МИНИСТЕРСТВО
СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(Минсельхоз России)

ДЕПАРТАМЕНТ ВЕТЕРИНАРИИ

107139, Москва, Орликов пер., 1/11,
Для телеграмм: Москва, 84
Минроссельхоз.
Телекс: 411258 ЗЕРНО
Факс: (095) 9755850, Тел.: 9755850
E-mail: chief@devet.aris.ru

13.06.02 № 13-5-02/0466

На №

[ ]

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель руководителя
Департамента ветеринарии

Е.А.Непоклонов

"13" июня 2002 г.

[МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ]

по диагностике
акарапидоза и экзоакарапидоза пчел

1. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

1.1. Клещи рода **Акарапис** паразитируют на взрослых медоносных пчелах. На поверхности тела насекомых находят наружного клеща (**Acarapis externus**), спинного клеща (**A. dorsalis**) - возбудителей экзоакарапидоза пчел, а в их трахеях - **A. woodi** - возбудителя карантинного заболевания пчел - акарапидоза.

Клещи **A. externus** и **A. dorsalis** вызывают беспокойство и гибель зараженных пчел в период зимовки. При массовой заклещеванности пчел в семье возможен частичный или полный распад клуба и образование большого количества подмора. В активный пчеловодный сезон насекомые теряют способность к полету. При поражении пчел трахейным клещом **A. woodi** признаки болезни нетипичны. У насекомых появляется поиос, они теряют способность к полету, когда одно или оба задних крыла изменяют свое типичное положение, располагаясь под разными углами, вплоть до перпендикулярного к оси их тела (феномен "К-крыло"). В зимний период происходит ослабление силы больных семей и их гибель весной или ранним летом.

Возможно одновременное поражение пчел всеми указанными видами клещей рода **Акарапис**.

1.2. Для исследования направляют не менее 50 живых внутриульевых пчел или такое же количество трупов свежего подмора. При массовом обследовании пчел на пораженность их **A. woodi** методом гомогенизации проба должна содержать около 200 пчел из семьи.

1.3. Живых пчел перед обследованием убивают этиловым эфиром или замораживанием при -20°С.

2. ПОРЯДОК ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. В лаборатории возбудителей экзоакарапидоза обнаруживают в смывах и при осмотре тела пчел.

2.1.1. Пчел помещают во флакон или пробирку, заливают жидкостью Удемана (87 частей 70%-ного этилового спирта, 5 частей глицерина, 8 частей ледяной уксусной кислоты), 70%-ным этиловым спиртом с 5% глицерина или водной эмульсией стирального

gost.e-ecolog.ru

порошка (по объему на каждые 20 частей дистиллированной воды используют 1 часть стирального порошка) и встряхивают в течение 10-15 минут. Через сутки встряхивание повторяют, пчел удаляют пинцетом, жидкость центрифугируют при 2000 оборотах в минуту в течение 10 минут и сливают. Осадок исследуют под микроскопом в затененном поле зрения с целью обнаружения клещей.

2.1.2. На пчелах клещей можно найти под бинокулярной лупой МБС-1 или МБС-2. Паразитов снимают тонкой препаровальной иглой.

2.2. Для обнаружения **A. woodi** применяют индивидуальное вскрытие пчел пробы или при проведении массовых исследований - одновременным исследованием всех пчел из пробы.

2.2.1. При индивидуальном исследовании пчелу кладут на спину и делают один поперечный разрез грудки сзади передней пары ног, удаляют у ней голову, и второй разрез впереди средней пары ног и передних крыльев. Вырезанные сегменты тела, содержащие первую пару дыхалец и трахеи, для удаления мышечной ткани помещают в 8-10%-ный раствор КОН (NaOH), слегка нагревают в течение 20 минут и оставляют в растворе на ночь при комнатной температуре, после чего промывают и просматривают под увеличением ×8-20. Мелкие овальные тела клещей видны через прозрачные стенки трахеи. Наличие желтых, коричневых и черных пятен на стенках трахей подтверждают положительный диагноз на акарапидоз.

2.2.1.1. Для детального изучения структур тела клеща изолированные трахеи переносят на другое предметное стекло в каплю глицерина или дистиллированной воды и микроскопируют под большим увеличением (×100, ×400) в затененном поле зрения.

