Національний університет
водного господарства
та природокористування

Міністерство освіти і науки України
Національний університет водного господарства та
природокористування
Кафедра водних біоресурсів

05-03-75

М Е Т О Д И Ч Н І В К А З І В К И

до лабораторних робіт з навчальної дисципліни **«Іхтіопатологія риб»** для здобувачів вищої освіти першого (бакалаврського) рівня за спеціальністю 207 «Водні біоресурси та аквакультура» денної і заочної форм навчання

Національний університет
водного господарства
та природокористування

Рекомендовано науково-
методичною комісією зі
спеціальності 207 «Водні
біоресурси та аквакультура»
Протокол № 12 від 08.07.19 р.

Рівне – 2019

Національний університет водного господарства та природокористування

Методичні вказівки до лабораторних робіт з навчальної дисципліни «Іхтіопатологія риб» для здобувачів вищої освіти першого (бакалаврського) рівня за спеціальністю 207 «Водні біоресурси та аквакультура» денної і заочної форм навчання / Полтавченко Т. В. – Рівне : НУВГП, 2019. – 44 с.

Укладач: Полтавченко Т. В., к.вет.н., доцент кафедри водних біоресурсів.

Відповідальний за випуск: Сондак В. В., д.б.н., професор, завідувач кафедри водних біоресурсів.

Зміст

Вступ…… 3
Лабораторна робота № 1. Обладнання, правила роботи та техніка безпеки в лабораторія для дослідження риби ….. 4
Лабораторна робота № 2. Загальні методи діагностики хвороб, анатомія та розтин риб …….. 6
Лабораторна робота № 3.Техніка паразитологічного розтину риб…….…..... 11
Лабораторна робота № 4. Методика діагностики інвазійних хвороб риб. Збір, фіксація і зберігання паразитів риб……..…….. 18
Лабораторна робота № 5.Фарбування паразитів і виготовлення постійних препаратів…… 21
Лабораторна робота № 6.Показники за якими діагноз на заразну хворобу риб вважається встановленим……..…… 26
Лабораторна робота № 7.Діагностика інфекційних хвороб 30
Лабораторна робота № 8.Діагностика протозойних хвороб та крустацеози……. 36
Лабораторна робота № 9.Діагностика моногеноїдозів і трематодозів…… 41
Рекомендована література…….. 44

© Полтавченко Т. В., 2019
© НУВГП, 2019

Національний університет
водного господарства
та природокористування

ВСТУП

Хвороби риб наносять значні економічні збитки світовій аквакультурі. Вивчення закономірностей їх виникнення та поширення, розробка заходів запобігання є важливою проблемою сучасного рибництва, оскільки від її вирішення залежить ефективність відтворення та вирощування рибних об'єктів, збереження рибної продукції.

Забруднення водних екосистем внаслідок антропогенного впливу, порушення рибоводно меліоративних та ветеринарно санітарних вимог під час вирощування риби, значні щільності посадки, незбалансованість штучних кормів за основними поживними речовинами знижують загальну резистентність організму риб, провокують виникнення інфекцій та порушення рівноваги в системі паразит хазяїн.

Це призводить до сповільнення темпу росту об'єктів вирощування, зниження коефіцієнта вгодованості та рибопродуктивності водойм, а часом, і до їх масової загибелі. Причиною ускладнення іхтіопатологічної ситуації та поширення збудників можуть бути і безконтрольні перевезення риби з метою її розведення, інтродукції та акліматизації.

«Іхтіопатологія риб» – це наука вивчає хвороби риб різної природи, їх етіологію (*вчення про причини та умови виникнення хвороб, від грец. «етіа» – причина*), чинники, що сприяють їх спалаху, клінічні ознаки та перебіг, патологоанатомічні зміни, методи діагностики, заходи з профілактики і лікування, а також загальні рибоводно - меліоративні і ветеринарно-санітарні вимоги до вирощування риби, спрямовані на профілак тику її хвороб та токсикозів.

Предметом дисципліни є вивчення студентами теоретичної та практичної бази, необхідної для успішного освоєння процесів вирощування риби та отримання якісної рибної продукції, ознайомити з основами загальної патології, паразитології та механізмами захисту організму, основними хворобами риб, їх природою, рибоводно - меліоративними і ветеринарно-санітарними заходами, що застосовуються в повсякденній практичній роботі.

Національний університет
водного господарства
та природокористування

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 1.
ОБЛАДНАННЯ, ПРАВИЛА РОБОТИ ТА ТЕХНІКА БЕЗПЕКИ В ЛАБОРАТОРІЯХ ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ РИБИ

Мета роботи. На базі лабораторії кафедри ознайомитися з основним обладнанням та технікою безпеки, щодо проведення лабораторних досліджень для виявлення хвороб риб.

Обладнання. Іхтіопатологічну лабораторію обладнують у спеціальному або пристосованому для неї приміщенні і використовують як для хімічного аналізу води, так і для дослідження хімічного складу кормів, добрив, риби.

У лабораторії передбачають витяжну шафу зі спеціальною тягою, водопровід і каналізацію. Приміщення повинно мати не менше двох кімнат. У першій розміщують столи, полиці для титрування, аналітичні терези (на кронштейнах біля капітальної стіни). Прилади, яким потрібне постійне місце і обережне ставлення, встановлюють на окремих столах. Для вентиляції приміщення обладнують фрамуги і кватирки, а ще краще - вентилятор з механічним приводом.

У другій кімнаті встановлюють витяжну шафу з вентиляцією, кронштейн для сушильних шаф, прилад для отримання дистильованої води, стіл і раковину для миття посуду, етажерку для його сушіння і шафу для реактивів, хімічного посуду та матеріалів. У цій кімнаті проводять озолення та сушіння речовин.

