

УДК 636.2:616.99:595.42:330.341.1

DOI: 10.31073/vet_biotech43-12

МЕЛЬНИЧУК В.В.^{1,2}, д-р вет. наук, доц., e-mail: melnychuk86@ukr.net,**КОВАЛЕНКО С.О.**^{*1}, e-mail: kovalenko97@ukr.net¹Полтавський державний аграрний університет²Інститут ветеринарної медицини НААН

ПОРІВНЯЛЬНА ЕФЕКТИВНІСТЬ СПОСОБІВ ВИГОТОВЛЕННЯ МІКРОПРЕПАРАТІВ КЛІЩІВ *CHORIOPTES BOVIS*

Проведеними дослідженнями встановлено, що найбільш ефективним способом виготовлення мікропрепаратів з *Chorioptes bovis* за ступенем забарвлення їх морфологічних структур є спосіб з використанням суміші гліцерину та спиртового розчину йоду (у співвідношенні 3 : 1) порівняно зі способом, де як барвник використовують 1% спиртовий розчин діамантового зеленого. За 7 показниками спосіб з використанням йод-гліцеринової суміші призводив до високого ступеня забарвлення досліджених морфологічних структур хоріоптесів. Водночас під час використання способу із застосуванням спиртового розчину діамантового зеленого лише за 3 показниками відзначали високий ступінь забарвлення досліджених морфологічних структур кліщів.

Отримані результати досліджень дозволяють рекомендувати запропонований спосіб виготовлення мікропрепаратів з хоріоптесів, як найбільш ефективний, для полегшення ідентифікації *Chorioptes bovis*.

Ключові слова: хоріоптоз, велика рогата худоба, діагностика, тимчасові мікропрепарати, ефективність.

Вступ. Акариформні паразитарні кліщі, що належать до роду *Chorioptes* (*Acariformes: Psoroptidae*), поширені по всьому світу і спричиняють хоріоптозну інвазію у багатьох домашніх і диких тварин [1, 2]. Хоріоптеси мають значне ветеринарне значення, оскільки викликають захворювання у великої рогатої худоби, коней, овець, кіз, верблюдів тощо [3–5]. Ця інвазія спричиняє значні економічні збитки як у молочному, так і в м'ясному скотарстві. Зокрема, кліщі викликають свербіж, неспокій у тварин, розчухування шкіри, випадіння волосся, як наслідок розвивається дерматит, ушкоджуються тканини шкіри, де алергени є одним з факторів, що викликають запальну реакцію в тканинах. Тварини худнуть, знижується молочна та м'ясна продуктивність [6–10].

* Аспірант, науковий керівник – д-р вет. наук **В.В. Мельничук**

Кліщі роду *Chorioptes* є постійними паразитами, що локалізуються на тілі хазяїна і весь цикл розвитку відбувається на його шкірі. Яйце, личинка, протонімфа, дейтонімфа та доросла особина складають єдиний життєвий цикл, який триває приблизно три тижні. Хоча, науковці зазначають, що хоріоптоз має переважно хронічний перебіг у тварин, разом з тим, симптоми розвитку інвазії залежать від інтенсивності інвазії, чутливості хазяїна, його імунного статусу, умов утримання тварин, санітарно-гігієнічного стану господарства. Найчастіше хоріоптеси локалізуються на шкірі кінцівок, в ділянках кореня хвоста, промежини та вим'я, де за низьких показників інтенсивності інвазії ускладнюється його виявлення [11, 12].

Хоріоптоз у великої рогатої худоби може перебігати безсимптомно на ранній стадії захворювання або за низької інтенсивності інвазії. Водночас із зростанням популяції кліщів на тілі тварини може відбутися генералізація процесу. Також науковці доводять, що хоріоптоз є сезонним захворюванням. Інвазія реєструється частіше в холодний період року, особливо взимку, під час стійлового утримання худоби. При цьому влітку після вигону худоби на пасовища відбувається затухання клінічних симптомів, внаслідок створення для кліщів несприятливих умов існування [13, 14].

Встановлення діагнозу на хоріоптоз у жуйних тварин ґрунтується на клінічних ознаках і мікроскопічному виявленні кліщів у зіскрібках з шкіри ураженої тварини з обов'язковою видовою ідентифікацією паразитів. Необхідно враховувати, що відповідно до морфологічної, епідеміологічної та генетичної диференціації існує два види кліщів – *C. bovis* і *C. texanus*, що паразитують у жуйних тварин. Їх морфологічна схожість ускладнює видову диференціацію кліщів [15–17].

