

На правах рукописи

ОЛЕХНОВИЧ Евгений Иванович

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ РАЗРАБОТКИ СРЕДСТВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ И
НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ ПСОРОПТОЗА КРОЛИКОВ**

Специальность:

03.02.11 – паразитология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Москва 2015

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «**Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина**», Федеральном бюджетном учреждении науки «**Научно-исследовательском институте дезинфектологии**» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителя и благополучия человека

Научный руководитель: доктор биологических наук,
профессор
Рославцева Светлана Александровна

Официальные оппоненты: доктор биологических наук,
Удавлив Дамир Исмаилович
ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет пищевых производств», профессор кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы и биологической безопасности

доктор биологических наук
Богданова Елена Николаевна,
ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, профессор кафедры дезинфектологии

Ведущая организация: ГНУ Прикаспийский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт (ГНУ Прикасп ЗНИВИ Россельхозакадемии)

Защита состоится «__» _____ 2015 г. в «__» часов на заседании диссертационного совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Д 0006.011.01, созданного на базе ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений имени К.И. Скрябина»

Адрес: 117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, д. 28

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБНУ «ВНИИП им. К.И. Скрябина» и на сайте <http://www.vniigis.ru>

Автореферат разослан «__» _____ 2015 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета по защите диссертаций
на соискание ученой степени кандидата наук, на
соискание ученой степени доктора наук,
д.б.н., профессор

Бережко Вера Кузьминична

Актуальность проблемы.

В реализации программы продовольственной безопасности требуется обеспечение в доле не менее 85% внутреннего рынка собственной мясной продукцией. Это невозможно без развития отечественного Агропромышленного комплекса. Кролиководство – перспективная отрасль животноводства, продукция которой высоко ценится на отечественном рынке. Высокая рентабельность обусловлена физиологическими и биологическими особенностями животных. Для сохранения перспектив развития отрасли требуется здоровое и высокопродуктивное поголовье, однако паразитарные болезни наносят серьезный ущерб. Одним из экономически значимых инвазионных заболеваний является псороптоз, возбудителем которого является облигатный паразит - клещ *Psoroptes cuniculi* Delafond, 1859.

На отечественном рынке ветеринарных препаратов в настоящее время отсутствуют безопасные средства для лечения псороптоза кроликов, которые были бы просты в применении и действовали на все стадии развития паразита. Наряду с этим, рекомендуемые декарнизационные мероприятия на кроликофермах для борьбы с псороптозом не носят комплексный характер.

Цель и задачи исследования. Разработать препарат для лечения псороптоза кроликов, действующий на все стадии развития возбудителя, и предложить системный подход для борьбы с переносчиками данного заболевания.

Задачи исследования:

1. Изучить рынок современных акарицидных средств и дать оценку активности наиболее перспективных групп действующих веществ.
2. Разработать рецептуру средства для лечения псороптоза кроликов, обосновать композиционный состав, определить терапевтическую эффективность наиболее оптимальной рецептуры *in vitro* и *in vivo*.
3. Показать возможность механического переноса возбудителя псороптоза кроликов синантропными тараканами и разработать инсектицидное средство для их уничтожения.
4. Предложить систему дезинсекционных мероприятий для защиты кроликов от псороптоза.

Область исследования

Работа выполнена в соответствии с п. 9 Паспорта специальности 03.02.11 – Паразитология (биологические науки).

Практическое значение

Разработано акарицидное средство «Псороптоцид» для лечения псороптоза кроликов и пакет документов, необходимых для его государственной регистрации.

Совместно с ООО НПО «Экобиовет» изучена и выпущена опытная партия инсектицидного средства «ВЭИС приманки от тараканов». Материалы исследований включены в комплект нормативно-технической документации и получено свидетельство госрегистрации № RU.77.99.88.002.E.007964.09.14 от 17.09.2014.

Предложена система дезинсекционных мероприятий, предотвращающих формирование резистентных к инсектоакарицидам популяций клещей *P. cuniculi* и их потенциальных переносчиков.

Наиболее существенные результаты, составляющие **научную новизну** и выносимые на защиту:

1. Диагностические показатели акарицидности пиретроидов и авермектинов для клещей *Psoroptes cuniculi*.

2. Рецептура и результаты оценки терапевтической эффективности разработанного средства «Псороптоцид» для лечения псороптоза кроликов.

3. Показатели инсектицидности авермектина В_{1а} гемисукцината и средства для уничтожения потенциальных переносчиков псороптоза кроликов на его основе.

4. Система дезинсекционных мероприятий для предотвращения развития резистентности к инсектоакарицидам в популяциях паразитов и их переносчиков.

Личный вклад аспиранта состоит в общей постановке задачи, выборе методов и направлении исследований, постановке экспериментов, обработке и интерпретации экспериментальных данных. Аспирантом выполнены все исследования в лабораторных и производственных условиях, изготовлены опытные образцы средств, подготовлены публикации по результатам исследования.

Апробация работы

Материалы диссертации доложены на VI Всероссийском Конгрессе по инфекционным болезням (Москва, 2014 г.), на международной конференции «Фундаментальные и прикладные аспекты изучения паразитических членистоногих в XXI веке» памяти чл.-корр. РАН Ю.С. Балашова (Санкт-Петербург, 2013), конференции молодых ученых и специалистов «Актуальные вопросы ветеринарии и ветеринарной биологии», МГАВМиБ им. К.И. Скрябина (Москва, 2013), форуме «Агроферма 2014», Ключевые аспекты отечественного кролиководства (Москва, 2014).

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы (глава 1), описания материалов и методов исследования (глава 2), результатов собственных экспериментов и их обсуждения (3-7 главы), выводов и приложения. Работа иллюстрирована 31 таблицей, 21 ри-

сунком. Библиографический указатель включает 239 источников (45 отечественных и 194 иностранных авторов).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 9 печатных работ в рецензируемых журналах из списка ВАК («Агрохимия», «Ветеринария», «Ветеринария и кормление», «Ветеринарная медицина», «Инфекционные болезни», «Пест-Менеджмент»).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Введение. Обоснована актуальность темы, поставлены цель и задачи исследования.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Приведены краткие сведения по биологии возбудителя, а также по эпизоотологии псороптоза кроликов. Представлены литературные данные по средствам химиотерапии псороптоза.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В экспериментах использовали лабораторную культуру клеща *P. cuniculi*, содержащуюся в инсектарии ФБУН НИИДезинфектологии Роспотребнадзора на основном хозяине - домашнем кролике *Oryctolagus cuniculus* L. породы «Советская шиншилла». Исходный материал для закладки культуры клещей получен с пораженного этими клещами животного, приобретенного у частного лица. Также в лабораторных экспериментах использовали комнатных мух *Musca domestica* L. чувствительной расы Соорег, самцов чувствительной инсектарной культуры рыжих тараканов *Blattella germanica* (L.), самцов и самок чувствительных инсектарных культур тараканов *Periplaneta americana* L., *Blatta orientalis* L., *Shelfordella tartara* Walker, самцов и самок природной популяции рыжих тараканов *B. germanica*.