Вогненебезпечні речовини (ефір, спирт, бензин та ін.), а також міцні кислоти зберігають у спеціально пристосованому приміщенні. Отруйні речовини (сполуки ртуті, миш'яку, ціанисті препарати та ін.) зберігають окремо від інших реактивів, видають і використовують їх відповідно до особливих, спеціально установлених правил. Під час зберігання реактивів слід дотримуватися наступних правил: хімічні речовини зберігають у скляних банках, закритих пробками, з етикетками або підписаних з точною назвою тієї чи іншої речовини або їх хімічними формулами; один раз на місяць всі реактиви переглядають.

Правила роботи і техніка безпеки. Під час проведення хімічного аналізу дослідники зобов'язані дотримуватися наступних правил:

знати, як діє той чи інший пристрій, які аналізи небезпечні, які речовини отруйні, вибухонебезпечні та ін.;

працювати в спецодязі;

Національний університет водного господарства та природокористування

на лабораторних столах розставляти лише ті предмети, які потрібні для роботи: реактиви ставлять на полицях, розміщених над столами; сухі реактиви беруть чистим шпателем або спеціальною ложечкою;

кришки і корки від банок та склянок слід класти на стіл поверхнею, що не торкається реактиву;

всі досліди з отруйними, неприємного запаху речовинами, а також з випаровуванням кислот та кислих розчинів проводити у витяжній шафі;

постійно слідкувати за роботою приладів;

не залишати прилади без нагляду навіть на короткий час;

після дослідження вимкнути джерело струму;

у ході робіт із займистими речовинами необхідно слідкувати, щоб поблизу не було відкритого вогню (полум'я пальника, відкритого електронагрівача);

у дослідах з твердими лугами обов'язково користуватися захисними окулярами, луги беруть тільки щипцями або пінцетом; під час розведення концентрованих кислот, особливо сірчаної, кислоту вливають у воду, а не навпаки.

У разі виникнення пожежі вимикають вентиляцію і всі нагрівні пристрої, видаляють займисті речовини. Під час тушіння пожежі користуються сухим вогнегасником, піском, кошмою.

Надання першої медичної допомоги за ураження. В лабораторії повинні бути бинти, гігроскопічна вата, 5%-ний розчин йоду, 2%-ний розчин борної кислоти, 3-5%-ний розчин натрію двовуглекислого, 3-5%-ний розчин марганцевокислого калію.

У разі попадання на тіло або одяг концентрованої кислоти чи лугу негайно промивають обпалене місце сильним струменем води протягом 3-5 хв, потім накладають примочку із 3-5%-ного розчину перманганату калію (можна використати також спиртовий розчин таніну). За попадання кислоти або лугу в очі негайно промивають їх великою кількістю води кімнатної температури, після чого звертаються до лікаря.

Найкращим засобом у разі термічних опіків є 96 %-ний етиловий спирт, що має одночасно і знезаражувальну, і знеболювальну дію. Добре допомагають також примочки із свіжоприготовлених розчинів питної соди або перманганату калію. Під час отруєння хлором, сірководнем, окислом вуглецю та

Національний університет водного господарства та природокористування

іншими отруйними речовинами потерпілого виводять на свіже повітря.

Всі студенти після ознайомлення з вимогами техніки безпеки розписуються у відповідному журналі.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 2. ЗАГАЛЬНІ МЕТОДИ ДІАГНОСТИКИ ХВОРОБ, АНАТОМІЯ І РОЗТИН РИБ

Мета заняття - засвоїти загальні методи діагностики хвороб риб, методики епізоотологічного та клінічного дослідження, патолого-анатомічного розтину риб; вивчити особливості анатомії риб, навчитися оцінювати стан органів і визначати діагностичну цінність виявлених змін, симптомів та епізоотологічних даних.

Прилади та устаткування: акваріум, сачок, відро, муляжі риб, кювети, ножиці великі та очні, пінцети, скальпелі, препарувальні голки, чашки петрі, лупи (МБС-9), серветки, предметне скло, музейні препарати з анатомії рию.

Досліджуваний матеріал: жива риба (короп або інші риби).

Порядок виконання. Самостійно вивчити анатомо-фізіологічні особливості риб, звернувши увагу на відмінність будови органів у мирних (всеїдних, рослиноїдних) та хижих риб, характерні риси кровоносної, лімфатичної і нервової систем, органів чуття. Засвоїти схему загальної діагностики хвороб риб і методику її практичного використання.

У лабораторії кафедри: 1.Візуально оцінити клінічний стан риб за поведінкою і зовнішніми ознаками. Виконати розтин загиблих і вимушено забитих риб, відпрепарувати органи, описати їх стан. 2. Оглянути під лупою будову зябер, оцінити їх стан, замалювати. 3. Схематично замалювати розтяту рибу і топографію внутрішніх органів.

Зміст теми

Діагностику більшості хвороб риб здійснюють комплексно. Вона включає результати:

а) епізоотологічного обстеження рибгоспу, водойми;
б) клінічних досліджень;
в) патолого-анатомічного розтину риб;
г) лабораторних досліджень.

Епізоотологічні дані та клініко-анатомічні ознаки за одних хвороб мають вирішальне значення, за інших - їх використовують

Національний університет
водного господарства
та природокористування

для постановки попереднього діагнозу. Остаточний висновок про діагноз дають з урахуванням лабораторних досліджень.

Епізоотологічне обстеження. У разі появи захворювань у першу чергу проводять аналіз епізоотичної ситуації в господарстві (водоймі), результати якого використовують для ранньої діагностики і вжиття термінових заходів з профілактики та ліквідації хвороби. Епізоотологічне обстеження проводять за наступною схемою:

1. **Збір епізоотологічного анамнезу.** Проводять опитування рибоводів, працівників господарства з метою збору відомостей про перебіг і прояв захворювання; з'ясовують, коли, за яких умов з'явилася хвороба, риби яких вікових груп хворіють, у яких ставах (водоймах) реєстровані хворі та загиблі риби, як перебігало захворювання (швидкоплинно чи уповільнено) і скільки виловлено загиблих риб, які умови (метеорологічні, паводок, дощ, температура і т. п.) спричинили спалах хвороби та ін.