2.2.1.2. Для контрастирования деталей строения тела паразитов в трахеях срезы грудки (см. п. 2.2.1.) толщиной 1-1,5 мм помещают в 8-10%-ный раствор КОН (NaOH) и нагревают почти до кипения, выдерживая клещей в нем в течение 10 минут. Содержимое выливают на фильтр, промывают водопроводной водой, окрашивают в течение 5 минут 1%-ным водным раствором метиленового синего (сначала готовят раствор указанной концентрации и к нему добавляют хлористый натрий в таком количестве, чтобы его концентрация составляла 0,85%), выдерживают в дистиллированной воде 2-5 минут, прополаскивают 70%-ным этанолом и микроскопируют. На светло-голубом фоне трахеи видны темно-синие клещи.

2.2.1.3. Для дифференциации живых и мертвых клещей выделенные без предварительной обработки щелочью трахеи пчел помещают в каплю красителя (5 мг тиазол голубой тетразолин в 5 мл дистиллированной воды) на предметном стекле, накрывают, слегка придавливая покровное стекло, чтобы удалить воздух, и микроскопируют. В течение нескольких секунд живые клещи окрашиваются в пурпурный, а погибшие - в зеленовато-желтый цвет.

2.2.2. При проведении массовых исследований пчел используют метод гомогенизации материала или компрессорный метод.

2.2.2.1. Перед гомогенизацией у пчел удаляют голову, крылья, ноги и брюшко. Оставшиеся грудки насекомых помещают в стакан объемом 100 мл, заливая в него на 1/4 объема дистиллированную воду. Гомогенизируют три раза по несколько секунд при 10000 оборотов/минуту. Суспензию пропускают через сито (с отверстием 0,8 мм), ополаскивают водой, доводя окончательный объем жидкости до 50 мл. Фильтрат центрифугируют при 1500 оборотов 5 минут, надосадочную жидкость удаляют, к осадку добавляют несколько капель молочной кислоты, оставляя её на 10 минут, а затем микроскопируют. У обнаруженных клещей определяют видовую принадлежность.

2.2.2.2. При компрессорном методе у пчел удаляют голову, крылья, ноги и брюшко. Грудки насекомых помещают в пробирки с 8-10%-ным раствором щелочи (КОН или NaOH), выдерживая их при комнатной температуре в течение суток, затем промывают водопроводной водой и просушивают на фильтровальной бумаге. Положив грудку пчел на спинную сторону, захватывают её анатомическим пинцетом с боков и переносят на компрессорий. В каждую клеточку компрессория выдавливают содержимое грудки одной пчелы, и скальпелем слегка счищают возможные остатки трахей с места выхода со-

держимого. После заправки клеточек накладывают второе стекло, компрессорий свинчивают и просматривают под малым увеличением микроскопа. Недостаток этого метода - потеря трахей у некоторых пчел.

2.3. Патологический материал после проведения исследований сжигают.

3. ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ КЛЕЩЕЙ

3.1. Клещи рода **Акарапис** морфологически сходны, мелкие и бесцветные, самки размером 0,07-0,14 × 0,1-0,21 мм, самцы 0,06-0,11 × 0,08-0,17 мм, тело сжато в спинно-брюшном направлении, овально-вытянутой формы. Передний отдел тела паразита отделён от заднего поперечным желобком. На спинной стороне имеется 3 щитка. Ротовой аппарат колюще-сосущий, по бокам с вентральной стороны у самок расположены стигмы. Четыре пары ног с характерным набором щетинок.

3.2. Самок клещей рода **Акарапис** дифференцируют по следующим признакам:

- **A. externus**: аподема (отходящие книзу от ротового конуса складки покрова, рис. А, 1.) занимают 2/3 длины проподосомы (переднего отдела тела); кокса IV (лучше видна при фазово-контрастной микроскопии просветлённого материала) усечённая (рис. А, 2.), длина последнего членика четвёртой пары ног более 11 мкм (рис. А, 3.). Чаще всего находят на нижней и боковых поверхностях сочленения между головой и грудью пчелы.

