




original article | UDC 636.2:616.995.428:330.341.1 | doi: 10.31210/visnyk2022.04.14

EFFICIENCY OF THE PROPOSED METHOD OF MANUFACTURING TEMPORARY MICROPREPARATIONS OF TICKS OF THE GENUS *CHORIOPTES*

S. Kovalenko^{1*}

ORCID  [0000-0002-5755-9724](https://orcid.org/0000-0002-5755-9724)

V. Melnychuk^{1,2}

ORCID  [0000-0003-1927-1065](https://orcid.org/0000-0003-1927-1065)

¹ Poltava State Agrarian University, 1/3 Skovorody St., Poltava, 36003, Ukraine

² Institute of Veterinary Medicine of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, 30 Donetska St., Kyiv, 03151, Ukraine

*Corresponding author

E-mail: kovalennko97@ukr.net

How to Cite

Kovalenko, S., & Melnychuk, V. (2022). Efficiency of the proposed method of manufacturing temporary micropreparations of ticks of the genus *Chorioptes*. *Bulletin of Poltava State Agrarian Academy*, (4), 119–125. doi: 10.31210/visnyk2022.04.14

Acaroses of cattle are widespread and are recorded on all continents where they are grown. The causative agents of acaroses have a wide habitat, in particular, ticks of the genus Chorioptes occupy one of the leading places among other ectoparasites of the order Akariformes. Laboratory methods for the diagnosis of acaroses, including chorioptosis, are based on the detection of eggs, larvae, nymphs, and mature mites in skin scrapings, as well as their identification. To this end, it is recommended to produce micro preparations according to the proposed techniques. The research aimed to propose a method for the production of temporary micro preparations of ticks of the genus Chorioptes isolated from cattle. The proposed method belongs to the field of veterinary medicine, namely veterinary parasitology, and can be used for the preparation of anatomical and morphological preparations of ticks of the genus Chorioptes for their further identification to the species, as well as for the study of fauna and morphological and metric features in the structure of ticks of the genus Chorioptes. This method is characterized by the fact that live ticks of the genus Chorioptes are used to make total temporary preparations, where a two-component medium is used to fix them, which stains the parasites. The results of the studies show that the best staining of the morphological structures of the body of ticks of the species Chorioptes bovis (chelicerae, propodosomal and hysterosomal shields, ornament of the propodosomal shield, pelvis, ambulacra, bristles, palps) is provided by exposure of objects in the proposed mixture for 90 minutes. At the same time, under the condition of exposure for 10 minutes, the morphological features of seven structural elements of the tick's body had an unsatisfactory degree of coloration, one – satisfactory. Under the condition of exposure for 30 minutes, the morphological features of four structural elements of Chorioptes bovis ticks also had an unsatisfactory degree of coloration, four – satisfactory. Under the condition of exposure for 60 min. morphological features of four structural elements of Chorioptes bovis had a high level of coloration, three – satisfactory, one – unsatisfactory. The data obtained allow us to recommend the proposed method of manufacturing temporary micro preparations to improve the identification of permanent ectoparasites of the species Chorioptes bovis.

Keywords: parasitology, chorioptosis, cattle, *Chorioptes bovis*, diagnostics, preparation of microdrugs, efficiency.

ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАПРОПОНОВАНОГО СПОСОБУ ВИГОТОВЛЕННЯ ТИМЧАСОВИХ МІКРОПРЕПАРАТІВ КЛІЩІВ РОДУ *CHORIOPTES*

С. О. Коваленко¹, В. В. Мельничук^{1, 2}

¹ Полтавський державний аграрний університет, м. Полтава, Україна

² Інститут ветеринарної медицини Національної академії аграрних наук України, м. Київ, Україна

