

A permetrin tartalmú Auriplak krotália hatékonysága a kéknyelv (Bluetongue) betegség vírusának vektorai, a Culicoides-szúnyogok ellen szarvasmarhákánál

A.Liebisch, Gabriele Liebisch, Sandra Heine, Sina Thienel és Patricia Hinrichs

Praktischer Tierarzt 89; 2, 128-141 (2008)

## Összefoglalás

Németországban a permetrin különböző formulációinak hatékonyságát mind a gazdasági haszonállatok, mind a kedvenc állatok vonatkozásában a gyógyszer törvény szerinti vizsgálatokkal igazolták és gyógyszerként alkalmazzák az állatorvosi gyakorlatban. Jelenleg szarvasmarhák számára az Auriplak® Krotália szarvasmarhák részére (1,2g permetrin) nevű készítmény engedélyezett. Az Auriplak®-ot elsősorban legelői környezetben, fiatal állatoknál alkalmazzák repellens és inszekticid hatását kihasználva vérszívó és szekretófogó legyek elleni védekezésre. A kéknyelv betegség 2006-os Németországi felbukkanása óta a Culicoidesek elleni védekezés a bluetongue elleni védekezés részévé vált. Szarvasmarhánál a Culicoidesek elleni védekezésre az egyéb kétszárnyúak elleni védekezésre engedélyezett krotália áll rendelkezésünkre. Ez esetben ugyanarra az állatfajra, csak egy másik parazita elleni engedélyezésre lenne szükség a gyógyszer törvény szerint, de hatékonyságát ennek ellenére bizonyítani kell. Ezért 2007-ben a szúnyogok főszezonjában elvégeztük a Culicoidesek elleni hatékonyság vizsgálatát 1 illetve 2 Auriplak krotáliával felszerelt szarvasmarhák bevonásával. Az alábbi vizsgálat során 2 állományban 165 növendék állatról és 20 tejtermelő tehénről 3319 Culicoides imágót fogtunk be. Ezek között 9 gyakoribb fajt illetve csoportot találtunk, amelyek közül a Culicoides obsoletus és a C. pulicaris domináltak. A szúnyogokat aspirátorral közvetlenül az állatok szőrzetéről vagy UV-fénnyel működő szívó-csapdák segítségével az állatok közeléből gyűjtöttük élve, illetve alkoholban rögzítve. Ezután faj- vagy csoport-meghatározást végeztünk, meghatároztuk a szúnyogok nemét és a vérszívás tényét. Az inszekticid hatás vizsgálata érdekében az élve befogott szúnyogokat kezelt állatok több testtájáról lenyírt szőrrel hoztuk kontaktusba (bioassay). A permetrint tartalmazó krotáliák repellens és inszekticid hatása 2 krotália/állat adagban alkalmazva 19 napig tartott. A vérszívó szúnyogokra kifejtett öltő-hatás a bőrön 1 krotália esetén 7 napig, míg 2 krotália esetén 19 napig tartott. A bioassay során (a kezelt állatok hátáról és hasáról lenyírt szőr esetében) ugyanezt a 7 illetve 19 napos inszekticid hatást tudtuk igazolni. A krotáliák alkalmazásának legnagyobb előnye, hogy csökken a szarvasmarhákát felkereső és azokon vért szívó szúnyogok száma. A repellens hatás és a kontakt öltő-hatás (inszekticid hatás) együttesen csökkent a vért szívó szúnyogok számát. Ezáltal csökken a kezelt állományban a bluetongue vírusával való fertőződés kockázata és a vírus fertőzött szúnyogok révén történő átterjedése más állományokba.

## Bevezetés

Mára bebizonyosodott, hogy a Culicoides-fajok a kéknyelv betegség vírusának fő, és valószínűleg az egyetlen természetes vektorai (Anonym 2007a). 2006 augusztusában jelent meg először a kéknyelv betegség Németországban, így szükségessé vált a kérődzők megóvása a fertőzött vektorok csípésével szemben. Mivel nem álltak rendelkezésünkre adatok sem a Németországban előforduló és vektorként számba jövő kb. 70 (Európában 120) szúnyog fajjal, sem azok lényeges biológiai jellemzőivel (abundancia, szezonális aktivitás, vérszívási szokások, tenyészhely, stb.) kapcsolatban, az EU nemzeti monitoring vizsgálatot kezdeményezett a szarvasmarhák körül előforduló Culicoides-fajokról (Anonym 2006b). 2007

márciusában az entomológiai monitoring vizsgálatot 1 évre kiterjesztették Németország egész területére. A vektorok további elterjedésének figyelemmel követése érdekében 2007 októberében az EU rendeletileg kezdeményezte a vizsgálatok kiterjesztését a tagállamokra.

### A piretroidok állatgyógyászati szerként való alkalmazása Németországban

Németországban az állatok kezelésére alkalmas piretroidok és a piretroid hatóanyagú készítmények csak a gyógyszer törvény szerinti bevizsgálást és engedélyeztetést követően kerülhetnek forgalomba. Világszerte 27 piretroid engedélyezett állatok kezelésére, ebből Németországban a cyfluthrin, a cypermethrin, a deltametrin, a fenvalerát, a flucitrinát és a permetrin engedélyezett szarvasmarhák és juhok kezelésére. Az említett piretroidok egy része az Európai Unióban többféle gyógyszerformában is forgalomban van. A hatóanyagok a praxis és a piac igényeinek megfelelően kerülnek az egyes készítményekbe.