Генетична діагностика хоріоптесів коштовна та вимагає більшого часу для її проведення, тому необхідний пошук нових ефективних та менш витратних способів діагностики хоріоптозу. У зв'язку з цим, актуальним є визначення ефективності різних методів виготовлення мікропрепаратів з кліщів, що покращить проведення їх ідентифікації.

Метою роботи було встановити ефективність способів виготовлення мікропрепаратів з *Chorioptes bovis* у порівняльному аспекті.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження проводили упродовж 2023 року на базі лабораторії паразитології Полтавського державного аграрного університету. Відбір матеріалу від великої рогатої худоби проводили в умовах ТОВ «Комишуватський молочний комплекс» Красноградського району Харківської області.

У доступній літературі відсутні стандартизовані методи фарбування акариформних кліщів під час виготовлення мікропрепаратів. Тому, спираючись на дослідження науковців, які довели ефективність застосування розчину Люголя для діагностики гельмінтозів і еймеріозів тварин, де таке підфарбування дозволяє досягти диференціації ооцист найпростіших і яєць гельмінтів від рослинних та інших сторонніх клітин [18], перед нами була поставлена задача випробувати як барвник розчин йоду під час виготовлення мікропрепаратів з кліщів виду *Chorioptes bovis* та створити удосконалену, більш ефективну методику.

На першому етапі досліджень встановлювали найбільш оптимальні значення співвідношення складових компонентів запропонованого нами середовища гліцерину та спиртового розчину йоду (1:1, 2:1, 3:1), яке використовували як барвник для виготовлення мікропрепаратів з *C. bovis*.

На другому етапі досліджень порівнювали ефективність способів виготовлення мікропрепаратів з хоріоптесів, а саме: запропонованого з використанням йод-гліцеринової суміші [19] та загальновідомого із застосуванням як барвника 1% спиртового розчину діамантового зеленого [20]. Всього досліджено 10 мікропрепаратів двома різними способами.

Показник забарвлення кліщів умовно поділили на незадовільний, задовільний, високий та наднасичений.

Результати досліджень та обговорення. Проведеними дослідженнями встановлено, що найкраще забарвлення морфологічних структур тіла кліщів виду *Chorioptes bovis* забезпечує витримка об'єктів у суміші гліцерину та спиртового розчину йоду в співвідношенні 3:1 упродовж 90 хвилин (табл. 1).

Зокрема, при використанні йод-гліцеринової суміші у співвідношенні 1:1 незалежно від експозиції всі досліджені морфологічні структури хоріоптесів мали наднасичений ступінь забарвлення, що ускладнювало проведення дослідження. У разі використання суміші у співвідношенні 2:1 за експозицій 10 та 30 хв високий ступінь забарвлення встановлено під час дослідження 2 показників. Водночас у разі використання суміші у співвідношенні 3:1 за експозиції 60 хв високий ступінь забарвлення встановлено під час дослідження 4 показників, а за експозиції 90 хв – 7 показників.

Таблиця 1

**Ступінь забарвлення морфологічних структур тіла кліщів виду
Chorioptes bovis під дією запропонованого середовища за різних режимів
співвідношення компонентів**

Морфологічні структури	Співвідношення компонентів	Експозиція, хв			
		10	30	60	90
Пальпи	1 : 1	•	•	•	•
	2 : 1	***	***	•	•
	3 : 1	**	**	***	***
Хеліцери	1 : 1	•	•	•	•
	2 : 1	•	•	•	•
	3 : 1	*	*	**	***
Проподосомальний щит	1 : 1	•	•	•	•
	2 : 1	•	•	•	•
	3 : 1	*	*	**	***
Орнамент проподосомального щита	1 : 1	•	•	•	•
	2 : 1	•	•	•	•
	3 : 1	*	**	***	***
Гістеросомальний щит	1 : 1	•	•	•	•
	2 : 1	•	•	•	•
	3 : 1	*	**	***	***
Тазик лапок	1 : 1	•	•	•	•
	2 : 1	***	***	•	•
	3 : 1	*	*	**	***
Амбулакри	1 : 1	•	•	•	•
	2 : 1	•	•	•	•
	3 : 1	*	*	*	**
Щетинки	1 : 1	•	•	•	•
	2 : 1	•	•	•	•
	3 : 1	*	**	***	***

Примітка: * – незадовільний; ** – задовільний; *** – високий; • – наднасичений.

