



Sveriges lantbruksuniversitet  
Swedish University of Agricultural Sciences

**Fakulteten för veterinärmedicin  
och husdjursvetenskap**  
Institutionen för biomedicin och veterinär  
folkhälsovetenskap

# **Ektoparasitiden fipronil**

## Vän eller fiende?

*Sara Lennartsson*

*Uppsala  
2017*

*Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen*

*Delnummer i serien: 2017:52*



# Ektoparasitiden fipronil

Vän eller fiende?

## The ectoparasiticide fipronil

Friend or enemy?

*Sara Lennartsson*

**Handledare:** Johan Gabrielsson, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

**Examinator:** Eva Tydén, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

**Omfattning:** 15 hp

**Nivå och fördjupning:** grund nivå, G2E

**Kurstitel:** Självständigt arbete i veterinärmedicin

**Kurskod:** EX0700

**Program:** Veterinärprogrammet

**Utgivningsort:** Uppsala

**Utgivningsår:** 2017

**Serienamn:** Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen

**Delnummer i serie:** 2017:52

**Elektronisk publicering:** <http://stud.epsilon.slu.se>

**Nyckelord:** fipronil, Frontline vet.<sup>®</sup>, ektoparasit, toxikologi, jordbruk

**Key words:** fipronil, Frontline vet.<sup>®</sup>, ectoparasite, toxicology, agriculture

Sveriges lantbruksuniversitet  
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap  
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap



## INNEHÅLLSFÖRTECKNING

SAMMANFATTNING .....	1
SUMMARY .....	2
INLEDNING.....	3
MATERIAL OCH METODER .....	5
LITTERATURÖVERSIKT .....	6
Fipronil .....	6
Verkningsmekanism .....	6
Ektoparasiter .....	6
Metabolism .....	7
Fipronilbehandling på husdjur .....	8
Frontline vet.® .....	8
Fipronilanvändning i jordbruk .....	9
Toxicitet .....	9
Safety studier .....	10
Sammanställning av LD <sub>50</sub> och LC <sub>50</sub> .....	13
DISKUSSION.....	14
Oral toxicitet.....	14
Dermal toxicitet.....	15
Toxicitet efter administrering via luftvägar .....	16
Carcinogenicitet .....	16
Sammanställning av toxicitet .....	17
Felkällor och framtida utmaningar .....	17
Slutsatser .....	17
LITTERATURFÖRTECKNING.....	18



## SAMMANFATTNING

En rad olika substanser och bekämpningsmedel framställs för att bekämpa ektoparasiter. Fenylpyrazolen fipronil är en av dessa substanser, och klassas som ett andra generationens insektsmedel. Denna litteraturstudie har undersökt vad fipronil har för negativa effekter på djur och människor som utsätts för substansen. Studien syftade till att undersöka vilka risker och problem som uppstår vid användandet av fipronil på hund och katt. Dessutom belystes huruvida miljö, människor och andra djurslag påverkas indirekt vid användning av fipronil.

Fipronil används i stor utsträckning både inom jordbruk och i veterinärmedicin. Substansen har en god terapeutisk effekt mot bland annat fästingar, loppor, löss och kackerlackor. Fipronil verkar som en icke-kompetitiv antagonist på GABA-komplexet hos parasiten, och blockerar därmed den pre- och postsynaptiska överföringen av kloridjoner över cellmembranet. När substansen når ektoparasiten får den en okontrollerad aktivitet i det centrala nervsystemet och dör. Förutom fipronil så har även dess nedbrytningsprodukter, det vill säga metaboliter och fotokemiska produkter, bioaktiva komponenter som kan vara toxiska för invertebrater och vertebrater.

På marknaden finns det flera olika produkter innehållande fipronil för bekämpning av ektoparasiter hos husdjur. Ett exempel, som undersökts i denna litteraturstudie, är spot-on lösningen *Frontline vet.*<sup>®</sup>. Detta läkemedel appliceras mellan djurets skulderblad en gång i månaden. Vid applicering av fipronil för att bekämpa parasiter som angriper grödor i jordbruket, sker detta främst genom besprutning. Den tätt upprepade användningen av fipronil hos husdjur, och de stora områden som besprutas i jordbruket, ger förutom önskad effekt även upphov till orala och dermala upptag av fipronil hos individer som inte är avsedda för substansen.

Enligt den här litteraturstudien kan fipronil anses vara relativt säkert för människor, katt och hund, under förutsättning att djuren är friska och doseringen av *Frontline vet.*<sup>®</sup> sker enligt rekommendation. Kliniska oönskade effekter vid rekommenderade doser är hudirritation och gastrointestinala störningar. Vid överdosering har CNS-störningar rapporterats.

Toxiciteten av fipronil är högre vid användning i jordbruket. Exempel på arter som fipronil har hög toxicitet hos är vissa fåglar (vaktlar), vattenlevande djur (akvatiska larver) och bin. Berörda arter uppvisar beteendestörningar, reproduktionsstörningar och hög dödlighet under exponering av substansen. Fipronil som används för besprutning av grödor är numera förbjudet i Europa på grund av sin höga toxicitet. Däremot brukas substansen flitigt i andra delar av världen som Sydafrika, Australien och Ryssland.

En klinisk effekt som observerats vid användning av fipronil är sköldkörtelförändringar hos råttor. Tumörer, dock utan mutagenicitet, kan också ses i vävnaden. Detta har dock inte observerats hos människor. US Environment Protection Agency, EPA, klassar fipronil som ”möjlig cancerframkallande på människa”, eftersom sköldkörteln och dess hormoner reglerar viktiga biologiska funktioner.

## SUMMARY

A variety of substances and pesticides have been created, in order to control ectoparasites which can be a major problem for both animals and crops. One example is the phenylpyrazole fipronil, a substance that is classified as a second generation insecticide. This literature study is aimed at which negative effects fipronil has on animals and humans exposed to the compound. The aim is to examine the potential risk coupled to the use of fipronil in dogs and cats. Furthermore, a related aim is to evaluate the potential risk of fipronil in humans indirectly exposed to the compound via the environment.

The compound is widely used both in agriculture and in veterinary medicine, and has high therapeutic effect against ticks, fleas, lice and cockroaches. Fipronil acts as a non-competitive antagonist on the GABA complex of the parasite, and thereby blocks the pre- and post-synaptic transfer of chloride ions across the cell membrane. Fipronil effects the ectoparasites nervous system, which results in hyper excitation and death. Fipronil is degraded chemically and metabolized. Fipronil, and each by-product, such as fipronil sulfone and fipronil-desulfinyl have a bioactive component and are toxic.

There are several different options of products containing fipronil for controlling ectoparasites on our pets. One example, which were researched in this study, is the spot-on solution *Frontline vet.*<sup>®</sup>. that is applied between the animal's shoulder blades once a month. Application of fipronil in agriculture is mainly through spraying. The often repeated use of fipronil in pets and the large areas that are sprayed in agriculture, not only provides the desired effect, but also causes oral and dermal intake of fipronil in individuals that are not targets of the substance.

Fipronil is considered to be relatively safe in humans, cats and dogs, provided healthy subjects are given a correct dose of fipronil. The clinical symptoms observed at the recommended doses are skin irritation and gastrointestinal disorders. CNS disorders have been reported in cases of overdose.

The toxicity of fipronil is higher in agricultural applications. Examples of species that fipronil has high toxicity in are birds (quails), aquatic animals (aquatic larvae) and bees. These species have demonstrated a high mortality and reproductive disorders, the use of fipronil in agriculture applications is therefore banned in Europe because of its high toxicity, but is used widely in other parts of the world such as Australia, South Africa and Russia.