A piretroidok közül régóta bevált a permetrin, amelyet az elsők között engedélyeztettek. Ez a piretroid mind a nagyállat, mind a kedvenc állat praxisban bevált a stacioner és a temporer külső élősködők elleni küzdelemben. A gyakorlatban por, fürdető, spray és pour-on formában alkalmazhatóak bolhák, tetvek és kétszárnyúak elleni védekezésre. A hatékonyság növelése érdekében gyakran alkalmazzák más (akaricid) hatóanyagokkal kombinálva.

A piretroidok háziállatok külső élősködők elleni védelmére való alkalmazhatóságával új védekezési lehetőségek nyíltak meg a szarvasmarhák élősködő és nyugtalanító kétszárnyúak elleni védekezésében legelői környezetben. Erre a piretroidok a hatóanyag-csoportra jellemző tulajdonságaik révén alkalmasak, amelyek közül legkiemelkedőbb az ízeltlábúakkal szembeni igen erős toxicitás és az ezzel összefüggő széles hatásspektrum. Ráadásul megfelelő vivőanyag jelenlétében eloszlanak a testfelületen és helyileg alkalmazva a piretroidok a bőrön és a szőrzeten maradnak, ami kedvező a húsban és a tejben megjelenő maradványanyagok szempontjából.

A legelőn tartott szarvasmarhák tartós, legyek elleni védelmét rögzíthető vivőanyagok, az inszekticid krotáliák kifejlesztésével sikerült megvalósítani. Jelenleg permetrin található ezekben a rögzíthető vivőanyagokban, például az általunk vizsgált, szarvasmarhák számára kifejlesztett Auriplak krotáliában is. A lassú hatóanyag felszabadulás révén a piretroid hosszabb időn keresztül, fokozatosan szabadul fel. A hatóanyag eloszlását a fej és a nyak mozgása biztosítja, amelynek révén az állatok maguk juttatják a fülbe rögzített krotáliából a hatóanyagot a szőrzet felületére. A továbbítás és az eloszlás többek között a szőrszálak összedörzsölődése és az ún. zszindely-effektus révén jön létre. A hatóanyag elsősorban a bőrt borító lipidfilmben oszlik el.

### A permetrin jelenleg igazolt, kétszárnyúak elleni hatékonysága szarvasmarhán

A permetrin testfelületen való alkalmazása során kontakt-inszekticid hatása mellett repellens hatását is felismerték és ki is használják. E tulajdonsága révén alkalmas az állatok repülő rovarok elleni védelmére is legelői körülmények között. A vizsgálatok előterébe került a szarvasmarhák kezelése bögölyök és vérszívó illetve szekretófág legyek ellen, különösen a legyek által terjesztett kórokozók (pl. a nyári mastitis kórokozója) elleni védelem vonatkozásában (Liebisch 1985, 1987a és b).

A permetrin legyek elleni hatékonyságát szarvasmarhán, legelői környezetben - saját vizsgálatunk is - többször megerősítették (Ahrens és Cocke 1979, Liebisch 1987b). Hatékonyak bizonyult vérszívó legyekkel (*Stomoxys calcitrans*, *Haematobia irritans* és *H. stimulans*), szekretófág legyekkel (*Hydrotaea irritans*, *H. albipunctata*, *Musca aututumnalis* és *Morellia hortorum*), illetve kis bögölyökkel szemben (*Haematopota pluvialis* és *H. italica*).

Ezek a vizsgálatok szolgáltatottak alapot különböző permetrin tartalmú készítmények indikációjának meghatározásához és gyógyszer törvény szerinti engedélyezéséhez. Miután a bluetongue elérte Németországot, az Állategészségügyi Járványvédelmi törvény szerint a betegséget bejelentési kötelezettség alá vonták és előírták az ellene való védekezést (Anonym 2006a). Ezzel elsőként került törvényi szabályozás alá Németországban egy ízeltlábú vektorok által terjesztett fertőző betegség. Ez korábban nem történt meg egyik Németországban háziállatokat érintő, vektorok által terjesztett betegség (pl. borreliosis, ehrlichiosis vagy vírusencephalitis) esetén sem. Így a vektorok által terjesztett, járványos betegség elleni védekezésbe be kellett vonni a vektorokat, a Culicoides-szúnyogokat is. A kiadott „Állategészségügyi Járványvédelmi Ajánlás”-ban azonban pontos ismeretek híján csak általánosságban emelték ki a vektorok elleni védekezés fontosságát („szúnyogok elleni védekezés”), ezt is alapvetően Európán kívüli országok tapasztalatai alapján. A kiadványban a „meleg évszakot” egyszerűen márciustól a szúnyogok aktivitásának idejében határozták meg, és ennek alapján rögzítették a szezonális védekezés időtartamát. Több szúnyogfaj azonban a hideg hónapokban is aktív (például az istállókban vagy azok közvetlen környezetében). A kéknyelv betegség 2006 és 2007 során tovább terjedt nyugatról keleti irányba. 2007 végére elérte Németország legkeletibb és legészakibb szövetségi tartományait is (Anonym 2007b). A várakozásoknak megfelelően az Szövetségi Egészségügyi Fogyasztóvédelmi és Állatgyógyászati Intézet által bevizsgált és elismert szerek céltalan kiszorásával többnyire csak mérsékelt és átmeneti eredményeket lehetett elérni, mivel a szúnyogok biológiájáról, elsősorban tenyész-, és élőhelyeikről csak hiányos ismeretek álltak rendelkezésünkre. Szarvasmarhánál a Culicoides imágók elleni védekezéshez a legyek és bögölyök elleni védekezésben bevált készítmények álltak rendelkezésre. A permetrin tartalmú Auriplak® krotália hatékonyságát a gyógyszer törvény szerint igazolták és engedélyezték, maradványanyagai pedig ehető szövetekben és tejben pedig nem jelennek meg. Igazolt hatékonyság esetén Németországban a gyógyszer törvény 56 paragrafusának 2. bekezdése alapján az indikációt egy újabb parazita fajra, a Culicoides-re ki lehetett volna bővíteni. Ugyanakkor a Culicoidesek elleni hatékonyságát még nem bizonyították. Az Európai Unió más tagállamaiban sem rendelkeztek Culicoidesek elleni hatékonyságra vonatkozó adatokkal (Anonym 2007a). Így ellentmondásos viták alakultak ki anélkül, hogy kísérletesen megalapozott adatok bárkinek is a rendelkezésére álltak volna. Jelen tanulmánynak ezért az a célja, hogy megvizsgálja a Culicoidesekkel szembeni hatékonyságot és a német gyógyszer törvény szerinti indikáció-kibővítéshez megalapozott adatokkal szolgáljon.

