



Сравнительная акарицидная активность авермектинов в отношении ушного кроличьего чесоточного клеща *Psoroptes cuniculi* (Delafond, 1859) *in vitro*

Олехнович Е. И.^{1,2}; Рославцева С. А.¹, профессор; Сапожникова А. И.², профессор; Алексеев М. А.¹, кандидат биол. наук; Мирзаев М. Н.², доктор биол. наук; Заварзин И. В., доктор хим. наук³

¹ФБУН «НИИ дезинфектологии» Роспотребнадзора,
117246, г. Москва, Научный проезд, д. 18

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К. И. Скрябина»,
109472, г. Москва, ул. Академика Скрябина, д. 23

³Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского Российской академии наук,
119991, г. Москва, Ленинский проспект, 47

Определена сравнительная акарицидная активность авермектинов для ушного кроличьего чесоточного клеща *Psoroptes cuniculi* (Delafond, 1859) *in vitro*. Сравнение выживаемости клещей под действием акарицидов проводили методом статистического анализа выживаемости Каплан-Майера. Также определены показатели ЛТ₅₀ и ЛТ₉₅ для разных концентраций действующих веществ, которые могут быть использованы для разработки акарицидных препаратов, а также для сравнения чувствительности *P. cuniculi* из разных популяций к данным биоцидам.

Ключевые слова: абамектин, гемисукцинат авермектина В1а, ивермектин, аверсектин С, *Psoroptes cuniculi*, акарицидная активность, авермектины.

Введение. Клещи из рода *Psoroptes spp.* вызывают чесотку-псороптоз, которая является эпидемиологически значимой болезнью млекопитающих и приводит к экономическим потерям в животноводстве. Клещ *Psoroptes cuniculi* (Delafond, 1859) – облигатный эктопаразит, поражающий в основном кроликов [11].

Терапия и профилактика псороптоза и заболеваний схожей этиологии у животных основана на эффективном применении акарицидов. В прошлом, однако, использование акарицидных препаратов для подавления паразитических членистоногих создавало широкий спектр проблем, включающих развитие резистентных популяций возбудителя [10;14;25] и химическое загрязнение окружающей среды [19;22]. В связи с этим актуальной задачей является изыскание новых безопасных и эффективных акарицидов [22].

Лечение ушной чесотки кроликов традиционно основано на применении различных акарицидных препаратов, содержащих в качестве действующих веществ такие соединения, как синтетические пиретроиды, макроциклические лактоны (авер-

мектины/мильбемицины), фосфорорганические соединения, амитраз, бензилбензоат, вещества растительного происхождения (масло нима, масло чайного дерева и т. д.) [6;26].

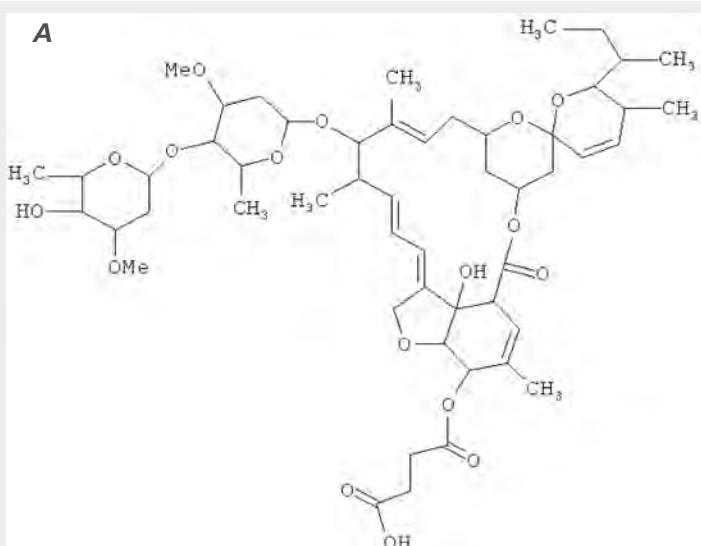
Эффективность применения авермектинов для лечения инвазий, вызванных клещами *P. cuniculi*, была показана в работах зарубежных исследователей [12;15;21;23;26; 27].

