



Способность фипронила предотвращать заражение собак боррелиозом

Richard JACOBSON, John MCCALL, James HUNTER, Roberto ALVA,
Jennifer IRWIN, Andrew ESCHNER, Philippe JEANNIN, Albert BOECKH,

Колледж ветеринарной медицины Университета Джорджии, Колледж ветеринарной медицины Университет Корнелла, США, подразделения компании «MERIAL» в США и Франции

Случаи болезни Лайма у собак зафиксированы на всей территории США, но чаще она встречается в северных штатах, штатах побережья Атлантического океана, штатах среднего запада и в Калифорнии. Заражение происходит, когда возбудитель — *Borrelia burgdorferi* — передается собаке при укусе клеща *Ixodes scapularis* и *Ixodes pacificus*.

Случаи заболевания боррелиозом часто отмечают в эндемичных районах, что предполагает высокую распространенность инфекции. При этом у 5-10% инфицированных собак клинические признаки проявляются в форме поражений конечности или сустава.

Материалы и методы

Были проведены два параллельных независимых исследования с местным применением фипронила в виде спрея (Frontline® Spray) и в сочетании с (S)-метопреном (Frontline® Plus).

В каждое исследование включили 24 гончих собак (по 12 самок и самцов). Животные до и во время проведения опыта находились в одинаковых условиях. В течение 2 недель до момента завершения передачи клещом возбудителя *B. burgdorferi* собаки находились в отдельных стальных клетках, предотвращавших контакт с другими животными, а затем до конца исследования жили в загоне. Клиническое состояние всех животных оценивалось по меньшей мере один раз в сутки. Оба исследования проводились в соответствии с требованиями «TRS Labs Inc., Institutional Animal care and use», которые регулируют использование животных в исследовательских целях.

Для каждого исследования собак рандомизированно распределили по группам, в которых были созданы 3 подгруппы по 8 собак по принципу уменьшения веса: группа 1 — контроль; группа 2 — фипронил за 7 дней до инвазии *I. scapularis*; группа 3 — фипронил за 28 дней до инвазии *I. scapularis*.

Персонал, участвовавший в подсчете клещей, проведении серологических тестов и анализе тканей, не был осведомлен о схемах обработки.

Обработка препаратами

В обоих исследованиях препараты применялись за 28 дней (группа 2) и за 7 дней до инвазии (группа 3);

Профилактика болезни Лайма у собак основана на вакцинации, предотвращении инвазии *I. scapularis* или по крайней мере ограничении длительности периода прикрепления клеща, необходимого для передачи возбудителя *B. burgdorferi*. Например, передача спирохет после прикрепления клеща отмечается уже через 37 часов, но этого зачастую недостаточно для развития инфекции. При передаче *B. burgdorferi* инфекция развивается спустя 52 часа после прикрепления клеща и проникновения микроорганизмов. Таким образом, для уменьшения вероятности инфицирования клещи должны удаляться с шерсти животного в течение 48 часов после прикрепления, т.е. период, в течение которого клещи погибают при обработке животного акарицидами, является важным фактором.

На рынке представлены три препарата, содержащие фипронил и предназначенные для борьбы с блохами и клещами — 0,25% спрей, 10% спот-он и комбинированный препарат, содержащий 10% фипронил и 9% (S)-метопрен (регулятор

роста насекомого). Фипронил может применяться в течение 24-48 часов после заражения у молодых собак, он эффективен против различных видов клещей, включая:

- *Rhipicephalus sanguineus* (коричневый клещ собак);
- *Amblyomma americanum* (звездообразный клещ);
- *Dermacentor variabilis* (американский клещ собак);
- *Ixodes scapularis*;
- *Ixodes ricinus*;
- *Ixodes holocyclus*;
- клещи р. *Haemaphysalis*;
- *Voophilus microplus* (клещ, паразитирующий у КРС).

Для этих видов период эффективности после однократного применения составляет не менее 1 месяца.

Целью настоящего исследования стала оценка эффективности фипронила предотвращать передачу клещами вида *I. scapularis* возбудителя *B. burgdorferi* при заражении, произведенном через 7 и 28 дней после обработки, и способность предотвращать передачу жизнеспособных микроорганизмов *B. burgdorferi* собакам.



собаки в группе 1 не обрабатывались (таблица 1).

В первом исследовании фипронил (спрей) в дозе 6 мл/кг веса местно наносили каждой собаке на спину, живот, боковые поверхности туловища, конечности и область шеи; в область головы спрей наносили осторожно, с помощью обработанных спреем перчаток, втирая в шерсть и избегая контакта с пастью и глазами собаки.

