

1000 штук яиц комаров помещают в стеклянный стакан вместимостью 1000 см^3 , заливают 800 см^3 среды обитания, добавляют 400 мг аскорбиновой кислоты и помещают в термостат с температурой $(28 \pm 1)^{\circ}\text{C}$. Через 4-6 ч из яиц отрождаются личинки первой стадии.

После отрождения в сосуд с личинками вносят корм - 50 мг кормовых дрожжей. Через 34-38 ч личинки первого стадии вступают во вторую стадию развития. Наличие шкурки головной капсулы на поверхности воды указывают на то, что личинки вступили во вторую стадию развития и тест-объект готов к проведению испытаний.

Срок годности тест-объекта не более 6 ч.

В двадцать четыре стеклянных стакана вместимостью 400 см^3 наливают мерным цилиндром по 250 см^3 среды обитания и помещают с помощью сачка в каждый стакан по 25 личинок. Для изготовления сачка 2 см^2 капронового сита прикрепляют к стеклянной палочке лейкопластырем.

3.5. Приготовление суспензии средства “Ларвиоль”

1 см³ средства “Ларвиоль” помещают в колбу размельчителя с 50 см³ среды обитания, суспендируют в течение 2 мин при скорости 3000 об/мин, после чего в колбу доливают еще 50 см³ среды обитания и содержимое тщательно перемешивают.

Из полученной суспензии отбирают 1 см³ и помещают в колбу с 99 см³ среды обитания, тщательно перемешивают.

Полученную суспензию средства используют для проведения испытаний.

Срок годности суспензии не более 2 ч.

3.6. Приготовление суспензии корма с массовой долей 3 %

3 г кормовых дрожжей паприн помещают в колбу, добавляют 100 см³ среды обитания, тщательно перемешивают.

Полученную суспензию корма используют для кормления личинок комаров при проведении испытаний.

Срок годности суспензии не более 6 ч.

3.7. Проведение испытания

Испытывают средство “Ларвиоль” пяти концентраций: 0,0008; 0,0004; 0,0002; 0,0001; 0,00005 см³/дм³, обеспечивающих гибель личинок от 10 до 100 %.

Распределяют стаканы с личинками комаров на шесть групп по четыре стакана в каждой. Помечают стаканы номерами групп.

Добавляют в стаканы каждой группы суспензию средства “Ларвиоль” в количестве, указанном в табл. 3.1.

Таблица 3.1

Номер группы	Количество добавляемой суспензии средства “Ларвиоль”, см ³	Получаемая концентрация в стаканах, см ³ /дм ³
0*	0	0
1	2,000	0,00080
П	1,000	0,00040
Ш	0,500	0,00020
1У	0,250	0,00010
У	0,125	0,00005

* - контрольная группа

Через 1 ч после внесения суспензии средства “Ларвиоль”, во все стаканы добавляют по 1 см³ суспензии корма с массовой долей 3%. Стаканы с личинками помещают в термостат с температурой (28±1)⁰С на (24,0±0,5) ч.

После выдержки в термостате в каждой группе стаканов подсчитывают оставшихся в живых личинок.

Испытания считают успешными, если гибель в контрольной группе не превышает 10 %. В противном случае опыт повторяют.

3.8. Обработка результатов.

Биологическую активность средства “Ларвиоль” ЛК₅₀, см³/дм³, определяют формуле:

$$\lg \text{ЛК}_{50} = \lg C - \lg 2 (\sum_i X_i - 0,5),$$

где: ЛК₅₀ - концентрация, вызывающая 50 % -ную гибель личинок комаров;

С - концентрация “Ларвиоль” в первой группе стаканов;

X_i - отношение числа личинок, погибших от i -той концентрации «Ларвиоль» к общему числу личинок, подвергшихся действию этой концентрации с учетом гибели в контрольной группе;

$$X_i = O/M, \quad \text{если } 0 \leq K/M \leq 0,5$$

$$X_i = (O-K)/(M-K), \quad \text{если } 0,5 \leq K/M \leq 0,10$$

где: O - общее количество личинок, погибших от i -той концентрации «Ларвиоль»

M - общее количество личинок, подвергшихся действию i -той концентрации «Ларвиоль»;

K - общее количество личинок, погибших в контрольной группе.