An unwanted clinical observation of fipronil is thyroid changes in rats. Tumors, but with no mutagenicity, have also been reported. Thyroid carcinogenic potential has not been reported in humans, but because of the thyroid glands' important role in biological processes in the body, the US Environment Protection Agency, EPA, has classified fipronil as "possibly carcinogenic in humans".



## INLEDNING

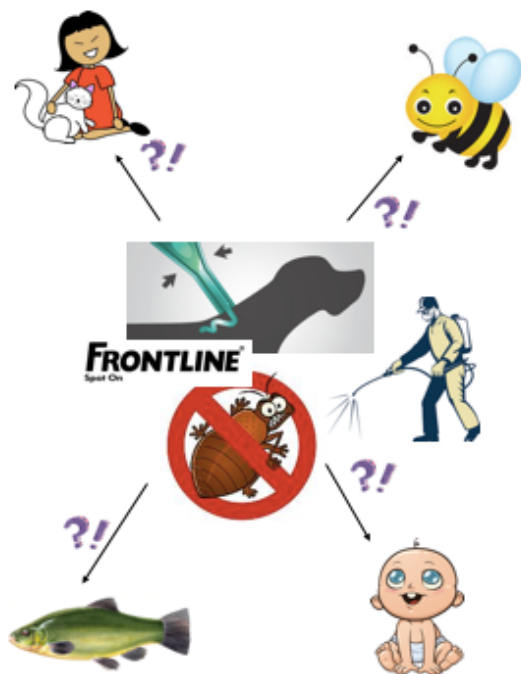
Ektoparasiter kan vara ett stort problem för husdjur och i jordbruket (Taylor *et al.*, 2007). De utsätter värddjur för hudirritation, men kan också vara vektorer för en rad olika sjukdomar som exempelvis borrelia och TBE. I jordbruket kan ektoparasiter till exempel ge problem i form av ekonomiska förluster.

En av de mest använda substanserna mot ektoparasiter är fipronil (Aajoud *et al.*, 2003). Fipronil är en fenylpyrazol som utvecklades mellan 1985 och 1987 av det franska läkemedelsföretaget Rhône-Poulenc och räknas som en substans av den nya generationens insekticider. Detta eftersom ektoparasiter ännu inte har utvecklat någon resistens mot fipronil, till skillnad ifrån andra klassiska organfosfater och pyrothyrider.

Användningen av fipronil kan delas in i fyra stora grupper: veterinära tillämpningar, växtskydd av grödor och mark, skadedjurskontroll i städerna samt vid kontroll av vattendrag för att skydda sumpkräftor (Chagnon *et al.*, 2015).

För bekämpning av ektoparasiter hos våra husdjur finns en rad olika läkemedel innehållande fipronil. Beredningsformen är antingen orala tuggtabletter eller en lösning som appliceras dermalt mellan skulderbladen på katter och hundar. Ett av de mest använda ektoparasiticiderna i världen, och ett exempel på den sistnämnda modellen, är Frontline vet.<sup>®</sup>. Läkemedlet är högeffektivt i bekämpningen av loppor, fästingar och löss (Dryden *et al.*, 2000; Bonneau *et al.*, 2010; Kužner *et al.*, 2013). Effektiviteten, den enkla appliceringen och att substansen verkar i minst 30 dagar efter en singelbehandling, har gjort Frontline vet.<sup>®</sup> mycket populärt (FASSvet, 2016). Vid användning av fipronil i jordbruk finns det flera olika appliceringsmetoder, där besprutning av grödor är den vanligast förekommande (Jeschke *et al.*, 2011).

Trots de många positiva sidorna med ektoparasiticiden når fipronil även djur och grödor den inte är avsedd för. Vid användning av fipronil i jordbruket kommer exempelvis individer utsättas för substansen genom att leva och inta föda i närheten av det behandlade området (EPA, 2007). Vid behandling av husdjur når substansen människor genom direkt och indirekt kontakt med djuren. Nedan ses potentiella spridningsrisker när fipronil används på husdjur eller i jordbruk (Figur 1).



Figur 1. Schematisk bild över potentiella spridningsrisker med fipronil. Till riskerna hör bland annat människor, bin, fåglar och vattenlevande djur.

Vad finns det för negativa konsekvenser för djurs och människors hälsa vid användning av fipronil? Denna litteraturstudie syftar till att undersöka vilka risker och problem som uppstår vid användning av fipronil på katt och hund. Utöver detta belyser litteraturstudien även huruvida miljö, människor och andra djurslag indirekt påverkas vid användning av fipronil.

## **MATERIAL OCH METODER**

De artiklar den här litteraturstudien baserats på har hämtats från databaserna Pubmed, Primo och Web of Science. Några exempel på söksträngar jag använt är:

- Fipronil OR Frontline vet. AND toxicology OR toxic\*
- Fipronil OR Fronlinter vet. AND efficacy
- Ektoparasit\* AND dog\* OR canine
- Fipronil AND agriculture

Referenser till de artiklar som hittats vid litteratursökningen har också använts. Förutom databaser har information även tagits ifrån FASSvet, Rang & Dale's Pharmacology, United States Environmental Protection Agency (US EPA) och European Food Safety Authority (EFSA).

## LITTERATURÖVERSIKT

### Fipronil

Fenylpyrazolen fipronil (5-Amino-1-(2,6-dikloro-4-trifluorometylfenyl)-4-(trifluorometylsulfinyl)pyrazol-3-karbonitri) är en av de mest populära substanserna mot ektoparasiter, både inom veterinärmedicin och i jordbruket (Gupta 2007). Fipronil upptäcktes och utvecklades av det franska läkemedelsföretaget Rhône-Poulenc mellan 1985 och 1987, och nådde marknaden 1993 (Chagnon *et al.*, 2015). Fipronil tillhör den nya generationens ektoparasitocider, eftersom ektoparasiter ännu inte har utvecklat någon resistens mot fipronil, till skillnad ifrån andra klassiska organofosfater och pyrothyrider (Aajoud *et al.*, 2003).

### Verkningsmekanism

Fipronil intas oralt eller dermalt av ektoparasiter och påverkar dess GABA-komplex (NPIC, 2009). GABA är den huvudsakliga hämmande signalsubstansen i hjärnan och bildas från glutamat med hjälp av enzymet glutaminsyra dekarboxylas (Rang *et al.*, 2012). Fipronil verkar som en icke-kompetitiv antagonist på GABA-komplexet hos parasiten och binder till  $\gamma$ -aminosmörnsyrans kloridkanal. Substansen blockerar därmed den pre- och postsynaptiska överföringen av kloridjoner över cellmembranet (FASSvet, 2016).

Fipronil har större inverkan hos invertebrater jämfört med vertebrater (Narahashi *et al.*, 2010). Ektoparasiter har, förutom GABA-receptorer, även glutamataktiverade kloridkanaler. Fipronil kan, förutom att binda till GABA, även binda till dessa kloridkanaler. Substansen binder på så vis in till fler ställen hos ektoparasiter.

Fipronil har även högre affinitet till parasiters GABA-receptorer jämfört med vertebraters (Gupta 2007). För att mäta substansers affinitet till receptorer används *Inhibitory concentration, 50%* ( $IC_{50}$ ).  $IC_{50}$  är ett mått på hur hög koncentration av en substans som krävs för att hämma GABA-komplexet 50%. Flera studier redovisar  $IC_{50}$ -värden uppemot sextio gånger lägre hos invertebrater jämfört med vertebrater (Hainzl *et al.*, 1998; Zhao *et al.*, 2003). Enligt Hainzl *et al.* (1998) rapporterades  $IC_{50}$ -värden för fipronil hos människor, möss och råttor på 1.103  $\mu$ M, medan hos kackerlackor och löss rapporterades värden på 3–12 nM.