Акарози великої рогатої худоби поширені повсюдно і реєструються на всіх материках, де її вирошують. Збудники акарозів мають широкий ареал існування, зокрема кліщі роду *Chorioptes* посідають одне з провідних місць серед інших ектопаразитів ряду *Akariformes*. Лабораторні методи діагностики акарозів, зокрема й хоріоптозу, засновані на виявленні у зіскрібках шкіри яєць, личинок, німф та статевозрілих кліщів, а також на проведенні їх ідентифікації. З цією метою рекомендовано проводити виготовлення мікропрепаратів згідно із запропонованими техніками. Метою досліджень було запропонувати спосіб виготовлення тимчасових мікропрепаратів кліщів роду *Chorioptes*, виділених від великої рогатої худоби. Запропонований спосіб відноситься до галузі ветеринарної медицини, а саме ветеринарної паразитології, і може бути використаний для приготування анатомо-морфологічних препаратів кліщів роду *Chorioptes* з метою їх подальшої ідентифікації до виду, а також для вивчення фауни та морфологічних і метричних особливостей у будові кліщів роду *Chorioptes*. Цей спосіб характеризується тим, що для виготовлення тотальних тимчасових препаратів використовують живих кліщів роду *Chorioptes*, де для їх фіксації застосовується двокомпонентне середовище, яке підфарбовує паразитів. Результати проведених досліджень свідчать, що найкраще забарвлення морфологічних структур тіла кліщів виду *Chorioptes bovis* (хеліцери, проподосомальний та гістеросомальний щити, орнамент проподосомального щита, тазик лапок, амбулакри, щетинки, пальпи) забезпечує витримка об'єктів у запропонованій суміші впродовж 90 хвилин. Водночас за умови експозиції 10 хв морфологічні ознаки семи структурних елементів тіла кліща мали незадовільний ступінь забарвлення, одного – задовільний. За умови експозиції 30 хв. морфологічні ознаки чотирьох структурних елементів кліщів *Chorioptes bovis* мали також незадовільний ступінь забарвлення, чотирьох – задовільний. За умови експозиції 60 хв. морфологічні ознаки чотирьох структурних елементів хоріоптесів мали високий рівень забарвлення, трьох – задовільний, одного – незадовільний. Отримані дані дозволяють рекомендувати запропонований спосіб виготовлення тимчасових мікропрепаратів для підвищення ідентифікації постійних ектопаразитів виду *Chorioptes bovis*.

Ключові слова: паразитологія, хоріоптоз, велика рогата худоба, *Chorioptes bovis*, діагностика, виготовлення мікропрепаратів, ефективність.

Вступ

Акариформні кліщі (Acari: Acariformes), що є постійними ектопаразитами, об'єднують величезну групу, надзвичайно різноманітну як таксономічно, так і екологічно. Більшість цих кліщів сконцентровано у парвояді Psoroptidia (Astigmata) – понад 1150 видів, 168 родів, 12 родин [1, 2]. Окремі види акариформних кліщів є паразитами людини та домашніх тварин і мають важливе медико-ветеринарне значення [3–5]. Ряд кліщів, що спричиняють акарозні захворювання у сільськогосподарських тварин, зокрема й хоріоптоз, відносяться до родини Psoroptidae [6–8].

З метою виявлення кліщів роду *Chorioptes* на тілі тварини проводять дослідження зіскрібків, відібраних з уражених ділянок шкіри. Ці методи лабораторної діагностики акарозу засновані на виявленні в отриманому матеріалі яєць, личинок, німф та статевозрілих кліщів [9–11]. Водночас, не проводячи генетичних досліджень, встановити приналежність до того чи того виду кліщів, виділених із зіскрібків-проб, можна лише дослідивши форму, розмір та морфологічну будову самих кліщів, а також опістосомальних лопатей та розташованих на них щетинок дорослих кліщів цієї популяції [12–15]. Тому для більш детального вивчення морфологічних структур кліщів необхідно проводити виготовлення тотальних мікропрепаратів, де автори пропонують різні способи та техніки. Зокрема, існує загальновідомий спосіб приготування тотальних препаратів із гамазових кліщів, де як середовище, яким їх фіксують, використовують рідину Фора-Берлезе (гуміарабікова суміш). Її застосовують для виготовлення як постійних, так і тимчасових тотальних препаратів з кліщів різних видів [16]. Також є загальновідомий спосіб виготовлення тимчасових препаратів у суміші гліцерину та спирту. У такому разі як середовище використовується суміш, що складається з гліцерину та спирту [17].

ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА

Зважаючи на вищезазначене, актуальним є розробка способу виготовлення тимчасових мікропрепаратів кліщів роду *Chorioptes* in toto, який є простим у виконанні, не потребує вартісних реактивів, дає змогу отримати тимчасові тотальні мікропрепарати кліщів, морфологічні структури яких добре проглядаються під мікроскопом.

Метою досліджень було запропонувати спосіб виготовлення тимчасових мікропрепаратів кліщів роду *Chorioptes*, виділених від великої рогатої худоби. Для досягнення мети розв'язували такі задачі: випробувати запропонований спосіб виготовлення тимчасових мікропрепаратів кліщів роду *Chorioptes*; визначити ефективність запропонованого способу.

Матеріали і методи досліджень

Роботу виконували впродовж 2022 року на базі лабораторії кафедри паразитології та ветеринарно-санітарної експертизи Полтавського державного аграрного університету. Відбір матеріалу від великої рогатої худоби проводили в умовах ТОВ «Комишуватський молочний комплекс» Красноградського району Харківської області.

Для встановлення оптимального часу, за який відбувається зафарбовування морфологічних структур комах, згідно із запропонованою методикою, досліджено 30 екземплярів кліщів виду *Chorioptes bovis*. Після перенесення живих комах у двокомпонентне середовище їх накривали покривним скельцем і залишали у спокої на 10, 30, 60 та 90 (+1) хвилин. Ступінь забарвлення морфологічних структур тіла кліща визначали шляхом перегляду препаратів під мікроскопом за умови збільшення $\times 40$; $\times 100$. Показник забарвлення умовно поділяли на високий, задовільний та незадовільний.

Результати досліджень та їх обговорення

Результати проведених досліджень свідчать, що за умови експозиції 10 хв. морфологічні структури кліщів *Chorioptes bovis*, такі як хеліцери, проподосомальний та гістеросомальний щити, орнамент проподосомального щита, тазик, амбулакри та щетинки мали незадовільний рівень забарвлення, а пальпи – задовільний (табл.).

Ступінь забарвлення морфологічних структур тіла кліщів виду *Chorioptes bovis* під дією запропонованої суміші, n=30

Морфологічні структури	Експозиція, хв			
	10	30	60	90
Пальпи	**	**	***	***
Хеліцери	*	*	**	***
Проподосомальний щит	*	*	**	***
Орнамент проподосомального щита	*	**	***	***
Гістеросомальний щит	*	**	***	***
Тазик (кокса)	*	*	**	***
Амбулакри	*	*	*	**
Щетинки	*	**	***	***

Примітка: ступінь забарвлення: * – незадовільний; ** – задовільний; *** – високий.

За умови експозиції 30 хв. морфологічні ознаки 4-х структурних елементів кліщів *Chorioptes bovis* (хеліцери, проподосомальний щит, тазик, амбулакри) мали також незадовільний ступінь забарвлення, а інші 4 структурні елементи (пальпи, орнамент проподосомального щита, гістеросомальний щит, щетинки) – задовільний. За умови експозиції 60 хв. морфологічні ознаки 4-х структурних елементів хоріоптесів (пальпи, орнамент проподосомального щита, гістеросомальний щит, щетинки) мали високий рівень забарвлення, 3 (хеліцери, проподосомальний щит, тазик) – задовільний, 1 (амбулакри) – незадовільний. Виявлено, що найкраще забарвлення морфологічних структур тіла кліщів виду *Chorioptes bovis* забезпечує витримка об'єктів у запропонованій суміші впродовж 90 хвилин, де 7 структурних елементів кліщів *Chorioptes bovis* (пальпи, хеліцери, проподосомальний та гістеросомальний щити, орнамент проподосомального щита, тазик, щетинки) мали високий рівень забарвлення, а забарвлення амбулакр – задовільний (рис. 1–4).