2. **Ознайомлення з документацією господарства.** Визначають кількісний, видовий, віковий, породний склад стада риб та способи його комплектування; організацію обслуговування і годівлі; розташування господарства, схему водопостачання ставів; можливі джерела забруднення; гідрохімічний режим водойм; економічні та виробничі зв'язки господарства.

3. **За даними ветеринарного обліку** визначають, чи траплялися подібні захворювання у попередні роки в сусідніх рибгоспах або водоймах, які діагностичні дослідження і профілактичні заходи проводили, їх результати.

4. **Особисте обстеження ставів (водойм):** стан берегової зони, її заростання, фізичні властивості води; клінічний огляд і патолого- анатомічний розтин, реєстрація хворих та загиблих риб, визначення рівня захворюваності і загибелі риб; відбір води та патматеріалу для лабораторних досліджень.

Клінічний огляд проводять вибірково безпосередньо у водоймі під час контрольного вилову або посадки риб у спеціальні ємності (акваріуми, садки, басейни тощо). Рекомендується продивлятися не менше 100 риб кожного виду й віку. Реєструють порушення поведінки риб: лякливість, пригнічення, збудження, координація рухів, рівновага у воді.

Національний університет
водного господарства
та природокористування

Продивляються шкірні покриви і плавці, звертаючи увагу на кількість і якість слизу, зміну кольору, наявність припухлостей, крововиливів, виразок, рубців, цист, скуйовдження луски і т. д.

Піднімаючи зяброві кришки, продивляються зябра. Звертають увагу на колір, форму, малюнок та ступінь ослизнення зябер, структуру пелюсток, продивляючись їх за допомогою лупи.

На губах і слизовій ротової порожнини зустрічаються крововиливи, виразки, новоутворення.

Важливо не пропустити зміни на очах: западання очей або вирячкуватість (екзофтальм), крововиливи, скаламутнення кришталика і рогівки.

Проводять облік хворих риб в абсолютному та відсотковому виразі (захворюваність).

Риб з клінічними ознаками відсаджують у відро, переносять в лабораторію і проводять патолого-анатомічний розтин, паразитологічні та інші дослідження.

Для розтину беруть 25 екземплярів цьоголітків або річняків, 10 - 15 дволітків або дворічок та одиничні екземпляри риб старшого віку.

Національний університет
водного господарства
та природокористування

Патолого-анатомічний розтин має важливе діагностичне значення, до нього вдаються у ході діагностики більшості хвороб риб. Розтину піддають свіжі трупи (зябра без ознак розкладення) і живих риб з клінічними ознаками захворювання. Живих риб потрібно усипити гіпнодилом (5-10 мг/л), хлоралгідратом (2-4 г/л), або зруйнувати спинний мозок голкою чи розрізом у ділянці потилиці.

Зябра оголяють видаленням зябрової кришки ножицями. Відмічають ступінь ослизнення, зміну їх кольору та малюнка, наявність крововиливів, осередків некрозу, цист паразитів і т. д. Ножицями відрізають 2-3 дужки і продивляються їх під лупою. Іноді готують препарати окремих пелюсток на предметному склі. Накривають їх покривним склом і визначають товщину складок та патологоанатомічні зміни.

Зябра костистих риб мають гребінчасту структуру, складаються із 4 зябрових дуг. На кожній дужці назовні виходять зяброві пелюстки (дихальна частина), а всередині - зяброві тичинки (фільтраційний апарат). Скелет зябрових пелюсток складають хрящові промені. В апікальній частині пелюстки розгалужуються на зовнішню та внутрішню гілки. У поперечному напрямі від них

Національний університет
водного господарства
та природокористування

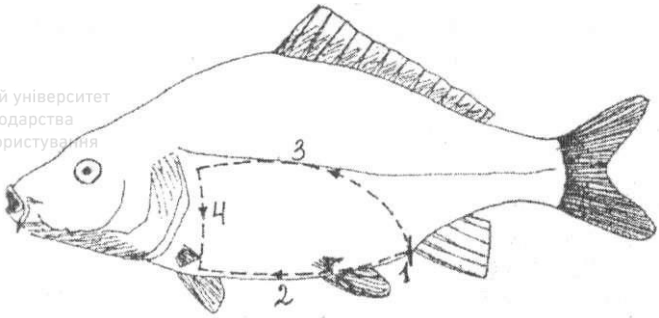


Рис. **1. Розтин риби, контури розрізу черевної стінки**

відходять численні респіраторні складки (пелюсточки), покриті одношаровим плоским епітелієм і пронизані густою сіткою капілярів. Товщина складок залежить від віку риб і змінюється під впливом різних патогенних факторів (токсинів, паразитів, бактерій та ін.). Тичинки мають кісткову основу і покриті багатошаровим плоским епітелієм з великою кількістю слизових клітин.

Черевну порожнину розтинають за допомогою чотирьох розрізів, показаних на рисунку 1.

Перший поперечний розріз черевної стінки роблять попереду анального отвору, вставляють тупий кінець ножиць і роблять другий розріз уздовж білої лінії до ділянки міжщелепового простору. Третій - напівмісяцевий розріз, що проходить по рівню бокової лінії або по реберній дузі, і четвертий - проводять по краю зяберної порожнини або зяберної кришки, причому відсікають черевну стінку, оголяючи внутрішні органи .

Розрізи роблять обережно, щоб не пошкодити внутрішні органи. Спочатку проглядають черевну і серцеву порожнини, звертаючи увагу на їх вміст, наявність рідини (транссудат чи ексудат, кількість, колір, консистенція) або газу, крупних паразитів, зовнішній вигляд внутрішніх органів. У статевозрілих риб відділяють гонади, відмічають їх стадію зрілості, колір, крововиливи, наявність мертвих ікринок (білого кольору) та ін. Потім, підрізаючи кишечник в ділянці псевдодіафрагми і ануса, видаляють комплекс внутрішніх органів, обережно відділяють шлунок (у хижих риб), кишечник, печінку з жовчним міхуром та селезінку.