De extra kloridkanalerna hos ektoparasiterna och fipronils högre affinitet till receptorer i invertebrater, ger substansen dess speciella selektivitet och effektivitet (Narahashi *et al.*, 2010). Inverkan på ektoparasitens nervsystem blir följaktligen så stark att den får en okontrollerad aktivitet i det centrala nervssystemet och dör (FASSvet, 2016).

### Ektoparasiter

Fipronil har både en insekticid och en akaricid effekt (FASSvet, 2016). Substansen verkar främst på loppor, fästingar och löss. I jordbruket verkar fipronil också på myror, skalbaggar, kackerlackor, termiter och syrsor (NPIC, 2009).

### Loppor

I familjen *Ctenocephalides spp* är två parasiter speciellt vanliga på hund; *Ctenocephalides felis* och *Ctenocephalides canis* (Taylor *et al.*, 2007). *Ctenocephalides felis*, även kallad kattloppan, är stor och kan suga mycket blod, vilket i värsta fall kan leda till anemi hos värdjuret. Saliven

hos parasiten kan även ge en allergisk reaktion och klåda, vilket är speciellt framträdande i varma delar av världen.

### Fästingar

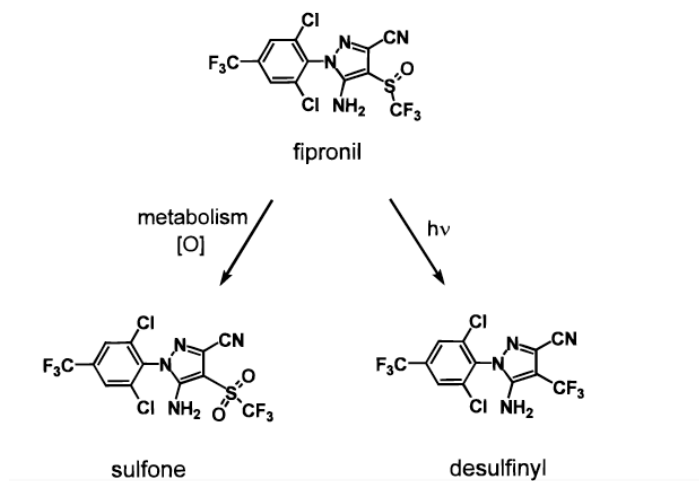
De fästingar som drabbar flest hundar i Europa är *Rhipicephalus sanguineus* och *Dermacentor reticulatus* (Ogden *et al.*, 2000). Fästingar orsakar klåda och kan även vara vektorer för sjukdomar (Dryden & Payne, 2004). Eftersom fästingar utsöndrar toxiska substanser via sin saliv smittas värden genom bitt (Needham & Teel, 1991). *Ixodes ricinus* kan exempelvis smitta värddjur med borrelia (Taylor *et al.*, 2007). Ett stort utbrott av många fästingar kan även orsaka anemi hos värddjuret (Dryden & Payne, 2004).

### Löss

Lössen *Linognathus setosus* och *Trichodectes spp* gömmer sig gärna på besvärliga ställen, till exempel i nacken, i öron eller under halsband (Taylor *et al.*, 2007). *Trichodectes spp* kan ge svår klåda, nervositet och sömnlöshet hos hundar, men är också en viktig vektor för bandmasken *Diphylidium caninum*. Parasiten är viktig att behandla mot då vi människor kan drabbas av symptom som buksmärter, diarré, anorexi och rektal klåda, då bandmasken framkallar en infektion i tunntarmen.

### Metabolism

Fipronil metaboliseras i levern hos invertebrater och vertebrater (Hainzl & Casida, 1996). Den vanligaste metaboliten, fipronilsulfon, bildas genom oxidation (Hainzl *et al.*, 1998). Fipronil kan även brytas ned under inverkan av solljus, vilket leder till den fotokemiska biprodukten fipronildesulfinyl (Figur 2).



Figur 2. Fipronil och dess vanligaste metabolit fipronilsulfon och fotokemiska produkt fipronildesulfinyl, baserad på bild från Hainzl *et al.*, (1998).

Fipronilsulfon, i förhållande till fipronil, är mer persistent och mer potent *in vitro* i GABA-receptorerna hos invertebrater än hos vertebrater (Hainzl *et al.*, 1998). Sulfon ansamlas främst i fettvävnad, men också i hjärna, lever, njure, och avföring (Hainzl & Casida, 1996).

Fipronildesulfinyl bildas när fipronil reagerar med solljus och detta sker exempelvis på växtytan eller i vattendrag (NPIC, 2009). Produkten är en stabil förening som också gärna bioackumuleras i fettvävnad. Nedbrytningsprodukten är tio gånger mer selektiv för kloridkanaler i nervsystemet, jämfört med både fipronil och fipronilsulfon. Produkten är därför mer toxisk än fipronil och fipronilsulfon, för både vertebrater och invertebrater (Hainzl and Casida, 1996; Hainzl *et al.*, 1998; Gupta 2007).

En studie rapporterade att förhållanden vid basiskt pH och stigande temperaturer kan leda till ökad hydrolys av fipronil (Ramesh & Balasubramanian, 1999). Enligt författarna ger detta upphov till fipronilamider som är toxiska.

Risken att fipronil går över till grundvattnet vid användning i jordbruk klassas som obefintlig eftersom fipronil binds väl i jorden och löses dåligt i vatten (NPIC, 2009). Substansen anses vidare inte heller som flyktig och det finns inga studier som tyder på att fipronil förångas från jord eller vatten till luft.

### **Fipronilbehandling på husdjur**

Fipronil är välanvänt i bekämpningen mot ektoparasiter på hund och katt (Dryden *et al.*, 2000). En utav de vanligaste förekommande läkemedlen innehållande fipronil är spot-on lösningen Frontline vet.<sup>®</sup>. Förutom Frontline vet.<sup>®</sup>, finns det läkemedel med fipronil i kombination med andra aktiva substanser, samt i annan beredningsform som tuggtabletter (Young *et al.*, 2004; Bouhsira *et al.*, 2011). Exempel på dessa läkemedel är Broadline<sup>®</sup>, Effipro<sup>®</sup>, Frontect<sup>®</sup> och Fleatix vet.<sup>®</sup> (FASSvet, 2016).

#### **Frontline vet.<sup>®</sup>**

Frontline vet.<sup>®</sup> är ett receptbelagt läkemedel avsett för behandling och förebyggande av ektoparasiter som loppor, löss och fästingar på hund och katt (FASSvet, 2016). Läkemedlet är en 100 mg/mL spot-on lösning där effekt mot loppor och fästingar ses inom 24 respektive 48 h. Läkemedlet appliceras genom att pälsen delas mellan skulderbladen och innehållet i pipetten droppas på huden. Hundar med kroppsvikten 10–20 kg doseras med en pipett à 1.34 mL, vilket motsvarar 6.7–13.4 mg/kg. Katter doseras oavsett kroppsvikt med en pipett à 0.5 mL, vilket motsvarar 50 mg fipronil. Efter applicering sprider sig den aktiva substansen i pälsen för att sedan frisättas från hud och hårfolliklar (Gupta 2007). Förutsatt att djuret inte schamponeras håller effekten i 3–4 veckor (FASSvet, 2016).

#### **Terapeutisk effekt**

*Efficacy* ( $E_{max}$ ) beskriver hur intensiv en farmakologisk effekt är (Rang *et al.*, 2012).  $E_{max}$  för Frontline vet.<sup>®</sup> anger då hur intensiv effekt fipronil har på GABA-komplexet.  $E_{max}$  för Frontline vet.<sup>®</sup> är enligt flera studier minst 99% (Dryden *et al.*, 2000; Bonneau *et al.*, 2010; Kužner *et al.*, 2013).