Работа выполнена в период с 2011 по 2014 гг. в лаборатории научных основ дезинсекции, инсектарии и виварии ФБУН НИИДезинфектологии Роспотребнадзора, на кафедре товароведения и технологии сырья животного происхождения им С.А. Каспарьянца ФГБОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии» им. К.И. Скрябина, а также на частной кролиководческой ферме ООО «Кролинфо» (Московская область, г. Ликино-Дулево).

В экспериментах использовали технические продукты и аналитические стандарты действующих веществ пиретроидов: цифлутрин (92,8%, Китай), флуметрин (92,0%, Китай), эсфенвалерат (100,0%, «Сумитомо Кемикал», Япония), перметрин (96,4%, «Сумитомо Кемикал», Япония); технические продукты авермектинов и готовые препаративные формы на их основе: абамектин (92,4%, «Сингента», Швейцария), «РЭЙД МАКС приман-

ка от тараканов» (0,05% абамектина, S.C. Johnson, США), аверсектин С (20% ДВ, «Фарм-биомедсервис», Россия), авермектина В_{1а} гемисукцинат (93,5%, ООО НПО «Экобиовет», Россия), ивермектин (97,6%, Китай); готовые препаративные формы на основе фенилпирозолов: «Комбат приманка от тараканов» 0,03% фипронила, («Хенкель Хоум», Корея); технический продукт аналога ювенильного гормона: пирипроксифен (95,0%, Китай); вещества растительного происхождения: натуральные эфирные масла чайного дерева, гвоздики, аниса (ООО НПФ «Медикомед», Россия) и касторовое масло (Ивановская фармацевтическая фабрика, Россия).

Также использовали экспериментальные образцы акарицидного средства «Псороптоцид» в виде ушных капель, изготовленные в лаборатории проблем дезинсекции НИИ-Дезинфектологии (смеси цифлутрина и пирипроксифена в различных соотношениях) и экспериментальные образцы инсектицидного средства «ВЭИС приманки от тараканов» в виде гранул, содержащие в качестве ДВ авермектина В_{1а} гемисукцинат, изготовленные в ООО НПО «Экобиовет».

Согласно методике предложенной Б. Дж. Кюри с соавт. [Currie *et al.*, 2004] готовили ацетоновые растворы в логарифмически снижающихся концентрациях и обрабатывали ими стандартные обеззоленные фильтры при норме расхода 1 мл/ дм², которые помещали в чашки Петри с d-90 мм. На них подсаживали клещей. Все опыты ставили в 3 повторностях, в каждой по 15-30 особей. Чашки Петри с клещами инкубировали в термостате при постоянной температуре 28-30°C (средняя температура эпидермиса кролика) и относительной влажности воздуха 78%. При учете использовали следующие категории состояния клещей: активно двигающиеся, медленно двигающиеся, не двигающиеся/мертвые и потерянные. При полном прекращении двигательной активности констатировали смерть. Учет проводили через 30 мин, 60 мин, 120 мин и далее с интервалом в 1 ч в течение 21 ч.

Изучение акарицидности перепаратов *in vivo* проводили на базе вивария НИИД на кроликах породы «Советская шиншилла». Всего в опытах использовали 23 животных, зараженных псороптозом. Животных из опытных групп обрабатывали экспериментальными растворами акарицидного средства, смазывая ушные раковины с помощью ватного тампона, исходя из нормы расхода 0,5 г средства на одно ухо. Животных контрольной группы обрабатывали изопропиловым спиртом. Осмотр кроликов проводили на 1-ые, 2-ые, 5-ые сутки, далее еженедельно в течение 1,5 месяцев.

Для определения контактного действия инсектицидов использовали метод топикального нанесения ацетоновых растворов ДВ на мух и тараканов. Определяли концентрации и дозы, вызывающие поражение 50% и 95% насекомых (СК₅₀₍₉₅₎ и СД₅₀₍₉₅₎), а также рассчитывали коэффициенты видовой чувствительности (K_{вид}), представляющие собой

отношение величин $СД_{50}$ (мкг/г) инсектицида для самцов рыжих тараканов к величине $СД_{50}$ для комнатных мух. Погибших насекомых учитывали через 24 ч [Руководство Р 4.2.2643-10, 2011].

Подсадку рыжих тараканов на стеклянные поверхности размером (10x10) см, на которые наносили ацетоновые растворы авермектинов, исходя из нормы расхода 1 мл/дм², проводили после полного испарения растворителя. Принудительный контакт насекомых для определения инсектицидного действия отложений средства осуществляли в экспозиметрах диаметром 9 см. Продолжительность контакта насекомых с тест-поверхностями составляла 30 мин. Опыты проводили при постоянной температуре воздуха 23±2°С и относительной влажности 60-70%. После контакта насекомых переносили в чистые пластиковые стаканы объемом 200 мл. Учет гибели насекомых проводили через 24 часа после подсадки. Для определения кишечного действия инсектицидов на комнатных мух и рыжих тараканов использовали метод И.В. Ибрагимхалиловой и О.Ю. Ереминой [Ибрагимхалилова, Еремина, 2007]. Для расчёта величин $СК_{50, (95)}$ (смертельная концентрация (%)) вещества, вызывающая смертность 50% (95%) насекомых), $ЛТ_{50 (95)}$ (смертельное время (мин/ч) воздействия вещества, в течение которого погибает 50% (95%) подопытных особей) и доверительных пределов к ним использовали «пробит-анализ» Блисса в модификации П.В. Попова [Попов, 1965]. Также рассчитывали показатели ДК (диагностическая концентрация (%) = $СК_{95} \times 2$), $СД_{50 (95)}$ (смертельная доза (мкг/г) вещества, вызывающая смертность 50% (95%) насекомых). Если смертность контрольных особей в эксперименте составляла 5–22%, использовали формулу Аббота для расчёта поправки на смертность в контрольном варианте [Руководство 4.2.2643-10, 2011]. Статистическую обработку токсикологических показателей осуществляли по методу Стьюдента-Фишера. Также с использованием анализа выживаемости Каплан-Майера [Kaplan, Meier, 1958] в программе STATISTICA 10 строили кривые динамики смертности и определяли их медиану.