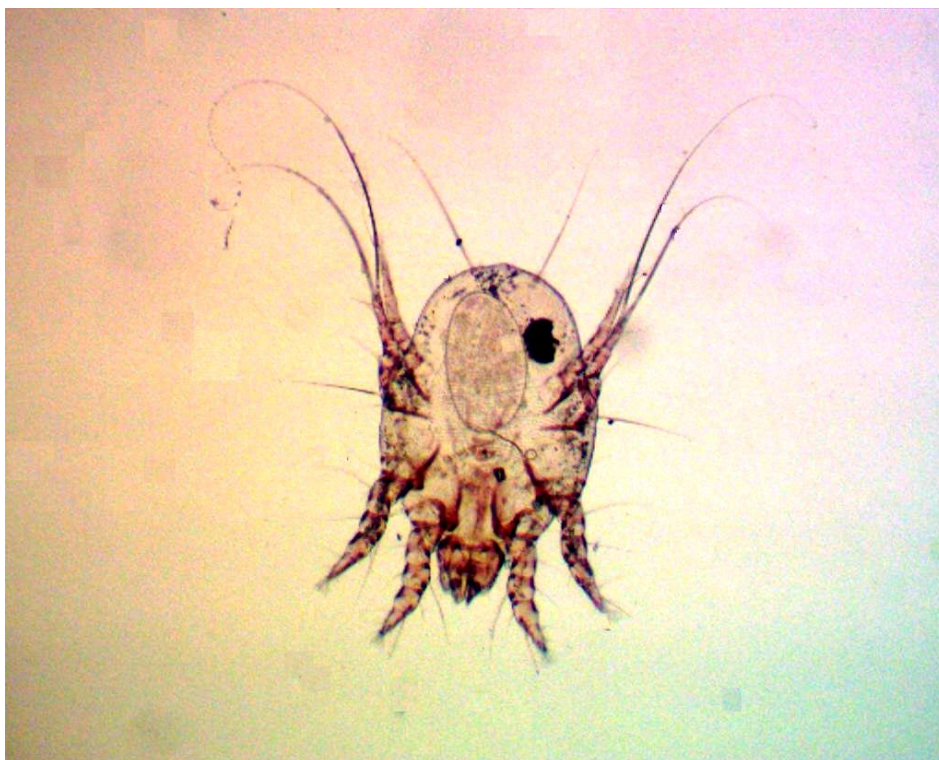


Рис. 1. Загальний вигляд Chorioptes bovis на мікропрепараті, виготовленому за удосконаленим способом (× 40)



Рис. 2. Забарвлення пальп, хеліцер, кокс Chorioptes bovis на мікропрепараті, виготовленому за удосконаленим способом (× 100)



Рис. 3. Забарвлення щетинок, орнаментації проподосомального щита, гістеросомального щита Chorioptes bovis на мікропрепараті, виготовленому за удосконаленим способом (× 100)



Рис. 3. Забарвлення амбулакр Chorioptes bovis на мікропрепараті, виготовленому за удосконаленим способом (× 100)

Отже, виготовлення мікропрепаратів зі збудників акарозів, зокрема й хоріптозу, є необхідним для ефективної видової ідентифікації при встановленні діагнозу. Зокрема, для виготовлення препаратів з кліщів і комах запропоновано декілька методик, де як просвітлення паразитів використовують різноманітні рідини та суміші, такі як Фора-Берлезе (гуміарабікової суміші), гліцеринно-спиртової [16, 17]. Також є

удосконалені методики, де для виготовлення мікропрепаратів зі збудників вароозу бджіл запропоновано просвітлення кліщів олією соняшниковою рафінованою на предметному скельці з лункою протягом 140–150 хвилин [18]. Інші автори пропонують для виготовлення препаратів з бліх проводити витримку паразитів у 3-и % розчині перекису водню впродовж 12-и годин, а для просвітлення використовувати комбіновану суміш ялівцевої та гвоздичної олій у співвідношенні 1 : 1 [19, 20]. Водночас, на нашу думку, існує низка недоліків цих методик для їх використання відносно кліщів *Chorioptes bovis*. Зокрема, підготовка кліщів роду *Chorioptes* з використанням суміші Фора-Берлезе є недоцільною, оскільки покриви тіла у цих кліщів дуже ніжні, а отже, використання лугів призведе до їх повного знебарвлення та руйнування. При використанні гліцериново-спиртової суміші покриви тіла кліщів роду *Chorioptes* надмірно просвітлюються, що знижує можливість перегляду дослідником особливостей морфологічних структур тіла паразитів, а отже, перешкоджає подальшій ідентифікації самих кліщів до виду.

