

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ СССР

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
ПО ПРИМЕНЕНИЮ БАКТОКУЛИЦИДА ДЛЯ
БОРЬБЫ С ЛИЧИНКАМИ КРОВОСОСУЩИХ КОМАРОВ**

Москва, 1983 год

Методические указания разработаны Киевским Государственным университетом им. Т. Г. Шевченко Минвуза УССР, Всесоюзным научно-исследовательским институтом сельскохозяйственной микробиологии МСХ СССР, Всесоюзным научно-исследовательским институтом дезинфекции и стерилизации Минздрава СССР и Всесоюзным научно-исследовательским институтом гигиены и токсикологии пестицидов, полимерных и пластических масс Минздрава СССР.

Методические указания предназначены для работников санитарно-эпидемиологических и дезинфекционных станций.

Местным органам здравоохранения представляется право размножить настоящие методические указания в необходимом количестве экземпляров.

УТВЕРЖДАЮ
Зам. начальника Главного
управления карантинных инфекций
Министерства здравоохранения СССР
О. Г. Имамалиев

10 марта 1983 г.
№ 28/6—5

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

по применению бактокулицида для борьбы
с личинками кровососущих комаров

1. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

1.1. Бактокулицид является новым эффективным отечественным биопрепаратом, предназначенным для борьбы с личинками кровососущих комаров в нерыбохозяйственных водоемах.

1.2. Бактокулицид изготовлен на основе споровой кристаллообразующей бактерии *Bacillus thuringiensis* H₁₄. Бактокулицид — однородный серовато-коричневый порошок, содержащий споры, кристаллический эндотоксин, остатки питательной среды и наполнитель — хлористый натрий. 1 г препарата содержит не менее 90 млрд. жизнеспособных спор и кристаллов эндотоксина.

1.3. Бактокулицид является избирательным микробным препаратом кишечного действия, энтомоцидность которого проявляется при активном питании насекомых. При попадании в пищеварительный канал личинок комаров препарат вызывает токсикоз и последующую их гибель.

1.4. Сроки гибели личинок колеблются от нескольких часов до нескольких дней и зависят от дозы препарата, возраста и физиологического состояния личинок, гидрологических и биоценологических характеристик водоемов.

1.5. Препарат применяют для уничтожения личинок малярийных и немалярийных комаров во всех природных зонах и всех типах водоемов.

1.6. Бактокулицид относится к группе малотоксичных для человека и теплокровных животных веществ (IV класс опасности), не обладает кожно-раздражающими, аллергенными и сенсibilизирующими свойствами. Он практически безвреден для нецелевых гидробионтов и других компонентов природного комплекса, относительно быстро инактивируется в водоемах.

2. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧЕЙ ЖИДКОСТИ

2.1. Перед проведением обработок определяют необходимое количество препарата, исходя из типа и размера водоема (см. раздел 3). Рекомендуется применять 0,5—3% водную суспензию бактокулицида. Расчет количества препарата, необходимого для приготовления рабочих суспензий требуемых концентраций, приведен в таблице.

Таблица

Концентрация рабочей суспензии, в % %	Количество препарата (в г), необходимое для приготовления разных объемов рабочей суспензии			
	1 л	10 л	100 л	1000 л
0,5	5,0	50,0	500,0	5000,0
1,0	10,0	100,0	1000,0	10000,0
1,5	15,0	150,0	1500,0	15000,0
2,0	20,0	200,0	2000,0	20000,0
3,0	30,0	300,0	3000,0	30000,0

2.2. Приготовление рабочей жидкости осуществляют в два этапа. Сначала препарат тщательно растирают в небольшом количестве воды до получения однородной пастообразной массы. Затем полученную пасту разбавляют водой при непрерывном помешивании до требуемого объема рабочей жидкости.

2.3. Для приготовления рабочих суспензий можно использовать любую воду с температурой не выше +30° С.

2.4. Приготовление рабочей суспензии проводят непосредственно перед обработкой, т. к. при длительном хранении она расслаивается.