Во втором исследовании фипронил местно применяли в комбинации с (S)-метопреном (спот-он) непосредственно на кожу через раздвинутую шерсть в области средней линии, между основанием черепа и лопатками точно по инструкции. Рекомендуемая доза — 0,67 мл или 1,34 мл — применялась у собак весом от 11 до 22 или от 23 до 44 фунтов (5-10 или 10-20 кг) соответственно.

Клещевая инвазия и возбудитель боррелиоза

Взрослые особи *I. scapularis* были собраны в природных условиях. Степень инфицированности клещей *B. burgdorferi* составила 42%.

Собак поместили в отдельные пластмассовые контейнеры после в/м седации ксилазином (1,1 мг/кг) и кетаминном (10 мг/кг), затем на каждое животное выпустили по 75 клещей.

Таблица 1. Краткая схема исследования эффективности фипронила (спрей и спот-он)

день эксперимента	группа 1	группа 2	группа 3
-42 до -40		серология до лечения	
-28	серология	обработка фипронилом или фипронилом/(S)-метопреном	серология
		серология	
-7	серология	серология	обработка фипронилом или фипронилом/(S)-метопреном
			серология
0	инвазия в область левого плеча 75 клещей, зараженных <i>B. Burgdorferi</i> (женские и мужские особи 50:50); клещи распространялись по телу собаки в течение 1 часа после седации		
	серология		
0, 1, 2	подсчет клещей		
5	подсчет, анализ и удаление клещей		
21, 35, 49, 63, 77	серология		
77-78	биопсия		

Картирование и подсчет клещей на собаках

Места прикрепления клещей были нанесены на бумажный силуэт собаки и пронумерованы с отметкой мест прикрепления самок. Шерсть на местах прикрепления сбрили для определения места возможного взятия биопсии. Данную процедуру повторяли в течение 3 дней после инвазии. Живых клещей, прикрепившихся и не прикрепившихся, подсчитывали через 48 часов после инвазии, осматривая все тело собаки.

На 5 день после инвазии у каждой собаки определяли 4 места наиболее плотного прикрепления клещей и взятия материала для биопсии и отмечали их на бумажном силуэте собаки; живых клещей также подсчитывали и удаляли.

Серология

У каждой собаки брали образцы крови (7 мл), используя пробирки для отделения сыворотки. Всего проведено 8 взятий (таблица 1).


Сыворотку выделяли кратными порциями и хранили при температуре -20°C до момента определения антител к *B. burgdorferi* компьютеризированным методом анализа с помощью кинетического ферментосвязывающего иммуносорбента (KELA). Разведенная сыворотка добавлялась в двоянные лунки планшетов, содержащих антигены

растворимого лизата спрессованных *B. burgdorferi*. Связанные антитела определялись с помощью антител козы (специфично для тяжелых и легких цепей), конъюгированных пероксидазой хрена. Изменение цвета при использовании хромогена тетраметилбензидина с перекисью водорода в качестве субстрата измерялось кинетически и выражалось в виде углового коэффициента изменения степени реакции между ферментом и раствором субстрата. Единицу коэффициента принимали за 1 единицу KELA. Пороговое значение 100 единиц KELA было установлено перед проверкой достоверности оценки для разделения негативных и позитивных результатов; это пороговое значение было подтверждено результатами блоттинга по Вестерну.

Блоттинг по Вестерну использовали для подтверждения инфекции у всех собак на 49 день и у 2 собак на 77 день для прояснения сомнительных результатов, полученных в 49 день. Исследование проводили с небольшой модификацией: процедура приготовления антигена была идентичной; антиген подвергали воздействию 12% акриламида при 200В в течение 4-6 часов. Иммунореактивные белки определяли на нитроцеллюлозной мембране с помощью миниблоттера. Антитела определяли используя разведение сыворотки 1:10 после получения указанного конъюгата.

Блоттинг по Вестерну считали положительным, если связанные антитела определялись по меньшей мере в 3 полосках среди р39, р29-30, р28, р25-26, р22 и р19.

Анализ в культуре и при проведении ПЦР

Биопсию проводили под седативным воздействием (таблица 1). У каждой собаки проводили пункционную биопсию двух участков кожи по 3 мм на 77 или 78 день с каждого из 4 основных мест скопления прикрепленных клещей, выявленных на 5 день после инвазии. 

Окончание в следующем номере

Материал предоставлен компанией «MERIAL»