

## З М І С Т

ПЕРЕДМОВА .....	4
1 МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ ІНВАЗІЙНИХ ХВОРОБ РИБ.....	6
1.1 Устаткування та інструменти .....	6
1.2 Метод повного паразитологічного розтину риб .....	8
1.3 Техніка спрощеного паразитологічного розтину риб .....	16
2 МЕТОДИ ЗБИРАННЯ ПАРАЗИТІВ РИБ .....	18
3 МЕТОДИ ФІКСАЦІЇ ПАРАЗИТІВ РИБ .....	20
4 МЕТОДИ ВЗЯТТЯ ПРОБ З РИБИ-СИРЦЯ І РИБНОЇ ПРОДУКЦІЇ .....	23
5 ВИЗНАЧЕННЯ ЖИТТЄЗДАТНОСТІ ЛИЧИНОК ГЕЛЬМІНТІВ, ЩО НЕБЕЗПЕЧНІ ДЛЯ СВІЙСЬКИХ ТВАРИН І ЛЮДИНИ .....	26
ЛІТЕРАТУРА .....	28

## ПЕРЕДМОВА

Збірник методичних вказівок складений відповідно до програми курсу «Хвороби об'єктів марикультури», що входить до складу дисциплін з підготовки спеціалістів за напрямком «Водні біоресурси» – фаховий шифр 1303.

Головна навчальна задача – це надання інформації про основні інфекції, інвазії, незаразні хвороби та паразитів морських і океанічних риб у природних та штучних умовах, про патогенність збудників хвороб, їхнє поширення.

Дисципліна «Хвороби об'єктів марикультури» базується на знаннях іхтіології, анатомії, гістології, іхтіопатології та фізіології риб.

В результаті вивчення дисципліни «Хвороби об'єктів марикультури» студенти повинні **знати:** основні інфекційні, інвазійні та незаразні захворювання представників маригосподарств та збудників, що їх викликають, рекомендації щодо можливого використання уражених риб і боротьби з їх окремими видами захворювань які здатні створювати небезпеку як для штучних господарств так і для корисних тварин та людини.

Після виконання необхідних лабораторних робіт та отриманих теоретичних і практичних знань студенти повинні **вміти:** користуватись методами паразитологічного дослідження риб, вести журнал реєстрації досліджень, володіти методиками відбору проб і визначення життєздатності патогенних для риб та людини гельмінтів, володіти методами збирання і фіксації паразитів, що необхідно для проведення профілактичних, лікувальних заходів у штучних маригосподарствах.

Отримані знання з дисципліни «Хвороби об'єктів марикультури» будуть використані під час підготовки студентів за рівнем «спеціаліст».

У методичних вказівках зібрані роботи різного рівня складності, що дає змогу ознайомити студентів з методами іхтіопатологічних досліджень.

Практично всі роботи експериментального характеру і доступні для виконання в лабораторних умовах та тісно пов'язані з теоретичними положеннями лекційного матеріалу.

Число робіт за розділами методичних вказівок трохи більше, ніж заплановано робочою програмою курсу «Хвороби об'єктів марикультури», тому виконувати роботи можна з урахуванням наявності біологічного матеріалу та обладнання навчальної лабораторії.

Контроль поточних знань використовується на базі кредитно-модульної системи організації навчання.

В дисципліні «Хвороби об'єктів марикультури» використовується 2 змістовних модуля – з практичної частини, та 2 з теоретичної частини. Крім того існує окремий змістовний модуль наукової роботи.

В якості форми поточного контролю лекційних модулів дисципліни «Хвороби об'єктів марикультури» використовується проведення 2 контрольних робіт з кожного змістовного модуля, практичних модулів – виконання лабораторних завдань по кожній із тем і усне опитування під час захисту лабораторних робіт, наукового модулю – виступ на університетських, всеукраїнських студентських конференціях та публікація матеріалів тез доповідей цих виступів.

### КРИТЕРІЇ ОЦІНЮВАННЯ

Максимальна сума балів з теоретичної частини – 50 балів.

Максимальна сума балів з практичної частини – 50 балів.

Загальна кількість балів складає 100 балів.

Пропуски: мінус 1 бал за кожний пропуск занять (2 години) з неповажних причин.

До іспиту допускаються студенти, у яких фактична сума накопичення за семестр балів за практичну частину складає не менше 50%. В іншому випадку студент вважається таким, що не виконав навчального плану дисципліни і не допускається до іспиту.

Теми лабораторних робіт входять до складу двох змістовних модулів і оцінюються за 30 бальною шкалою. Під час лабораторних занять студенти отримують завдання по кожній із тем дисципліни. Зразки риб та рибної продукції викладач приносить на заняття. Захист лабораторних робіт відбувається усним опитуванням студента в кінці заняття та під час проведення СРС з викладачем на кафедрі.

Техніка безпеки під час виконання лабораторних робіт включає: 1) обережне поводження з колючо-ріжучими інструментами та хімічними реактивами; 2) обережне поводження з оптичними приладами; 3) звертати увагу на обережне поводження з патологічно-зміненим матеріалом риб; 4) лабораторні роботи виконувати в халатах, одноразових гумових рукавичках, при закінченні роботи ретельно вимити руки водою з господарським милом. В аптечці завжди мати 5% спиртовий розчин йоду, спирт, вату і бинт.

# 1 МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ ІНВАЗІЙНИХ ХВОРОБ РИБ

Паразитологічне обстеження риби спрямоване на виявлення паразитів, які: 1) погіршують товарні якості риб та небезпечні для людини і теплокровних тварин; 2) не впливають на товарний вигляд риб, але потенційно небезпечні для людини, корисних ссавців і свійської птиці; 3) погіршують якісні показники риб, але не є небезпечними для людини і вирощуваних тварин.

Розрізняють неповний, повний і спрощений паразитологічний розтин риби, що побудовані фактично на єдиній методологічній основі.

Найбільш досконалим методом встановлення паразитів є метод повного паразитологічного розтину, який стосовно риб розроблений професором В.А. Догелем та його учнями (І.М. Ляйман, А. П. Маркевич).

Цей метод дозволяє найбільш повно дослідити фауну паразитів риби, що відносяться до всіх груп паразитичних тварин, і дає можливість найбільш вірно охарактеризувати паразитологічну ситуацію у водоймі. Для отримання достовірних результатів повному паразитологічному розтину слід піддавати не менше 15 риб кожної вікової групи та виду з кожної водойми і кожного тралу. Виняток становлять личинки на перших етапах розвитку. У цьому випадку необхідно піддати розтину не менше 25 личинок. Інколи, коли обстеження проводиться в маригосподарстві не вперше і його епізоотичний стан в загальних рисах вже відомий, то кількість риби, яка необхідна для дослідження, може бути скорочена до 5 екземплярів з кожної водойми. Рибу для розтину необхідно виловлювати з різних ділянок водойми (брати з різних тралів), тому що при деяких захворюваннях вона здатна накопичуватися в певних місцях водойми чи косяка, що не покаже достовірної картини зараження.

Для того щоб краще розібратися в епізоотичній ситуації, перед розтином необхідно з'ясувати особливості маригосподарства: розташування та ветеринарно-санітарний стан, схему водопостачання, особливості гідрохімічного режиму, видовий склад вирощуваних риб у господарстві. Слід також ознайомитися і з актами попередніх епізоотологічних обстежень маригосподарства.

## 1.1 Устаткування та інструменти

Для проведення повного паразитологічного розтину необхідно мати набір інструментів, лабораторного устаткування і фіксуючих речовин.

*Мікроскоп* дорожній або стаціонарний, з об'єктивами 8х, (імерсія) і окулярами 7х, 10х і 15х.

Бінокулярний стереоскопічний мікроскоп типу МБС-2 або МБС-9 з окулярами 6х, 8х, 12,5х.

*Препарувальна лупа* з окулярами 10х і 20х. Рисувальний апарат, скло для розтинів, предметне скло.