I en studie där den terapeutiska effekten undersöktes utfördes tre försök, med en negativ kontrollgrupp och en behandlad grupp i respektive försök (Kužner *et al.*, 2013). Hundarna hade inte blivit behandlade med någon ektoparasitocid minst sex veckor innan studien, och dosering skedde enligt rekommendation.  $E_{max}$  var minst 99% i alla tre delförsöken eftersom de

behandlade grupperna hade <1 ektoparasit per individ i jämförelse med de negativa kontrollgrupperna som pendlade mellan 32–82 ektoparasiter per individ. Försöken visade också en varaktighet på minst 58 dagar.

Andra studier kontrollerade minskningen av ektoparasiter på både katt och hund efter behandling av Frontline vet.<sup>®</sup> (Dryden *et al.*, 2000; Bonneau *et al.*, 2010). En studie rapporterade en 98%-ig minskning av ektoparasiter i 90 dagar (Dryden *et al.*, 2000). Den andra studien hade en genomsnittlig minskning av ektoparasiter på 99% respektive 94% i två oberoende grupper med hundar (Bonneau *et al.*, 2010). Skyddet mot återkontaminering efter behandling hos hundarna var >90% i tre veckor.

## **Fipronilanvändning i jordbruk**

Fipronil används i jordbruket för att skydda grödor, träd och spannmål från angrepp av ektoparasiter (Jeschke *et al.*, 2011). Fipronil kan appliceras på olika sätt som besprutning, doppande av plantorna direkt i substansen, staminjektioner i träd eller uppblandning med bevattningen. Användningen av fipronil, ihop med liknande substanser, i utsäde och jord står för 60% av substansens totala nyttjande. Besprutningen sker främst i länder som Ryssland, Sydafrika och Australien.

När jordbruk besprutas med fipronil utsätts utöver ektoparasiterna även individer som inte är avsedda för substansen (EPA, 2007). De utsatta individerna påverkas eftersom de lever och intar föda i närheten av behandlade områden. De djurslag som anses utgöra de största riskgrupperna är fåglar, vattenlevande djur och bin.

## **Toxicitet**

Fipronil, och många av dess nedbrytningsprodukter, har en bioaktiv komponent och blir därför toxiska (Hainzl *et al.*, 1998). Toxiciteten är dosberoende, vilket är särskilt tydligt vid neurologiska och/eller gastrointestinala problem (Zhao *et al.*, 2003).

Att fipronil är giftigt i sig, har visats i en studie där fipronilomvandlingen till sulfon blockerades av den organiska föreningen peronylbutoxid i minst två timmar (Hainzl *et al.*, 1998). Trots blockaden uppstod CNS-förändringar eller död.

Metaboliten fipronilsulfon bildas från fipronil i biologiska system (Hainzl *et al.*, 1998). Metaboliten spelar en viktig roll då fipronilsulfon är mycket giftigt för sötvattensfiskar och vissa fågelarter som vaktlar.

Fipronildesulfinyl metaboliseras inte i däggdjur eftersom det är en fotokemisk produkt och är således ett mindre vanligt fynd hos vertebrater och invertebrater (Hainzl *et al.*, 1998). Fipronildesulfinyl är däremot mer toxiskt än fipronil och fipronilsulfon, då dess potens för kloridkanaler i nervsystemet är högre (Hainzl *et al.*, 1998; Gupta 2007).

Kring toxicitet kan begreppen *Lethal dose, 50% (LD<sub>50</sub>)* och *Lethal concentration, 50% (LC<sub>50</sub>)* användas (Gupta 2007). *LD<sub>50</sub>*, som används vid studier av däggdjur, är den dos som krävs för att döda 50% av populationen. *LC<sub>50</sub>*, som används vid analys av vatten eller luft, exempelvis då fipronil används i jordbruk, är den koncentration som krävs för att döda 50% av populationen.

En sammanställning över de mest relevanta värdena för den här litteraturstudiens  $LD_{50}$  (Tabell 1) och  $LC_{50}$  (Tabell 2) kan ses under rubriken ”Sammanställning av  $LD_{50}$  och  $LC_{50}$ ”. Inga könsskillnader kunde ses i de  $LD_{50}$  eller  $LC_{50}$ -värden som studerats (INCHEM, 1997).

Ett annat begrepp som är användbart inom toxikologi är *No Observed Adverse Effect Level*, *NOAEL*, det vill säga den högsta dosen som inte ger förgiftningseffekter hos en individ (Gupta, 2007).

### **Safety studier**

Toxicitet av fipronil uppvisar olika symptom och grad beroende på dos, art och tillförselsätt. Nedan redovisas de mest relevanta safety studierna för den här litteraturstudien.

#### *Safety studier - hund och katt*

Den största orsaken till förgiftning av fipronil på hund och katt sker då djur slickar på sig själva, eller andra djur som behandlats (Gupta 2007). Kliniska symptom har bara rapporterats vid överdosering. Exempel på dessa symptom är hyperexcitation av CNS med kramper, men även sällsynta fall av död har rapporterats. Fipronil kan också orsaka hudirritation med alopeci och/eller gastrointestinala problem med kräkning och diarré. Symptomen kan ses hos både hund och katt (Diaz, 2005; Kužner *et al.*, 2013). Studierna visade även på ett fåtal fall av konjunktivit hos hund.

#### *Safety studier - människa*

Få studier har undersökt huruvida fipronil ger kliniska symptom eller inte hos människor. Det finns inte heller några säkerställda värden på  $LD_{50}$  för fipronil. En studie rapporterade dock att hos två av sju patienter som bekräftats intagit fipronil, indikerades tecken på CNS-toxicitet (Mohamed *et al.*, 2004). Individerna visade tecken på yrsel, svaghet, anfall men också magsmärtor (Mohamed *et al.*, 2004; NPIC, 2009). Fipronilförgiftning hos människa sker oftast vid kontakt med behandlade djur, men också vid självmordsförsök eller annan avsiktlig orsak (Gupta 2007).

En studie visade att barn mellan 1–2 år utsätts för större mängd fipronil än vuxna då de har kontakt med behandlade husdjur (Cochran *et al.*, 2015). Detta beror ofta på ett större oralt intag, exempelvis på grund av att de stoppar händerna i munnen oftare än vuxna. De barn som var mellan 1–2 år hade en dermal absorberad dos på  $0.28 \mu\text{g}/\text{kg}$  ( $0.28 \cdot 10^{-3} \text{ mg}/\text{kg}$ ) per dag. Vuxna i studien hade en motsvarande dos på  $0.11 \mu\text{g}/\text{kg}$  ( $0.11 \cdot 10^{-3} \text{ mg}/\text{kg}$ ) per dag. Studien visade att barn mellan 1–2 år dessutom fick en oral absorberad dos på  $0.28 \mu\text{g}/\text{kg}$  ( $0.28 \cdot 10^{-3} \text{ mg}/\text{kg}$ ) per dag.

Vid undersökning om fipronil sprider sig via damm mätte författarna restprodukter på strumpor (Cochran *et al.*, 2015). Dessa strumpor hade testpersoner på sig 2 h/dag, i en vecka. Studierna visade efter en vecka ett genomsnitt av fipronil på  $46.8 \mu\text{g}/\text{par}$  strumpor, en halt som därefter minskade kraftigt. När fipronilhalten räknades om till partikelkoncentration i luften, var samtliga prov under den mätbara gränsen på  $0.0037 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , det vill säga  $0.37 \cdot 10^{-5} \mu\text{g}/\text{L}$ .