Органи травлення, У коропових риб ці органи сполучені мезен- теріальною клітковиною, кишечник немовби вдавлений у багато- лопатеву печінку, шлунок у них відсутній, а кишечник умовно розділений на передній (шлункоподібне розширення),

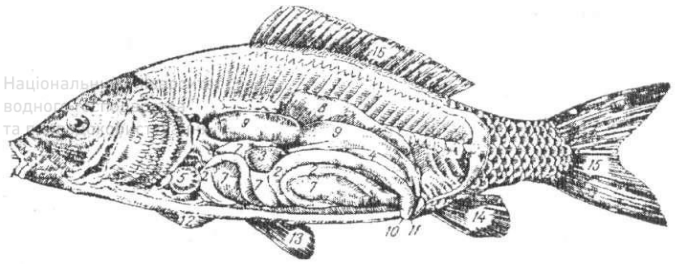


Рис. 2. **Топографія внутрішніх органів коропа**

1- стравохід; 2 - кишечник; 3 - жовчний міхур; 4 - гонади;
5 - серце: 6 - зябра; 7 - гепатопанкреаз; 8 - нирки;
9 - плавальний міхур; 10 - анальний отвір;
11- статевий отвір; 12 - грудні плавники; 13 - черевні плавники; 14 - анальний плавник; 15 - хвостовий плавник; 16 - спинний плавник

середній і задній відділи. Довжина шлунково-кишкового каналу у мирних риб у декілька разів довша порівняно з довжиною тіла.

У хижих риб шлунок добре виражений, у каудальній частині до нього прилягають пілоричні придатки, кишечник короткий, печінка компактна, розміщена в передній частині черевної порожнини. Підшлункова залоза дифузна, її мікроскопічні острівки розкидані в мезентеріальній клітковині, а в коропових - у печінці, іноді в селезінці.

Селезінка лежить на передньому відділі кишечнику, стрічкоподібна, темно-червоного кольору.

Серцева порожнина відділена від черевної щільною сполучнотканинною перегородкою, (псевдодіафрагмою), серце двокамерне, складається із шлуночка, передсердя і додаткових порожнин — венозного синуса й артеріальної голівки. Під час огляду відмічають розмір, форму серця, стан міокарда, ступінь наповнення порожнин кров'ю та її згортання, наявність згустків, крововиливів.

Після видалення плавального міхура оголяють нирки, що лежать уздовж хребта у вигляді стрічки темно-червоного кольору.

Під час огляду ***плавального міхура*** визначають його форму, товщину і прозорість оболонок, наявність крововиливів, гельмінтів, плям гемосидерину, ексудату порожнині і т. п.

Стан паренхіматозних органів ***(печінки, нирок, селезінки)*** оцінюють за зовнішніми ознаками: розміром, консистенцією, кольором, кровонаповнеиням, наявністю крововиливів, осередками некрозу, малюнком на розрізі та ін.

Національний університет водного господарства та природокористування

Кишечник розрізають уздовж, промивають у воді, продивляються стан слизової оболонки, враховують гельмінтів та ін.

Черепну коробку розтинають за допомогою чотирьох розрізів, із яких два бокових проходять від носових ямок до потиличної ділянки, третім поперечним відсікають кришку біля носових ямок, а четвертим - у ділянці потилиці. Спочатку проводять зовнішній огляд оболонки головного мозку, потім його видаляють і характеризують стан речовин мозку, його кровонаповнення та ін.

Під час огляду ***скелетної мускулатури*** звертають увагу на колір, консистенцію, наявність крововиливів, набряку, припухлостей, цист паразитів, ступінь прикріплення до кісток.

Патолого-анатомічні зміни зіставляють із клінічними симптомами, виявляють характерний комплекс ознак основного захворювання і супутні ускладнення (хвороби), а також використовують їх для визначення головної та безпосередньої причин загибелі риб. У сумнівних випадках дані розтину уточнюють за допомогою гістологічного дослідження патматеріалу. Методи повного паразитоло- гічного розтину за К. І. Скрябіним та модифікованого стосовно риб В. А. Догелем викладені в додатку 1.

Лабораторні дослідження проводять за відповідними показниками, які випливають із аналізу епізоотичної ситуації та клініко- анатомічної картини захворювання. Вони включають різні дослідження: паразитологічні, бактеріологічні, вірусологічні, хіміко- токсикологічні, гістологічні, гематологічні, біохімічні та ін. З цією метою відбирають проби води, грунту, гідробіонтів, органів риб і досліджують їх на місці або в спеціалізованих лабораторіях із застосуванням спеціальних методик.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 3.
ТЕХНІКА ПАРАЗИТОЛОГІЧНОГО РОЗТИНУ РИБ

Мета заняття - засвоїти загальні методи паразитологічного розтину риб, методики лабораторного дослідження, патолого-анатомічного розтину риб.

Прилади та устаткування: акваріум, сачок, відро, муляжі риб, кювети, ножиці великі та очні, пінцети, скальпелі, препарувальні голки, чашки петрі, лупи (МБС-9), серветки, предметне скло, музейні препарати з анатомії рию.

Національний університет водного господарства та природокористування

Досліджуваний матеріал: жива риба (короп або інші риби).

Порядок виконання. Для повного паразитологічного розтину придатна риба тільки жива або свіжоснула і відловлена із різних ділянок водойми. Розтин кожної риби протоколюється (див. форму протоколу).

Обмір і зважування риби потрібно проводити як можна швидше. Тоді ж можна відібрати луску для визначення віку.