Під час порівняння ступеня забарвлення морфологічних структур хоріоптесів, спосіб з використанням йод-гліцеринової суміші виявився більш ефективним, ніж загальновідомий, де як барвник застосовували 1% спиртовий розчин діамантового зеленого (табл. 2).

Так, за умов використання запропонованого способу забарвлення таких морфологічних структур, як пальпи, хеліцери, проподосомальний щит, орнамент проподосомального щита, гістеросомальний щит, тазик лапок, щетинки, мало високий ступінь і лише амбулакри мали задовільний ступінь забарвлення (рис. 1 а, b). Водночас, під час використання способу, де як барвник застосовували 1% спиртовий розчин діамантового зеленого, лише пальпи, хеліцери та щетинки мали високий ступінь забарвлення. Всі інші досліджені морфологічні структури мали наднасичений ступінь забарвлення (рис. 1 с, d).

Таблиця 2

Порівняльна ефективність способів виготовлення препаратів з кліщів *in toto* за показником забарвленості окремих морфологічних структур, n=10

Морфологічні структури	Запропонований спосіб (90 хв)	Загальновідомий спосіб (4-6 хв)
Пальпи	***	***
Хеліцери	***	***
Проподосомальний щит	***	•
Орнамент проподосомального щита	***	•
Гістеросомальний щит	***	•
Тазик лапок	***	•
Амбулакри	**	•
Щетинки	***	***

Примітка: * – незадовільний; ** – задовільний; *** – високий; • – наднасичений.



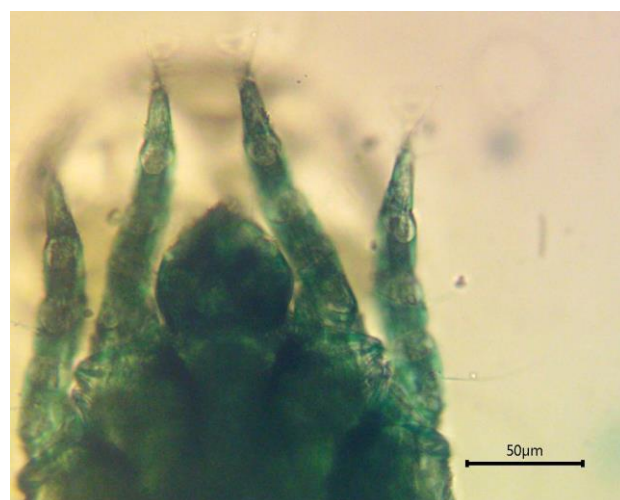
a



b



a



d

Рис. 1. Морфологічні структури кліщів *Chorioptes bovis* на мікропрепаратах, виготовлених різними способами: за використання йод-гліцеринової суміші (a, b); за використання 1% спиртового розчину діамантового зеленого (c, d).

Актуальність підвищення якості проведення ідентифікації кліщів роду *Chorioptes*, пов'язана із значним розповсюдженням хоріоптозу серед великої рогатої худоби у більшості країн світу [1–3]. Зокрема, при несвоєчасному діагностуванні цієї інвазії лікувальні заходи можуть бути не завжди ефективними внаслідок генералізації процесу [13, 21, 22]

Тому, нами проведено випробування ефективності способів виготовлення мікропрепаратів з *Chorioptes bovis*. Виявлено, що найкраще забарвлення морфологічних структур тіла кліщів даного виду забезпечує запропонований спосіб з використанням як барвника суміші гліцерину та спиртового розчину йоду в співвідношенні 3:1 за експозиції 90 хвилин, де за 7 показниками виявлено високий ступінь забарвлення морфологічних структур хоріоптесів. Загальновідомий спосіб з використанням як барвника 1% спиртового розчину діамантового зеленого призводив до високого ступеня забарвлення морфологічних структур хоріоптесів лише за 3 показниками.

Отримані результати досліджень дозволяють рекомендувати запропонований спосіб виготовлення мікропрепаратів з хоріоптесів, як найбільш ефективний, для полегшення ідентифікації *Chorioptes bovis*.

Висновки та перспективи подальших досліджень:

1. Найбільш ефективним способом виготовлення мікропрепаратів з *Chorioptes bovis* є спосіб з використанням суміші гліцерину та спиртового розчину йоду в співвідношенні 3:1.