ГЛАВА 3. ИССЛЕДОВАНИЕ АКАРИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ АВЕРМЕКТИНОВ, ПИРЕТРОИДОВ, АНАЛОГА ЮВЕНИЛЬНОГО ГОРМОНА И ВЕЩЕСТВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Исследования инсектоакарицидной активности ДВ *аверсектина С*, *абамектина*, *авермектина В_{1а} гемисукцината*, а также *ивермектина* представлены в табл. 1.

Таблица 1

Акарицидная активность авермектинов в отношении самок клещей *P. cuniculi*

ДВ	Концентрация, %	Клещей в опыте	МКВ, мин	ЛТ ₅₀ , мин	ЛТ ₉₅ , мин
1	2	3	4	5	6
Абамектин	0,100	210	30	35,00 (30,78-39,80)	150,00 (131,93-170,55)

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5	6
	0,050	178	90	40,00 (34,33-46,60)	132,00 (113,31-153,78)
	0,010	201	140	115,00 (100,61-131,45)	183,00 (160,11-209,17)
	0,005	205	200	129,00 (113,06-147,19)	173,00 (151,62-197,39)
	0,001	186	325	280,00 (242,42-323,40)	456,00 (394,81-526,68)
Аверсектин С	0,100	210	30	10,00 (8,78-11,39)	19,00 (16,68-21,64)
	0,050	174	160	100,00 (85,67-116,72)	170,00 (145,90-198,42)
	0,010	151	160	143,00 (121,65-168,10)	253,00 (215,23-297,40)
	0,005	132	240	202,50 (170,03-241,18)	318,00 (267,00-378,74)
	0,001	203	940	640,00 (554,11-739,20)	908,00 (786,15-1048,74)
Авермектина В _{1а} гемисукцинат	0,100	210	180	138,00 (121,27-157,04)	232,00 (203,87-264,02)
	0,050	179	180	170,00 (146,05-197,88)	253,00 (217,17-294,49)
	0,010	209	180	190,00 (166,81-216,41)	281,00 (246,71-320,06)
	0,005	154	300	330,00 (281,33-387,09)	543,00 (462,92-636,94)
	0,001	141	480	481,00 (406,59-569,02)	588,00 (497,04-695,61)
Ивермектин	0,100	210	120	62,00 (54,58-70,43)	103,5 (91,11-117,58)
	0,050	210	120	72,00 (63,33-81,86)	120,00 (105,54-136,44)
	0,010	207	240	138,00 (120,84-157,60)	280,00 (245,18-319,76)
	0,005	197	300	176,00 (152,91-202,58)	280,00 (243,27-322,28)
	0,001	195	300	241,00 (209,02-277,87)	335,00 (290,55-386,26)

Примечание: в скобках указаны доверительные пределы при $P \leq 0,05$

Согласно полученным данным, в отношении имаго самок клещей *P. cuniculi* авермектины обладают выраженной акарицидной активностью. Если их расположить по показателям ЛТ₉₅ в порядке уменьшения активности, то этот ряд выглядит следующим образом: *аверсектин С* > *абамектин* > *ивермектин* > *авермектина В_{1а} гемисукцинат*. При снижении концентрации происходит закономерное снижение акарицидной активности для всех авермектинов, кроме *аверсектина С*. Возможно, при снижении концентрации проис-

ходит критическое снижение самого активного компонента - авермектина В_{1а}, сочетание которого с другими компонентами комплекса оказывало синергистический эффект.

Нами была исследована инсектоакарицидная активность ДВ *перметрина*, *эсфенвалерата*, *цифлутрина*, *флуметрина* (табл. 2).

Таблица 2

Акарицидная активность пиретроидов в отношении самок клещей *P. siniculi*

ДВ	Концентрация, %	Клещей в опыте	МКВ, мин	ЛТ ₅₀ , мин	ЛТ ₉₅ , мин
Перметрин	5,000	210	150	112,00 (100,58-127,23)	390,00 (343,31-443,01)
	2,500	198	210	200,00 (174,67-229,00)	450,00 (393,01-515,25)
	1,000	156	260	308,00 (260,36-364,36)	770,00 (650,89-910,91)
	0,500	129	260	340,00 (275,75-419,22)	1320,00 (1070,56-1627,56)
	0,100	193	420	712,00 (606,99-835,18)	1630,00 (1389,60-1911,99)
Эсфенвалерат	0,500	203	320	302,00 (248,97-366,33)	504,00 (415,50-611,35)
	0,100	201	450	520,00 (415,00-651,56)	1290,00 (1029,53-1616,37)
	0,050	145	1440	890,00 (716,59-1105,38)	1750,00 (1409,02-2173,50)
	0,025	139	1440	1150,00 (916,33-1443,25)	1920,00 (1529,88-2409,60)
	0,010	190	1440	1320,00 (1106,45-1574,76)	2220,00 (1860,86-2648,46)
Цифлутрин	0,100	210	160	129,00 (113,46-146,67)	233,00 (204,93-264,92)
	0,050	203	220	200,00 (174,37-229,40)	412,00 (359,20-472,56)
	0,025	154	220	221,00 (182,49-267,63)	443,00 (365,81-536,47)
	0,010	179	220	235,00 (196,65-280,83)	528,00 (441,84-630,96)
	0,005	201	220	246,00 (213,54-283,39)	670,00 (581,60-771,84)
Флуметрин	0,100	199	220	180,00 (155,58-208,26)	430,00 (371,65-497,51)
	0,050	200	280	228,00 (198,73-261,58)	533,00 (464,57-611,51)
	0,025	159	280	306,00 (247,77-377,91)	717,00 (580,57-885,50)
	0,010	152	280	308,00 (246,99-384,08)	606,00 (485,97-755,68)
	0,005	147	1180	400,00 (319,23-501,20)	720,00 (574,62-902,16)