Тому було випробувано удосконалений спосіб виготовлення тимчасових мікропрепаратів кліщів роду *Chorioptes*, виділених від великої рогатої худоби. Доведено, що найкраще забарвлення морфологічних структур тіла кліщів виду *Chorioptes bovis* забезпечує витримка об'єктів у запропонованій суміші впродовж 90 хвилин, де 7 морфологічних структур кліщів *Chorioptes bovis* мають високий рівень забарвлення, і тільки 1 морфологічна структура мала задовільний рівень забарвлення.

Отримані дані дають змогу рекомендувати запропонований спосіб виготовлення тимчасових мікропрепаратів для підвищення ідентифікації постійних ектопаразитів виду *Chorioptes bovis*.

Висновки

Заявлений спосіб є простим у виконанні, не потребує вартісних реактивів, зручний і легкий у проведенні. Спосіб дозволяє отримати тимчасові тотальні препарати кліщів з достатньо профарбованими морфологічними структурами тіла кліщів виду *Chorioptes bovis*, полегшує морфологічні та морфометричні дослідження, а відповідно й підвищує точність ідентифікації останніх до виду. Виявлено, що найкраще забарвлення морфологічних структур тіла кліщів виду *Ch. bovis* забезпечує витримка об'єктів у запропонованій фіксуєчій суміші впродовж 90 хв.

Перспективи подальших досліджень. Перспективами подальших досліджень є вивчення економічної доцільності застосування запропонованого способу виготовлення тимчасових мікропрепаратів кліщів виду *Chorioptes bovis*.

References

1. Bochkov, A. V., O Connor, B. M., & Wauthy, G. (2010). A review of the mite subfamily Makialginae (Acari: Psoroptidae) – permanent parasites of strepsirrhine primates. *Tijdschrift voor Entomologie*, 153, 217–237. doi: 10.1163/22119434-900000300
2. Bochkov, A. V. (2010). A review of mammal associated Psoroptidia (Acariformes: Astigmata). *Acarina*, 18, 99–260.
3. Gazi, U., Taylan-Ozkan, A., & Mumcuoglu, K. Y. (2019). Immune mechanisms in human and canine demodicosis: A review. *Parasite Immunology*, 41(12), e12673. doi: 10.1111/pim.12673
4. Chen, W., & Plewig, G. (2014). Human demodicosis: revisit and a proposed classification. *The British Journal of Dermatology*, 170 (6), 1219–1225. doi: 10.1111/bjd.12850
5. Head, E. S., Macdonald, E. M., Ewert, A., & Apisarnthanarax, P. (1990). *Sarcoptes scabiei* in histopathologic sections of skin in human scabies. *Archives of Dermatology*, 126 (11), 1475–1477.
6. Nematollahi, A., Moghaddam, G. A., & Golezardy, H. (2007). An outbreak of *Chorioptes bovis* mange on a dairy farm in Tabriz, Iran. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 8 (4), 351–354.
7. Vieira, M. I., Bordin, T., Dall'Agnol, B., Zanchin, F., Motta, A. C., & Noro, M. (2014). Re-emergence of *Chorioptes bovis* (Acari: Psoroptidae) in cattle in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, 23(4), 530–533. doi: 10.1590/S1984-29612014090
8. Yeruham, I., Rosen, S., & Hadani, A. (1999). *Chorioptic mange* (Acarina: Psoroptidae) in domestic and wild ruminants in Israel. *Experimental and Applied Acarology*, 23, 861–869.
9. Alvares, F., Meireles, V., da Silva, J. T., Ferreira, L. C., Rodrigues, J. A., Bezerra, R. A., Lima, B. A., Feitosa, T. F., & Vilela, V. (2021). Laboratory diagnosis of mange-causing mites in dogs using a modified centrifugation-flotation technique in sucrose solution. *Experimental & Applied Acarology*, 85 (1), 41–48. doi: 10.1007/s10493-021-00659-7