2.5. При использовании моторных опрыскивателей эту операцию выполняют с помощью заправочных агрегатов. При отсутствии таковых можно применять резервуары с механическими мешалками или баки достаточной емкости с мотопомпами или автоцистерны.

3. МЕТОДЫ ПРИМЕНЕНИЯ

3.1. Борьбу с личинками комаров проводят наземными методами. Начинать обработку целесообразно в период преобладания личинок II—III возраста.

3.2. Дозировку и норму расхода препарата по действующему веществу (ДВ) определяют исходя из видового состава личинок комаров, размера и типа водоема, степени загрязненности воды.

3.3. Для уничтожения личинок рр. *Aedes* и *Culex* при обработке: а) мелководных (глубиной 0,3—0,5 м) мало- и среднезаросших растительностью водоемов, заселенных личинками I и II возраста используют 0,5% водную суспензию при дозировке 0,5 кг ДВ на га; заселенных личинками III—IV возраста используют 1,0% водную суспензию при дозировке 1,0 кг ДВ на га; б) водоемов глубиной свыше 0,5 м и сильно заросших растительностью, заселенных личинками I—II возраста, используют 1,0% водную суспензию при дозировке 1,0 кг ДВ на га; заселенных личинками III—IV возраста — 1,5% водную суспензию при дозировке 1,5 кг ДВ на га; в) водоемов сильно загрязненных органическими веществами (отстойники, сточные канавы и др.) используют 3,0% водную суспензию при дозировке 3,0 кг ДВ на га.

Расход водной суспензии составляет 100 л на га.

3.4. Для уничтожения личинок малярийных комаров бактерицид применяют в дозе 2—3 кг/га.

3.5. При обработке водоемов, находящихся в подвальных помещениях и образованных подпочвенными и фильтрационными водами, для уничтожения личинок I—II возраста используют 2,0% водную суспензию при дозировке 0,1 г на м²; для уничтожения личинок III—IV возраста — 3,0% водную суспензию при дозировке 0,15 г ДВ на м². При обработке водоемов, образованных канализационными водами, расход препарата увеличивается до 0,3 г ДВ на м².

Расход водной суспензии составляет 50 л/га.

3.6. Повторные обработки проводят по энтомологическим показаниям. Учет личинок проводят по стандартной методике до обработки и на 1, 2, 3 день после нее. Если через три дня в водоемах не достигнута 100% гибель личинок, обработки повторяют. Оценка эффективности обработки вычисляют по формуле:

$$\text{эффективность в \%} = \left(1 - \frac{Б}{А}\right) \cdot 100;$$

где А — плотность личинок до обработки.

Б — плотность личинок после обработки.

3.7. Остаточное ларвицидное действие препарата в зависимости от химического состава воды, содержания в ней органических примесей, освещенности и температурного режи-

ма водоема и вида личинок колеблется в пределах 5—10 суток.

3.8. Способ обработки в каждом конкретном случае определяется типом водоемов и наличием аппаратуры. Небольшие по площади, легко доступные водоемы можно обрабатывать вручную, внося готовую суспензию из ведра, садовой лейки и т. п. Для наземной обработки обширных временных и постоянных водоемов используют дезустановки ДУК, ЛСД, ВДМ, автомаксы, гидропульты, ОРМ-2 и другую аппаратуру для опрыскивания. При недоступности обработок зеркала водоема с берега их можно проводить с лодок, используя ручные и ранцевые опрыскиватели.

3.9. Для обработки подвалов используют гидропульты, ручные или ранцевые опрыскиватели с длинной штангой. Небольшие по площади подвальные водоемы можно обрабатывать сухим препаратом, распыляя его по поверхности.

4. ТРАНСПОРТИРОВКА И ХРАНЕНИЕ ПРЕПАРАТА

4.1. Препарат расфасован в полиэтиленовые мешки по 5, 10 и 15 кг, упакованные в двухслойные крафтовые мешки.