#### *Safety studier - råttor*

Studier på råttor har rapporterat att orala intag av fipronil leder till störningar i sköldkörteln (Hurley *et al.*, 1998; Mohamed *et al.*, 2004; Leghait *et al.*, 2009). Fipronil ger cellhypertrofi,



hyperplasi och ökad vikt av sköldkörteln. Sköldkörteltumörer kan också uppkomma, dock utan mutagenicitet. Författarnas resultat i de tre nämnda studierna visar att sköldkörteltumörer uppkommer ur de hormonstörningar som fipronil ger upphov till. Fipronil ger en minskning av thyroideahormon, T4, och en ökning av thyroideastimulerande hormon, TSH, hos råttor (Hurley *et al.*, 1998; Leghait *et al.*, 2009). Förändringarna kan ses hos båda könen från doser på 17 mg/kg (Leghait *et al.*, 2009).

Risken för minskade nivåer av T4 och tumörbildning hos människor i närvaro av fipronil är fortfarande dåligt klarlagt. Emellertid tyder studien av Leghait *et al.* (2009) på att det finns metabola artskillnader mellan råttor och människor som gör det mindre troligt hos människor. Enligt Leghait *et al.* (2009) orsakas störningen i sköldkörteln främst av metaboliten fipronilsulfon. Mänsklig exponering av fipronil, visade efter 24 h en kvot på 0.25–0.5 mellan fipronilsulfon/fipronil-plasmakoncentrationer (Mohamed *et al.*, 2004). I studien av Leghait *et al.* (2010) var denna kvot över 20 hos råttor efter 14 dagars exponering. Bildandet av fipronilsulfonen var sammantaget fyra gånger större i råttor än hos människor (Tang *et al.*, 2004). Inte heller i får, som har en mer artlik metabolism med människor jämfört med råttor, kunde några signifikanta negativa effekter på sköldkörteln rapporteras efter oralt intag av fipronil (Leghait *et al.*, 2010).

Det finns även studier som gjorts med avseende på dermal toxicitet hos råttor (Gupta 2007). En studie indikerar på att dermal absorption av fipronil hos råttor är mindre än 1% av den applicerade substansen efter 24 h. Det dermala  $LD_{50}$ -värdet för råttor är 2000 mg/kg (Tabell 1) (INCHEM, 1997; Gupta 2007).

#### *Safety studier - kanin*

Frontline vet.<sup>®</sup> är inte avsett att användas på kanin, dock är biverkningar och dödsfall så vanligt förekommande att ämnet är värt att beröras (FASSvet, 2016). Kanin har ett dermalt  $LD_{50}$ -värde på 354 mg/kg (Tabell 1) vilket utgör knappt 18% av råttors dermala  $LD_{50}$ -värde på 2000 mg/kg (Gupta 2007).

#### *Safety studier - bin*

Fipronil i jordbruket har orsakat stora negativa effekter hos bin och deras kolonier (Zaluski *et al.*, 2015). I en studie där bin utsattes för nio olika pesticiders rekommenderade dos på grödor, visade sig fipronil vara den substansen som minskade det naturliga beteende hos bin mest (Decourtye *et al.*, 2005). Förutom beteendeförändringar ökade också dödligheten elva dagar efter intag, vilket tyder på kronisk påverkan. Studien visade ett  $NOAEL$ -värde på 0.07 ng/bi, men också en lägsta dödlig dos hos bin på 0.1 ng/bi.

I en annan studie utvärderade toxiciteten av fipronil *in vitro* där bin utsattes för letala eller subletala doser (Zaluski *et al.*, 2015). Även denna studie kom fram till beteendeförändringar, men också störningar i reproduktion och bevarande av deras kolonier. Studien visade att efter sextio dagar hade hela kolonin lämnat boet vid närvaro av fipronil. Studien jämförde sina resultat med siffror ifrån EFSA (2013) och visade att grödor som behandlats med godkända doser fipronil kunde ha resthalter uppemot 6.4 ng/g, vilket motsvarar cirka 0.64 ng/bi.

Användandet av fipronil i jordbruk är numera förbjudet i Europa på grund av dess höga toxicitet och skadlighet på bin (PAN Europe, 2013).

#### *Safety studier - vattenlevande djur*

Vattenlevande djur har rapporterats vara känsliga för fipronil (Gupta 2007). I vattenlevande djur metaboliseras fipronil till fipronilsulfon i högre grad än i däggdjur. Fipronilsulfon har högre toxicitet än den ursprungliga produkten, vilket författaren pekar på är orsaken till överkänsligheten. Individer som intagit toxiska nivåer av substansen sågs ha minskad reproduktionstakt, minskat antal födda individer och ökat dödstal (Stark & Vargas, 2005).

En studie av insjövattenmiljöer undersökte åtta olika vattendrag (Wu *et al.*, 2015). Fipronil upptäcktes på fyra av åtta platser, med koncentrationer i spannet  $0.5 \cdot 10^{-3}$ – $0.2073 \mu\text{g/L}$ . Fipronilsulfon upptäcktes på tre av åtta ställen, med koncentrationer i spannet  $0.46 \cdot 10^{-3}$ – $57.75 \cdot 10^{-3} \mu\text{g/L}$ . Författarna antydde att de vattenmiljöer som innehåller mest fipronil och dess metaboliter är de dammar som ligger i närheten av landskap som besprutas med substansen. Studien visade också att akvatiska larver var den känsligaste individen.

#### *Safety studier - fåglar*

Vissa fågelarter som lever nära inpå vattendrag, som vaktlar (*Colinus virginianus*), fasaner (*Phasianus colchicus*) och rödhönor (*Alectoris rufa*), har rapporterats få försämrat naturligt beteende i närvaro av fipronil (Kitulagodage *et al.*, 2011). De negativa effekter som rapporterats är minskat födosök och följaktligen kraftiga viktnedgångar. I samklang med djur i vattendrag, är fipronilsulfon föreningen med högst toxicitet för fåglar (Gupta, 2007). Vaktlar är dock mer känsliga för fipronildesulfinyl, vars  $LD_{50}$ -värde är 5 mg/kg (Tabell 1) (EPA, 2007). Vaktlars, rödhönors och fasaners  $LD_{50}$ -värde för fipronil är 11.3 mg/kg, 34 mg/kg respektive 31 mg/kg (Tabell 1) (Kitulagodage *et al.*, 2011).

Det har även gjorts en studie som visar att fipronilsulfonen har en viss negativ effekt på vaktlars reproduktion, med ett  $NOEL$ -värde på 10 mg/kg (EPA, 2007).

### Sammanställning av LD<sub>50</sub> och LC<sub>50</sub>

Nedan listas LD<sub>50</sub>- respektive LC<sub>50</sub>-värden för olika djurslag som har varit av relevans för den här litteraturstudien, samt olika exponeringsvägar (Tabell 1 och 2).

Tabell 1, LD<sub>50</sub> för olika djur vid olika intag av fipronil

	Fipronil, LD <sub>50</sub> , mg/kg, Oral	Fipronil-sulfon, LD <sub>50</sub> , mg/kg, Oral	Fipronil-desulfinyl, LD <sub>50</sub> , mg/kg, Oral	Fipronil, LD <sub>50</sub> , mg/kg, Dermal	Fipronil, LD <sub>50</sub> , mg/L, Respiration	Fipronil, LD <sub>50</sub> , ng/bi, Oral
Råtta	97 <sup>1,2</sup>	218 <sup>1</sup>	161 <sup>1,2</sup>	2000 <sup>2,3</sup>	0.36 <sup>2</sup>	-
Kanin	-	-	-	354 <sup>2</sup>	-	-
Bin	-	-	-	-	-	5 <sup>4</sup>
Vaktel	11.3 <sup>1,5</sup>	19.7 <sup>1</sup>	5 <sup>1</sup>	-	-	-
Rödhöna	34 <sup>5</sup>	-	-	-	-	-
Fasan	31 <sup>5</sup>	-	-	-	-	-

<sup>1</sup>EPA, 2007. <sup>2</sup>INCHEM, 1997. <sup>3</sup>Gupta, 2007. <sup>4</sup>Mullin *et al.*, 2010. <sup>5</sup>Kitulagodage *et al.*, 2011.