Огляд органів проводять у певній послідовності, згідно з протоколом, однак порядок огляду внутрішніх органів може бути змінений залежно від виду і віку риб. Під час роботи необхідно слідкувати, щоб органи не пересихали, постійно їх змочувати водою або дрібні об'єкти прикривати чашкою Петрі. У процесі розтину потрібно періодично промивати водою інструменти і протирати їх сухою марлею, щоб випадково не перенести паразита з одного органа в інший.

Зовнішній огляд крупної риби краще всього проводити, поклавши її в кювету з невеликою кількістю води, а дрібних риб зручно оглядати в чашці Петрі або наколоти на парафіновану коркову дощечку. Під час зовнішнього огляду можна помітити плями, нальоти, пухлини та інші відхилення від норми. Вони мають бути детально описані в протоколі графа "примітка". Уважно оглядають шкіру і луску. Плавці відтягують від тіла, продивляються на світло, потім відрізають і в невеликій кількості води досліджують на склі під лупою. Зскрібки слизу із плавців і поверхні тіла треба продивлятись під малим, середнім та великим збільшенням мікроскопа. Виявлені на шкірі й плавцях паразити частково досліджують живими, крім того, їх необхідно консервувати. На поверхні тіла і плавцях паразитують найпростіші, рачки, п'явки і личинки молюсків. Для визначення виду нерідко потрібно паразитів фіксувати. Найпростіших фіксують рідиною у мазках на покривних скельцях, більш крупних паразитів знімають пінцетом або голкою і за групами розміщують в окремі солонки, годинникові скельця або кристалізатори з водою, що мають тимчасову етикетку, на якій указано номер досліджуваної риби, дата дослідження, орган локалізації і кількість паразитів. Фіксують крупних паразитів 70° спиртом, 4- 10 %-ним розчином формаліну, компресуючи їх між скельцями.

Національний університет водного господарства та природокористування

Велике значення для рибогосподарської практики має точний підрахунок паразитів кожного виду в абсолютній кількості або в полі зору мікроскопа за певних збільшень.

Недавно виклюнутих із ікри мальків (личинок) риб можна цілком придавити між двома скельцями до прозорості і продивлятися під лупою, бінокуляром або мікроскопом.

Кров у риб можна брати декількома способами — безпосередньо із серця, хвостової артерії або із судин зовнішньої зябрової дуги за допомогою пастерівської піпетки або шприца. Кровопаразитів можна вивчати в свіжих мазках (з додаванням лимоннокислого натрію або гепарину) і пофарбованих за Романовським або Пагіенгеймом.

Дослідження очей. Для виявлення паразитів у очах, риб слід спочатку продивитися ззовні, а потім вийняти очне яблуко з орбіти, покласти на скло, надрізати гострими ножицями з боку, протилежному передній камері, і продивлятися при малому збільшенні мікроскопа вміст задньої камери ока (склоподібне тіло), затиснувши його між двома скельцями. Кришталик проглядається окремо між скельцями. Дослідженню підлягають обидва ока. В очах можна виявити личинки сисунів і круглих червів.

Нюхові ямки досліджують за допомогою очної піпетки, промиваючи водою їх заглиблення, слиз продивляються під малим і великим збільшенням мікроскопа, де можуть бути виявлені триходіни, гіродактилюси.

Ротову порожнину оглядають за допомогою ручної лупи.

Зябра. Для паразитологічного дослідження знімають зяброву кришку, продивляються зяброву порожнину і ножицями вирізають по черзі всі зяброві дуги. При цьому рибу слід держати вертикально, головою доверху, бо кров заллє зябра і утруднить подальшу роботу.

Зяброві дуги із зябровими пелюстками зручно проглядати на склі під лупою, користуючись двома препарувальними голками, тонким пінцетом, тонко відтягнутою пастерівською піпеткою або зіскоблювати скальпелем. Потім розкладають їх на соломках. Оглянувши зябра під лупою, ножицями або скальпелем відрізають від дуги зяброві пелюстки біля їх основи і на роз'єднані пелюстки кладуть зверху предметне скло, здавлюють їх до прозорості і продивляються під малим збільшенням мікроскопа. Це дає змогу

Національний університет водного господарства та природокористування
додатково виявити тих паразитів, яких не видно під лупою. Потім мазки слизу із зябрових пелюсток досліджують і під великим збільшенням. Так, поступово, одну за одною досліджують всі зяброві дуги з обох боків голови. На зябрах можна виявити білуваті цисти різних слизових споровиків, п'явок, паразитичних веслоногих, паразитичних личинок уніонід та ін.

Порожнину тіла риби розтинають, тримаючи її в лівій руці черевцем доверху і роблять поперечний надріз шкіри, злегка відступивши вперед від анального отвору. У проріз вводять тупий кінець ножиць і розрізають черевну стінку до заднього краю ротової щілини, при цьому слід намагатись уникнути пошкодження внутрішніх органів. Наступний надріз проводять від рівня анального отвору і ведуть його по лінії прикріплення ребер до заднього ріжка зябрової кришки. Потім ліву стінку відрізають, оголюючи внутрішні органи.

Необхідно оглянути серозні покриви внутрішніх органів, жирову тканину. Відмітити відхилення від норми, наявність ексудату, трансудату, збільшення внутрішніх органів проти норми. Крупних паразитів видаляють із порожнини тіла, після чого можна починати обстеження внутрішніх органів.

У порожнині тіла на її серозних покривах, на поверхні органів паразитують, головним чином, личинки стьожкових червів - плероцеркоїди стьожаків, личинки лігул, метацеркарії трематод, личинки круглих червів, личинки скреблянок, а в порожнині тіла осетрових риб зустрічаються статевозрілі цестодарії із роду *Amphilina.*

Серце. Спочатку зручніше розтяти навколосерцеву стінку й ізолювати серце разом із крупними судинами в глибоке годинникове скло з фізіологічним розчином; оглянувши серце ззовні, його розтинають і осад, що утворився, мікроскопують на наявність збудника сангвінікольозу. Стінка серця, як і інші органи, досліджується компресорним методом. Нерідко також виявляють цисти міксоспо- ридій, метацеркарій *Tetracotyle.*

Сечовий міхур виділяють цілком, кладуть на годинникове скло, обережно розтинають і рідину з міхура досліджують окремо, потім роблять зскрібок із внутрішньої оболонки та мікроскопують. Стінка сечового міхура досліджується компресорним способом.