2. Під час порівняння ступеня забарвлення морфологічних структур хоріоптесів спосіб з використанням йод-гліцеринової суміші за 7 показниками показав високий ступінь забарвлення, а спосіб з використанням 1% спиртового розчину діамантового зеленого – лише за 3 показниками.

Отримані нами результати про ефективність способів виготовлення мікропрепаратів з хоріоптесів будуть використані у наступних випробуваннях щодо встановлення ідентифікаційних ознак *C. bovis*.

COMPARATIVE EFFICIENCY OF CHORIOPTES BOVIS MITES MICROPREPARATIONS PREPARING / Melnychuk V., Kovalenko S.

Introduction. Acariform parasitic mites belonging to the genus *Chorioptes* (Acariformes: Psoroptidae) are distributed worldwide, causing chorioptosis in many domestic and wild animals. The diagnosis of chorioptosis in ruminants is based on clinical signs and microscopic detection of mites in scrapings from the skin of the affected animal with mandatory species identification of choriopteses. Genetic diagnosis of choriopteses is expensive and requires quite a lot of time to carry it out, so it is necessary to search for new effective methods of diagnosing chorioptosis.

The goal of the work was to establish the effectiveness of the methods of preparing micropreparations from *Chorioptes bovis* in a comparative aspect.

Materials and methods. At the first stage of research, the most optimal values of the ratio proposed by us were determined: glycerin and alcohol solutions of iodine (1:1, 2:1, 3:1), which were used as a dye for the production of micropreparations from *C. bovis*.

At the second stage of research, the effectiveness of the methods of micropreparations preparing were compared, namely: it was proposed the one using an iodine-glycerol mixture and the well-known one using 1% alcoholic solution of diamond green as a dye.

Results of research and discussion. The conducted studies established that the most effective method of preparing micropreparations from *Chorioptes bovis* in terms of the degree of staining of their morphological structures is the method using a mixture of glycerol and an alcohol solution of iodine (in a ratio of 3:1) compared to the method where a 1% alcohol solution of diamond green is used as a dye.

Conclusions and prospects for further research:

1. The most effective method of preparing micropreparations from *Chorioptes bovis* is the method using a mixture of glycerin and an alcohol solution of iodine in a ratio of 3:1.

2. When comparing the degree of staining of the morphological structures of chorioptoses, the method using the iodine-glycerol mixture showed a high degree of staining according to 7 indicators, and the method using a 1% alcohol solution of diamond green – only according to 3 indicators.

The results obtained by us regarding the effectiveness of the methods of preparing micropreparations from chorioptoses will be used in the following tests to establish the identification features of *C. bovis*.

Keywords: choriopotosis, cattle, diagnosis, temporary micropreparations, effectiveness.

REFERENCES

1. Yeruham, I., Rosen, S., & Hadani, A. (1999). Chorioptic mange (Acarina: Psoroptidae) in domestic and wild ruminants in Israel. *Experimental & Applied Acarology*, 23(11), 861-869. <https://doi.org/10.1023/a:1006217016688>.
2. Lusat, J., Bornstein, S., & Wall, R. (2011). Chorioptes mites: re-evaluation of species integrity. *Medical and Veterinary Entomology*, 25(4), 370-376. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2011.00951.x>.
3. Wang, T., Xie, Y., Zheng, Y., Wang, C., Li, D., Koehler, A.V., & Gasser, R.B. (2018). Parasites of the Giant Panda: a risk factor in the conservation of a species. *Advances in Parasitology*, 99, 1-33. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2017.12.003>.
4. Cremers, H.J. (1985). *Chorioptes bovis* (Acarina: Psoroptidae) in some camelids from Dutch zoos. *Veterinary Quarterly*, 7(3), 198-199. <https://doi.org/10.1080/01652176.1985.9693983>.
5. He, R., Gu, X.B., Xie, Y., Peng, X.R., Angel, C., & Yang, G.Y. (2019). Transcriptome-based analysis of putative allergens of *Chorioptes texanus*. *Parasites & Vectors*, 12(1), 587. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3843-7>.
6. Rehbein, S., Winter, R., Visser, M., Maciel, A.E., & Marley, S.E. (2005). Chorioptic mange in dairy cattle: treatment with eprinomectin pour-on. *Parasitology Research*, 98(1), 21-25. <https://doi.org/10.1007/s00436-005-0005-y>.
7. Villarroel, A., & Halliburton, M.K. (2013). Control of extensive chorioptic mange natural infection in lactating dairy cattle without milk withdrawal. *Veterinary Journal*, 197(2), 233-237. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.01.003>