Tabell 2, LC<sub>50</sub> för olika vattenlevande djur som intar föda som är i närvaro av fipronil

	Fipronil, LC <sub>50</sub> , µg/L, Akut	Fipronilsulfon, LC <sub>50</sub> , µg/L, Akut	Fipronildesulfinyl, LC <sub>50</sub> , µg/L, Akut
Sötvattensfisk	83 <sup>1</sup>	25 <sup>1</sup>	20 <sup>1</sup>
Flodmynningsfisk	130 <sup>1</sup>	21 <sup>1</sup>	31 <sup>1</sup>
Sötvatteninvertebrater	0.22 <sup>1</sup>	0.72 <sup>1</sup>	200 <sup>1</sup>
Flodmynningsinvertebrater	0.14 <sup>1</sup>	0.56 <sup>1</sup>	1.5 <sup>1</sup>
Akvatiska larver	0.008 <sup>2</sup>	-	-

<sup>1</sup>EPA, 2007. <sup>2</sup>Weston & Lydy, 2014.

## DISKUSSION

Vid undersökning av fipronils negativa effekter på djur och människor kan oral, dermal och respiratorisk toxicitet, samt carcigenocitet diskuteras. De olika resultaten jämförs för att se om det föreligger en risk med användandet av fipronil på behandlade djur eller individer som indirekt exponeras av fipronil via miljön.

### Oral toxicitet

Få orala toxicitetsstudier har gjorts på människor. Barn anses dock vara den mest utsatta gruppen (Cochran *et al.*, 2015). Eftersom det inte finns några  $LD_{50}$ -värden på människa, kan jämförelser enbart göras med andra arter. En oralt absorberad dos hos barn mellan 1–2 år på  $0.28 \cdot 10^{-3}$  mg/kg (Cochran *et al.*, 2015) kan jämföras med råttors  $LD_{50}$ -värde av fipronilsulfon på 218 mg/kg (EPA, 2007). Den metabola artskillnaden mellan människor och råttor, där en studie visat på fyra gånger högre metabolism av fipronil till fipronilsulfon hos råttor, tillsammans med exponeringsskillnaden ( $0.28 \cdot 10^{-3}$  mg/kg mot 218 mg/kg), innebär sannolikt låg oral toxicitet hos människor (Mohamed *et al.*, 2004; Tang *et al.*, 2004; Leghait, 2010).

Neurologiska och gastrointestinala störningar har observerats vid höga orala doser hos hund, det saknas dock siffror på hur hög överdoseringen varit (Gupta 2007). Vid oralt intag av en klinisk dos fipronil (134 mg), är det maximala intaget fipronil 13.4 mg/kg (FASSvet, 2016). Denna dos är mer än sju gånger mindre än råttors orala  $LD_{50}$ -värde (97 mg/kg) (EPA, 2007; INCHEM, 1997). Trots ofullständiga  $LD_{50}$ -värden hos hund anses risken för att orala toxiska halter ska intas som låg. Detta gäller under förutsättning att dosering av Frontline vet.<sup>®</sup> sker korrekt.

Trots låg sannolikhet för oral toxicitet hos människor och hund, kvarstår en risk vid onormalt höga intag av fipronil (Zhao *et al.*, 2003). Detta då substansen är dosberonde. En studie stärker misstanken eftersom resultat visat tecken på CNS-toxicitet vid självmordsförsök (Gupta 2007). Olika individens mottaglighet för substansen och förekomst av systemiska sjukdomar, möjligen leverskador, kan också spela en viktig roll.

Vid studier av den orala toxiciteten hos bin, har resultat visat att bin får beteendestörningar vid intag av fipronil (Mullin *et al.*, 2010). Trots  $LD_{50}$ -värden på 5 ng/bi rapporterades *NOAEL*-värden så låga som 0.07 ng/bi, mer än 80 gånger mindre än  $LD_{50}$ . Det sågs också en lägsta dödlig dos hos bin på 0.1 ng/bi, mer än sextio gånger mindre än  $LD_{50}$  (Decourtye *et al.*, 2005). Zaluski *et al.* (2015) jämför sina resultat med siffror från EFSA och pekar på att grödor som besprutats med godkända mängder fipronil kan ge resthalter så höga som 0.64 ng/bi (EFSA, 2013). Detta betyder att godkända användningsnivåer av fipronil utsätter bin för subletala doser i grödor där de letar föda.

Användandet av fipronil i grödor är numera förbjudet i Europa på grund av dess höga toxicitet och dödligheten hos bin (PAN Europe, 2013). Då bin redan är hotade och viktiga för ekosystemet borde användningen av fipronil ses över i resten av världen.

De vattendrag där fipronil och dess metaboliter har störst negativ påverkan ligger i anslutning till jordbruk och städer som besprutas med substansen (Weston & Lydy, 2014; Wu *et al.*, 2015).

Främst drabbas dammar som blir kontaminerade av misstag vid besprutning. I dammar kunde fipronil- och fipronilsulfonvärden uppmätas i spannet  $0.5 \cdot 10^{-3}$ – $0.2073 \mu\text{g/L}$  respektive  $0.46 \cdot 10^{-3}$ – $57.75 \cdot 10^{-3} \mu\text{g/L}$  (Wu *et al.*, 2015). Dessa värden kan jämföras med olika vattenlevande djurs  $LC_{50}$ -värden (Tabell 2), vilket visar på en hög oral toxicitet hos flera vattenlevande djur. Akvatiska larver är den känsligaste gruppen och har så låga  $LC_{50}$ -värden som  $0.008 \mu\text{g/L}$ .

Det finns också fåglar som lever och intar sin föda i närheten av fipronilkontaminerade vattendrag (Kitulagodage *et al.*, 2011). Vaktlar, fasaner och rödhonor är exempel på känsliga arter. Vaktlar är den känsligaste gruppen och har ett  $LD_{50}$ -värde på  $11.3 \text{ mg/kg}$ . Detta värde är mer än åtta gånger mindre än hos råttor ( $97 \text{ mg/kg}$ ) (INCHEM, 1997; EPA, 2007; (Kitulagodage *et al.*, 2011). Fipronilsulfon är mindre toxisk för vakteln, men har istället antytts ge reproduktionsstörningar (Kitulagodage *et al.*, 2011). De låga  $LD_{50}$ -värdena samt störningarna i reproduktionen gör att fipronil antas ha hög toxicitet för nämnda fågelarter.

### Dermal toxicitet

Vid behandling med Frontline vet.<sup>®</sup> utsätts en hund för en maximal dermal dos på  $13.4 \text{ mg/kg}$  (FASSvet, 2016). Eftersom dermal absorption av fipronil hos däggdjur är mindre än 1% efter 24 h, blir den absorberade dosen  $0.134 \text{ mg/kg}$ . Detta under förutsättning att djuret behandlats med rekommenderad dos (Gupta 2007). Dermal absorbering anses ha låg toxicitet och kan styrkas genom jämförande med andra däggdjurs dermala  $LD_{50}$ -värden. Ett exempel är råttor som har ett dermalt  $LD_{50}$ -värde av fipronil på  $2000 \text{ mg/kg}$ , samt ett absorberat  $LD_{50}$ -värde av fipronil på  $218 \text{ mg/kg}$  (INCHEM, 1997; Gupta 2007; EPA, 2007). Dosen hundar utsätts för är  $0.67\%$  respektive  $0.06\%$  av den dödliga dosen på råttor.