Примечание: в скобках указаны доверительные пределы при $P \leq 0,05$

Пиретроиды оказывали менее выраженный акарицидный эффект на имаго самок клещей *P. cuniculi*. Если расположить изученные пиретроиды по показателям акарицидности в порядке уменьшения активности, то этот ряд выглядит следующим образом: *цифлутрин* > *флуметрин* > *эсфенвалерат* > *перметрин*. Прослеживается зависимость акарицидности пиретроидов в зависимости от их химического строения. Так, пиретроиды, содержащие цианогруппу (CN-) и атомы фтора в своей химической структуре (*цифлутрин* и *флуметрин*), оказывали более выраженное акарицидное действие, чем пиретроиды, содержащие только цианогруппу (*эсфенвалерат*), или не содержащие ни того ни другого (*перметрин*).

Имеются данные литературы по активности веществ растительного происхождения в отношении чесоточных клещей (*P. cuniculi* и *Sarcoptes scabiei* L.). Нами были проведены исследования для изучения действия некоторых растительных масел в отношении клещей *P. cuniculi* (табл. 3).

Таблица 3

Акарицидная активность растительных масел в отношении самок клещей *P. cuniculi*

ДВ	Концентрация, %	Клещей в опыте, особей	МКВ, мин	ЛТ ₅₀ , мин	ЛТ ₉₅ , мин
Эфирное масло чайного дерева	5,000	197	30	26,00 (21,85-30,94)	43,00 (36,13-51,17)
	2,500	201	240	125,00 (105,93-147,50)	408,00 (345,76-481,44)
	1,000	142	1200	1010,00 (821,14-1242,30)	1620,00 (1317,07-1992,60)
Эфирное масло гвоздики	0,100	189	60	27,00 (22,31-32,67)	52,00 (42,98-62,92)
	0,010	205	120	122,00 (106,09-140,30)	280,00 (243,48-322,00)
	0,001	201	1210	1130,00 (965,81-1322,10)	1702,00 (1454,70-1991,34)
Эфирное масло аниса	1,000	197	30	29,00 (24,58-34,22)	48,00 (40,68-56,64)
	0,100	128	1260	850,00 (648,86-1113,50)	1420,00 (1083,97-1860,20)
	0,010	156	1260	1410,00 (1110,24-1790,70)	2040,00 (1606,30-2590,80)
Касторовое масло	100,000	121	1250	378,00 (254,14-449,54)	625,00 (469,93-831,25)
	50,000	118	1250	1280,00 (950,26-1724,16)	1730,00 (1284,34-2330,31)
	20,000	96	-	>1700,00	>2500,00

Примечание: в скобках указаны доверительные пределы при $P \leq 0,05$

Исследуемые растительные масла обладают акарицидной активностью и могут использоваться в качестве дополнительных компонентов для создания комплексных препаратов с целью улучшения их характеристик.

В связи с отсутствием в доступной нам литературе сведений о действии *пирипроксифена* на клещей *P. cuniculi*, проведены исследования острой акарицидной активности *пирипроксифена* в отношении имаго самок клещей *P. cunicul* (табл. 4).

Таблица 4

Акарицидная активность *пирипроксифена* в отношении самок клещей *P.cuniculi*

Концентрация, %	Клещей в опыте, особей	МКВ, мин	ЛТ ₅₀ , мин	ЛТ ₉₅ , мин
6,00	135	440	401,00 (320,80-501,25)	1340,00 (1072,00-1808,00)
3,00	112	1200	483,00 (380,32-613,41)	1650,00 (1299,21-2095,50)
1,00	97	1200	845,00 (655,04-1090,05)	2150,00 (1670,00-2773,50)
0,50	85	-	1215,00 (923,53-1598,45)	-
0,10	117	-		0,35*
0,05	102	-		0,15*
0,01	85	-		0*
К	40	-		0*

Примечание: в скобках указаны доверительные пределы при $P \leq 0,05$

* - доля отмерших клещей на 1200-й минуте экспозиции

В наших исследованиях показано наличие у *пирипроксифена* острой акарицидной активности только в высоких концентрациях (1,0-6,0%). В биологии клещей *P. cuniculi* явление копуляции играет важную роль, так как оно заканчивается травматическим оплодотворением. Для подтверждения целесообразности введения *пирипроксифена* в рецептуру были поставлены опыты на копулятивных парах клещей *P. cuniculi* (табл. 5).

Таблица 5

Акарицидная активность *пирипроксифена* в отношении копулятивных пар клещей *P.cuniculi*

Концентрация, %	Копулятивных пар в опыте, шт.	Доля распавшихся пар, %	Доля погибших пар на 24 час экспозиции, %
6,00	60	65,0	100,0
3,00	60	28,3	95,0
1,00	60	53,3	81,7
0,50	60	46,7	68,3
0,10	60	48,3	51,7
0,05	60	1,0	20,0
0,025	60	5,0	13,3
0,01	60	0	0
Контроль	40	0	0

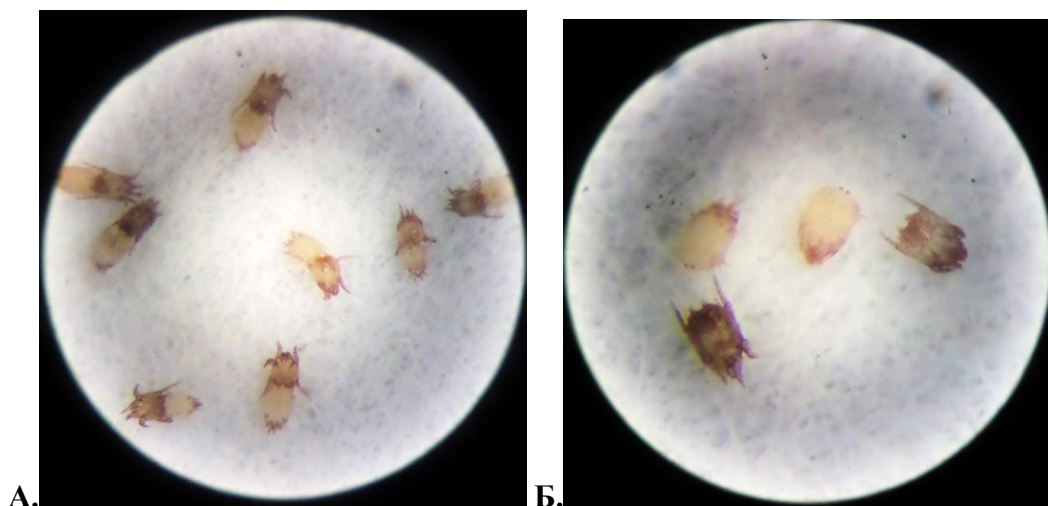


Рис 1. Действие пирипроксифена на копулятивные пары клещей *P. cuniculi*:
А – контроль, Б – опыт.