У сечовому міхурі можуть паразитувати інфузорії, плазмодії слизових споровиків із роду *Myxidium* і дигенетичні сисуни.

Національний університет водного господарства та природокористування

Після розтину сечового міхура відпрепаровується комплекс органів травної системи (задню кишку захоплюють пінцетом і обрізають біля заднього проходу) - кишечник, печінка, селезінка, а також жирове тіло з панкреатичними залозами та очеревина. Ці органи обережно відокремлюють один від одного і досліджують в установленому порядку.

Жовчний міхур відділяється від внутрішнього боку печінки, що прилягає до кишечнику. Стінки його проглядають між скельцями під лупою і мікроскопом, жовч досліджують окремо В годинниковому склі й мазках з метою виявлення стьожкових червів, цистицерків, слизових споровиків роду *Chloromyxum, Spherospora, Ceratomyxa.*

Печінку спочатку оглядають ззовні за допомогою ручної лупи, при цьому можна помітити цисти сисунів *Tetracotyle*, крупні цисти з плероцеркоїдами *Trienophorus*, личинки широкого стьожака. цисти слизових споровиків, личинки круглих червів родини *Anisakidae.* Тканину печінки досліджують компресорним методом під збільшенням лупи і мікроскопа.

Селезінку досліджують тим же способом, що й печінку. В ній можна виявити цисти мікососпоридій.

У жировій тканині й очеревині однаково, як і на поверхні порожнинних органів, паразитують слизові споровики, личинки сисунів *Tetracotyle,* личинки стьожкових і круглих червів та скреблянок.

Травний канал зручніше вирізати цілком (від стравоходу до ануса) і покласти на велике скло або кювет, потім розрізати ножицями впродовж і розгорнути внутрішнім боком назовні. Перш за все видаляють великих паразитів, помітних неозброєним оком(стьожкові і круглі черви,скреблянки та нематоди). Подальший огляд зручніше проводити частково, починаючи від заднього кінця до переднього. Скальпелем роблять глибокий зскрібок із слизової кишечнику й шлунка та досліджують під лупою і мікроскопом. Компресорно досліджують і стінку кишечнику. Для виявлення кишкових найпростіших *Octomitys* і *Eimeria* мазки проглядають під великим збільшенням мікроскопа. Особливо обережно потрібно досліджувати пілоричні придатки, щоб не пошкодити гельмінтів і, передусім, стьожкових червів.

Паразитів, видалених із різних відділів кишечнику, бажано поміщати в окремі пробірки з відповідними етикетками.

Національний університет
водного господарства
та природокористування

Статеві залози, як і всі інші, спочатку оглядають ззовні, а потім частково між скельцями під лупою та мікроскопом. Ікринки можуть бути інвазовані міксоспоридіями, мікроспоридіями, а в щук між ікринками можуть паразитувати й личинки широкого стьожака.

Плавальний міхур. Зовнішню волокнисту оболонку плавального міхура і його порожнини добре видно під мікроскопом і навіть неозброєним оком. У порожнині міхура лососевих риб нерідко можна виявити круглих червів із роду *Cystidicola.* У товщі стінок плавального міхура локалізуються інцистовані личинки *Tetracotyle,* нематоди роду *Philometra,* цисти *Myxosporidia.*

Нирки. Останніми з внутрішніх органів досліджуються нирки. Зони настільки пухкі, що, як правило, їх не вдається відпрепарувати в цільному вигляді. Тому найчастіше доводиться витягувати їх шматочками, здавлювати між двома скельцями і тоді їх продивлятися. Особливо ретельно потрібно передивлятись вивідні канальні і сечоводи, в яких можна зустріти личинок *Tetracotyle*, трематоди із роду *Phuiiodistomum*, міксоспоридій і кокцидій.

Мускулатура. Для дослідження м'язів необхідно зняти шкіру і оглянути її внутрішню поверхню, а також оголену мускулатуру, де часто можна зустріти метацеркарій *Posthodiplostomum cuticula,* статевозрілих філометр, слизових споровиків. З метою виявлення паразитів у більш глибоких шарах мускулатури потрібно розрізати м'язи на пласти і мікроскопувати за допомогою компресоріуму. Таким способом можуть бути виявлені личинки паразитів, небезпечних для людини (збудники опісторхозу і дифілоботріозу).

У головному і спинному мозку рідко можна виявити паразитів. Щоб видалити головний мозок, необхідно розтяти череп. Спинний мозок видаляють із каналу за допомогою дроту. Для цього прорізають хребет в його задній частині і канал спинного мозку виявляється відкритим як спереду, так і ззаду, дротом виштовхують вміст каналу.

Хрящі скелета молодих риб попередньо потрібно очистити від прилеглої тканини і шматочки скласти в годинникове скло з водою та подрібнити маленькими кривими ножицями. Потім рідину відсмоктують піпеткою і мікроскопують під великим

Національний університет
водного господарства
та природокористування

збільшенням. Цим методом користуються під час діагностики міксозомозу лососевих.