## Anyag és módszer

### A vizsgálatok helyszíne

A vizsgálat gyakorlati részét Németország északi részén (Hannover körzetében) végeztük, egy olyan területen, ahol már korábbi, 3 éves kutatómunka során feltérképeztük a szúnyogok szarvasmarhák körüli előfordulását, fajspektrumát, abundanciáját és egyéb biológiai paramétereit. (Olbrich 1987. Olbrich u Liebisch 1988). A területet kelet felől (a fertőzés terjedése és az uralkodó szél irányában) közvetlenül a járványvédelmi törvény és a bluetongue elterjedésének megakadályozására kiadott rendelet szerint védőkörzetté nyilvánított területek határolják.

### A vizsgálatban résztvevő állatok

A vizsgálatokat két, legelőn tartott állományból származó növendék szarvasmarhákra és tehenekre végeztük, összesen 165 állat bevonásával, 1 illetve 2 krotália behelyezését követően. A bioassay vizsgálatához 20 darab, 1 krotáliával felszerelt tejtermelő tehénről nyírtuk le a szőrt.

## A vizsgálatok időpontja és időtartama

A vizsgálatokat 2007 áprilisa és szeptembere között végeztük a *Culicoides* szúnyogok fő szezonális aktivitása idején. A szúnyogok aspirátorral való befogását közvetlenül az állatok testfelületéről este 20:30 és 22:00 között végeztük, mivel a szúnyogok az esti órákban keresik fel a legaktívabban a szarvasmarhákat. A szúnyogok aktivitásának csúcsán egy-egy állatnál mindennap legalább 1 órán keresztül számoltuk és gyűjtöttük a szúnyogokat.

1. ábra: Szarvasmarha Auriplak krotáliával.
2. ábra: UV-fénnyel működő szívócsapda a tehénlegelőn.
3. ábra: A szúnyogok élve befogása az állatokról aspirátorral.

## Az álatok kezelése és adagolás

A vizsgálatok megkezdése előtt, a 0. napon a szarvasmarhákat Auriplak® krotáliával (hatóanyag: 1,2 g permetrin/krotália) láttuk el. 85 kezelt állat az ún. védőkörzetben legelt, amelyet a kérődzőkben előforduló bluetongue megbetegedések 20 km-es körzetében állítanak fel. Ezek 2 krotáliát kaptak. További 60 növendék és 20 tehén egy keletre eső területen tartózkodott, amely a betegség előfordulásának 150 km-es körzetében létrehozott megfigyelési körzethez tartozott. Ezek fülébe 1 krotáliát helyeztünk be (1. ábra).

## A szúnyogok befogásának különböző módszerei

A szúnyogfertőzöttség megítélésére 3 módszert alkalmaztunk:

1. A szúnyogok UV-fénnyel működő szívócsapdával való befogása a fajspektrum és a *Culicoides*-populáció abundanciájának meghatározásához. A csapdákat azoknak a helyeknek a közelében állítottuk fel, ahol a szarvasmarhák legszívesebben tartózkodtak (pl. itató) (2. ábra). A csapdák 12 Voltos elemekkel működtek és fotoelektromos kapcsolóval rendelkeztek. A vizsgálatok ideje alatt a csapdák az állatok felé irányítva, bekapcsolt állapotban voltak.

2. A csapdákkal befogott szúnyogokat alkoholt tartalmazó edényekben fixáltuk, majd a csoport vagy a faj szintjéig meghatároztuk.

3. Ugyanezekkel a csapdákkal alkoholt nem tartalmazó befogóedények segítségével élve is fogtunk be szúnyogokat. Ezeket a szúnyogokat használtuk fel indikátor rovarokként a bioassay során (lásd lent). 40 percig tartottuk őket lenyírt szórt tartalmazó edényekben, majd 24 óra elteltével elbíraltuk az eredményt.

4. Az állatokat felkereső szúnyogok számának meghatározásához a szúnyogokat egyenként, közvetlenül az állatok szőréről gyűjtöttük be aspirátorral, 7 napos időközönként (3. ábra). Alkalmanként legalább 60 percig 2-2 állatról végeztünk befogást. Ehhez a rendkívül időigényes és a vizsgáló számra nem teljesen veszélytelen művelethez az állatok egy kis csoportját a legelőn rögzítettük. Később, amikor az állatok már megszokták a vizsgálatot végzők jelenlétét, a toleránsabb állatokat már nem kellett rögzíteni.