В отношении копулятивных пар *P. cuniculi* пирипроксифен оказывает в острое акарицидное действие и препятствует дальнейшему процессу оплодотворения. Копулятивные пары распадаются, возможно, из-за гибели хризалиды самки, которая не может осуществлять дальнейший процесс метаморфоза.

Известно, что пирипроксифен действует только в определенный период онтогенеза членистоногих. Таким образом, возможно, что разорванные копулятивные пары находились на той стадии развития, когда введение пирипроксифена в их организм и вызывало необратимые изменения.

ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА РЕЦЕПТУРЫ АКАРИЦИДНОГО СРЕДСТВА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПСОРОПТОЗА КРОЛИКОВ

Изучение акарицидного действия экспериментальных образцов средства «Псороптоцид» *in vitro*

Разрабатываемое средство получило название «Псороптоцид». Были определены показатели акарицидности *in vitro* для четырех композиций средства (табл. 6).

Таблица 6

Острое акарицидное действие опытных образцов экспериментального средства для лечения псороптоза кроликов на имаго самок клещей *P. cuniculi*

№	Рецептура, % ДВ	Количество клещей, особей	МКВ, мин	ЛТ ₅₀ , мин	ЛТ ₉₅ , мин
1	цифлутрин – 0,05 пирипроксифен – 0,2	120	10	7,00 (5,69-8,61)	29,00 (23,58-35,67)
2	цифлутрин – 0,025 пирипроксифен – 0,1	117	10	9,00 (7,20-11,25)	26,00 (20,8-32,50)
3	цифлутрин – 0,01 пирипроксифен – 0,1	113	20	20,50 (16,27-25,83)	50,00 (39,68-63,00)
4	цифлутрин – 0,005 пирипроксифен – 0,1	123	30	25,00 (20,49-30,50)	45,00 (36,89-54,90)

Примечание: в скобках указаны доверительные пределы при $P \leq 0,05$

Согласно полученным данным, все экспериментальные образцы средства «Псороптоцид» обладали высокой активностью в отношении клещей *P. cuniculi*. Однако эффективность образцов под номерами 1 и 2 была выше образцов под номерами 3 и 4.

Изучение акарицидного действия экспериментальных образцов средства «Псороптоцид» *in vivo*

Данные по изучению акарицидности *in vivo* экспериментальных образцов средства «Псороптоцид» схематично представлены в табл. 7.

Таблица 7

Эффективность применения экспериментальных образцов средства «Псороптоцид» при псороптозе кроликов *in vivo*

Сутки после обработки	№ образца				Контроль
	1	2	3	4	
1	-----	-----	-----	-----+	+++
2	-----	-----	-----+	-----+	+++
5	-----	-----	-----+	----++	+++
6	-----	-----	-----+	----++	+++
12	-----	-----	-----+	----++	+++
21	-----	-----	-----+	--+++	+++
28	-----	-----	--+++	--+++	+++
32	-----	-----	-++++	+++++	+++
36	-----	-----	-++++	+++++	+++
40	-----	-----	-++++	+++++	+++

Примечание: каждый знак «+» или «-» соответствует одному животному
 -- паразиты в соскобах отсутствовали; + - паразиты в соскобах присутствовали

Наиболее высокую эффективность в лечении псороптоза кроликов показали образцы 1 и 2. Рецидивов болезни не наблюдали, тем самым средство оказывало действие не только на имагинальные и преимагинальные формы паразитов, но, возможно, и на их яйца. Животные хорошо переносили лечение, не было замечено снижения активности или каких-либо других негативных изменений в поведении. Животные контрольной группы на протяжении всего эксперимента сохраняли клинические признаки болезни без каких-либо существенных изменений. Испытания образца № 2 средства «Псороптоцид» проведены в кролиководческом хозяйстве «Кролинфо» г. Ликино-Дулево Московской области. Полученные результаты подтверждают высокую терапевтическую эффективность разработанного средства при однократном обработке. Получены акты производственных испытаний.

ГЛАВА 5. ИЗУЧЕНИЕ ИНСЕКТИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ АВЕРМЕКТИНОВ

Обоснование необходимости борьбы с насекомыми – потенциальными переносчиками возбудителя псороптоза кроликов

Синантропные тараканы могут попадать на животноводческие объекты с кормом, а также в ручной клади и одежде персонала и являться причиной порчи продукции. Нами показано, что тараканы могут участвовать в распространении псороптоза по территории

кроликоферм. Некоторые ученые отмечают возможность распространения данного заболевания мухами [Адетунджи, 2001; Майоров 1978]. Таким образом, истребительные мероприятия в отношении синантропных насекомых являются неотъемлемой частью системы неспецифической профилактики данного заболевания.

Изучение инсектицидности авермектинов в отношении комнатных мух и рыжих тараканов

Нами исследована сравнительная токсичность природных (*абамектин*, *аверсектин С*) и полусинтетических производных (*ивермектин*, *авермектина В_{1а} гемисукцинат*) авермектинов для комнатных мух и рыжих тараканов при топикальном нанесении на насекомых (табл. 8).