Биологическая активность средства «Ларвиоль», определяемая по ЛК₅₀ см³/дм³ на личинках *Aedes aegypti* второго возраста через 24 часа должна быть не более 0,0004.

4. КОНТРОЛЬ ЭФФЕКТИВНОСТИ СРЕДСТВА «ЛАРВИОЛЬ»

4.1. Эффективность средства «ЛАРВИОЛЬ» оценивают сравнением численности личинок комаров до и через 24 ч после обработки.

4.2. Из каждого водоема в зависимости от площади берут от 3 до 10 проб стандартной кюветой или водным сачком до, и после обработки. Для получения сравнимых данных пробы необходимо брать в одних и тех же точках водоема, в одно и тоже время суток, лучше в первой половине дня. В каждой пробе отдельно ведут учет младшего (I-II) и старшего (III-IV) возрастов. Подсчитывают общее число личинок во всех пробах и среднее на одну пробу, что является показателем их обилия.

4.3. Качество обработок определяют показателем эффективности (\mathcal{E}) в процентах по формуле:

$$\mathcal{E} = (1 - B/A) \times 100,$$

где: A - обилие личинок до обработки;

B - обилие личинок после обработки.

При показателях эффективности в пределах 90-100 % обработка считается результативной.

4.4. Для определения необходимости повторной обработки проводят учет личинок через 10 и через 15 суток в открытых водоемах и через 30 суток в затопленных подвалах.

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С «ЛАРВИОЛЬ»

5.1. Средство «ЛАРВИОЛЬ» является малоопасным веществом, однако при работе с ним необходимо соблюдать следующие меры предосторожности:

пользоваться халатом, резиновыми перчатками, приготовление суспензии проводить на открытом воздухе;

во время работы запрещается курить, пить и принимать пищу;

после работы вымыть лицо и руки с мылом;

посуду, которую использовали при приготовлении суспензий, вымыть с мылом или 2 %-ным содовым раствором, или 3%-ным раствором перекиси водорода и не использовать для приготовления и хранения пищи;

5.2. К работе со средством «ЛАРВИОЛЬ» не допускают лиц моложе 18 лет, а также лиц склонных к аллергическим заболеваниям, беременных и кормящих женщин

6. ПЕРВАЯ ПОМОЩЬ ПРИ ЧРЕЗВЫЧАЙНОЙ СИТУАЦИИ

6.1. При попадании средства «ЛАРВИОЛЬ» в глаза промыть их струей воды или 2 % - ным раствором пищевой соды в течение нескольких минут. При раздражении слизистой оболочки глаз - закапать в них 30 % раствор альбумида.

6.2. При попадании средства «ЛАРВИОЛЬ» в желудок необходимо промыть его большим количеством воды или слабым раствором марганцево-кислого калия (1: 5000 - 1:10000).

6.3. При попадании средства на кожу - вымыть загрязненное место водой с мылом.

7. ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ, УПАКОВКА

7.1. Средство «ЛАРВИОЛЬ» расфасовывают в любую тару, кроме стеклянной, предназначенную для жидкой и пастообразной продукции. Объем фасовки от 0,5 до 40 л.

По согласованию с потребителем допускается фасовка в бочки вместимостью 200 л

7.2. Каждую упаковку снабжают этикеткой с наименованием датой изготовления, указанием срока годности.

7.3. Транспортирования средства «ЛАРВИОЛЬ» допускается любым видом транспорта на любые расстояния при условии защиты от воздействия солнечных лучей, атмосферных осадков и обеспечения прочности тары.

7.4. Хранение средства «ЛАРВИОЛЬ» производится в соответствии с ГОСТ 28471-90 при температуре от минус 30⁰ до плюс 30⁰С.

7.5. Гарантийный срок хранения 1 год со дня изготовления.