В настоящее время появились сведения о неэффективности лечения чесотки человека, возбудителем которой являются клещи *Sarcoptes scabiei var. hominis*, при помощи ивермектина – может возникнуть рецидив болезни и повторное заражение [9;16]. Известны данные о линдан-устойчивых популяциях *S. scabiei var. hominis* [9;24]. Наряду с вышеизложенным существует проблема токсичности многих акарицидов для теплокровных, и это является лимитирующим фактором их использования, уменьшая количество доступных и безопасных препаратов на рынке. В связи с этим, актуальность научно-исследовательской деятельности в области поиска новых эффективных и безопасных акарицидных соединений выходит на новый уровень [18].

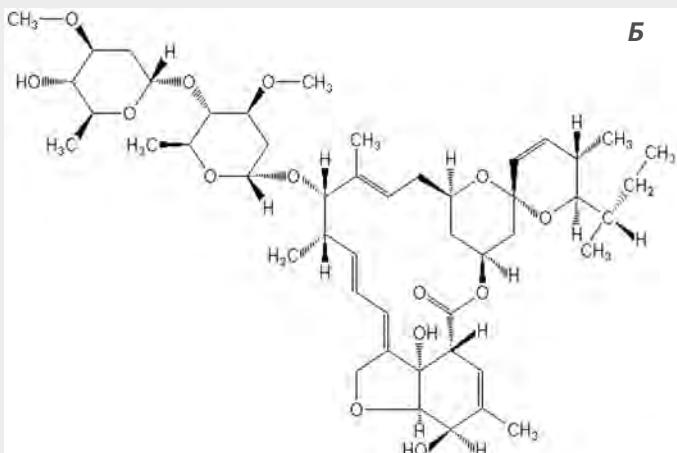


СРЕДСТВА И ТЕХНОЛОГИИ

A



B



B

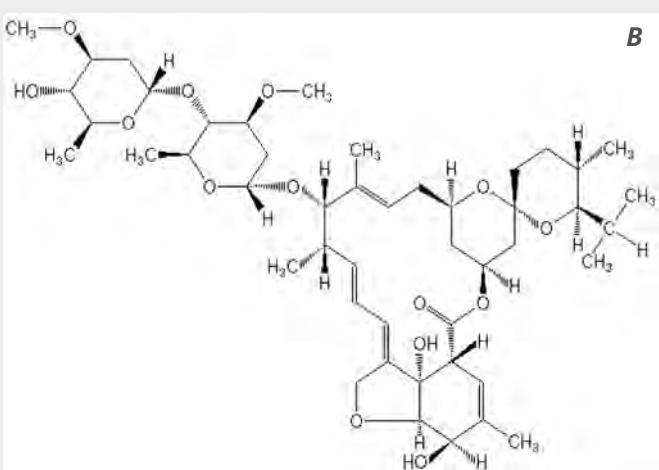


Рис. 1. А. Структурные формулы гемисукцинатов авермектина B_{1a} [4], Б. ивермектина (компонент B_{1a}) [<http://www.alanwood.net/pesticides/index-ru-frame.html>], В. аbamектина (компонент B_{1a}) [<http://www.alanwood.net/pesticides/index-ru-frame.html>]

Нами изучено акарицидное действие четырех соединений из класса авермектинов (абамектин, аверсектин С, гемисукцинат авермектина B_{1a} , ивермектин) в разных концентрациях при подсадке на обработанную поверхность (фильтровальная бумага) имаго клещей *P. cuniculi*.

Абамектин представляет собой двухкомпонентное вещество, в состав которого входит не менее 80% авермектина B_{1a} и не более 20% авермектина B_{1b} . Он был выпущен на мировой рынок в 1985 году в качестве инсектоакарицида для применения в сфере сельского хозяйства, показав высокую активность в отношении широкого спектра членистоногих [1].