Форма протоколу повного іаразитологічного розтину риби

Дата дослідження _____

Водойма і місце вилову риби _____

Назва риби (місцева і латинська) _____

Номер риби (порядковий)_____

Вік риби_____

Розмір: довжина, висота, обхват _____

Стать риби_____

№ п/п	Найменування органа	Кількість паразитів і попереднє визначення	Остаточне визначення до виду	Примітка
1	2	3	4	5
1	**Кров**			
2	**Луска**			
3	**Шкіра**			
4	**Плавці**			
5	**Нюхальні ямки**			
6	**Очі**			
7	**Ротова порожнина**			
8	**Зябра**			
9	**Порожнина тіла**			
10	**Серце**			
11	**Сечовий міхур**			
12	**Брижа**			
13	**Жирова тканина**			
14	**Селезінка**			
15	**Статеві залози**			
16	**Печінка**			
17	**Жовчний міхур**			
18	**Підшлункова залоза**			

Національний університет
водного господарства
та природокористування

Національний університет водного господарства та природокористування

19	**Шлунково-кишковий тракт (стравохід): шлунок, піло-ричні відростки, кишечник: передній і задній відділи**			
20	**Плавальний міхур**			
21	**Нирки**			
22	**Сечоводи**			
23	**Головний мозок**			
24	**Спинний мозок**			
25	**Мускулатура**			
26	**Хрящі**			

Висновок за результатами розтину.

Національний університет водного господарства та природокористування

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 4.
МЕТОДИКА ДІАГНОСТИКИ ІНВАЗІЙНИХ ХВОРОБ РИБ, ЗБІР, ФІКСАЦІЯ І ЗБЕРІГАННЯ ПАРАЗИТІВ РИБ

Мета заняття - засвоїти загальні методи діагностики інвазійних хвороб риб та збору, фіксації і зберігання паразитів риб для подальшого дослідження в державних лабораторіях ветеринарної медицини.

Прилади та устаткування: предметні скельця, препарувальні голки, реактиви, ножиці, пінцети

Досліджуваний матеріал: жива риба (короп або інші риби).

Порядок виконання. 1.Збудниками інвазійних хвороб риб є паразитичні організми - представники найрізноманітних за своїм систематичним положенням груп безхребетних тварин: найпростіші, гельмінти, членистоногі, молюски і єдиний представник типу кишковопорожнинних - поліп Polypodium hydriforme .

Протозойні хвороби риб викликають найпростіші одноклітинні організми підцарства Protozoa, які належать до наступних груп:

тип саркомастигофори - Sarcomastigofora

клас джгутиконосці - Mastigofora

Національний університет
водного господарства
та природокористування

клас саркодові - Sarcodina
тип кнідоспоридії - Apicomplexa
клас споровики - Sporozoa
тип конідоспоридії - Cnidosporidia
клас слизові споровики - Myxosporidia
тип мікроспорідії - Mycrosporidia
тип інфузорії - Ciliophora
клас війчасті інфузорії - Ciliata
клас сисні інфузорії - Suctoria

Гельмінти риб належать до трьох типів: плоскі, первиннопорожнинні і кільчасті черви.

Тип плоских червів — Plathelminthes, представлений трьома класами:

клас стьожкові черви - Cestoda
клас моногенетичні сисуни - Monogenea
клас дигенетичні сисуни - Trematodes

Тип первиннопорожнинні - Nemathelmintes представлений двома класами:

клас власне круглі черви - Nematoda
тип скреблянки — Acanthocephala

Тип кільчасті черви - Annelida у риб представлений класом п'явок - Hirudinea.

Збудниками крустацеозів риб є паразитичні рачки класу Crustacea, типу членистоногі - Arthopoda.

Із молюсків, тип Mollusca, у риб тимчасово паразитують личинкові стадії двостулкових молюсків (Glochidia). Із типу кишковопорожнинних (Coelenterata) у риб паразитує єдиний вид - Polypodium hydroforme.

Місцем локалізації різних паразитів можуть бути всі частини тіла риби, порожнини, тканини й органи, а також кров і слизові виділення, однак більше всього паразитів можна виявити на зябрах, шкірі та кишечнику. Кількість паразитів, які знаходяться в тому чи іншому органі риби, може бути різною - від одиничних екземплярів до сотень і тисяч. Більшість паразитів, нешкідливих в малих кількостях, стають вельми небезпечними за масової інвазії, особливо найпростіші, гельмінти і рачки.

Правильно виконані паразитологічні дослідження дозволяють виявити в організмі риб збудників інвазійних хвороб, що дає

Національний університет водного господарства та природокористування
можливість своєчасно діагностувати те чи інше захворювання і вживати заходи з їх ліквідації.

В іхтіопатологічній практиці користуються як методом повного паразитологічного розтину, розробленим К. І. Скрябіним і модифікованим стосовно риб В. А. Догелем та його школою, так і нерідко - неповним паразитологічним дослідженням, виходячи з певних завдань, наприклад, вивчення конкретного паразитарного захворювання або експертиза риби з метою виявлення личинок паразитів, небезпечних для людини та тварин і т. ін. В кожному випадку необхідно обумовити і вказати характер досліджень.

2.Виявлених паразитів на поверхні і в порожнині тіла, у тканинах та органах збирають тонкими пінцетами, препарувальними голками, м'якою щіточкою або піпеткою. Необхідно весь час змочувати їх водою. Дрібних паразитів вилучають під контролем лупи. Зібраних паразитів слід відмити від слизу струменем води із піпетки, замінюючи неодноразово воду.

Фіксувати паразитів потрібно тільки живими, але попередньо витримати у воді і потім, розправивши їх, фіксувати між скельцями або вільнолежачими. Спосіб фіксації залежить від видової належності паразита і завдань дослідження. Найбільш простим і зручним способом фіксації та зберігання більшості гельмінтів є 70° спирт або 4-5 %-ний розчин формаліну. Крупних стьожкових червів зручно розправити в чашці Петрі і покрити предметним склом.

Личинки трематод і деяких цестод необхідно видалити із цист препарувальними голками, зафіксувати спиртом 70°, формаліном або оцтовокислим карміном. У разі використання методу посріблення, фіксувати гельмінтів і личинок можна підігріванням до появи парів.