10. Donald, F. J. H. (1970). A technique for collecting ectoparasites from small birds and mammals. *Journal of Zoology*, 48, 1445–1446.
11. Bunyaratavej, S., Rujitharanawong, C., Kasemsarn, P., Boonchai, W., Muanprasert, C., Matthapan, L., & Leeyaphan, C. (2016). Skin scrapings versus standardized skin surface biopsy to detect *Demodex mites* in patients with facial erythema of uncertain cause - a comparative study. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*, 82 (5), 519–522. doi: 10.4103/0378-6323.174423
12. Amer, S., Abd El Wahab, T., El Naby Metwaly, A., Feng, Y., & Xiao, L. (2015) Morphologic and genotypic characterization of Psoroptes mites from water Buffaloes in Egypt. *PLoS ONE*, 10 (10): e0141554. doi: 10.1371/journal.pone.0141554
13. Bochkov, A. V., Klimov, P. B., Hestvik, G., & Saveljev, A. P. (2014). Integrated Bayesian species delimitation and morphological diagnostics of chorioptic mange mites (Acariformes: Psoroptidae: Choriopetes). *Parasitology Research*, 113 (7), 2603–2627. doi: 10.1007/s00436-014-3914-9
14. Klimov, P. B., & Oconnor, B. M. (2008). Origin and higher-level relationships of psoroptidian mites (Acari: Astigmata: Psoroptidia): evidence from three nuclear genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 47 (3), 1135–1156. doi: 10.1016/j.ympev.2007.12.025
15. Suh, G. H., Hur, T. Y., Lim, S., Shin, S. M., Kwon, J., Cho, S. H., Lee, C. Y., & Shin, S. S. (2008). The first outbreak of *Chorioptes texanus* (Acari: Psoroptidae) infestation in a cattle farm in Korea. *The Korean Journal of Parasitology*, 46 (4), 273–278. doi: 10.3347/kjp.2008.46.4.273
16. Bregetova, N. G. (1952). *Sbor i izuchenie gamazovyh kleshej*. Moskva, Leningrad [In Russian].
17. Pakhomov, O. Ye., & Kulbachko, Yu. L. (2006). *Vyhotovlennia zoolohichnykh naochnykh posibnykiv ta naukovykh koleksii: Navchalnyi posibnyk*. Dnipropetrovsk: Vydavnytstvo DNU [In Ukrainian].
18. Nazarenko, O. S., Yevstafieva, V. O., & Melnychuk, V. V. (2019). Patent Ukrainy №131806. Kyiv: Derzhavne pidpriemstvo "Ukrainskyi instytut intelektualnoi vlasnosti" [In Ukrainian].
19. Horb, K. O., Yevstafieva, V. O., Horb, O. O., & Melnychuk, V. V. (2019). Patent Ukrainy №135968. Kyiv: Derzhavne pidpriemstvo "Ukrainskyi instytut intelektualnoi vlasnosti" [In Ukrainian].
20. Horb, K. O. (2020). Efektyvnist udoskonalenoho sposobu pryhotuvannia postiinykh mikroreparativ blich rodu Ctenocephalides. *Vyrishennia suchasnykh problem u veterynarnii medytsyni*. Materialy V Vseukrainskoi nauково-praktychnoi. Internet-konferentsii (13–14 liutoho 2020, m. Poltava). Poltava [In Ukrainian].

Стаття надійшла до редакції: 15.10.2022 р.

Бібліографічний опис для цитування:

Коваленко С. О., Мельничук В. В. Ефективність запропонованого способу виготовлення тимчасових мікропрепаратів кліщів роду *Chorioptes*. *Вісник ПДАА*. 2022. № 4. С. 119–125.

© Коваленко Станіслав Олегович, Мельничук Віталій Васильович, 2022