Таблица 8

Токсичность авермектинов для комнатных мух чувствительной расы Соорег и рыжих тараканов чувствительной расы S_{ниид} при топикальном нанесении ацетоновых растворов инсектицидов (СД₅₀, мкг/г)

ДВ	Комнатные мухи	Рыжие тараканы	К _{вид} *
Абамектин	0,350 (0,270-0,460)	0,380 (0,290-0,480)	1,09
Аверсектин С	0,047 (0,036-0,061)	1,970 (1,510-2,560)	41,92
Авермектина В _{1а} гемисукцинат	0,130 (0,072-0,140)	0,850 (0,650-1,110)	6,54
Ивермектин	0,054 (0,039-0,075)	0,630 (0,490-0,820)	11,67

Примечание: в скобках указаны доверительные пределы при P≤0,05

*К_{вид} (коэффициент видовой чувствительности) = СД₅₀ (рыжий таракан)/ СД₅₀ (комнатная муха)

По К_{вид} *абамектин* был одинаково инсектициден для комнатных мух и рыжих тараканов, тогда как другие авермектины были более инсектицидны для комнатных мух: *авермектина В_{1а} гемисукцинат* – в 6,54 раз, *ивермектин* – в 11,67 раз, *аверсектин С* – в 41,92 раз. Нами были рассчитаны показатели СК₅₀ для авермектинов при кишечном пути их поступления в организм имаго самцов рыжих тараканов (табл. 9).

Таблица 9

Токсичность авермектинов, введенных в аттрактивную матрицу, для самцов рыжих тараканов чувствительной расы S_{ниид} (учет смертности на 10-е сутки)

ДВ	СК ₅₀ , %	СК ₉₅ , %
Абамектин	0,0061 (0,0047-0,0079)	0,0180 (0,0140-0,0230)
Аверсектин С	0,0041 (0,0032-0,0053)	0,0120 (0,0092-0,0160)
Авермектина В _{1а} гемисукцинат	0,0090 (0,0069-0,0120)	0,0210 (0,0160-0,0270)
Ивермектин	0,0120 (0,0085-0,0150)	0,0300 (0,0230-0,0390)

Примечание: в скобках указаны доверительные пределы при P≤0,05

Авермектины проявляют высокую инсектицидную активность в отношении имаго самцов рыжих тараканов при кишечном пути поступления в организм. Если расположить их по показателям СК₅₀ в порядке уменьшения активности, то этот ряд будет выглядеть следующим образом: *аверсектин С* > *абамектин* > *авермектина В_{1а} гемисукцинат* > *ивермектин*.

Таким образом, авермектины являются высокоперспективными действующих веществ (ДВ) для разработки инсектицидных средств борьбы с комнатными мухами и рыжими тараканами.

ГЛАВА 6. РАЗРАБОТКА РЕЦЕПТУРЫ ИНСЕКТИЦИДНОГО СРЕДСТВА В ВИДЕ ПРИМАНКИ НА ОСНОВЕ АВЕРМЕКТИНА В_{1А} ГЕМИСУКЦИНАТА ДЛЯ УНИЧТОЖЕНИЯ СИНАНТРОПНЫХ ТАРАКАНОВ

Изучение эффективности инсектицидного средства в виде приманки на основе полусинтетических производных авермектинов

Нами изучена эффективность инсектицидного средства «ВЭИС приманки от тараканов» на основе *авермектина В_{1а} гемисукцината* в отношении рыжих тараканов чувствительной расы (S_{ниид}) и резистентной к пиретроидам расы (R_{м1}) в сравнении с приманками на основе *фипронила* (0,03%), *абамектина* (0,05%) (табл. 10).

Таблица 10
Эффективность приманок на основе действующих веществ из разных химических групп в отношении чувствительной S_{ниид} и резистентной рас рыжих тараканов

ДВ (%)	Насекомых в опыте, особей	Раса	МКВ, ч	ЛТ ₅₀ , ч	ЛТ ₉₅ , ч	ПР*
Абамектин (0,05)	60	S _{ниид}	24	119,00 (104,39-135,66)	202,00 (177,19-230,28)	-
	60	R _{м1}	120	140,00 (122,91-159,46)	286,00 (251,10-325,75)	1,18
Авермектина В _{1а} гемисукцинат (0,07)	60	S _{ниид}	48	34,50 (30,16-39,47)	91,00 (79,55-104,10)	-
	60	R _{м1}	96	72,00 (58,49-88,63)	119,00 (96,67-146,49)	2,09
Фипронил (0,03)	60	S _{ниид}	24	3,0 (2,63-3,43)	140,0 (122,59-159,88)	-
	60	R _{м1}	48	17,0 (14,49-19,94)	221,0 (188,41-259,23)	5,70

Примечание: в скобках указаны доверительные пределы при P≤0,05
ПР (показатель резистентности) = ЛТ₅₀ R_{м1}/ЛТ₅₀ S_{ниид}

При проведении экспериментов выявлено, что тараканы активно прореагировали на «ВЭИС приманки от тараканов». Особи контактировали с приманкой и питались ею.

Средство действовало как инсектицид кишечного действия, симптомы отравления нарастали постепенно.

Нами показано, что резистентная к пиретроидам раса рыжих тараканов R_{M1} чувствительна к *авермектину B_{1a} гемисукцинату* и *абамектину*, толерантна к *фипронилу*.

Таким образом, средство «ВЭИС приманки от тараканов» обладает высокой эффективностью и может использоваться как на кроликофермах, так и населением в быту.

ГЛАВА 7. РАЗРАБОТКА ИНТЕГРИРОВАННОЙ СИСТЕМЫ ЗАЩИТЫ КРОЛИКОВ ОТ ПСОРОПТОЗА

Анализ литературных данных и результаты собственных исследований позволили разработать и предложить приведенную ниже схему мероприятий по борьбе с псороптозом кроликов (рис. 2).