*Покривне скло* розміром 18X18 і 24X24.

*Препарувальні голки*. Зручно мати препарувальні голки різної товщини і з кінцями, заточеними у вигляді вістря, лопатки, гачка або іншої конфігурації, що полегшує препарування і витягування паразитів.

*Пінцети*. Добре мати пінцети різних розмірів і призначення. Анатомічні пінцети зручні для препарування тканин риби, хірургічні – для витягування паразитів.

*Ножиці*. Бажано мати ножиці різного типу. Особливо зручні хірургічні і невеликі очні ножиці.

*Скальпелі*. Бажано мати скальпелі різних розмірів і форми.

*Піпетки*. Необхідно мати набір піпеток. Великі піпетки із розширенням і грушоподібним гумовим балоном слугують для змочування органів, відмивання паразитів і наповнення пробірок. Більш дрібні піпетки типу очних використовуються для вилучення паразитів зі стекол для розтину, для перенесення їх в пробірки та інших цілей. Пастерівські піпетки з довгим тонким кінцем необхідні для взяття крові.

*Посуд для розтину, збору і зберігання матеріалу*. Для розтину риби необхідні емальовані кювети, розмір яких залежить від розміру риби.

Для розміщення відпрепарованих внутрішніх органів необхідно мати також чашки Петрі, чашки Коха або інші судини з кришками. Поміщені в них органи змочуються водою і можуть зберігатися, не висихаючи, тривалий час.

Для утримання витягнутих паразитів і їх фіксації зручні лабораторні сільнички та дрібні пробірки і кристалізатори.

Мазки найпростіших зберігають у гістологічних стаканчиках з пробками або в бюксах. У подібних стаканчиках фіксують мазки крові. Зібраних і зафіксованих паразитів зберігають у плоскодонних пробірках різних розмірів. Розміри пробірок залежать від розмірів паразитів. Пробірки з фіксованим матеріалом зберігають у скляних банках місткістю 0,25 – 1,0 л з пришліфованими пробками.

Під час приготування фіксаторів та інших реактивів використовують мірні склянки або мензурки різної місткості (500, 250, 150, 25 мл).

Під час проведення повного паразитологічного розтину можуть знадобитися також деякі допоміжні матеріали: фільтрувальний папір, папір для малювання, туш, папір для етикеток (краще всього пергамент або калька), олівці, ручки, гумки, туш і т. п.

*Обладнання для зважування та вимірювання риби*. Для зважування риби необхідно мати ваги різного типу, в залежності від розміру риби.

Для вимірювання риби можна використовувати лінійку, сантиметрову стрічку, штангенциркуль або мірну дошку.

## 1.2 Метод повного паразитологічного розтину риб

Метод повного паразитологічного розтину риб досить трудомісткий, оскільки протягом дня один фахівець може обстежити за допомогою цього методу від двох екземплярів риб великого розміру до п'яти – шести риб середнього розміру (личинок і мальків значно більше). Фактично одна людина протягом місяця може провести близько 70 – 80 розтинів риб.

Для розтину потрібно брати живу або щойно загиблу рибу, тому що у давно змертвілої риби деякі органи і тканини патологоанатомічно змінені. Так, наприклад, можуть випасти з поля зору більшість ектопаразитів, що живуть на поверхні тіла, плавцях і зябрах, які залишають рибу після її загибелі або гинуть разом з нею. Крім того, у давно змертвілої риби складно, а іноді й зовсім неможливо взяти кров для дослідження.

Слід також пам'ятати, що з призначеною для розтину рибою потрібно поводитися обережно, не давати їй підсихати, тому що може бути знищена безліч паразитів які живуть на поверхні тіла і плавцях.

**Мета роботи.** Відпрацювати методи повного паразитологічного розтину риб.

**Матеріали та обладнання.** Для дослідження і розтину беруть живу або щойно загиблу рибу (окуневі, кефалеві, лососеві, бичкові та інші), набір інструментів для препарування, трихітелоскоп, компресійний прилад, посудина з водою, мікроскопи, посуд для розтину, збирання і зберігання матеріалу, обладнання для зважування та вимірювання риби, формалін, етиловий спирт, ефір, розчин 5% лимоннокислого натрію (див. розділ 1.1).

**Хід роботи.** Щойно змертвілу рибу упродовж усього досліду змочують водою, що перешкоджає її висиханню. Повний паразитологічний розтин риб проводять у такому порядку: виконують зовнішній огляд риби, досліджують слиз з поверхні тіла, потім зважують і вимірюють рибу, після цього беруть кров і виготовляють мазок та досліджують його на інвазію, обстежують плавці, зябра і носову порожнину на наявність паразитів, потім розпочинають розтин порожнини тіла і дослідження внутрішніх органів та мозку.

**1.Зовнішній огляд риби.** Повний паразитологічний розтин розпочинають із зовнішнього огляду риби, так як він іноді дозволяє відразу ж встановити причину захворювання. В першу чергу звертають увагу на зміну форми тіла, колір риби і наявність на її поверхні яких-небудь пошкоджень. Так, наприклад, під час вертячки у форелі, що спричиняється

слизовим споровиком *Myxosoma cerebralis*, досить часто спостерігається недорозвинення зябрових кришок та щелеп. Зміна нормального забарвлення тіла також має місце і під час інших захворювань. Почорніння хвостової частини спостерігається під час вертячки у форелі, чорні ж плями полігональної форми – під час чорноплямистого захворювання, яке спричинене личинками трематоди *Posthodiplostomum cuticula*.

Порушення покривів тіла можуть сприяти утворенню виразок (виразкове захворювання лососевих), різного роду цист і пухлин (міксоспоридіози, лімфоцистис) та зараженню грибком (сапролегніози).

Під час деяких протозойних захворювань (хілодонельоз, триходиноз) на поверхню тіла виділяється велика кількість слизу.

Крім того, під час зовнішнього огляду риб можуть бути встановлені неозброєним оком різні види рачків-ектопаразитів (копеподи).

**2. Зіскрібок з поверхні тіла.** Слідом за зовнішнім оглядом риби скальпелем зскрібають слиз з поверхні тіла. Якщо слизу мало, то зіскрібок найкраще робити під плавцями, де поверхня тіла ніжніша і довше, ніж в інших місцях, залишається вологою. Зіскрібок поміщають на предметне скло, покривають покривним склом і дивляться під малим і великим збільшенням мікроскопа де можна бачити ектопаразитів.

**3. Зважування і вимірювання риби.** Після того як візьмуть зіскрібок з поверхні тіла, рибу необхідно виміряти і зважити.

Під час вимірювання у форелей, сигових і лососевих риб визначають відстань від початку голови до вирізки хвостового плавця. Ці дані використовують для визначення темпу зростання і вгодованості риб. Вгодованість розраховують за формулою:

$$K=(P \times 100) / L^3$$

де K – коефіцієнт вгодованості;

P – маса риби;

L – довжина тіла риби до кінця лускового покриву.

Вимір і зважування необхідно проводити якомога швидше, щоб не спричинити підсихання плавців.

У випадках, коли вік піддослідної риби невідомий, з бічної поверхні тіла, під спинним плавцем, беруть луску і за кількістю річних кілець визначають вік. У риб, які не мають лускового покриву, вік визначають за зрізами слухових камінців (отолітів) або за зрізами першого променя спинного плавця (окуневі).

Після вимірювання і зважування риби у неї ножицями відрізають плавці і, змочивши їх водою, поміщають в чашку Петрі. Плавці досліджують під МБС тільки після взяття крові та розсічення серця.

**4. Взяття крові.** Після зважування і вимірювання риби, а також відокремлення плавців, беруть кров для виготовлення мазків.

Кровопаразитів вивчають на свіжих мазках або забарвлених за Романовським.