4.2. Бактокулицид транспортируют всеми видами транспорта с предохранением его от атмосферных осадков. Транспортные средства должны быть сухими и чистыми. Не допускается перевозка препарата с продуктами питания и людьми.

4.3. Препарат хранят в сухих, защищенных от атмосферных осадков и солнечного света помещениях при температуре воздуха не выше +30° С. Не допускается хранение бактокулицида совместно с химическими инсектицидами и дезинфектантами.

4.4. Хранить бактокулицид следует в заводской таре, на которой должна быть этикетка с наименованием препарата, датой изготовления, указанием срока годности, номером документа о качестве, предусмотренном ТУ.

4.5. При соблюдении условий хранения гарантийный срок годности бактокулицида не менее 1,5 лет со дня изготовления. По истечении указанного срока, перед использованием препарат должен быть проверен на соответствие требованиям ТУ (приложение 1).

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С БАКТОКУЛИЦИДОМ

Бактокулицид является малотоксичным препаратом (IV класс опасности), однако, при работе с ним следует соблюдать меры предосторожности.

5.2. При работе с бактокулицидом необходимо использовать халаты (или комбинезоны), резиновые технические перчатки, защитные очки. Для защиты органов дыхания используют респираторы «Лепесток» или 4-х слойные марлевые повязки.

5.3. Во время работы с бактокулицидом запрещается курить, пить и принимать пищу.

5.4. После окончания работы с препаратом — тщательно вымыть лицо и руки с мылом и прополоскать рот.

5.5. Посуду, которую использовали при приготовлении суспензий тщательно моют 2% раствором соды, но и после этого ее не используют для приготовления пищи и хранения пищевых продуктов.

5.6. К работе с бактокулицидом не допускают лиц с хроническими воспалительными заболеваниями органов дыхания, зрения, кожи лица, склонных к аллергическим реакциям.

5.7. Люди, постоянно работающие с бактокулицидом, проходят периодические медицинские осмотры в соответствии с приказом Минздрава СССР № 400 от 30.05.69 г.

6. МЕРЫ ПЕРВОЙ ПОМОЩИ

6.1. При попадании препарата в глаза тотчас промыть их струей воды или 2% раствором питьевой соды, обильно в течение нескольких минут. При раздражении слизистой глаз закапать в них 30% раствор альбуцида.

6.2. При случайном попадании препарата в желудок — промыть его, для чего дать выпить несколько стаканов воды или слабого раствора марганцевокислого калия (1:5000 — 1:10000) и раздражением задней стенки глотки вызвать рвоту.

6.2. При попадании препарата на кожу — вымыть загрязненное место водой с мылом.

МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ АКТИВНОСТИ БАКТОКУЛИЦИДА

Бактериальные препараты, в том числе бактокулицид, содержащие жизнеспособные споры и продукты жизнедеятельности микроорганизмов, обладают ограниченным сроком годности, что связано со снижением титра спор и инактивированием токсинов. По истечении срока годности, препараты еще некоторое время могут быть использованы при условии, что их активность будет перепроверена и, соответственно, будут внесены поправки в дозировки препарата. Критерием оценки активности бактокулицида служит величина концентрации, обеспечивающая 50% гибель подопытных насекомых (ЛК-50).

1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛК₅₀ БАКТОКУЛИЦИДА

1.1. Оборудование и реактивы.

Кюветы эмалированные фотографические	— 1 шт.
Кристаллизатор стеклянный, емк. 3 л.	— 1 шт.
Чашки Петри стерильные	— 25 шт.
Груша резиновая № 1	— 1 шт.
Наконечник стеклянный	— 1 шт.
Цилиндры мерные на 100 мл	— 1 шт.
на 50 мл	— 3 шт.
на 25 мл	— 1 шт.
Колбы емкостью 1 л	— 1 шт.
500 мл	— 1 шт.
100 мл	— 2 шт.
250 мл	— 4 шт.
Пипетки на 1 мл	— 1 шт.
Вода водопроводная дехлорированная	— 2,5 л
Вода водопроводная стерильная	— 200 мл
Сухие обезгореченные дрожжи	— 1 пакет
Измельченные белые сухари	
Весы аналитические АД-200	— 1 шт.