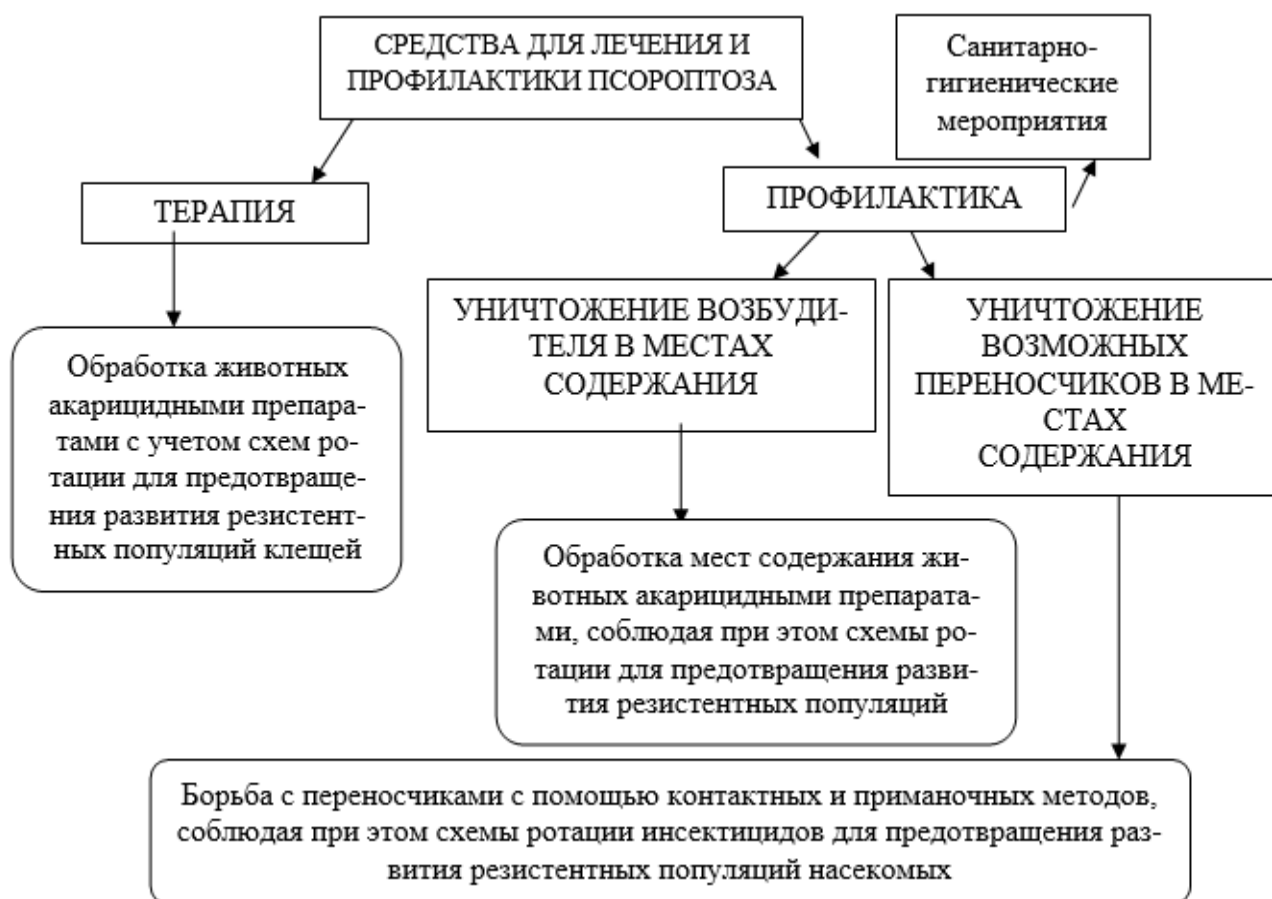


Рис 2. Схема комплексной борьбы с псороптозом кроликов

Для комплексной борьбы с псороптозом кроликов целесообразно применять терапию с комплексом мер неспецифической профилактики, направленных на уничтожение возбудителя болезни в окружающей среде, а также его возможных механических переносчиков, используя при этом схемы ротации применяемых биоцидов для предотвращения возможного развития резистентности.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В настоящее время поиск и применение наиболее безопасных, экологичных препаратов для лечения псороптоза является одним из наиболее приоритетных направлений мировой паразитологии. Наибольший интерес для разработки средств лечения псороптоза кроликов представляют такие группы акарицидных веществ, как пиретроиды и авермектины. Выбор в качестве ДВ будущего средства для лечения псороптоза кроликов пиретроида цифлутрина обусловлен тем, что данное вещество обладает высокой акарицидной активностью в отношении имаго клещей *P. cuniculi*, а также очень низкими показателями дермальной токсичности (4 класс опасности ЛД₅₀ >5000 мг/кг) в сравнении с другими веществами данных групп (пиретроидов и авермектинов).

Актуально более детальное изучение акарицидного действия и широкое внедрение в практику веществ из группы РРН (АЮГ и ИСХ) и растительных масел, так как эти вещества могут существенно повысить целевую эффективность конечной рецептуры. Введение пирипроксифена в качестве дополнительного ДВ обусловлено тем, что он препятствует нормальному течению онтогенеза (ингибируя процесс морфогенеза внутри хризалид клещей) и процессу оплодотворения.

В ходе исследований *in vitro* установлено, что все экспериментальные образцы разрабатываемого средства «Псороптоцид» обладают высокой эффективностью при воздействии на клещей *P. cuniculi*. В опытах *in vivo* на животных показано, что наибольшую эффективность в лечении псороптоза кроликов показали композиции 1 и 2. Рецидивов болезни не наблюдали (40 дней).

В наших экспериментах показана возможность механического переноса тараканами клещей *P. cuniculi*, что подтверждается и данными литературы [Жужиков, 2005; Адетунджи, 2002; Майоров А.И., 1978; Домацкий, Дяченко, 1972]. В связи с тем, что насекомые способствуют распространению возбудителя псороптоза, для неспецифической профилактики данного заболевания необходимо проводить истребительные мероприятия по уничтожению мух и тараканов. Одной из перспективных групп для внедрения в схему борьбы с комнатными мухами и тараканами являются авермектины. Они обладают оригинальным механизмом действия, принципиально отличающимся от большинства ранее использовавшихся инсектицидов [Алексеев, 2009].

В настоящее время приобрел актуальность приманочный метод борьбы с синантропными насекомыми. При этом методе борьбы резистентность к инсектицидам развивается значительно медленнее, чем при обработке поверхностей. В экспериментах по определению кишечной активности авермектинов в отношении рыжих тараканов нами было показано, что смертность насекомых на 10-е сутки возрастала с повышением concentra-

ции для всех ДВ авермектинов. При этом 100% эффективность наблюдали и при снижении концентрации ДВ до 0,34 мг/г.

Таким образом, авермектины высокоактивны против рыжих тараканов при пероральном поступлении в организм в низких концентрациях. Стоит отметить, что кишечная инсектицидная активность авермектина V_{1a} гемисукцината сопоставима с таковой у других действующих веществ из класса авермектинов.