5. Az így befogott *Culicoides*eket alkoholban fixáltuk és mikroszkóp segítségével elvégeztük a fajmeghatározást. A szúnyogokat a vérszívás alapján osztottuk „vért nem szívott” (petét nem rakott), „frissen vért szívott”, (petét rakott) és „gravid” csoportokba (2. táblázat). Az inszekticid hatás kimutatásához a későbbi befogások során a szúnyogokat 24 órán keresztül életben tartottuk és csak ezután végeztük el az értékelést.

6. A bioassay vizsgálatokhoz az állatokról 7 napos időközönként szőrmintát nyírtunk le. Minden alkalommal két állat hátáról és hasáról, ugyanarról az oldalról vettünk mintát. A szőrt (0,6 -1 g-ot mintánként) Drosophila-tenyészedényekbe helyeztük. Az üveg alját borító szőrre helyeztünk üvegenként 25-45 db, a 3. pontban leírt módon élve befogott és a mikroszkóp alatt aspirátorral felfogott élő szúnyogot, majd az edényt műanyag habbal zártuk le. Ezáltal tudtuk biztosítani, hogy ténylegesen az állatok élőhelyén az szarvasmarhákat felkereső szúnyogokat, illetve azok populációjában potenciálisan kialakuló rezisztenciát vizsgáljuk. A szúnyogok általában azonnal a szőrszálak közé másztak, így létrejött a kellő kontaktus. Ha azonban kifejezett repellens hatás mutatkozott, a dugót közvetlenül a szőrminta fölé helyeztük, így kényszerítve a szúnyogokat a szőrrel való megfelelő érintkezésre. 40 percig tartottuk a szúnyogokat a szőrmintával egy edényben, majd aspirátor segítségével tiszta edénybe helyeztük őket át. A 40 percet saját megfigyeléseink alapján választottuk, ami egybeesik más szerzők megfigyeléseivel is (Braverman 1992, Holbrook 1986): ennyi idő kell a szúnyogoknak természetes körülmények között, hogy az állatok testfelületén a szőrzeten keresztül a bőrre jutva vért szívjanak, majd tovább repüljenek. A kontaktust követően szobahőmérsékleten tartottuk a szúnyogokat majd 24 óra elteltével meghatároztuk az élő és az elpusztult szúnyogok számát, ezáltal meghatározva a szőrzet permetrinnel való impregnálódásának hatékonyságát. A továbbtartás 24 órája alatt a szúnyogok folyadék és táplálékigényének biztosítására minden üvegbe a dugóhoz rögzítettünk egy-egy cukros vízzel átitatott szűrőpapír-csíkot.

1. táblázat: A vizsgálat során meghatározott szúnyog fajok

<b>C. obsoletus komplex</b>
C. obsoletus
C. scoticus
C. chiopterus
<b>C. pulicaris komplex</b>
<b>egyéb</b>
C. nubeculosus
C. dewulfi
C. festevipennis
C. fasciipennis
C. circumscriptus

2. táblázat: A 2 krotáliával felszerelt szarvasmarhákról aspirátorral befogott szúnyogok száma és a frissen vért szívott szúnyogok aránya.

Vizsgálat napja	Szúnyogok		Frissen vért szívott szúnyogok %-ban	Begyűjtés helye
	vért nem szívott	frissen vért szívott		
2. nap	0	0	0	Has, lábvégek
4. nap	0	0	0	Has, lábvégek
9. nap	0	0	0	Has, lábvégek
12. nap	0	0	0	Has, lábvégek
19. nap	117	1	0,9	Has, lábvégek

21. nap	14	1	6,6	Has, lábvégek
25. nap	15	3	16,6	Has, lábvégek
26. nap	404	23	6,4	Has, lábvégek
28. nap	777	7	0,9	Has, lábvégek
35. nap	490	27	5,2	Has, lábvégek, hát
38. nap	100	5	4,8	Has, lábvégek, hát
42. nap	28	2	6,7	Has, lábvégek, hát
Összeg	1945	69		
Összes	2014			

### Éghajlati és időjárási adatok rögzítése

A vizsgálatok helyszínén a vizsgálatok ideje alatt elektronikusan rögzítettük a hőmérsékletet és a páratartalmat. A csapadék mennyiségét és eloszlását a helyszínén, a legelőkön mértük. A régió egészére nézve a kb. 30 km távolságra található meteorológiai állomás vonatkozó adatait és az értékek sokéves átlagát vettük figyelembe.

### Eredmények

#### A fajspektrum meghatározása

Ahhoz, hogy a Culicoidesek fajspektrumát meghatározhassuk, először a csapdákkal befogott Culicoideseket mikroszkóp segítségével elkülönítettük a meglehetősen nagyszámú, mellékesen befogott rovarból (n=23 315), majd ezt követően történt meg a faji besorolás. A befogott 3 319 Culicoides vizsgálata során 9 faj illetve taxonómiai csoport került meghatározásra (1. táblázat). A fajspektrum egy része korábbi vizsgálatok során már meghatározásra került (4. ábra). Jelen vizsgálatunkban az Auriplak® krotália hatékonyságát a leírt fajokkal szemben vizsgáltuk.