Barn, som är den känsligaste gruppen bland människor, kan enligt studier ha ett dermalt intag av fipronil på  $0.28 \mu\text{g/kg}$  vid kontakt med behandlade djur (Cochran *et al.*, 2015). Denna halt är så låg som  $0.000014\%$  av den dödliga dosen hos råttor ( $2000 \text{ mg/kg}$ ) (INCHEM, 1997; Gupta 2007). Dermal toxicitet hos hund, katt och människor antas vara låg och de enda kliniska tecknen som rapporterats är hudirritation med alopeci på hund och katt (Gupta, 2007).

Flertalet dödsfall har rapporterats vid användandet av fipronil på kanin (FASSvet, 2016). Kaniners dermala  $LD_{50}$ -värde på  $354 \text{ mg/kg}$  kan jämföras med råttors ( $2000 \text{ mg/kg}$ ) (INCHEM, 1997; Gupta, 2007). Detta tyder på att kaniner är fem gånger mer känsliga för dermal påverkan jämfört med råttor. Det är dock fram till tidpunkten för publiceringen av denna litteraturstudie ännu inte klarlagt vad som orsakar den höga dödligheten hos kaniner.

Trots att studier tyder på låg risk för dermal toxicitet hos hundar, katter och människor, kvarstår en risk vad gäller fipronils metaboliter. Denna toxicitet är svår att avgöra då det är osäkert hur mycket av den ursprungliga föreningen som bryts ned när den appliceras på hud. En viktig reflektion är att individens levnadsförhållanden kan variera. Exempelvis leder basiskt pH (vanligt i insjöar med mycket mineralämnen) och ökad temperatur till ökad hydrolys av fipronil. En större mängd solljus ökar också produktionen av fipronildesulfinyl (Ramesh & Balasubramanian, 1999). De inte helt klarlagda metabola faktorerna i korrelation med uppenbara artskillnader (exempelvis råttor och kanin) gör att fler studier krävs för att kunna fastställa

hur fipronil absorberas, distribueras och metaboliseras hos olika individer. En annan utmaning med dermal toxicitet är att det är svårt att avgöra hur mycket fysisk kontakt individer har med djur som behandlats med fipronil.

### **Toxicitet efter administrering via luftvägar**

En studie undersökte om fipronil var toxiskt vid administrering via luftvägarna (Cochran *et al.*, 2015). Uppmätt nivå i luften nådde dock inte upp till den mätbara gränsen på  $0.37 \cdot 10^{-8}$  mg/L. Eftersom råttors  $LD_{50}$ -värde för inandning av fipronil är 0.36 mg/L kan risken för respirationstoxicitet antas vara låg hos både människor och djur (INCHEM, 1997).

Fipronil förångas inte från jord eller vatten till luft (NPIC, 2009). Risken för respirations-toxicitet av fipronil vid jordbruk antas därför också som låg, trots att det kan finnas stora mängder fipronil inom en begränsad area.

### **Carcinogenicitet**

Vid oralt intag av fipronil kan sköldkörtelförändringar ses hos råttor (Hurley *et al.*, 1998; Mohamed *et al.*, 2004; Leghait *et al.*, 2009). Tumörer kan ses redan vid 17 mg/kg, en sjättedel av det orala  $LD_{50}$ -värdet för fipronil hos råttor (97 mg/kg) (INCHEM, 1997; Gupta, 2007; Leghait *et al.*, 2009). Sköldkörtelcarcinogenicitet har inte rapporterats hos människor och inte heller hos exempelvis får, vilka är mer metaboliskt artlika människor än råttor (Leghait *et al.*, 2010).

Trots låg sannolikhet för carcinogenicitet hos människor vid fipronilpåverkan önskas fler studier som undersöker fipronils verkan på den mänskliga sköldkörteln. Organet och dess hormoner reglerar viktiga biologiska processer i kroppen och EPA klassar därför fipronil som ”möjlig cancerframkallande på människa” (2007). Ytterligare forskning borde därför göras inom området.

## Sammanställning av toxicitet

Nedan ses en sammanställande tabell över de kliniska tecken fipronil ger vid oralt intag och dermal påverkan hos de olika djurslag som berörts i denna litteraturstudie (Tabell 3).

Tabell 3, Sammanställande tabell över de kliniska tecken fipronil ger vid oralt intag och dermal påverkan hos olika djurslag

	CNS-störning/ Beteendeförändring	Störning i reproduktion	Irritation i dermis, alopeci	Konjunktivit	Gastro-intestinala störningar	Sköldkörtel- cancer	Toxicitet
Människa	X						Låg
Råtta		X				X	Låg
Kanin	X						Hög
Vaktlar	X	X					Hög
Rödhöna	X						Medium
Fasan	X						Medium
Vattenlevande djur		X					Hög
Bin		X					Hög
Hund	X		X	X	X		Låg
Katt	X		X		X		Låg

## Felkällor och framtida utmaningar

Samtliga *in vivo* studier är gjorda på unga, friska djur eller *in vitro* med hud från friska djur. För att fastställa fipronils negativa effekter behövs kompletterande studier på individer med systemiska sjukdomar, exempelvis sänkt leverfunktion, eller på individer som lever under förhållanden där risken för toxicitet ökar (platser med mer solljus, förhöjd temperatur eller insjöar med mycket mineralämnen som ger pH>7).

Få studier har belyst effekten av fipronil på människor eller substansens långtidseffekter i organismer. Eftersom fipronil ansamlas i fettvävnad kan en framtida utmaning vara att undersöka hur mycket av substansen som bioackumuleras och vilka kroniska skador substansen eventuellt kan ge upphov till (Hainzl & Casida, 1996). I all synnerhet då dosering av exempelvis Frontline vet.<sup>®</sup> sker en gång per månad, årsvis.

## Slutsatser

Den här litteraturstudien har undersökt vilka risker som finns för individer som behandlats med fipronil alternativt lever och intar föda i behandlade områden.

Litteraturstudien visade att människor, hund och katt har låg oral och dermal toxicitet av fipronil. Detta förutsätter att djuren är friska och doseringen av Frontline vet.<sup>®</sup> sker enligt rekommendation. Litteraturstudien visade också att bin, vattenlevande djur och vissa arter av fåglar (främst vaktlar) har en hög oral och dermal toxicitet av fipronil när substansen används i jordbruket. Detta har visats ge beteendestörningar, reproduktionssvårigheter och död.