Гемисукцинат авермектина B_{1a} – новый инсектоакарицид из группы авермектинов. Была изучена нематоцидная активность гемисукцината авермектина B_{1a} на примере трубочника обыкновенного (*Tubifex tubifex*) [5] и его эффективность в лечении инвазий, вызванных паразитами *Strongyloides spp.* [2]. Однако данные об акарицидной активности гемисукцината авермектина B_{1a} в литературе отсутствуют.

Ивермектин – дигидрированное производное абамектина, также состоящее не менее чем на 80% из компонента B_{1a} и не более чем на 20% из компонента B_{1b} . Положительные результаты экспериментов на ряде видов нематод, паразитирующих на животных [13; 17], привели к тому, что в 1981 г. ивермектин стал первым представителем группы авермектинов, выпущенным на мировой рынок и рекомендованным как противопаразитарное средство [1].

Аверсектин С – природный комплекс авермектинов, продуцируемый отечественным штаммом *Streptomyces avermitilis* ВИСХОМ-54. Содержит четыре компонента в следующем соотношении: B_1 – 45%, B_2 – 23%, A_2 – 20%, A_1 – 12%. Он оказался эффективным в отношении паутинных клещей, тлей, трипсов, колорадского жука, различных видов совок [4]. В отличие от первоначально полученного американскими учеными экстракта из *S. avermitilis*, аверсектин С является высокоочищенным комплексом, не содержащим различные примеси, которые могли бы повлиять на его активность [1].

Структурные формулы авермектинов представлены на рис. 1.

Материалы и методы. В наших экспериментах использована лабораторная культура ушного крольчего клеща *P. cuniculi*, которую содержат в инсектарии НИИДезинфектологии Роспотребнадзора на основном хозяине *Oryctolagus cuniculus* L. породы «Советская шиншилла». Ис-



ходный материал для закладки культуры клещей получен с пораженного этими клещами животного, приобретенного у частного лица.

Корочки из ушей кроликов, зараженных клещами, извлекали при помощи пинцета и помещали в чашку Петри. Клещей собирали тонкой препаровальной иглой, на которую они цеплялись многочисленными щетинками. [7].

В опытах были использованы высокоочищенные действующие вещества – абамектин 95,7% (Сингента, Швейцария), гемисукцинат авермектина B_{1a} 93,5% (Экобиовет, Россия), ивермектин 97,6% (Мерк, США), аверсектин С 20%-й концентрат эмульсии (Фармбиомед, Россия).

Готовили ацетоновые растворы в логарифмически снижающихся концентрациях, которыми обрабатывали стандартные обеззоленные фильтры в чашках Петри с d=36 мм, на которые помещали клещей. Все опыты ставили в 3 повторностях, в каждой по 15–30 особей. Параллельно закладывали 2 контрольных варианта. В первом на фильтры наносили растворитель без инсектицида, во втором варианте фильтры оставляли без обработки. Чашки Петри с клещами инкубировали в термостате при постоянной температуре 28–30°C (средняя температура эпидермиса кролика) и относительной влажности воздуха 78%. Клещей исследовали под микроскопом МБС-1 при увеличении 160x. При учете использовали следующие категории состояния клещей: активно двигающиеся, медленно двигающиеся, не двигающиеся/мертвые и потерянные. При полном прекращении двигательной активности исследуемого объекта констатировали его смерть. Учет проводили через 30, 60, 120, 180, 240 и 300 мин. от начала проведения опыта, максимум 1260 мин. (21 час).

Результаты обрабатывали с помощью анализа выживаемости Каплан-Майера [20] в программе STATISTICA 10. Также рассчитывали показатели LT_{50} и LT_{95} по Попову [8].

Результаты и их обсуждение. При воздействии данных акарицидов во всех концентрациях, за исключением гемисукцината авермектина B_{1a} , наблюдали паралич задних конечностей клещей, вследствие чего состояние ухудшалось, и с течением времени констатировали полную потерю двигательной активности клеща и его смерть.