#### 4. ábra: A szarvasmarhákat felkereső szúnyogok fajspektruma és az egyes fajok aránya

C. dewulfi: 29,4%  
 C. obsoletus: 21,8%  
 C. chiopterus: 5%  
 C. scoticus: 22,1%  
 C. punctatus: 7,5%  
 Egyéb fajok: 14,2%

#### Az abundancia napszaki eloszlása és a repülési aktivitás

Mindkét biológiai paramétert a szarvasmarhák egyedi megfigyelésével vizsgáltuk. A vizsgálat ideje alatt megállapítottuk, hogy a szúnyogok csípési aktivitása a nyári időszakban egyértelműen az esti órákban, napnyugta előtt, 20:30 és 22:00 között a legkifejezettebb. Ez az aktivitási mintázat rendkívül kifejezetten mutatkozott, így mivel a szúnyogok elsősorban a napnyugta előtti órákban keresték fel az állatokat, erre az időpontra tudtuk időzíteni a szarvasmarhák testfelületéről történő begyűjtésüket.

#### Repellens hatás

Kifejezett időbeli összefüggést mutattunk ki a krotália repellens hatásával és a szúnyogok repülési aktivitásával kapcsolatban, de a szúnyogokat befolyásolta a repellens hatás abban is, hogy az állatok mely testtájait keresték fel. Többéves tapasztalataink azt mutatják, hogy a legelőn a szúnyogok a nem kezelt állatok minden testrészét felkeresik vérszívás céljából. A leszállás helyén azonnal eltűnnek a szőrszálak között, hogy a bőrhöz érve vért szívjanak (Liebisch u. Liebisch 2007). Nem csak a vékony bőrrel borított hasi részeket vagy a fülkagyló belső felületét részesítik előnyben, mint például a púposszúnyogok (Simuliidae), hanem a hát-ágyéki területen is szívnak vért.

Az Auriplak® krotália repellens hatását legjobban a szúnyogok vizsgálati módszereknél leírt aspirátorral való egyedi begyűjtésekor lehetett megfigyelni. A krotáliák repellens hatása a szőrzet perimetrinnel való impregnálódása révén a hát, a mellkas és az ágyék területén a kezelést követő 4. hétig egyértelműen megfigyelhető volt (2. táblázat). Ez alatt az időszak alatt a 2 Auriplak krotáliával kezelt állatok fent leírt testrészein még a szúnyogok fő aktivitásának idején sem láttunk Culicoideseket. Ez a repellens hatás a test mindkét oldalán megfigyelhető volt, ami megegyezik más szerzők megfigyeléseivel (Braverman 1992). A várakozásoknak megfelelően az alsó (mellkas alja, has alsó része) és a distális (végtagok) testrészekre kevésbé jutott el a repellens hatóanyag. Ezeken a részeken már a 19. napon megjelentek a szúnyogok. Az első friss, teljes vérszívást egy hasról begyűjtött szúnyognál figyeltük meg (2. táblázat).

#### Inszekticid hatás (Killing effect)

A kezelést követő 3. héttől figyeltünk meg egyértelmű inszekticid hatást a szőrszálak közül aspirátorral befogott szúnyogoknál. A szőrön illetve a bőrfelületen a hatóanyaggal érintkezésbe került szúnyogok a befogáskor benuitnak, életképtelennek látszottak. A befogóedénybe került szúnyogoknak csak elenyésző hányada élt 24 óránál tovább. A kontaktus révén kialakuló inszekticid hatás tehát nyilvánvaló volt.

Az eredményeket a 3. táblázatban foglaltuk össze. A vizsgálati napon összesen 118 szúnyogot fogtunk be élve a szarvasmarhákról és a további értékelésig 24 órán keresztül megőriztük őket. 24 óra elteltével a szúnyogok 89%-a (n=105) elpusztult, 11%-uk (n=13) élt. Az élők között voltak az első olyan szúnyogok, amelyek vérrel teleszívták magukat, ezek a hason vagy a végtagok alsó részein táplálkoztak. Ez a hatékonyság végét jelentette. A csökkenő hatékonyság a vért nem szívott, de túlélő szúnyogok arányának növekedésével válik nyilvánvalóvá (3. táblázat). Ezek aránya a 19. napon 10%, a 28. napon 20% és a 35. napra 30% fölé emelkedik.

A nagyobb rovaroknál (vérszívó legyek, bögyölyök, cecelegyek) megfigyelhető „knock-down” hatás, amikor a rovar a piretroidokkal való érintkezést követően reverzibilis hátfekvésbe kerül, itt nem jelentkezett annyira jellegzetesen. A befogáskor oldalukon vagy hátukon fekvő szúnyogokat elpusztultnak tekintettük.

#### Bioassay a hátról és a hasról származó szőrmintákkal

##### Bioassay 1 Auriplak krotáliával felszerelt állatokról származó szőrmintákkal

A krotália behelyezését követő 7., 14. és 21. napon gyűjtöttünk szőrmintát alkalmanként két-két állat hátáról és hasáról. Az 1 krotáliával felszerelt állatok hátáról származó szőrmintákkal elvégzett bioassay során a 14. napon találtuk az első túlélő szúnyogot, a hasról származó szőrmintában pedig már a 7. napon túlélte a kontaktust a szúnyogok 16%-a. Ez az érték a 14. napra elérte az 50%-ot.

##### Bioassay 2 Auriplak krotáliával felszerelt állatokról származó szőrmintákkal

2 Auriplak krotáliával felszerelt szarvasmarhákkal végzett korábbi vizsgálataink és megfigyeléseink alapján, amikor is 3 hetes Culicoides elleni hatékonyságot tapasztaltunk, a bioassay-hez a 19. napon gyűjtöttünk szőrmintát.

A 19. napon begyűjtött mintákkal elvégzett bioassay során sem a hátról, sem a hasról begyűjtött minták esetén nem találtunk túlélő szúnyogokat. Az első túlélő szúnyogokat a következő, 28. napon gyűjtött mintákkal elvégzett vizsgálatok során találtuk. A túlélők aránya a hasról gyűjtött mintánál 40%-kal magasabb volt, mint a hátról származó szőr esetén. A 2 Auriplak krotáliával felszerelt szarvasmarhák esetében tehát az inszekticid (killing effect) hatás tartama 3 hét, ahogyan ezt korábbi gyakorlati kísérleteink során is tapasztaltuk.