Брати кров найзручніше безпосередньо з серця, або з хвостової артерії. Щоб взяти кров з серця, роблять невеликий розріз на черевній поверхні риби, в області серця, потім розсовують стінки розрізу і очищають серце від навколишніх тканин. Особливо ретельно слід видаляти жир, потрапивши в кров, він може зіпсувати увесь мазок. Кров беруть з самого серця, або з венозного синуса за допомогою пастерівської піпетки. Кров можна брати з серця і не роблячи надрізи. Пастерівською піпеткою проколюють шкірний покрив риби посередині між грудними плавцями. Невеликі тренування дозволяють точно потрапляти в серце. При взятті крові з хвостової артерії, необхідно відрізати хвостове стебло хвостового плавця і взяти пастерівською піпеткою необхідну кількість крові. Перед взяттям крові пастерівську піпетку промивають 5% лимоннокислим натрієм, щоб кров не згорнулася.

Для виготовлення мазка краплину крові з пастерівської піпетки випускають зверху на правий край чистого предметного скла, попередньо обезжиреного розчином рівних частин етилового спирту і ефіру. Потім інше скло з шліфованим краєм підводять до краплі зліва під гострим кутом. Коли крапля розтечеться по краю скла, його швидко відводять вліво, і кров рівномірно розподіляється по склу.

Зроблений таким чином мазок висушують на повітрі і фіксують метиловим спиртом протягом 5 хвилин, або сумішшю рівних частин етилового спирту з ефіром протягом 20 – 30 хвилин. Потім мазок крові фарбують і досліджують під мікроскопом (x90), щоб виявити паразитів.

Після взяття крові необхідно відокремити серце і дослідити його вміст. Для цього ножицями розрізають серце, випускають з нього кров на скло і вивчають її під бінокулярним мікроскопом. У серці можуть знаходитися трематоди з роду *Sanguinicola*. Це дуже ніжні паразити, їх потрібно якомога швидше перенести на чисте предметне скло, покрити покривним склом і зафіксувати спиртом за методикою, описаною для трематод. Мускулатура серця досліджується компресійним методом.

**5. Огляд плавців.** Після виготовлення мазка крові і дослідження серця, обстежують плавці. Їх найзручніше досліджувати під бінокулярним мікроскопом МБС або препарувальною лупою. На поверхні плавців можуть перебувати різні найпростіші. Під час обстеження плавців необхідно стежити за тим, щоб вони постійно знаходились у вологому стані, тому що більшість паразитів активно рухаються у воді і стають краще помітними.

**6. Дослідження зябер.** Слідом за плавцями необхідно почати обстеження зябер. Для виділення зябрових дуг ножицями відрізають

зяброві кришки, а потім обережно перерізають зяброві дуги. При цьому потрібно особливо ретельно стежити за тим, щоб дуги були відрізані повністю, тому що деякі паразити локалізуються ближче до кінців зябрових дуг. Відрізані зябра поміщають в чашку Петрі і змочують водою.

Спочатку обстежують зяброві дуги і видаляють великих паразитів, потім з поверхні зябрових пелюсток беруть зіскрібок слизу і вивчають його під мікроскопом при малому і великому збільшенні. За допомогою скальпеля відокремлюють зяброві пелюстки від зябрової дуги та кладуть їх на скло для розтину, рясно змочують водою і дивляться під мікроскопом або препарувальною лупою. Препарувальними голками обережно розсовують зяброві пелюстки і виділяють знайдених паразитів. Після обстеження зябрових пелюсток їх досліджують також і компресійним методом, який полягає в тому, що орган або його частину поміщають на скло для розтину, міцно притискають іншим склом (наприклад, предметним склом) і в такому стані вивчають під біокулярним мікроскопом. При цьому можуть бути виявлені паразити, пропущені при попередньому огляді і виявлені дрібні цисти міксоспоридій, капсули трематод.

**7. Обстеження носової порожнини.** Після дослідження зябер обстежують носову порожнину. Насамперед з неї за допомогою піпетки висмоктують слиз. Для цього в піпетку з тонко відтягнутим кінцем набирають трохи води, вставивши її в один з отворів носової порожнини, впускають туди воду і всмоктують її разом зі слизом знову у піпетку. Таку операцію виконують неодноразово до повного видалення слизу з носової порожнини. Після того як слиз видалений, ножицями обережно роблять розтин носової порожнини і, зруйнувавши перетинку між переднім і заднім відділами, роблять зіскрібок з внутрішньої поверхні носової порожнини. Вміст досліджують під біокулярним мікроскопом, а потім під біологічним мікроскопом, поміщаючи невеликі порції слизу на предметне скло.

В носових порожнинах можуть зустрітися паразити з багатьох груп: паразитичні інфузорії, слизові споровики, моногенії, личинки трематод, паразитичні рачки.

**8. Ротова порожнина.** В ній паразитують міксоспоридії, моногенії, трематоди, п'явки, паразитичні ізоподи. Деякі з них мають досить великі розміри. Наприклад, довжина паразитичних ізопод досягає 3 – 6 см, майже такого ж розміру можуть бути цисти, що містять дідімозоїдних трематод. Слід врахувати, що при зберіганні на повітрі виловленої риби деякі трематоди і нематоди виповзають з її шлунка до ротової порожнини. Подібна картина досить часто спостерігається під час вилову океанічних глибоководних риб, наприклад, довгохвоста та мерлузових, у яких, у

зв'язку зі зміною тиску, вивертається шлунок і його вміст потрапляє до ротової порожнини.

**9. Розтин порожнини тіла і огляд внутрішніх органів.** Після обстеження носової порожнини розпочинають розтин порожнини тіла. Для цього роблять поперечний розріз попереду від анального отвору так, щоб не пошкодити кишечника. В іншому випадку вміст кишечника разом з локалізованими в ньому паразитами може потрапити до порожнини тіла і спричинити помилкове уявлення про їх місце знаходження. Потім в поперечний розріз вводять ножиці і роблять поздовжній розріз аж до зябрової порожнини, відрізають ліву стінку порожнини тіла. Всі ці операції слід проводити обережно, щоб не пошкодити внутрішні органи. Обстеживши зовні внутрішні органи, розпочинають їх препарування. Для цього ножицями відрізають кишечник як можна ближче до ротової порожнини і біля анального отвору, після чого виймають кишечник і пов'язані з ним органи порожнини тіла. Подальше препарування виконують в окремій кюветі. З особливою обережністю необхідно відокремлювати жовчний міхур, тому що під час його пошкодження вміст може вилитися і будуть втрачені паразити, що знаходяться в ньому. Потім з порожнини тіла виймають інші внутрішні органи: гонади, серце, плавальний міхур, нирки, сечовий міхур. Найбільші труднощі викликає відокремлення невеликого сечового міхура, особливо у бичкових та окуневих риб. Для того щоб знайти сечовий міхур, зручніше всього підвести препарувальну голку або кінець невеликого пінцета під сечоводи і вести до анального отвору. Злиття сечоводів вкаже розташування сечового міхура. При виділенні сечового міхура також слід дотримуватися особливої обережності, оскільки під час пошкодження з нього може вилитися вміст і можуть бути втрачені локалізовані там паразити.

Відпрепаровані органи в залежності від їх розмірів поміщають на скло для розтину, чашку Петрі або розкладають по кюветі так, щоб вони не дотикалися один одного і змочують водою. Сечовий і жовчний міхур поміщають в часове скло або лабораторні сільниці.

Одночасно з препаруванням внутрішніх органів проводять огляд черевної порожнини тіла риби.

Надалі внутрішні органи слід обстежити в наступному порядку: жовчний міхур, сечовий міхур, печінка, селезінка, жирова тканина, кишечник, статеві залози, плавальний міхур, нирки, очі, мускулатура, головний і спинний мозок. Цей порядок може бути дещо змінено в залежності від звичок дослідника, однак слід зауважити, що в першу чергу необхідно досліджувати жовчний і сечовий міхур, а потім уже всі інші органи в раз і назавжди заведеному порядку.