При воздействии гемисукцината авермектина B_{1a} паралич задних конечностей клещей наблюдали при сохранении ими двигательной активности, вследствие чего паралич наступал медленнее, чем при воздействии других исследуемых авермектинов.

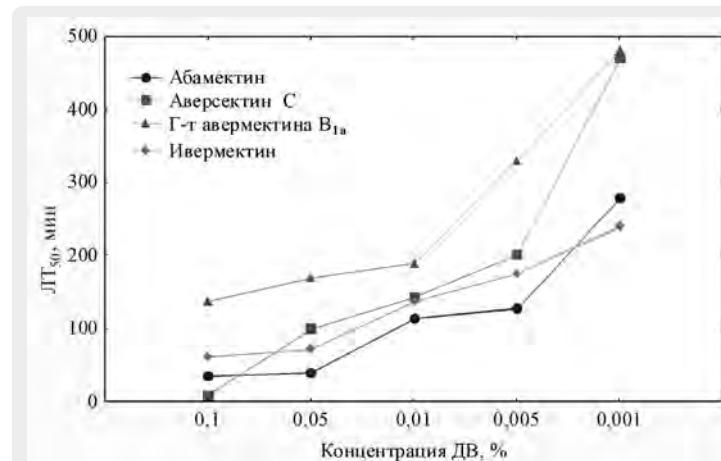


Рис. 2. Динамика снижения активности авермектинов в отношении клещей *R. cuniculi* со снижением концентрации ДВ авермектинов

Следует отметить, что нами не наблюдался процесс обратимости действия авермектинов на клещей *R. cuniculi*.

Наиболее высокой акарицидной активностью в отношении чесоточных кроличьих ушных клещей обладает аверсектин С в концентрации 0,1%: показатель LT_{50} колеблется в пределах 8,78–11,39 мин., медиана кривой выживания равна 30 мин. Следует отметить, что резкое уменьшение акарицидной активности наблюдали для аверсектина С при снижении концентрации с 0,1% до 0,05% в 10 раз, хотя для остальных соединений это значение колебалось в пределах 1,14–1,23 раза (рис. 2).

Этот факт свидетельствует о критическом снижении концентрации наиболее активного компонента авермектинового комплекса (предположительно авермектинов B_{1a} и B_{1b} , которые, как известно, обладают наиболее выраженной акарицидной активностью), совместное действие которого в сочетании с другими компонентами комплекса, по-видимому, приводили к возникновению синергистического эффекта. Различие величин LT_{50} при воздействии аверсектина С в концентрациях 0,05%, 0,01%, 0,005% и 0,001% статистически достоверно.

Менее высоким акарицидным действием обладал абамектин в концентрации 0,1%, значение LT_{50} колебалось в пределах 30,78–39,80 мин., медиана кривой выживания равна 30 мин. Наблюдали закономерное снижение акарицидной активности при понижении концентрации действующего вещества. Следует отметить, что нами не наблюдалось достоверного различия между показателями LT_{50} при использовании концентраций 0,1% и 0,05%, и между концентрациями