8. Yasine, A., Kumsa, B., Hailu, Y., & Ayana, D. (2015). Mites of sheep and goats in Oromia Zone of Amhara Region, North Eastern Ethiopia: species, prevalence and farmers awareness. *BMC Veterinary Research*, 11, 122. <https://doi.org/10.1186/s12917-015-0433-6>.
9. Seid, K., Amare, S., & Tolossa, Y.H. (2016). Mange mites of sheep and goats in selected sites of Eastern Amhara region, Ethiopia. *Journal of Parasitic Diseases*, 40(1), 132-137. <https://doi.org/10.1007/s12639-014-0463-1>.
10. Hestvik, G., Zahler-Rinder, M., Gavier-Widén, D., Lindberg, R., Mattsson, R., Morrison, D., & Bornstein, S. (2007). A previously unidentified Chorioptes species infesting outer ear canals of moose (*Alces alces*): characterization of the mite and the pathology of infestation. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 49(1), 21. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-49-21>.
11. 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. *Korean Journal of Parasitology*, 46(4), 273-278. <https://doi.org/10.3347/kjp.2008.46.4.273>.
12. 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. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612014090>.
13. Marcondes, C.B., & Dantas-Torres, F. (2017). Diseases caused by Acari (ticks and mites). *Arthropod Borne Diseases*, 537-48. https://doi.org/10.1007/978-3-319-13884-8_34.
14. 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.
15. Zahler, M., Hendrikx, W.M., Essig, A., Rinder, H., & Gothe, R. (2001). Taxonomic reconsideration of the genus *Chorioptes* Gervais and van Beneden, 1859 (Acari: Psoroptidae). *Experimental & Applied Acarology*, 25(6), 517-523. <https://doi.org/10.1023/a:1011857802317>.
16. Zahler, M., Hendrikx, W.M., Essig, A., Rinder, H., & Gothe, R. (2000). Species of the genus *Psoroptes* (Acari: Psoroptidae): a taxonomic consideration. *Experimental & Applied Acarology*, 24(3), 213-225. <https://doi.org/10.1023/a:1006443722815>.
17. Losson, B.J., Mignon, B., Bossaert, K., Leclipteux, T., & Lonneux, J.F. (1998). Field efficacy of injectable doramectin against *Chorioptes bovis* in naturally infected cattle. *Veterinary Record*, 142(1), 18-19. <https://doi.org/10.1136/vr.142.1.18>.
18. Dovhii, Yu.Yu., Feshchenko, D.V., Koriachkov, V.A., Zghozinska, O.A., Bakhur, T.I., Drahachuk, A.I., & Stakhivskyi, O.V. (2011). *Patent na korysnu model № 66145. Ukraina*. Sposib koprollohichnoi diahnostryky helmintoziv i eimerioziv [Method for coprological diagnostics of helminthiasms and eimerioses]. <https://sis.nipo.gov.ua/uk/search/detail/683785/> [in Ukrainian].
19. 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. <https://doi.org/10.31210/visnyk2022.04.14>.
20. Yevstafieva, V.O., Klymenko, O.S., & Khyzhnia, L.Yu. (2013). *Patent na korysnu model № 85028. Ukraina*. Sposib pryhotuvannia zbudnykiv riadu Mallophaga in toto [Method for the preparation of pathogens of the line Mallophaga in toto]. <https://sis.nipo.gov.ua/uk/search/detail/1134435/> [in Ukrainian].
21. Plant, J.D., Kutzler, M.A., & Cebra, C.K. (2007). Efficacy of topical eprinomectin in the treatment of *Chorioptes* sp. infestation in alpacas and llamas. *Veterinary Dermatology*, 18(1), 59-62. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2007.00558.x>.

22. Rüfenacht, S., Roosje, P.J., Sager, H., Doherr, M.G., Straub, R., Goldinger-Müller, P., & Gerber, V. (2011). Combined moxidectin and environmental therapy do not eliminate *Chorioptes bovis* infestation in heavily feathered horses. *Veterinary Dermatology*, 22(1), 17-23. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2010.00892.x>.