Для дослідження *жовчного і сечового міхура* їх обережно розрізають у часовому склі або в лабораторній сільниці. Рідину, що

вилилась, досліджують спершу під бінокулярним мікроскопом, а потім під мікроскопом (мале і велике збільшення). З внутрішньої сторони стінки міхура роблять зіскрібок, який вивчають під мікроскопом (мале і велике збільшення). В жовчному міхурі можна виявити спори і амебоїди міксоспоридій.

*Для дослідження печінки, селезінки, статевих залоз, нирок, жирової тканини* спочатку роблять зовнішній огляд органу для виявлення видимих неозброєним оком паразитів та патологоанатомічних змін органу. При цьому особливу увагу звертають на форму і колір органу, які можуть бути змінені під впливом паразитів або інших збудників хвороб.

Після зовнішнього огляду від кожного органу відрізають невеликі шматочки та досліджують їх під мікроскопом (мале і велике збільшення) для виявлення дрібних паразитів.

Решту органу досліджують компресійним методом під бінокулярним мікроскопом.

При дослідженні нирок особливу увагу потрібно приділяти сечоводам, в яких іноді зустрічаються моногенеї з роду *Acolpenteron* і трематоди з роду *Phylodistomum*.

*Кишечник* для дослідження поділяють на невеликі частини і розрізаючи вздовж, зскрібають скальпелем вміст на скло для розтинів. Великі шматки неперетравленої їжі, що знаходиться в кишечнику, видаляють, попередньо обстеживши. Потім вміст кишечника і його стінку досліджують компресійним методом. Зішкреби з передньої, середньої і задньої частини кишечника вивчають під мікроскопом (мале і велике збільшення). Особливу увагу слід приділити дослідженню під мікроскопом зіскрібка з передньої частини кишечника, де можуть зустрітися ооцисти кокцидій, трематоди, стрічкові черв'яки, круглі черв'яки, шкребні. В стінці кишки можуть зустрітися цисти міксоспоридій, личинки стрічкових і круглих черв'яків.

*Для дослідження плавального міхура* спочатку роблять його зовнішній огляд, після чого розрізають вздовж і роблять зіскрібок із зовнішньої і внутрішньої поверхонь, і дивляться під мікроскопом (мале і велике збільшення).

*Для дослідження ока* при виділенні очного яблука з очниці потрібно дотримуватися особливої обережності, щоб не пошкодити його. Вийняте око обережно розрізають маленькими ножицями і через отвір виймають кришталік і склоподібне тіло. Кришталік досліджують під лупою або бінокулярним мікроскопом. Вже при такому огляді можуть бути помічені личинки збудника диплостомоза. Виявлених паразитів витягують за допомогою препарувальних голок. Далі обстежують кришталік, здавлюючи його між компресійним склом.

У кришталику і скловидному тілі зазвичай зустрічаються личинки трематод – збудників диплостомоза.

Для дослідження головного і спинного мозку розтин черепної коробки, залежно від розміру риби, роблять великими ножицями, скальпелем, ножом або іншими анатомічними інструментами. Частину вийнятого мозку досліджують під мікроскопом (мале і велике збільшення), іншу частину мозку вивчають компресійним методом. Деякі ускладнення можуть виникнути з виділенням спинного мозку. Найзручніше ножицями перерізати хребет біля хвостового плавця. Потім невеликим пінцетом витягнути спинний мозок з спинномозкового каналу. Не завжди вдається витягнути спинний мозок цілком: найчастіше він рветься. У такому разі слід надломити хребет нижче місця обриву і спробувати витягнути залишок спинного мозку. У деяких випадках цю операцію доводиться повторювати декілька разів. В мозку можна виявити цисти мікроспоридій і личинки трематод.

Для обстеження луски її знімають в різних ділянках тіла (біля 100 лусочок). Надалі її досліджують під бінокулярним мікроскопом у краплі води.

Обстеження голови лососевих для виявлення збудника вертячки. Під час епізоотологічного обстеження лососевих особливу увагу слід звернути на огляд голови, де в області слухових капсул локалізується збудник вертячки – мікроспоридія *M. cerebralis*. Для виявлення спор *M. cerebralis* ножицями подрібнюють голову лосося чи форелі. До маси, що утворилася, додають трішки води і досліджують під мікроскопом (велике збільшення).

**10. Мускулатура.** Обстеження мускулатури (м'яса) риби – найбільш відповідальна частина паразитологічного дослідження. Перед обстеженням мускулатури з будь-якої риби (риби-сирцю, риби охолодженої, мороженої, солоної, маринованої, копченої або в'яленої) необхідно зняти шкіру і перевірити підшкірну клітковину на наявність включень. Це можуть бути гіфи грибів, цисти міксо- і мікроспоридій або трематод, залишки частин тіла паразитичних рачків, також можуть знаходитися личинки *Posthodiplostomum cuticola*.

Після того як обстежена шкіра, гострим скальпелем роблять на невеликій відстані (0,5 см) один від одного глибокі надрізи поперек тіла риби так, щоб розділити всю мускулатуру на тонкі пелюстки. Розсовуючи ці пелюстки, можна виявити навіть неозброєним оком в яскравому падаючому світлі цисти міксо- і мікроспоридій, личинкові форми цестод, нематод і трематод, статевозрілі форми деяких дідімозоїдних трематод, а також паразитичні рачки і їх залишки. Мікро- та мікроспоридії, личинкові форми цестод розташовуються в цистах білого, жовтого, коричневого або чорного кольорів. Для визначення систематичної належності паразитів, що укладені в цисти, їх необхідно досліджувати під мікроскопом.

Цестоди досить легко витягуються з цист і мають чітко окреслене стрічкоподібне тіло. Їх передній кінець озброєний прикріпними органами різного типу (присоски, гаки, хоботки з гаками). Щоб переконатися в тому, що виявлений паразит є личинкою цестоди, достатньо мікроскопа зі збільшенням  $\times 50 - \times 80$ .

Для визначення надзвичайно дрібних спор мікро- і міксоспоридій необхідно велике збільшення мікроскопа –  $\times 800 - \times 1200$ .

Нематоди роду анізакіс згорнуті в спіралі у напівпрозорих капсулах. Червоно-коричневі личинки псевдотеранови нагадують тонкі кровоносні судини і зустрічаються в м'язах у вільному стані, але іноді укладені в капсули. Плероцеркоїди деяких цестод (молікул), знаходяться в м'язовій тканині риб у вільному стані, мають плоске стрічкоподібне тіло білого кольору, а їх довжина досягає 50 – 120 см. Вони можуть пронизувати мускулатуру риб в різних напрямках, створюючи враження її «червивості».

Під час оброблення м'язів великі та довгі паразити можуть бути пошкоджені. Для їх подальшого систематичного визначення необхідно витягти цілими хоча б 2 – 3 екземпляра паразитів. Для цієї мети використовуються пінцети, препарувальні голки і скальпелі.

Найбільш ефективним методом дослідження мускулатури, що дозволяє швидко обстежити великі кількості риби та рибної продукції, є перегляд м'язової тканини на **просвічування** (в яскравому світлі, що проходить через м'язи). Для цього рекомендується мати спеціальне пристосування у вигляді столика з прозорою кришкою, краще з матового скла, та підсвічуванням знизу. Яскравість підсвічування встановлюється дослідним шляхом. Товщина скибочок м'яса залежить від ступеня його прозорості, але не перевищує 2 – 3 см. В м'язових шматочках риби усі включення розміром 2 – 3 мм і більше добре помітні на просвіт.

На думку деяких дослідників (Бгайєу, 1988), дуже ефективним методом дослідження мускулатури, особливо для встановлення личинок нематод, є перегляд подрібненої м'язової тканини в **УФ-світлі**. Для цього м'язи риб подрібнюються за допомогою механічного дезінтегратора у звичайному кухонному комбайні і потім проглядаються в УФ-світлі. Личинки в УФ-світлі яскраво світяться і легко визначаються, особливо під час обстеження замороженої і відталої риби. У порівнянні зі стандартними методами, цей метод дає додатково визначити до 30 – 50% паразитів. Разом з тим, ми встановили, що при подібному подрібненні м'язів риби тіло деяких гельмінтів, що особливо мають великі розміри, може бути розірвано на шматки, і тим самим картина зараженості риби буде до деякої міри спотворена.