СРЕДСТВА И ТЕХНОЛОГИИ

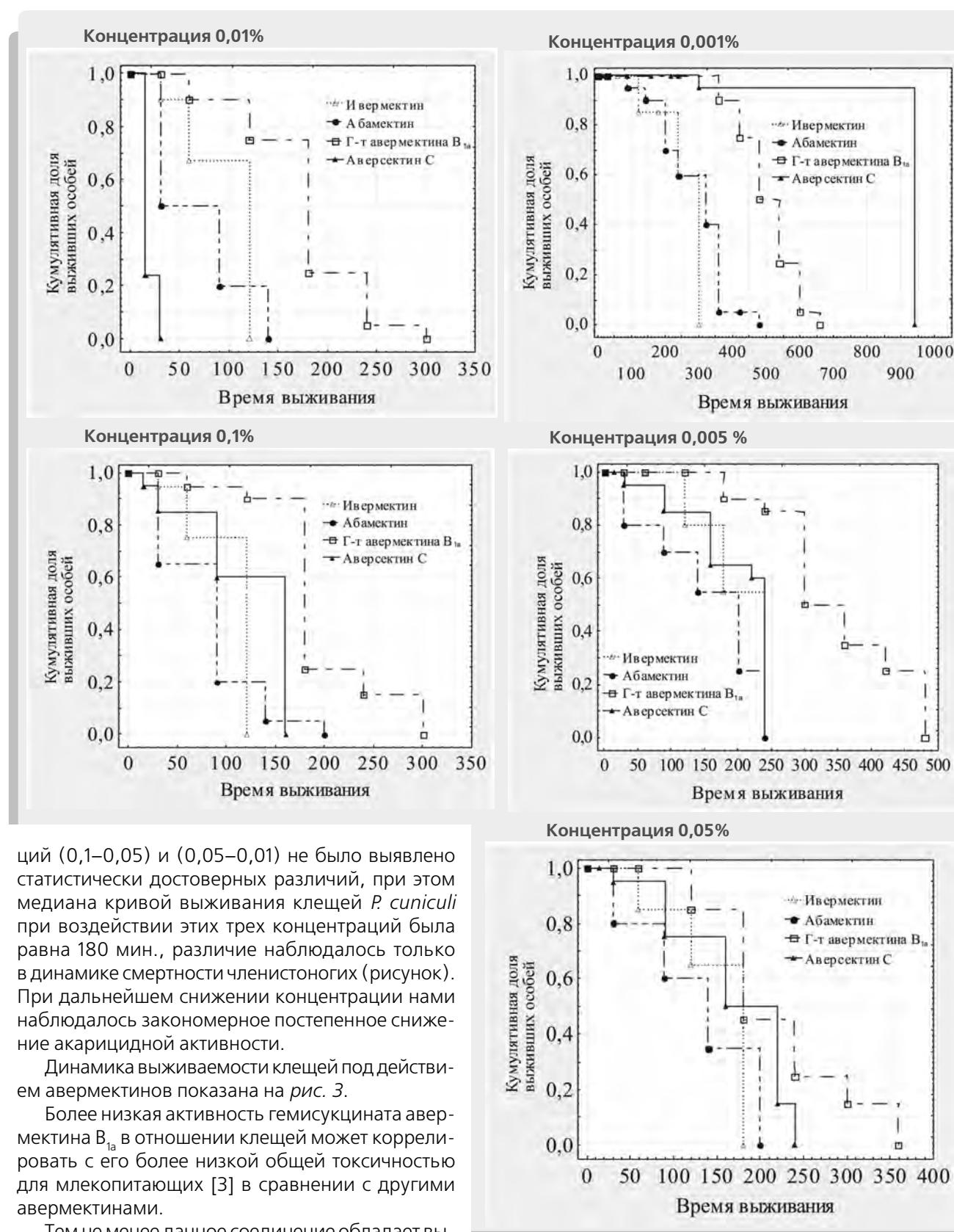
Таблица

Сравнительная акарицидная активность авермектинов для самок клещей *R. cuniculi*

ДВ, %	Концентрация, %	Количество клещей в опыте, шт.	Медиана кривой выживания, мин.	ЛТ ₅₀ , мин.	ЛТ ₉₅ , мин.
Абамектин	0,100	210	30	35,00 (30,78–39,80)	150,00 (131,93–170,55)
	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)
Гемисукцинат авермектина В _{1α}	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)

0,01% и 0,005%. При этом ЛТ₅₀ концентрации 0,001% статистически достоверно отличалось от такового для концентрации 0,005%. Данные тенденции характерны и для ивермектина, который, в свою очередь, в отношении клещей *R. cuniculi* показал меньшую акарицидную активность, чем аверсектин С и абамектин.

