



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

ИЗ.06.02 № ИЗ-5-02/0466

На № _____

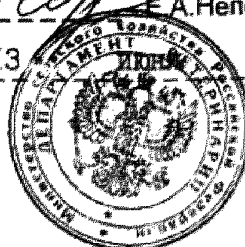
[_____]

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель руководителя
Департамента ветеринарии


Е.А. Непоклонов

"ИЗ



2002 г.

[МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ]

по диагностике
акарапидоза и экзозакарапидоза 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 экзозакарапидоза 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 понос, 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°C.

2. ПОРЯДОК ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. В лаборатории возбудителей экзозакарапидоза 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

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 нее 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 $\times 8-20$. 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 микрофотографируют под большим увеличением ($\times 100$, $\times 400$) 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 микрофотографируют. 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 микрофотографируют. 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 микрофотографируют. 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-

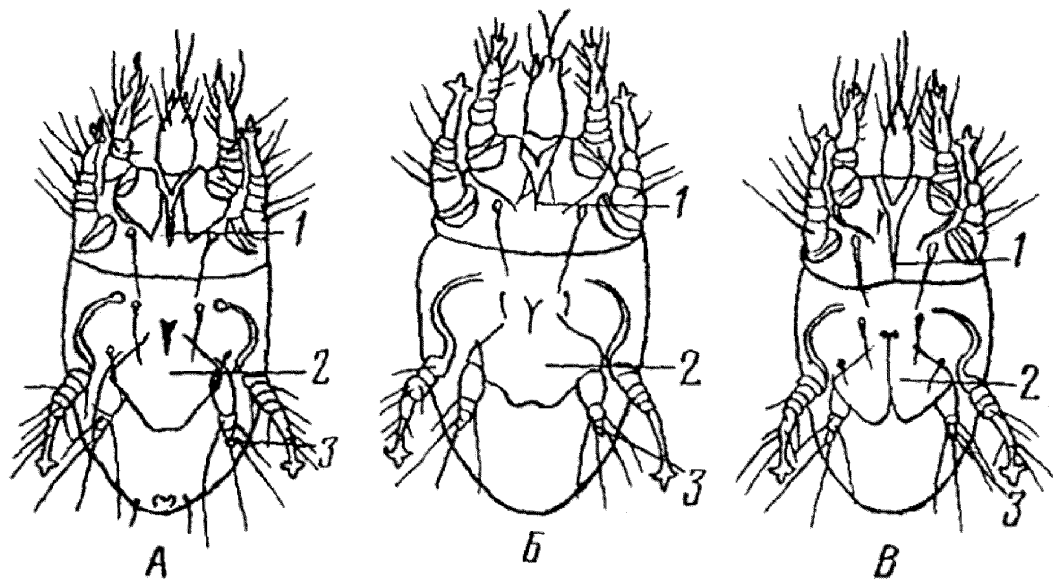


Рис. Различия в строении тела акараписов;
 А — *A. externus*; Б — *A. woodi*; В — *A. dorsalis*; 1 — аподема; 2 — кокса; 3 -членик лапки (Мишель, 1962).