- **A. woodi**: аподема занимает 2/3 длины проподосомы (рис. Б, 1.); поверхность коксы IV с мелким зубцом (рис. Б, 2.); длина последнего членика четвёртой пары ног меньше 8 мкм (рис. Б, 3.). Обитает в трахеях пчёл.

- **A. dorsalis**: аподема занимает полную длину проподосомы (рис. В, 1.); кокса IV с глубоким зубцом (рис. В, 2.); последний членик четвёртой пары ног меньше 10 мкм (рис. В, 3.). Паразит на теле пчелы локализуется в области скуто-скутеллярной бороздки, у основания крыльев, на крыльях и первом брюшном сегменте.

3.3. **A. woodi** следует дифференцировать от проникающих в трахеи погибших пчел личинок клеща **Tyrophagus putrescentae**, которые имеют три пары ног, иную сегментацию тела и строение ног.

3.4. Наружных акараписов необходимо отличать от встречающихся на теле пчёл акароидных и других тромбидиформных клещей, используя соответствующие руководства по их определению (например, Определитель обитающих в почве клещей. Л.: Наука, 1977; М.: Наука, 1978 и др.).

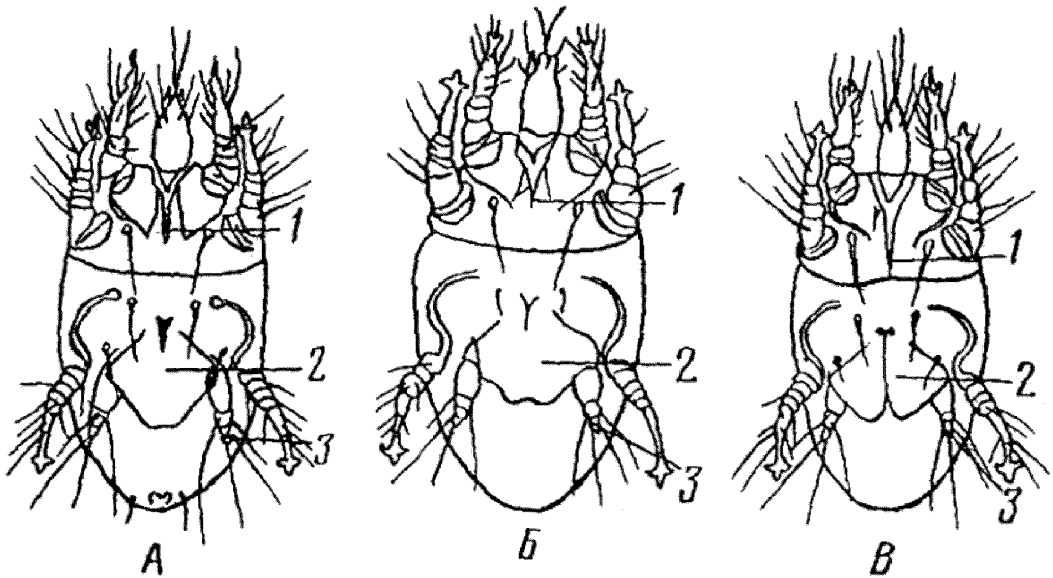
4. ДИАГНОЗ

4.1. Диагноз на экзоакарапидоз считается положительным после обнаружения его возбудителей на теле пчел, а на акарапидоз - при выявлении **A. woodi** в трахеях насекомых.

* * *

Методические указания по диагностике возбудителей акарапидоза и экзоакарапидоза пчел переработаны и дополнены сотрудниками ВИЭВ, ВНИИВЭА, ВНИИВСГЭ, ТГСХА и ЗНКЛ ВГНКИ (г. Курган).

С утверждением настоящих Методических указаний утрачивают силу на территории Российской Федерации "Методические указания по диагностике наружных клещей акарапис на пчелах", утвержденные ГУВ МСХ СССР 05.07.1983 года и "Методические указания по диагностике акарапидоза пчел", утвержденные ГУВ МСХ СССР 20.04.1984 года.



gost.e-ecolog.ru

Рис. Различия в строении тела акараписов;
А —A. externus; *Б* — *A.* woodi; *В* — *A.* dorsalis; 1 — аподема; 2 — кокса; 3 -членик лапки (Мишель, 1962).