1.2. Сбор живого материала.

Для определения ларвицидной активности используют личинок комаров III или IV возраста, которых собирают в природных водоемах.

В лаборатории личинок переносят в стеклянный кристаллизатор или аналогичную емкость, наполненную отстоянной в течение суток водопроводной водой, и выдерживают 24 часа для отсева поврежденных и больных особей. Личинок содержат при температуре воды, оптимальной для используемого вида комаров.

1.3. Методика определения активности препарата.

Для определения активности бактокулицида готовят водную суспензию препарата в 5 концентрациях: 1,0 г/л; 0,5; 0,25; 0,125 и 0,06 мг/л, обеспечивающих от 96 до 10% гибели личинок.

Для этого навеску 100 мг препарата, взвешенную на аналитических весах, помещают в колбу с 50 мл стерильной водопроводной воды. Смесь тщательно перемешивают. Затем в колбу доливают еще 50 мл стерильной воды и снова перемешивают. Полученное разведение (I) содержит 1 г/л препарата. Из него готовят разведения II и III следующим образом:

II: 1 мл суспензии из I разведения + 99 мл стерильной воды, перемешать;

III: 40 мл из II + 360 мл дехлорированной воды, перемешать.

Из разведения III (1 мг/л) готовят следующие разведения:

IV: 100 мл из III + 100 мл дехлорированной воды, перемешать (0,5 мг/л);

V: 50 мл из III + 150 мл дехлорированной воды, перемешать (0,25 мг/л);

VI: 25 мл из III + 175 мл дехлорированной воды, перемешать (0,125 мг/л);

VII: 12,5 мл из III + 187,5 мл дехлорированной воды, перемешать (0,06 мг/л).

Для определения активности препарата испытывают концентрации II—VII.

Личинок, отобранных для определения ларвицидной активности препарата, при помощи груши со стеклянным наконечником рассаживают по 25 штук в стерильные чашки Петри, заполненные 50 мл взвеси препарата соответствующего разведения. Контролем служат личинки, помещенные в 50 мл стерильной воды.

Определение активности препарата проводят в 3—4 повторностях при оптимальной для личинок температуре воды. Кормом личинкам служит взвесь сухих пивных дрожжей и измельченных белых сухарей (1:1), который добавляют в количестве 20 мг на каждую чашку Петри.

1.4. Обработка результатов.

Через 24 часа после постановки опытов подсчитывают число погибших личинок в каждой повторности и вычисляют процент их гибели по каждой концентрации (среднее арифметическое) и в контроле. При этом погибшими считают всех личинок, которые при постукивании стеклянной палочкой о борт чашки, остаются неподвижными (не всплывают). Если гибель в контроле превышает 5% но не больше 20%, то необходимо внести поправку, пересчитав смертность по формуле Аббота:

$$X = \frac{\% \text{ гибели в опыте} - \% \text{ гибели в контроле}}{100 - \% \text{ гибели в контроле}} \cdot 100$$

Если гибель в контроле превышает 20%, опыт считается недействительным и его повторяют.

Летальную концентрацию LK_{50} вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(50 - B) \cdot (a - b)}{A - B} + b$$

где А — показатель гибели свыше 50%;

В — показатель гибели ниже 50%;

а — концентрация, вызывающая А;

в — концентрация, вызывающая В.

Определенную таким образом LK_{50} сравнивают с LK_{50} , указанной в паспорте для этой партии препарата и делают заключение о его активности.

Если различия между показателями не превышают 15%, препарат считают не утратившим активности. В противном случае необходимо вносить поправку в дозировки, которые увеличивают во столько раз, во сколько снизилась активность препарата.

Л-78683 от 14.06.83 г.

Зак. 1113.

Тир. 500.

Типография Министерства здравоохранения СССР