Гемисукцинат авермектина В_{1α} проявил наименьшую акарицидную активность из всех исследуемых соединений авермектинового ряда. При использовании концентрации 0,1% показатель ЛТ₅₀ колебался в пределах 121,27–157,04, медиана кривой выживания была равна 180 мин. Следует отметить, что для показателей ЛТ₅₀ концентра-



ций (0,1–0,05) и (0,05–0,01) не было выявлено статистически достоверных различий, при этом медиана кривой выживания клещей *P. cuniculi* при воздействии этих трех концентраций была равна 180 мин., различие наблюдалось только в динамике смертности членистоногих (рисунок). При дальнейшем снижении концентрации нами наблюдалось закономерное постепенное снижение акарицидной активности.

Динамика выживаемости клещей под действием авермектинов показана на рис. 3.

Более низкая активность гемисукцината авермектина B_{1a} в отношении клещей может коррелировать с его более низкой общей токсичностью для млекопитающих [3] в сравнении с другими авермектиными.

Тем не менее данное соединение обладает выраженной акарицидной активностью, что позволяет использовать его в качестве потенциального действующего вещества для разработки средств

Рис. 3. Кривые выживаемости Каплан-Майера для клещей *P. cuniculi* при воздействии на них авермектинов в разных концентрациях



СРЕДСТВА И ТЕХНОЛОГИИ

лечения инвазий, вызванных клещами *R. cuniculi*, *Sarcoptes scabiei* (в т.ч. *S. scabiei var. hominis*), и в препаратах, предназначенных для дезакаризации помещений. Также благодаря более низким показателям токсичности гемисукцината авермектина B_{1a} в сравнении с другими авермектинаами, [3] возможно значительное снижение неблагоприятного воздействия препаратов на его основе на организм животных и окружающую среду.