Для встановлення личинок анізакісів в м'язовій тканині риб деякі дослідники (Джмішь, 2002) рекомендують використовувати проєкційну

**трихінелоскопію** (трихінелоскоп ПТ-80), за допомогою якої обстежуються роздавлені шматочки м'яса розмірами 1,0 x 1,5 – 2,0 x 0,5 см.

Є ще один метод дослідження мускулатури – **компресійний**, під час якого шматочки м'язової тканини довжиною 2 – 5 см стискаються між двома скляними пластинками, зазвичай розмірами 9x13 см, і досліджуються на просвічування. Однак за допомогою цього методу практично неможливо дослідити всю масу відібраної риби, оскільки він досить трудомісткий і малопродуктивний. Компресійний метод найчастіше використовують під час обстеження печінки і гонад риб. В окремих випадках у риб через певний час після вилову спостерігається ослаблення консистенції мускулатури, а потім з'являються ознаки її розрідження, розплавлення (лізис). Подібне явище відоме у мерлузи, меч-риби, скумбрії, деяких видів тунців та інших риб. Причиною цього найчастіше слугують міксоспоридії, а іноді – мікроспоридії. В умовах сейнера за відсутності мікроскопічної техніки виявити і визначити цих паразитів практично неможливо. В подібних випадках необхідно заморозити зразки ураженої риби і відправити їх у відповідну лабораторію для кваліфікованого визначення.

Якщо ж на риболовному судні є мікроскоп з великим збільшенням (x800), то для встановлення причин розрідження м'язової тканини необхідно зробити препарат. Для цього з пошкоджених ділянок м'язів скальпелем беруть невеликий шматочок тканини. На предметному склі цією тканиною роблять мазок, до якого додають дуже маленьку крапельку води, щоб мазок був вологим. Мазок накривають покривним склом і потім досліджують під мікроскопом.

При виявленні ознак розрідження м'язової тканини в охолодженій, мороженій (після її дефростації), солоній, маринованій, копченій та в'яленій рибі, а також в розрізаній на шматки або філе, її обстеження також проводить під великим збільшенням мікроскопа (x800).

### **1.3 Техніка спрощеного паразитологічного розтину риб**

Специфіка роботи в умовах рибного промислу або в польових умовах (дефіцит часу, відсутність кваліфікованого ветеринарного лікаря-паразитолога і відповідної оптики з високою роздільною здатністю) фактично не дозволяє використовувати для обстеження метод повного паразитологічного розтину. В подібних умовах можна застосовувати лише спрощений метод, за допомогою якого здійснюється попередній паразитологічний контроль стану уловів. Цей метод дозволяє своєчасно помітити наявність у риби в окремих уловах (або в окремих районах) паразитів, що негативно впливають на товарні якості сирцю, а також виявити паразитів, потенційно небезпечних для здоров'я людини. Під час

встановлення подібних паразитів у риб для отримання достовірної картини зараження, проводиться додаткове обстеження риби методом неповного паразитологічного розтину.

Спрощений метод дозволяє більш-менш достовірно відмітити або задовільний стан риби (коли паразитів мало), або її досить високу зараженість, або ж встановити наявність в ній патогенних для людини гельмінтів.

Результати спрощеного паразитологічного обстеження риби-сирцю не виключають необхідності проведення паразитологічного дослідження відповідних партій риби в лабораторних умовах.

*Суть цього методу полягає в наступному.* Спочатку проводять зовнішній огляд риби, фіксуючи виразки, почервоніння, папіломи, великих паразитів або їх залишки, наявність яких може негативно вплинути на товарну цінність риби та викликати нарікання з боку споживачів.

Потім ножицями роблять розріз по черевцю від анального отвору до голови, вирізують частину черевної стінки і оглядають черевну порожнину на наявність великих форм паразитів, а також паразитів з категорії потенційно небезпечних для здоров'я людини. Далі перерізають травний тракт біля стравоходу та анального отвору. Кишечник з печінкою та іншими внутрішніми органами виймають, намагаючись при цьому не пошкодити травний тракт, щоб його вміст разом з локалізованими в ньому паразитами не потрапив до черевної порожнини. Якщо печінка, ікра або молоки необхідні для харчового використання, їх уважно оглядають. Для цього на них потрібно зробити один – два розрізи, щоб переконатися у відсутності всередині помітних патологічних змін.

Далі на кожній бічній стороні риби скальпелем (хірургічним ножом) роблять по 3 – 5 поздовжніх розрізи, що проходять від голови до хвоста через всю товщу м'язів від поверхні тіла до хребта. Розсовуючи м'язові пелюстки, оглядають їх поверхню в яскравому падаючому світлі для виявлення паразитів, які можуть перебувати в тканині. Якщо луска у риби щільна, її слід зчистити вздовж ліній розрізу.

***Суть неповного паразитологічного розтину риб*** полягає в тому, що у разі знаходження в рибі паразитів, потенційно небезпечних для здоров'я людини та діючих негативно на товарні якості рибної продукції, додатково проводять неповний паразитологічний розтин цього виду риби тільки на певний вид паразита. Техніка неповного паразитологічного розтину залежить від особливостей локалізації визначеного паразита.

## Питання для самоперевірки

1. В чому полягає значення повного паразитологічного розтину риб?
2. Як провести зовнішнє обстеження риби та яких паразитів ми можемо знайти?
3. В чому полягає обстеження ротової порожнини та яких паразитів ми можемо знайти?
4. Навіщо обстежувати зябра та зяброву порожнину і яких паразитів там ми можемо знайти?
5. Як взяти кров для дослідження?
6. Які паразити знаходяться в крові риб?
7. Яких паразитів можна знайти в порожнині тіла риби та при яких захворюваннях?
8. Які паразити вражають шлунок, кишечник, нирки, печінку, молоки (сім'яники), ікру (яєчники) та сечовий, жовчний і плавальний міхур?
9. Якими методами можна дослідити внутрішні органи на паразитарні захворювання?
10. Як провести дослідження очного яблука?
11. Як провести дослідження м'язової системи на наявність паразитів?
12. Який найбільш ефективний метод для дослідження мускулатури?
13. Що таке компресійний метод в дослідженні мускулатури?
14. Як дослідити ікру та молоки?
15. В чому полягає значення спрощеного паразитологічного розтину риб?
16. Охарактеризувати техніку неповного паразитологічного розтину.

## 2 МЕТОДИ ЗБИРАННЯ ПАРАЗИТІВ РИБ

**Мета роботи.** Ознайомитися і відпрацювати методи збирання паразитів риб.

**Матеріали та обладнання.** Для дослідження і розтину беруть живу або щойно загиблу рибу (кефалеві, камбалові, лососеві, бичкові та інші), набір інструментів для препарування та збирання паразитів, посудина з водою, мікроскопи, посуд для розтину, збирання і зберігання матеріалу, формалін, етиловий спирт, ефір (див. розділ 1.1).

**Хід роботи.** Щойно змертвілу рибу упродовж усього досліді змочують водою, що перешкоджає її висиханню. Збирання паразитів риб проводять у такому порядку: спочатку виконують зовнішній огляд риби і збирають паразитів з поверхні тіла, луски, плавців, зябрових кришок, зябер, після цього виконують розтин порожнини тіла і збирають паразитів

з поверхні органів та розсікаючи органи видаляють паразитів з їх тканин та порожнин.