## LITTERATURFÖRTECKNING

- Aajoud, A., Ravanel, P., Tissut, M. (2003). Fipronil metabolism and dissipation in a simplified aquatic ecosystem. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(5): 1347–1352.
- Bonneau, S., Gupta, S., Cadiergues, M. C. (2010). Comparative efficacy of two fipronil spot-on formulations against experimental tick infestations (*Ixodes ricinus*) in dogs. *Parasitology Research*, 107(3): 735–739.
- Bouhsira, E., Yoon, S. S., Roques, M., Manavella, C., Vermot, S., Cramer, L. G., Ollagnier, C., Franc, M. (2011). Efficacy of fipronil, amitraz and (S)-methoprene combination spot-on for dogs against adult dog fleas (*Ctenocephalides canis*, Curtis, 1826). *Veterinary Parasitology*, 179(4): 351–353.
- Chagnon, M., Kreutzweiser, D., Mitchell, E. A., Morrissey, C. A., Noome, D. A., Van der Sluijs, J. P. (2015). Risks of large-scale use of systemic insecticides to ecosystem functioning and services. *Environmental Science and Pollution Research International*, 22(1): 119–134.
- Cochran, R. C., Yu, L., Krieger, R. I., Ross, J. H. (2015). Postapplication fipronil exposure following use on pets. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 78(19): 1217–1226.
- Decourtye, A., Devillers, J., Genecque, E., Le Menach, K., Budzinski, H., Cluzeau, S., Pham-Delègue, M. H. (2005). Comparative sublethal toxicity of nine pesticides on olfactory learning Performances of the Honeybee *Apis mellifera*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 48(2): 242–250.
- Diaz, S. L. (2005). Efficacy of fipronil in the treatment of pediculosis in laboratory rats. *Lab Animal*, 39(3): 331–335.
- Dryden, M. W., Denenberg, T. M., Bunch, S. (2000). Control of fleas on naturally infested dogs and cats and in private residences with topical spot applications of fipronil or imidacloprid. *Veterinary Parasitology*, 93(1): 69–75.
- Dryden, M. W., Payne, P. A. (2004). Biology and control of ticks infesting dogs and cats in North America. *Veterinary Therapeutics Journal* 26, 2–16.
- EFSA (2013). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment for bees for the active substance fipronil. *EFSA Journal*, 11(5).
- EPA (2007-04-18). *Fipronil Environmental Fate and Ecological Effects Assessment and Characterization for Section 18 Registration of In-Furrow Applications to Rutabaga and Turnips*. [https://www3.epa.gov/pesticides/chem\\_search/cleared\\_reviews/csr\\_PC-129121\\_18-Apr-07\\_a.pdf](https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/cleared_reviews/csr_PC-129121_18-Apr-07_a.pdf) [2017-03-11].
- Gupta, R. (2007). *Veterinary toxicology*. 1. Uppl. New York: Elsevier Churchill Livingstone, 502-504.
- Hainzl, D., Casida, J. E. (1996). Fipronil insecticide: novel photochemical desulfinylation with retention of neurotoxicity. *Proceedings of the National Academy Sciences USA*, 93(23): 12764–12767.
- Hainzl, D., Cole, L. M., Casida, J. E. (1998). Mechanisms for selective toxicity of fipronil insecticide and its sulfone metabolite and desulfanyl photoproduct. *Chemical Research in Toxicology*, 11(12): 1529–1535.
- Hurley, P. M. (1998). Mode of carcinogenic action of pesticides inducing thyroid follicular cell tumors in rodents. *Environmental Health Perspectives*, 106(8): 437.
- INCHEM (1997-10-01). *Pesticide residues in food*. <http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v097pr09.htm> [2017-03-10].



- Jeschke, P., Nauen, R., Schindler, M., Elbert, A. (2011). Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(7): 2897–2908.
- Kitulagodage, M., Isanhart, J., Buttemer, W. A., Hooper, M. J., Astheimer, L. B. (2011). Fipronil toxicity in northern bobwhite quail *Colinus virginianus*: reduced feeding behaviour and sulfone metabolite formation. *Chemosphere*, 83(4): 524–530.
- Kužner, J., Turk, S., Grace, S., Soni-Gupta, J., Fourie, J. J., Marchiondo, A. A., Rugg, D. (2013). Confirmation of the efficacy of a novel fipronil spot-on for the treatment and control of fleas, ticks and chewing lice on dogs. *Veterinary Parasitology*, 193(1–3): 245–251.
- Leghait, J., Gayraud, V., Picard-Hagen, N., Camp, M., Perdu, E., Toutain, P. L., Viguié, C. (2009). Fipronil-induced disruption of thyroid function in rats is mediated by increased total and free thyroxine clearances concomitantly to increased activity of hepatic enzymes. *Toxicology*, 255(1–2): 38–44.
- Leghait, J., Gayraud, V., Toutain, P. L., Picard-Hagen, N., Viguié, C. (2010). Is the mechanisms of fipronil-induced thyroid disruption specific of the rat: Re-evaluation of fipronil thyroid toxicity in sheep? *Toxicology Letters*, 194(3): 51–57.
- LIF. (2016-11-23). *FASS Djurläkemedel: Frontline vet.*<sup>®</sup>.  
<http://www.fass.se/LIF/product?userType=1&nplId=19970630000016> [2017-02-28]
- Mohamed, F., Senarathna, L., Percy, A., Abeyewardene, M., Eaglesham, G., Cheng, R., Azher, S., Hittarage, A., Dissanayake, W., Sheriff, M. H., Davies W., Buckley N. A., Eddleston M. (2004). Acute human self-poisoning with the *N*-phenylpyrazole insecticide fipronil--a GABA<sub>A</sub>-gated chloride channel blocker. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 42(7): 955–963.
- Mullin, C. A., Frazier, M., Frazier, J. L., Ashcraft, S., Simonds, R., vanEngelsdorp, D., Pettis, J. S. (2010). High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: Implications for honey bee health. *PLoS ONE*, 5(3).
- Narahashi, T., Zhao, X., Ikeda, T., Salgado, V. L., Yeh, J. Z. (2010). Glutamate-activated chloride channels: Unique fipronil targets present in insects but not in mammals. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 97(2): 149–152.
- Needham, G. R., Teel, P. D. (1991). Off-host physiological ecology of ixodid ticks. *Annual Review of Entomology*, 36(1): 659–681.
- NPIC (2009-03-16). Fipronil. <http://npic.orst.edu/ingred/fipronil.html> [2017-03-10].
- Ogden, N. H., Cripps, P., Davison, C. C., Owen, G., Parry, J. M., Timms, B. J., Forbes, A. B. (2000). The ixodid tick species attaching to domestic dogs and cats in Great Britain and Ireland. *Medical and Veterinary Entomology*, 14(3), pp 332–338.
- PAN Europe (2013-10-97). Fipronil: European ban on bee-killing insecticides goes on.  
<http://www.env-health.org/news/members-news/article/pan-europe-fipronil-european-ban> [2017-02-28].
- Ramesh, A., Balasubramanian, M. (1999). Kinetics and hydrolysis of fenamiphos, fipronil, and trifluralin in aqueous buffer solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(8): 3367–3371.
- Rang H. P., Dale M. M., Ritter J. M., Flower R. J., Henderson G. (2012). *Pharmacology*. 7 Uppl. New York: Elsevier Churchill Livingstone, 456-459.
- Stark, J. D., Vargas, R. I. (2005). Toxicity and hazard assessment of fipronil to *Daphnia pulex*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 62(1): 11–16.

- Tang, J., Amin Usmani, K., Hodgson, E., Rose, R. L. (2004). In vitro metabolism of fipronil by human and rat cytochrome P450 and its interactions with testosterone and diazepam. *Chemico-Biological Interactions*, 147(3): 319–329.
- Taylor M. A., Coop R. L., Wall R. L. (2007). *Veterinary Parasitology*. 3. Uppl. Navarra: Blackwell Publishing Ltd, 1049-1085.
- Weston, D. P., Lydy, M. J. (2014). Toxicity of the insecticide fipronil and its degradates to benthic macroinvertebrates of urban streams. *Environmental Science and Technology*, 48(2): 1290–1297.
- Wu, J., Lu, J., Lu, H., Lin, Y., Wilson, P. C. (2015). Occurrence and ecological risks from fipronil in aquatic environments located within residential landscapes. *Science of the Total Environment*, 518–519: 139–147.
- Young, D. R., Jeannin, P. C., Boeckh, A. (2004). Efficacy of fipronil/(S)-methoprene combination spot-on for dogs against shed eggs, emerging and existing adult cat fleas (*Ctenocephalides felis*, Bouché). *Veterinary Parasitology*, 125(3–4): 397–407.
- Zaluski, R., Kadri, S. M., Alonso, D. P., Martins Ribolla, P. E., de Oliveira Orsi, R. (2015). Fipronil promotes motor and behavioral changes in honey bees (*Apis mellifera*) and affects the development of colonies exposed to sublethal doses: Fipronil toxicity at lethal and sublethal doses in honey bees. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 34(5): 1062–1069.
- Zhao, X., Salgado, V. L., Yeh, J. Z., Narahashi, T., (2003). Differential actions of fipronil and dieldrin insecticides on GABA-gated chloride channels in cockroach neurons. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 306(3): 914–924.