Список использованной литературы

References

- 1. Алексеев М. А.** Исследование скорости развития резистентности к авермектинаам в лабораторных условиях на примере комнатной мухи, *Musca domestica* L. (Diptera, Muscidae): Автoref. дис...канд. биол. наук. – Москва, 2009. – 24 с./ Alekseev M. A. Issledovanie skorosti razvitiya rezistentnosti k avermektinam v laboratornyh uslovijah na primere komnatnoj muhi, *Musca domestica* L. (Diptera, Muscidae): Avtoref. dis...kand. biol. nauk. – Moskva, 2009. – 24 s.
- 2. Джрафоров М. Х., Заварзин И. В., Мирзаев М. Н. и др.** Эффективность препарата гемакс при стронгиллязах овец// Сельскохозяйственная биология. – 2012. – № 2. – С. 96–100/ Dzhafarov M. N., Zavarzin I. V., Mirzaev M. N. i dr. Jeffektivnost' preparata gemaks pri strongiljatozah oves //Sel'skohozjajstvennaja biologija. – 2012. – № 2. – 96–100 s.
- 3. Джрафоров М. Х., Мирзаев М. Н., Уразаев Д. Н. и др.** Противопаразитарная активность адермектина и соединений стероидной природы// Докл. РАСХН. 2010. № 2. С. 45–46/ Dzhafarov M. N., Mirzaev M. N., Urazaev D. N. i dr./ Protivoparazitarnaja aktivnost' adermektina i soedinenij steroidnoj prirody// Dokl. RASHN. 2010. № 2. S. 45–46.
- 4. Дриняев В. А., Десяткова Э. Г., Коганицкая Л. И. и др.** Природный авермектиновый комплекс – аверсектин С – новый инсектоакаронематоид нового поколения// Защита растений в условиях реформирования агропромышленного комплекса: экономика, эффективность, экологичность: Тезисы докл. Всеросс. съезда по защите растений, Санкт-Петербург, 1995 г. – СПб., МСХиР РФ, 1995. – С. 406/ Drinjajev V. A., Desyatkova Je. G., Koganickaja L. I. i dr. Prirodnyj avermektinovyj kompleks – avresektin S – novyj insektokaronematojid novogo pokolenija// Zashchita rastenij v uslovijah reformirovaniya agropromyshlennogo kompleksa: jekonomika, jeffektivnost', jekologichnost': Tezisy dokl. Vseross. s#ezda po zashchite rastenij, Sankt-Peterburg, 1995 g. – SPb., MSHiP RF, 1995. – S. 406.
- 5. Заварзин И. В., Джрафоров М. Х., Мирзаев М. Н. и др.**/5-O-Сукциноилавермектин B1a, способ его получения и антипаразитарное средство на его основе. Патент. Заявка № 20011118586 от 11.05.2011/ Zavarzin I. V., Dzhafarov M. N., Mirzaev M. N. i dr./5-O-Sukcinoilavermektin V1a, sposob ego poluchenija i antiparazitarnoe sredstvo na ego osnove. Patent. Zajavka № 20011118586 от 11.05.2011.
- 6. Олехнович Е. И., Сапожникова А. И., Рославцева С. А.** Потенциальные акарициды контактного действия для борьбы с заболеваниями саркоптоидозной этиологии у животных// Pest-menеджмент. 2013. № 2/. 86. – С. 25–31/ Olehnovich E. I., Sapozhnikova A. I., Roslavceva S. A. Potencial'nye akaricidy kontaktogo dejstvija dlja bor'by s zabolevanijami sarkoptoidoznoj jetiologii u zhivotnyh// Pest-menedzhment. 2013. № 2. 86. C. 25–31.
- 7. Олифер В. В.** Новые подходы к разработке скабицидных средств и совершенствование профилактических мероприятий в очагах чесотки: Автoref. дис...канд. биол. наук. – Москва, 2006. – 24 с./ Olifer V. V. Novye podhody k razrabotke skabidinnyh sredstv i sovershenstvovanie profilakticheskikh meroprijatij v ochagah chesotki: Avtoref. dis...kand. biol. nauk. – Moskva, 2006. – 24 s.
- 8. Попов П. В.** Статистический анализ опытных данных с помощью линии регрессии «доза пестицида–эффект» //Химия в с. х. – 1965. – № 10. – С. 72–79/ Popov P. V. Statisticheskij analiz opytnyh dannyh s pomoshh'ju linii regressii «doza pesticida–jeffekt»// Himija v s. h. – 1965. – № 10. – S. 72–79.
- 9. Рославцева С. А., Олехнович Е. И.** Акарициды для применения в растениеводстве и ветеринарии// Агрехимия. 2013. № 12. С. 70–77/ Roslavceva S. A., Olehnovich E. I. Akaricidy dlja primenija v rastenievodstve i veterinarii// Agrohimija. 2013. № 12. S. 70–77.
- 10. Рославцева С. А.** Резистентность к инсектоакарицидам членистоногих, имеющих эпидемиологическое и санитарно-гигиеническое значение. М.: Компания Спутник+, 2006. 130 с./ Roslavceva S. A., Olehnovich E. I. Akaricidy dlja primenija v rastenievodstve i veterinarii// Agrohimija. 2013. № 12. S. 70–77.
- 11. Bates P. G.** Inter- and intra-specific variation within the genus *Psoroptes* (Acari: Psoroptidae)// Vet. Parasitol. 1999. V. 83. – P. 201–217.
- 12. Bowman D. D., Fogelson M. L., Carbone L. G.** Effect of ivermectin on the control of ear mites (*Psoroptes cuniculi*) in naturally infested rabbits// Am. J. Vet. Res. 1992. Vol. 53, №1. P. 105–109.