**1. Моногеней.** Поміщені на скло для розтину зябра і плавці рясно змочують водою і досліджують під лупою або біноклярним мікроскопом. Знайдених моногеней обережно знімають очним пінцетом з зябрових пелюсток або з плавців і кладуть на чисте скло. Великих моногеней, таких, як *Diplozoon*, обережно беруть очним пінцетом і переносять на лабораторну сільничку або посудину з водою. Дрібних моногеней, наприклад представників *Dactylogyrus*, *Gyrodactylus* та ін., знімають з зябер препарувальними голками і переносять у сільничку. При перенесенні моногеней необхідно стежити за тим, щоб у сільничку потрапляло як можна менше слизу, тому що це надалі ускладнюватиме витяг паразита.

**2. Паразитичні рачки.** Їх знімають з поверхні тіла, плавців і зябер за допомогою препарувальних голок або косо зрізаного гусячого пера. До моменту фіксації паразитичних рачків зберігають у сільниці з водою. Бажано, щоб сільничка була покрита кришкою, тому що деякі паразитичні рачки мають значну рухливість і можуть виповзти з сільниці.

**3. Кишкові паразити.** Стрічкових черв'яків, трематод, круглих черв'яків і шкребнів витягують з кишечника і поміщають в сільнички або їх замінюють ємкістю з чистою водою. При витяганні стрічкових черв'яків необхідно стежити за тим, щоб була виділена голівка паразита, яка досить часто глибоко проникає в стінки кишечника. Іноді голівка легко відділяється від стінки кишечника під час потягування за тіло хробака. Однак у деяких випадках необхідно зруйнувати слизову навколо місця прикріплення і тільки після цього виділити голівку.

При витяганні шкребнів також необхідно стежити за тим, щоб в стінці кишки не залишився хоботок паразита.

**4. Личинки трематод, стрічкових і круглих черв'яків.** Ці личинки, як правило, добре помітні неозброєним оком, і виділення їх разом з цистами з тканин та органів господаря зовсім не складно. Можуть виникнути деякі труднощі під час виймання личинок з цист. Досить просто звільнити від цист личинок стрічкових і круглих черв'яків. Для цього препарувальними голками руйнують стінку цисти і виймають паразита.

Найбільші труднощі відбуваються під час звільнення з цисти личинок трематод. Цисти трематод, як правило, мають кілька оболонок. Зовнішня оболонка досить щільна і легко знімається за допомогою препарувальних голок. Внутрішня оболонка тонка і прозора, заповнена рідиною в якій знаходиться паразит, вона досить важко відокремлюється. Іноді ця оболонка буває настільки тонкою і прозорою, що її не помічають, особливо дослідники-початківці. Однак відокремлення цієї оболонки абсолютно необхідно, оскільки в іншому випадку стає неможливим подальше оброблення та визначення паразита.

Існують різні способи виділення з цист личинок трематод. Можна зруйнувати оболонку цисти гостро відточеними препарувальними голками. Інший спосіб полягає в тому, що цисту поміщають під покривне скло, натискаючи на нього зверху препарувальною голкою, видавлюють паразита з цисти.

### Питання для самоперевірки

1. Як забезпечити особисту безпеку під час проведення повного паразитологічного розтину риб та збирання паразитів?
2. Перерахувати методи збирання паразитів.
3. Охарактеризувати методи збирання моногеней.
4. Охарактеризувати методи збирання паразитичних рачків.
5. Охарактеризувати методи збирання кишкових паразитів.
6. Охарактеризувати методи збирання личинок трематод.
7. Характеристика методів збирання стрічкових і круглих черв'яків.
8. Які необхідні інструменти і посуд для збирання паразитів?

## 3 МЕТОДИ ФІКСАЦІЇ ПАРАЗИТІВ РИБ

**Мета роботи.** Відпрацювати методи фіксації паразитів риб.

**Матеріали та обладнання.** Для фіксації беруть живих або щойно змертвілих паразитів риб (найпростіші, мікроспоридії, моногеней, трематоди і стрічкові черв'яки, круглі черв'яки, шкребні, личинки трематод, п'явки, глохидії), набір інструментів для збирання і зберігання матеріалу (див. розділ 1.1), формалін, етиловий спирт, ефір, рідина Шаудіна, розчин йоду, гематоксилін, фарба Романовського-Гімза, розчин 5% гліцерин-желатину, розчин 3% азотно-кислого срібла та гіпосульфїту, оцтовокислий кармін.

**Хід роботи.** Вийнятих щойно з органів і тканин паразитів фіксують за різними методами в залежності від завдань дослідження. Найчастіше користуються такими методами фіксації.

**1. Найпростіші.** Їх фіксують двома способами. Для фіксації мазків використовують рідину Шаудіна. Слиз з паразитами тонким шаром наносять на покривне скло яке опускають мазком донизу в сільничку з рідиною Шаудіна, де витримують протягом 15 – 20 хвилин, після чого промивають 70° спиртом. З спирту мазок переносять в розчин йоду на 70° спирті (розчин йоду повинен мати колір міцного чаю). В розчині йоду мазок витримують до тих пір, доки він не стане коричневим. Після йодування мазок промивають в 70° спирті до повного знебарвлення і

кладуть у спеціальний стаканчик для зберігання. Предметне скло повинне легко входити в стаканчик, але не бовтатися в ньому. Для того щоб запобігти тертя стекол, між ними кладуть вирізані з щільного паперу кільця, зовнішній діаметр яких відповідає внутрішньому діаметру стаканчика, а внутрішній підбирають так, щоб велика частина мазка залишалася вільною. Зверху кожної партії стекол з мазками кладуть етикетку.

Мазки, фіксовані рідиною Шаудіна, надалі фарбують залізним гематоксиліном.

Користуючись методом виготовлення сухих мазків необхідно слиз з локалізованими в ньому паразитами, рівним шаром розподілити по поверхні покривного скла і висушити. Найкраще висушувати мазки в чашках Петрі, для захисту від пилу. Надалі мазок можна піддати срібленню за Клейном.

**2. Міксоспоридії.** Спори міксоспоридій на місці укладають у гліцерин-желатин. Для цього на тимчасовому препараті, що містить спори міксоспоридій, підіймають покривне скло і вносять під нього заздалегідь розплавлену гліцерин-желатинову суміш. Надалі визначення паразитів з таких препаратів виконують без додаткової обробки і забарвлення.

Мазки крові, в яких можуть знаходитися паразитичні джгутиконосці, фіксують метиловим спиртом протягом 10 хвилин або сумішшю рівних частин 96° етилового спирту і ефіру протягом 20 хвилин. Надалі мазки крові фарбують за методом Романовського-Гімза.

Мазки крові також можна фіксувати з одночасним фарбуванням за Папенгеймом. У цьому випадку спеціальної фіксації не потрібно, тому що барвник містить метиловий спирт.

**3. Моногеней.** З дрібних моногеней, таких, як *Dactylogyrus*, *Gyrodactylus* та ін., готують гліцерин-желатинові препарати. Для цього паразитів поміщають на предметне скло в невеликій краплі води, потім фільтрувальним папером видаляють зайву воду, додають краплю розплавленого гліцерин-желатину і покривають покривним склом. Покривне скло іноді слід притиснути, щоб на хробаках було добре видно прикріпні гаки і копулятивний орган, форма і розміри яких є основними систематичними ознаками. Для запобігання від висихання і псування гліцерин-желатинові препарати обводять по краю покривного скла бальзамом, асфальтовим лаком. Великих моногеней, таких, як *Diplozoon*, фіксують спиртом за методикою, описаною для трематод і стрічкових черв'яків.

**4. Трематоди і стрічкові черв'яки.** Трематод і стрічкових черв'яків фіксують 70° спиртом. В залежності від розмірів черв'яків їх кладуть на предметне скло або на скло для розтину і накривають покривним склом, предметним склом або навіть іншим склом для розтину і вносять піпеткою

під скло 70° спирт. У такому вигляді паразитів залишають на певний час, підливаючи у міру висихання спирт. Добре фіксовані хробаки стають непрозорими, а їх тканини щільними. Надалі зафіксованих черв'яків поміщають в пробірки з 70° спиртом і зберігають там до терміну визначення.