Megbeszélés és következtetések

Hatékonyság különböző Culicoides-fajokkal szemben

A gyakorlati vizsgálatok és a bioassay egyaránt alátámasztják a permetrin-tartalmú Auriplak® krotália Culicoides imágókkal szembeni hatékonyságát szarvasmarhákénál. Hatékonyság alatt repellens és inszekticid (killing-effect) hatást értünk.

Bizonyítottuk a krotália hatékonyságát a szarvasmarhákat érintő legfontosabb és leggyakoribb Culicoides fajokkal szemben. A vizsgálat végzésének helyszínén 9 Culicoides faj (taxonómiaiilag legalább csoport szintig beazonosított) találtunk a szarvasmarhák közelében (1. táblázat). Korábbi 3 éves vizsgálatok során már részben azonosítottuk a szarvasmarhákat érintő fajspektrumot (4. ábra). A vizsgált szúnyogokat részben közvetlenül a szarvasmarhákról, részben az állatok közelében, UV-fénnyel működő csapdák segítségével fogtuk be.

A bluetongue vírus vektoraival szembeni hatékonyság

Világszerte a Culicoides nembe tartozó szúnyogokat tartják a bluetongue vírus vektorainak (Anonym 2007a, Zientara et al 2006). Az itt csoport vagy faj szintig beazonosított szúnyogfajokat a bluetongue-vírus potenciális vektorainak kell tekintenünk Európában. A Friedrich-Löffler Víruskutató Intézetben (Riems sziget) a bluetongue vírusát többször sikerült kimutatni a 2006/2007-es német járványkitörések során Culicoides obsoletus és C. pulicaris csoportba tartozó szúnyogokból. Jelen vizsgálat során is előfordultak fajok mindkét Culicoides nembe tartozó csoportból, ráadásul domináns arányban.

3. táblázat: Túlélő szúnyogok aránya 2 Auriplak krotáliával felszerelt szarvasmarháról történő befogás után 24 órával.

Kezelés után eltelt napok száma	Culicoidesek összesen	Kontroll 24 óra elteltével	Culicoidesek száma		Begyűjtés helye
			vért szívott	vért nem szívott	
19	118				Has, lábak
	<b>13</b>	<b>élő</b>	<b>1</b>	<b>12</b>	
	105	elpusztult	3	102	
28	639		7	632	Has, lábak
	<b>129</b>	<b>élő</b>	<b>0</b>	<b>129</b>	
	510	elpusztult	7	503	
35	468		20	448	Hát, has, lábak
	<b>149</b>	<b>élő</b>	<b>4</b>	<b>145</b>	
	319	elpusztult	16	303	

1 illetve 2 krotália / szarvasmarha dózisfüggő hatékonysága

A 2 krotáliával felszerelt hízó- és az 1 krotáliával felszerelt tenyész-állomány között kimutatható volt a krotália hatékonyságának dózis-függése a Culicoidesekkel szemben.

A 2 krotáliával felszerelt növendék-állomány, amely a 20km-es védőkörzeten belül tartózkodott, 2007 novemberéig, a szúnyogok szezonális abundanciájának elmúltával is mentes maradt a kéknyelv betegség vírusától.

Azonban 2 megbetegedés is jelentkezett az 1 krotáliával felszerelt tenyész-állományban, amely a 150 km-es megfigyelési körzeten belül tartózkodott. A krotália hatékonyságának csökkenését követően, a kezelés utáni 16. illetve 20. héten jelentkezett a kéknyelv betegség enyhe tünetekkel 1 bikánál és 1 tehénél. Az ellenanyag-szint kétszeresére emelkedett mindkét állatnál és a két laboratóriumban elvégzett antigén-kimutatás pozitívnak bizonyult a bluetongue vírusának 8-as szerotípusára. Az állomány többi tagja mind szerológiailag, mind PCR-rel negatív maradt. \*\*

\*\* Ennek a bluetongue megbetegedésnek a klinikuma, laboratóriumi diagnosztikája és az entomológiai vizsgálatok külön publikáció anyagát képezik.

A két állat fertőződése az állomány többi tagjának negativitása mellett arra utal, hogy a fertőződés egy-egy fertőzött szúnyog vérszívásával jön létre. Ez a jelenség más kezelt állományokban is megfigyelhető volt. A megfigyelés azonban annak a lehetőségét is alátámasztja, hogy ezeket az apró repülő rovarokat a szél (itt az uralkodó nyugati szél) messzire sodorhatja. A szél szerepét leírták már a szúnyogok egyik kontinensről a másikra való terjedésében is (Papadopoulos 1991).

Vektor-kompetencia és vektor-kapacitás

Jelenleg nem tudjuk, hogy a bluetongue vírusának átviteléhez hány fertőzött szúnyog csípése szükséges. Más vérszívó vektor-csoportok (beleértve vírus-vektorokat is) biológiájának vizsgálata azt mutatta ki, hogy a vektorkapacitás és a vektor kompetencia meghatározó a kórokozó továbbadásának szempontjából.