- 13. Chabala J. C., Mrozik H., Tolman R. L. et al.** Ivermectin, a new broad-spectrum antiparasitic agent //J. Med. Chem. – 1980. – V. 23, № 10. – P. 1134–1136.
- 14. Clark A. M., Stephen F. B., Cawley G. D. et al.** Resistance of the sheep scab mite *Psoroptes ovis* to propetamphos. Vet. Rec. – 1996. – V. 139. – P. 451.
- 15. Curtis S. K., Houseley R., Brooks D. L.** Use of ivermectin for treatment of ear mite infestation in rabbit//J. Am. Vet. Med. Assoc. – 1990. – Vol. 196. – P. 1139–1140.
- 16. Currie B. J., Harumal P., McKinnon M., Walton S. F.** First documentation of in vivo ivermectin resistance in *Sarcoptes scabiei*// Clin. Infect. Dis. – 2004. – Vol. 39. – P. 8–12.
- 17. Egerton J. R., Birnbaum J., Blair L. S. et al.** 22,23-dihydroavermectin B1, a new broad-spectrum antiparasitic agent //Br. Vet. J. – 1980. – V. 136, № 1. – P. 88–97.
- 18. Fichi G., Flamini G., Giovanelli F. et al.** Efficacy of an essential oil *Eugenia caryophyllata* against *Psoroptes cuniculi*//Exp. Parasitol. – 2007. – Vol. 115. – №2. – P. 168–172.
- 19. Halley B. A., Vandenheuvel W. J. A., Wislock P. G. et al.** Environmental effect of the usage of avermectins in livestock//Vet. Parasitol. – 1993. – Vol. 48. – P. 109–125.
- 20. Kaplan E. L., Meier P.** Nonparametric estimation from incomplete observations//J. Am. Stat. Assoc. – 1958. – Vol. 53. – P. 457–481.
- 21. McTier T. L., Hair J. A., Walstrom D. J., Thompson L.** Efficacy and safety of topical administration of selamectin for treatment of ear mite infestation in rabbit.// J. Am. Vet. Med. Assoc. – 2003. – Vol. 223, P. 322–324.
- 22. O'Brien D. J.** Treatment of psoroptic mange with reference to epidemiology and history//Vet. Parasitol. – 1999. – Vol. 83. – P. 177–185.
- 23. Pan B., Wang M., Xu F. et al.** Efficacy of an injectable formulation of eprinomectin against *Psoroptes cuniculi*//Vet. Parasitol. – 2006. – Vol. 137. – P. 386–390.
- 24. Purvis R. S., Tyring S. K.** An outbreak of lindane-resistant scabies treated successfully with permethrin 5% cream// J. Acad. Dermatol. – 1991. – Vol. 25. – P. 1015–1016.
- 25. Synge B. A., Bates P. G., Clark A. M., Stephen F. B.** Apparent resistance of *Psoroptes ovis* to flumethrin//Vet. Rec. – 1995. – Vol. 137. – P. 51.
- 26. Ulutas B., Voyvoda H., Bayramli G. et al.** Efficacy of topical administration of eprinomectin for treatment of ear mite infestation in six rabbits//Vet. Dermatol. – 2005. – Vol. 16. – P. 334–337.
- 27. Wright F. C., Riner J. C.** Comparative efficacy of injection routes and doses of ivermectin against *Psoroptes* in rabbits//Am. J. Vet. Res. – 1985. – Vol. 46. – P. 752–754.

Comparative acaricidal activity of avermectins against rabbit ear itch mite *Psoroptes cuniculi* Delafond, 1859 in vitro

Olehnovich E. I.^{1,2}, Roslavitseva S. A.¹,
Sapozhnikova A. I.², Alekseev M. A.¹,
Mirzaev M. N.², Zavarzin I. V.³

¹ Scientific Research Disinfectology Institute by Rospotrebnadzor, Nauchny pr., 18, Moscow, 117246

² K. I. Skryabin's Moscow state Veterinary medicine and biotechnology academy, ul. Ac. Skryabin, 23, Moscow, 109472

³ N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry RAS, Leninsky pr., 47, Moscow, 119991

Comparative acaricidal activity avermectins rabbit ear itch mite *Psoroptes cuniculi* Delafond, 1859 in vitro is studied. Comparison of mites survival under the acaricide treatment was carried out using the method of the statistical analysis of Kaplan-Meier survival. LT50 and LT95 for different concentrations of active substances are found. They can be used for the acaricides development and for comparison sensitivity of *P. cuniculi* from different populations to these biocides.

Keywords: abamectin, avermectins hemisuccinate. B1a, ivermectin, Aversectin C, *Psoroptes cuniculi*, acaricidal activity, avermectins.