**5. Круглі черв'яки.** Цих паразитів фіксують гарячим спиртом або рідиною Барбагало. Зазначені реактиви нагрівають в пробірці до кипіння і виливають в сільничку, де знаходяться фіксовані об'єкти. Перед фіксацією з сільнички необхідно видалити зайву воду.

Паразитів перед фіксацією необхідно ретельно очистити від бруду і слизу, тому що зробити це після фіксації буде практично неможливо. Дуже дрібних нематод укладають у гліцерин-желатин без попередньої фіксації. Потрібно пам'ятати, що в разі необхідності з фіксованих спиртом або рідиною Барбагало нематод завжди можна виготовити гліцерин-желатинові препарати або дослідити їх у молочній кислоті.

**6. Шкребні.** Для фіксації шкребнів використовують 70° спирт. Фіксують цих паразитів так само, як трематод і стрічкових черв'яків, між склом. Перед фіксацією особливо ретельно потрібно очистити від бруду і слизу хоботок хробака, тому що за особливостями будови гачків хоботка визначають групу паразитів. Під час фіксації необхідно також стежити за тим, щоб хоботок був добре вивернутий. Для цього на покривне скло ставлять невеликий вантаж. З самих хоботків також можна виготовити гліцерин-желатинові препарати.

**7. Личинки трематод.** Личинок трематод в основному фіксують 70° спиртом між стеклами.

Витягнутих з очей личинок фіксують живими у 95° спирті протягом 10 хвилин, потім їх відмивають дистильованою водою. Потім личинок переносять у 0,5% розчин азотнокислого срібла і ставлять на яскраве світло. Під дією світла відбувається фарбування вапняних телець – важливої систематичної ознаки – у бурій колір. Після цього, сріблення слід припинити і паразитів перенести у воду для промивання. Відмитих черв'яків поміщають в 3% розчин гіпосульфїту на 5 хвилин, потім знову промивають водою і готують постійні препарати в бальзамі.

Інший метод фіксації – внесення личинок до оцтовокислого карміну, де відбуваються одночасно і фіксація, і фарбування паразита.

**8. П'явки і глохидії.** П'явок фіксують 4% формаліном, не притискаючи.

Глохидії фіксують 70° спиртом або на місці готують гліцерин-желатинові препарати. Перед виготовленням препаратів глохидій витримують протягом декількох годин у воді. За цей час вони гинуть і їх стулки розкриваються. Під час укладання глохидій в гліцерин-желатин

слід пам'ятати, що стулки їх раковин дуже ніжні і їх легко розчавити, тому по кутах покривного скла найкраще робити з воску невеликі «ніжки».

### Питання для самоперевірки

1. Назвіть методи фіксації паразитів риб.
2. Охарактеризуйте заходи безпеки під час роботи з фіксуючими речовинами.
3. Характеристика методів фіксації найпростіших.
4. Характеристика методів фіксації мікроспоридій.
5. Характеристика методів фіксації моногеней.
6. Характеристика методів фіксації трематоди і стрічкових черв'яків.
7. Характеристика методів фіксації круглих черв'яків.
8. Характеристика методів фіксації шкребнів.
9. Характеристика методів фіксації личинок трематод.
10. Характеристика методів фіксації п'явок і глохидій.

## 4 МЕТОДИКА ВЗЯТТЯ ПРОБ З РИБИ-СИРЦЯ І РІБНОЇ ПРОДУКЦІЇ

**Мета роботи.** Відпрацювати методи взяття проб з риби-сирцю, мороженої, охолодженої, солоні, маринованої, копченої, в'яленої риби і молоко, ікри, печінки для проведення повного паразитологічного розтину риб.

**Матеріали та обладнання.** Для дослідження і розтину необхідно взяти рибу-сирець, морожену, охолоджену, солону, мариновану, копчену, в'ялену рибу та молоки, ікру, печінку, набір інструментів для препарування і збирання паразитів, мікроскопи, посуд для розтину, збирання, фіксації і зберігання матеріалу, формалін, етиловий спирт (див. розділ 1.1).

**Хід роботи.** Найбільш відповідальний етап паразитологічного дослідження – попереднє обстеження риби безпосередньо під час її вилову. Для попереднього обстеження з першого улову методом випадкової вибірки, тобто незалежно від розмірів і статі риби, а також місця їх знаходження в тралі, беруть 20 – 25 риби виловленого виду. Практика показала, що, як правило, зараженість будь-якого виду риби в промисловому районі протягом певного періоду часу приблизно однакова, тому в подальшому можна проводити щодобове контрольне обстеження тільки 15 риби даного виду. Якщо судно працює в одному і тому ж промисловому районі (квадраті) тривалий час, то обстеження виловленого

виду риб проводять один раз в 3 – 4 дні. Якщо судно змінює дислокацію, обстеження риб в новому районі проводять за вищенаведеною схемою.

**1. Риба-сирець.** Під час виявлення в рибі-сирці паразитів, потенційно небезпечних для людини або свійських і господарсько-цінних тварин, для отримання більш достовірної картини зараження риб даним видом паразитів, проводять їх додаткове обстеження за методом неповного паразитологічного розтину. З цією метою з різних ділянок трала беруть по 20 екземплярів риб досліджуваного виду.

При виявленні в рибі паразитів, що впливають на її фізико-хімічні властивості або ж погіршують товарні якості, для кінцевого з'ясування картини зараження риб цим паразитом та вирішення питання про направлення сирцю на ті чи інші цілі, з різних ділянок трала беруть по 20 риб кожного виду і досліджують їх методом неповного паразитологічного розтину.

**2. Морожена та охолоджена риба.** Морожена риба доставляється з районів промислу, як правило, в паках, кожен з яких складається з трьох брикетів. Фактично при заморожуванні в кожен брикет, і тим більше пак, може потрапити риба з різних ділянок трала, тобто при заморожуванні риби фактично дотримується принцип випадкової вибірки, яким користуються під час паразитологічного обстеження риб на промислі. Тому для паразитологічного обстеження довільно відбирають будь-який пак і з нього беруть брикет, в якому повинно бути 20 – 25 риб даного виду. Якщо риба заморожена не в брикетах або доставлена в охолодженому стані, то з різних місць партії методом випадкової вибірки береться 20 – 25 риб.

20 – 25 екземплярів риб від кожної партії – це той необхідний мінімум, який потрібний для паразитологічного обстеження мороженої або охолодженої не розробленої риби, риби з вийнятими зябрами, патраної з головою та обезголовленої, обробленої на тушки або розчищеною на спинки.

Якщо риба оброблена на шматочки або філе, то довільно відбирають 50 – 100 шматків або філейчиків. Кількість досліджуваних зразків залежить від їх розміру та розміру розчищеної на шматки (філе) риби. Шматки можуть бути різного розміру, що залежить, насамперед, від розмірів самої риби, а також від виду продукції, що виготовляється з неї. Бажано, щоб сумарна кількість шматочків (філейчиків) приблизно відповідала 20 рибам.

**3. Солена риба.** З різних бочок (контейнерів) довільно відбирають по 5 риб незалежно від їх розмірів, з тим, щоб в сумі отримати 20 – 25 екземплярів. Якщо партія солоної риби представлена кількома видами, відбір проб проводять для кожного з них окремо.

**4. Маринована риба (пресерви).** З партії довільно відбирають таку кількість банок пресервів, щоб в сумі отримати для обстеження 20 екземплярів риб.

**5. Копчена риба.** З п'яти одиниць тари з копченою продукцією від кожної партії довільно відбирають по 5 риб. Якщо копчена продукція представлена шматочками або філейчиками, то відбір їх кількості бажано проводити так, щоб в сумі вони відповідали б 20 рибам. Якщо партія представлена кількома видами, відбір проб проводять для кожного з них окремо.