Vektor kompetencia alatt a vektor minden olyan tulajdonságát értjük, amelyek a vektor és a kórokozó kapcsolatát jellemzik. Ide tartozik a kórokozó és a vektor közvetlen viszonya is. Ez alatt értjük az ízeltlábú kórokozóval szembeni érzékenységét, a kórokozó átadásának képességét egy megfelelő gazdának (gyakran a vektor szervezetében való szisztémás elszaporodást követően) és a kórokozó transzovariális átterülését a vektor utódaiba (Tabachnik 1994). Ha ezt a hosszú évek során, evolúciósan kialakult szoros és komplex viszonyt megértjük, már csak annak felderítése marad hátra, hogy természetes körülmények között más ízeltlábúak (például más szúnyogok, bolhák, vérszívó legyek vagy bögölyök) is játszhatnak-e szerepet a betegség terjesztésében.

Vektorkapacitás alatt a vektor szaporodásának minden aspektusát értjük. Ide tartozik a gazdafajlagosság, a vérszívás és a táplálékfelvétel gyakorisága, időtartama és módja, a vektorfaj populációjának abundanciája és sűrűsége, de a populáción belül a fertőzött egyedek aránya is. A fertőzöttség és a megbetegedés szempontjából jelentősége van a kórokozó virulenciájának, a kórokozó törzsnek és a fogékony gazdaszervezet immunválaszának is. Könnyen elképzelhető, hogy már egyetlen fertőzött Culicoides csípése elegendő a vírus átviteléhez. A bluetongue járványtana alapján érthető, hogy csak akkor tudnánk pusztán a vektorok szabályozása révén megoldani a betegség elleni védekezést, ha a szúnyog-csípések 100%-át képesek lennénk kivédeni. Ezt a célt azonban a komoly erőfeszítések ellenére még olyan nagy, humán orvosi szempontból jelentős „vector-borne” azaz vektor által terjesztett

megbetegedések esetén sem sikerült maradéktalanul elérni, mint a malária, az álomkór, a különböző vírusfertőzések, a rickettsiosisok vagy a borreliosis.

A Culicoidesek elleni védelemben is csak időben erősen korlátozott hatékonyságra számíthatunk, még akkor is, ha a hatóanyag (jelen esetben a permetrin) hatékonysága jó és a lehető legmegfelelőbb alkalmazási módot választjuk. A teljes védelem érdekében a vektorok elleni védekezés mellett a fogékony gazdaszervezet ellenálló-képességének támogatására is szükség van akár vakcinák, akár más gyógyszerek segítségével. Ez azonban nem jelenti azt, hogy a megfelelő vektorok elleni védekezés elhagyható. Ezt kellőképpen alátámasztják a melegebb éghajlatokon már ősidők óta fennálló, járványos állati és emberi megbetegedésekről szerzett ismereteink.

5. ábra: A csapadékmennyiség a vizsgálat ideje alatt (2007) és a sokéves átlag.

x-tengely: Csapadék (mm)

y-tengely: Vizsgálat időtartama: május, június, július, augusztus, szeptember

A hatóanyag eloszlása a testfelületen

Vizsgálataink során testtájanként –hát, alsó testrészek – eltérő inszekticid illetve repellens hatékonyságot figyeltünk meg, ami a hatóanyag egyenetlen eloszlására utal.

A krotáliából a permetrin a szőrzetben és a bőrt borító lipidfilmben oszlik el. A hatóanyag eloszlását a fej és a farok mozgása segíti elő. Ebből adódik, hogy a dorsalis és a laterális testrészekre több hatóanyag kerül. Ezt már a legyek elleni hatékonyság vizsgálatánál leírták és megfigyelhető a szúnyogok esetében is. Amerikai vizsgálatok szerint (Mullens 2000) is csak részlegesen sikerült megvédeni a szarvasmarhákat a hátra felvitt 5%-os permetrin oldattal, a *C. sonorensis* egyedek a kezelést követően a hasi részeket keresték fel vérszívás céljából. Annyit azonban hozzá kell tennünk, hogy a mi vizsgálatainkkal ellentétben az amerikai vizsgálatok helyszínén a szúnyogok abundanciája többszöröse (akár százszorosa) a német területekének. Ez tehát sokkal nagyobb fertőzési potenciált jelent. Ennek ismeretében ugyanezek az amerikai szerzők megismételték a kísérletet egy kaliforniai hízlaló telepen is. Ennek érdekessége, hogy a ventrálisan, kiegészítésként alkalmazott 0,2%-os permetrin spray tovább csökkentette a szúnyogok számát (Mullens 2001).

Mostanában az USA-ban és az Egyesült Királyságban egyre gyakrabban használják a piretroidokat dorsalisán és topikálisán alkalmazva, kiegészítve a ventrális részek permetrines lefújásával. A kiegészítő kezelések a vektorpopuláció csökkentésén keresztül csökkentették a szarvasmarhák bluetongue vírusával való fertőzöttségét is. Ezért jelenleg is folynak a megbeszélések (EFSA) a védekezési mód Európai Unión belüli alkalmazásáról (2007a).

Az időjárás hatása a vizsgálatokra

Az időjárás egyaránt befolyásolja a szúnyogok szaporodását és viselkedését (állatok felkeresése). A hőmérséklet, a páratartalom a szél és a fény a legfontosabb tényezők. A vizsgálat helyszínén ezeket a paramétereket korábbi többéves vizsgálatok (Elger 1985, Olbrich 1987) során is rögzítették, de jelen vizsgálataink során is végeztünk méréseket. A vizsgálat éve (2007) a potsdami Német Meteorológiai Szolgálat szerint a legcsapadékosabb év volt 1893 óta, amióta rögzítik az időjárási adatokat. A vizsgálat évének egy részében jóval a többéves átlag feletti csapadékmennyiség hullott (5. ábra). Ha a júniust nem vesszük figyelembe, a májusban leesett 170 mm csapadék háromszorosa a sokévi átlagnak és a júliustól szeptemberig tartó időszakban lehullott csapadék 120 mm-rel volt több a sokévi átlagnál. A csapadék abszolút mértékben is nagy mennyisége és annak eloszlása

nyilvánvalóan befolyásolta a hatékonyságot és a hatékonyság időtartamát, bár ennek mértéke nehezen meghatározható.