Проведенные исследования позволили совместно с ООО НПО «Экобиовет» разработать инсектицидное средство «ВЭИС приманки для тараканов» на основе нового отечественного полусинтетического производного авермектина V_{1a} – авермектина V_{1a} гемисукцината. В экспериментах показана высокая инсектицидная активность средства «ВИЭС приманка от тараканов» в отношении рыжих тараканов как чувствительной расы, так и расы, резистентной к пиретроидам, а также чувствительных рас других видов тараканов: американских, туркестанских и черных.

Анализ литературных данных и результаты собственных исследований позволили разработать и предложить схемы мероприятий по борьбе с псороптозом кроликов. Данная система может эффективно использоваться во время вспышек псороптоза, а также для проведения профилактических мероприятий.

Таким образом, применение химических веществ совместно с РРН и с веществами растительного происхождения, а также проведение комплексных мероприятий по уничтожению возбудителя и потенциальных переносчиков в местах обитания животных, может существенно увеличить эффективность борьбы с псороптозом кроликов.

ВЫВОДЫ

1. Среди изученных четырех пиретроидов наибольшей активностью в отношении клещей *P. cuniculi* обладает цифлутрин, также он наиболее безопасен при накожном применении (КИТ=500000).

2. Эфирные масла гвоздики, аниса и нима высоко акарицидны в отношении клещей *P. cuniculi*, однако обладают местно-раздражающим действием, касторовое масло менее акарицидно, но более безопасно и может использоваться в рецептурах акарицидных средств без каких-либо ограничений.

3. Пирипроксифен в высоких концентрациях (1,0-6,0%) оказывает острое акарицидное действие на клещей *P. cuniculi*, кроме того в более низких концентрациях (0,05-0,2%) ингибирует процесс онтегенеза клещей, и может использоваться совместно с другими акарицидами для повышения эффективности.

4. Разработанное нами средство для лечения псороптоза кроликов «Псороптоцид», содержащее смесь 0,025% цифлутрина и 0,1% пирипроксифена с добавлением касторово-

го масла является эффективным и обеспечивает при однократной обработке высокий терапевтический эффект в течение 40 дней.

5. Показано, что синантропные тараканы могут участвовать в процессе распространения клещей *P. cuniculi* по территории кроликоферм, что подтверждается данными литературы. Таким образом, уничтожение данных насекомых является неотъемлемой частью системы неспецифической профилактики псороптоза кроликов.

6. Полусинтетические производные авермектинов (авермектина В_{1а} гемисукцинат, ивермектин) проявляют высокую контактную и кишечную инсектицидную активность в отношении рыжих тараканов и комнатных мух, и могут использоваться для разработки средств борьбы с этими насекомыми.

7. Разработанное нами инсектицидное средство «ВЭИС приманки от тараканов» на основе авермектина В_{1а} гемисукцината эффективно в отношении синантропных тараканов, как чувствительных, так и резистентных к пиретроидам.

8. Предложенная нами схема борьбы с псороптозом включает: терапию и обработку мест содержания животных инсектоакарицидами для уничтожения возбудителя и его возможных переносчиков, а также соблюдение санитарно-гигиенических норм.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Для эффективной борьбы с псороптозом кроликов следует осуществлять обработку животных средством «Псороптоцид» однократно в дозе 0,5 мл в каждое ухо, осуществлять мероприятия по борьбе с синантропными насекомыми, которые могут выступать в роли механических переносчиков возбудителя болезни, а также соблюдать нормы санитарно-гигиенической безопасности.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

1. Олехнович, Е.И. Инсектицидная активность нового соединения из класса авермектинов – гемисукцината авермектина В_{1а} для некоторых видов насекомых / Е.И. Олехнович, С.А. Рославцева, М.А. Алексеев, К.М. Мирзаева, М.Х. Джафаров, А.В. Колобов, А.И. Сапожникова, И.В. Заварзин, Ю.А. Юсупов // Ветеринарная медицина. – 2013. - № 4. – С. 28-31.

2. Олехнович, Е.И. Сравнительная инсектицидная активность авермектинов в отношении имаго комнатной мухи (*Musca domestica*, L.) / Е.И. Олехнович, С.А. Рославцева, М.А. Алексеев, М.Н. Мирзаев, А.И. Сапожникова, М.Х. Джафаров, Т.И. Мельницкая, Д.А. Девришов, И.В. Заварзин // Ветеринарная медицина. – 2013. - №4. С. 31-36.

3. Олехнович, Е.И. Потенциальные акарициды контактного действия для борьбы с заболеваниями саркоптоидозной этиологии у животных / Е.И. Олехнович, А.И. Сапожникова, С.А. Рославцева // Пест-Менеджмент. – 2013. – № 2. – С. 25-31.
4. Олехнович, Е.И. Сравнительная акарицидная активность авермектинов в отношении ушного кроличьего чесоточного клеща *Psoroptes cuniculi* Delafond, 1859 *in vitro* / Е.И. Олехнович, С.А. Рославцева, А.И. Сапожникова, М.А. Алексеев, М.Н. Мирзаев, И.В. Заварзин // Пест-Менеджмент. – 2014. - №2. – С. 47-53.
5. Олехнович, Е.И. Сравнение акарицидного действия *in vitro* некоторых пиретроидов в отношении ушного чесоточного кроличьего клеща *Psoroptes cuniculi* Delafond, 1859 / Е.И. Олехнович, С.А. Рославцева, Ф.И. Василевич, А.И. Сапожникова // Ветеринария и кормление. – 2014. - № 4. – 40-41.
6. Олехнович, Е.И. Сравнительная эффективность акарицидов при псороптозе кроликов / Е.И. Олехнович, С.А. Рославцева, Ф.И. Василевич, А.И. Сапожникова // Ветеринария. – 2014. – № 11. – С. 35-39.
7. Олехнович, Е.И. Авермектины в медицинской дезинсекции / Е.И. Олехнович, С.А. Рославцева // Инфекционные болезни. – 2014. – Т. 12, Приложение № 1. – С. 231.
8. Олехнович, Е.И. Акарициды для применения в растениеводстве и ветеринарии / С.А. Рославцева, Е.И. Олехнович // Агрохимия. – 2013. - № 12. – С. 56-63.
9. Олехнович, Е.И. Аналоги ювенильного гормона и их применение в медицинской дезинсекции и ветеринарии / О.Ю. Еремина, Е.И. Олехнович, С.А. Рославцева // Пест-менеджмент. – 2014. – № 3. – С. 20-30.