**6. В'ялена риба.** З різних місць партії методом випадкової вибірки відбирають 20 риб. Якщо партія представлена кількома видами, відбір проб проводять для кожного з них.

**7. Печінка, молоки, ікра.** Печінка, молоки і ікра, що направляються на виготовлення харчової продукції, досліджуються від 20 – 25 довільно відібраних риб. При встановленні в рибній продукції паразитів, що псують товарний вигляд або знижують якість рибної продукції, але не несуть потенційної небезпеки для здоров'я людини, виконують повторне обстеження риби та рибної продукції в межах тих самих обсягів вибірок.

Обстеження виконують методом неповного паразитологічного розтину на наявність лише цих паразитів. Результати повторного обстеження підсумовують з результатами первинного дослідження і отриманий середній сумарний результат поширюють на всю партію, і потім приймають рішення про направлення риби на ті чи інші цілі.

При виявленні в рибі-сирці або охолодженій рибі живих гельмінтів, потенційно небезпечних для людини і теплокровних тварин, рибу направляють на замороження з подальшим повторним обстеженням, чи на оброблення, під час якого ті частини риби, в яких локалізувалися небезпечні паразити, будуть видалені, але також з обов'язковим обстеженням вже готової продукції. В обох випадках повторне паразитологічне обстеження виконують за методом неповного розтину тільки на даний вид паразитів. Для цієї мети з партії методом випадкової вибірки відбирають по 20 – 25 риб.

При встановленні в рибній продукції живих личинок гельмінтів, потенційно небезпечних для здоров'я людини, повторне паразитологічне обстеження продукції не проводиться і ця продукція підлягає утилізації.

#### Питання для самоперевірки

1. Методика взяття проб з риби-сирцю і їх дослідження.
2. Методика взяття проб з мороженої та охолодженої риби і їх дослідження.
3. Методика взяття проб з солоної риби і їх дослідження.

4. Методика взяття проб з маринованої риби і їх дослідження.
5. Методика взяття проб з в'яленої риби і їх дослідження.
6. Методика взяття проб з печінки, молоко та ікри і їх дослідження.

## **5 ВИЗНАЧЕННЯ ЖИТТЄЗДАТНОСТІ ЛИЧИНОК ГЕЛЬМІНТІВ, ЩО НЕБЕЗПЕЧНІ ДЛЯ СВІЙСЬКИХ ТВАРИН І ЛЮДИНИ**

Використання морської риби на харчові цілі або в корм тваринам при наявності в ній потенційно небезпечних личинок гельмінтів, що знаходяться в живому стані, *суворо забороняється*. Оскільки загиблі личинки небезпеки не несуть, то при знаходженні в рибі личинок гельмінтів з категорії потенційно небезпечних, перш за все, необхідно з'ясувати, чи немає серед них живих особин.

Визначення життєздатності потенційно небезпечних личинок гельмінтів обов'язково проводиться для личинок, знайдених у свіжій або охолодженій морській рибі, якщо її передбачається в такому вигляді направити на реалізацію до торгівельної мережі, а також на виготовлення копченої, солоної, маринованої або в'яленої продукції, або ж на корм свійським тваринам.

Життєздатність небезпечних личинок гельмінтів, знайдених в мороженій рибі, а також у всіх видах рибної продукції, виготовлених з попередньо замороженого сирцю, обов'язково визначається якщо замороження риби виконувалося за температури  $-15 - 19^{\circ}\text{C}$  і в подальшому риба зберігалася при цій температурі менше тижня. Якщо риба була заморожена при  $-20^{\circ}\text{C}$  по всьому об'єму продукту протягом 24 год, то визначення життєздатності личинок гельмінтів не проводиться, оскільки всі паразити гинуть за цей період часу («Директива Ради ЄЕС від 22.07. 1991 р., що встановлює ветеринарно-санітарні умови для продукції та її поширення на ринку рибопромислових продуктів: 91/493/ЄЕС»).

*Життєздатність небезпечних личинок гельмінтів, знайдених в солоній, маринованій, копченій або в'яленій рибі, а також у печінці, молоках та ікрі риб, визначається в тих випадках, якщо продукція виготовлена зі свіжої риби або з риби-сирцю, що не пройшла попередньої заморозки.* Відомо, що не всі режими засолювання, маринаду або копчення гарантують загибель небезпечних паразитів.

**Мета роботи.** Відпрацювати методи визначення життєздатності личинок гельмінтів, небезпечних для здоров'я свійських тварин і людини.

**Матеріали та обладнання.** Для дослідження беруть живих паразитів риб (моногенії, трематоди і стрічкові черв'яки, круглі черв'яки, шкребні, личинки трематоди, п'явки, глохидії), набір інструментів для збирання

матеріалу, чашка Петрі, формалін, етиловий спирт, розчин йоду, фізіологічний розчин, розчин аптечного трипсину, джерело слабого постійного струму (батарея з напругою 1,5 В) та ізольований провідник.

*Хід роботи.* Визначення життєздатності потенційно небезпечних личинок гельмінтів, щойно знайдених у рибі, можна здійснювати декількома методами.

**1. Метод хімічного впливу.** Личинок гельмінтів дістають з риби і поміщають при 36 – 37 ° С в сільничку або в чашку Петрі в невеликий об'єм 0,5% розчину трипсину на фізіологічному розчині. Зазвичай можна взяти стандартний розчин аптечного трипсину. Спостереження ведуть під біноклем. Якщо личинки життєздатні, розчин стимулює їх руху, а інцистовані личинки трематод починають виходити з цисти. Цю реакцію личинок видно вже через 5 хвилин.

Особливо зручний цей метод під час визначення життєздатності личинок трематод.

**2. Метод електричного стимулювання.** Метод застосовується тільки до личинок нематод, цестод і шкребнів. Для цієї мети потрібна наявність джерела слабого постійного струму (1,5 В). Два тонких ізольованих провідника від полюсів сухого елемента живлення підводяться до двох препарувальних голків. Потрібно одночасно доторкнутися обома голками тіла личинки, що лежить на мокрому фільтрувальному папері, постійно спостерігаючи під біноклем за реакцією паразита. У живої личинки добре помітні скорочення м'язів.

**3. Метод фізичного подразнення.** Личинок цестод, нематод і шкребнів поміщають в чашку Петрі або на фільтрувальний папір, рясно змочений фізіологічним розчином. Деяких личинок зручніше розглядати без фільтрувального паперу в досить тонкому шарі фізіологічного розчину. Їх рух можна стимулювати за допомогою фізичного подразнення. Для цього, спостерігаючи в бінокль, потрібно вколоти личинку гострою препарувальною голкою. Якщо личинка життєздатна, то укол викликає скорочення тіла.

### Питання для самоперевірки

1. За яких умов необхідно визначати життєздатність личинок гельмінтів, що небезпечні для свійських тварин і людини?
2. Які захворювання у людей можуть спричинити личинки гельмінтів?
3. Назвіть паразитів риб, що небезпечні для здоров'я тварин і людини.
4. Охарактеризуйте хімічний метод впливу на личинок гельмінтів риб.
5. Охарактеризуйте метод фізичного подразнення личинок гельмінтів.
6. Охарактеризуйте метод електричного стимулювання личинок гельмінтів.

## ЛІТЕРАТУРА

### Основна

1. Бауер О. Н., Мусселиус В. А. и др. Ихтиопатология. - М.: Пищевая пром., 1977. - 431 с.
2. Гаевская А. В. Справочник болезней и паразитов морских и океанических промысловых рыб. - Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2001. - 262 с.
3. Курочкин Ю. В. Методы паразитологического инспектирования морской рыбы и рыбной продукции (морская рыба-сырец, рыба охлажденная и мороженая). - М.: ВНИРО, 1989. - 43 с.

### Допоміжна

1. Биологические основы марикультуры / Под ред. Л. А. Душкиной. М.: Изд-во ВНИРО, 1998. - 320 с.