Az USA-ban, Wyomingban fenvalerát-krotáliákkal végzett vizsgálatokból (Holbrook 1986) tudjuk, hogy kiadós esőzést követően 6 nap elteltével a hatékonyság kiemelkedően magas volt az állatok hasi részein. Az esőzést tartják a dorsalis testtájakon megfigyelhető hatékonyság-csökkenés legfőbb tényezőjének. Ráadásul a háti részeken a napsugárzás is hozzájárul a hatóanyag lebomlásához.

Az Auriplak krotália alkalmazásának előnyei szarvasmarhákánál

Az Auriplak-krotáliák alkalmazása több szempontból is hasznos a kezelt állomány számára. Ezek közül is első helyen áll a legelői vérszívó kétszárnyúak elleni védelem és azok populációjának csökkentése. A szarvasmarhák számára készült permetrin-tartalmú krotáliák legyek és bögölyök elleni hatékonysága nemzetközi szinten is bizonyított és elismert. Eme hatékonysága a kicsi, ám annál nagyobb létszámban előforduló bökőlegyek (*Haematobia irritans*) esetében a legnyilvánvalóbb. Ennek magyarázata a peterakás kivételével állandóan a szarvasmarhák tartózkodó légyfaj tenyészhelyében keresendő. A legkülönbébb tenyészhelyekkel beérő szúnyogokkal ellentétben a *H. irritans* kizárólag a szarvasmarhán való vérszívásra, annak testén való tartózkodásra és azok trágyájában való szaporodásra specializálódott (Elger 1985, Nielsen 1973). A kezelés következtében számuk csökkenése vagy akár a teljes populáció összeomlása ezért ennél a légyfajnál a legkifejezettebb (Liebisch 1987a).

A szúnyogokkal (*Culicoides*) szembeni hatékonyságot a jelen vizsgálat igazolta először Németországban. Külföldön, elsősorban az USA-ban több vizsgálatot is végeztek a piretroidok *Culicoides*ekkel szembeni hatékonyságát illetően. Mullens (1993) bioassay vizsgálatokat végzett a hátukon permetrin pour-onnal kezelt kecskék lenyírt szőrével, amelynek során a szúnyogok 45 perc elteltével teljesen bénultak voltak. A fejről származó szőr 98%-kal csökkentette a szúnyogok számát 18-20 napon keresztül, a hátról nyert minta fokozatosan csökkenő mértékben 69 napig, míg a hasról származó 4-6 napig volt hatékony. Holbrook (1986) Wyomingban (USA) 1 fenvalerát-krotáliával (0,8g/krotália) felszerelt szarvasmarhák szőrmintáival végzett bioassay vizsgálatokat. A fülről, vállról, mellkas alsó részéről és a törzsről vettek mintát 7-10 nappal a krotália felhelyezését követően. A vizsgálatokat egy integrált védekezési program kifejlesztésének részeként végezték. A bioassay során a szúnyogokat (*C. variipennis*) 30 percen keresztül tartották egy Petri-csészében a szőrmintákkal, majd tiszta üvegbe áttéve 24 óra elteltével bírálták el a mortalitást. A szőrrel való kontaktust a szúnyogok táplálékfelvételének átlagos ideje alapján határozták meg.

Az egy krotáliával felszerelt állatok esetében nem csak a test mindkét oldalára jutott elegendő fenvalerát, hanem másik állatokra is az állományban. A fenvalerát krotáliákkal végzett vizsgálatok eredményei biztatóak a krotáliák bluetongue elleni integrált védekezési programban való felhasználhatóságát illetően.

Ha egyedül a krotáliában lévő permetrin szúnyogokra kifejlesztett inszekticid hatását nézzük, elmondhatjuk, hogy az nem képes megakadályozni egy-egy fertőzött szúnyog vérszívását és az vírus ezáltal terjesztését. A bioassay vizsgálatok során azonban bebizonyosodott, hogy amíg a rovarok a vérszívás helyét keresve a szőrszálak között másznak, elegendő permetrinnel kerülnek kontaktusba ahhoz, hogy elpusztuljanak mielőtt egy másik állatot vérszívásukkal megfertőzhetnének (legalább 7 napig 1 krotália/állat és 19 napig 2 krotália/állat esetén).

Jelen vizsgálat során bebizonyosodott a krotáliák hatékonysága a szúnyogok elleni védekezésben, mivel a legfontosabb *Culicoides*-fajokkal szemben 19 napos repellens, és 7 (1 krotália/állat) illetve 19 (2 krotália/állat) napos inszekticid hatást tudunk igazolni. Az

Auriplak-krotália állományszintű alkalmazásának előnyeit legjobban egy integrált védekezési program (például vakcinázással egybekötve) részeként alkalmazva használhatjuk ki. A krotáliákkal csökkenthetjük, vagy akár teljesen meg is szüntethetjük a fertőzött szúnyogok és ezen keresztül a vírus-fertőzés terjedését. Ez nem csak állomány szinten, hanem a bluetongue járványtanát ismerve nagyobb földrajzi területekre is kiterjedő jelentőséggel bír.