Моногенетичних сисунів крупних фіксують і фарбують як стьожкових червів, а із дрібних моногеней фіксують гліцерин - желатинові препарати з попередньою фіксацією у краплі 4 %-ного формаліну або 0,4 % розчину аміаку. Препарати, придатні для більш тривалого зберігання, можна виготовити за допомогою амоніум пікратум.

Круглих червів фіксують в підігрітому 70° спирті або рідині Барбагало і просвітлюють у молочній кислоті.

Скреблянок - у 70° спирті, як стьожкових червів, або

Національний університет водного господарства та природокористування

поміщають їх у рідину Колецької.

П'явок фіксують 40 %-ним розчином формаліну.

Рачків - у 70° спирті, 4 %-ному формаліні або в рідині Колецької.

Глохідій фіксують в 70° спирті або виготовляють гліцерин - желатинові препарати.

Найпростіших фіксують у рідині Шаудина і фарбують залізним гематоксиліном або піддають посрібленню за Клейном. Мазки попередньо фіксують висушуванням.

Кровопаразитів фіксують і фарбують у мазках крові за Романовським або Папенгеймом.

Спори міксоспоридій поміщають у гліцерин-желатин або пікриновокислий амоній.

Фіксованих паразитів складають у пробірки і одночасно поміщають туди етикетки, підписані тушшю на кальці або простим олівцем на папері з указанням водойми, дати, виду риби, органа, паразита. Під час зберігання паразитів необхідно слідкувати, щоб фіксуючої рідини було в 10 разів більше об'єму паразита.

Значну увагу в ході паразитологічного дослідження слід приділяти вивченню не тільки фіксованих, але й живих паразитів - замалювання, обміри і прижиттєве фарбування.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 5.
ФАРБУВАННЯ ПАРАЗИТІВ І ВИГОТОВЛЕННЯ ПОСТІЙНИХ ПРЕПАРАТІВ

Мета заняття - засвоїти загальні методи фарбування паразитів і виготовлення постійних препаратів.

Прилади та устаткування: мікроскопи, лупи, реактиви, посуд лабораторний, скельця предметні, покривні і препарувальні. Біологічні солонки (мікроакваріуми), серологічні пробірки "Уленгутки", годинникове скло, чашки Петрі, кристалізатори, ікорні баночки, пробірки різні, колби, циліндри, хімічні скляна воронки, крапельниця, флакони й банки різних розмірів з притер тими і корковими пробками, бутель з тубусом, скляні палич^ мірні скляночки різної ємності, бюкси, гістологічні скляночки компресоріум.

Досліджуваний матеріал: жива снула (короп або інші риби).

Національний університет
водного господарства

Порядок виконання. Необхідне обладнання і реактиви для проведення повної паразитологічного дослідження

Оптика. Мікроскоп біологічний імерсійний МБІ-1, освітлювач 01-19 або 01-31.

Бінокулярна насадка (до мікроскопа АУ-12), препаратоводій Мікроскоп бінокулярний стереоскопічний МБС-1, малювальний апарат - РА-4, прямий тубус до мікроскопа, окуляр-мікрометр об'єкт-мікрометр для світла, що проходить, лупи біологічні двократні (козирок) БЛ/2, ручна лупа трикратна.

Інструменти для розтину і видалення паразитів. Скальпель ножиці, пінцети різних розмірів, включаючи очні. Препарувала голки різної товщини, піпетки очні різного діаметра з гумовим грушами і звичайними гумовими ковпачками, пастерівські піпетки; м'які щіточки, щетинки.

Скло і посуд. Скельця предметні, покривні і препарувальні. Біологічні солонки (мікроакваріуми), серологічні пробірки "Уленгутки", годинникове скло, чашки Петрі, кристалізатори, ікорні баночки, пробірки різні, колби, циліндри, хімічні скляна воронки, крапельниця, флакони й банки різних розмірів з притер тими і корковими пробками, бутель з тубусом, скляні палич мірні скляночки різної ємності, бюкси, гістологічні скляночки компресоріум.

Різні матеріали. Емальовані кювети або ванночки, акваріуми, фарфорові ступки, чашки й тиглі, лінійки, штангенциркуль, ваги, сантиметрова стрічка, відро емальоване, сачки, електроплитки, азбестова прокладка, штатив для пробірок, шпатель, імерсійне масло. Папір для малювання, калька, фільтрувальний папір, зошити для щоденників. Олівці, туш, пера, олівці по склу. Вата, марля, бинти, халати, мило, рушник, клей, шпагат, парафін, пластилін, лейкопластир, менделєєвська замазка, корки.

Фіксованих сисунів, стьожкових червів, скреблянок і крупних моногеней зручніше всього фарбувати водним розчином галунового карміну. Перед фарбуванням черви мають бути відмиті від фіксуючої рідини упродовж декількох годин у водному розчині карміну від 1,5 до 10 хв залежно від величини об'єкта. Давно фіксовані препарати фарбуються повільніше. Після фарбування гельмінтів промивають водою і диференціюють в 70° підкисленому спирті (на 100 мл спирту 20 крапель димучої соляної кислоти) під контролем лупи. У процесі диференціювання

Національний університет водного господарства та природокористування

відтягується зайва фарба із тканин, більш чітко вимальовуються органи. Потім проводять зневоднення у спиртах зростаючої міцності - у 70° спирті два рази по 15 хв, у 96° спирті два рази по 15-30 хв і в абсолютному, в якому не слід перетримувати, запобігаючи пересушування.

Заміну спиртів зростаючої міцності проводять в одному й тому ж посуді (бюкс, солонка) відсмоктуванням піпеткою. Як просвітлювальну рідину використовують гвоздикове масло, диметилфталат, де витримують об'єкт від декількох хвилин до години. Після просвітління об'єкт переносять на чисте предметне скло, на середину якого попередньо наносять краплю канадського бальзаму і накривають покривним склом, на яке тимчасово ставлять маленьку свинцеву вагу. Етикетку підписують тільки на склі і покривають тонким шаром бальзаму.

Круглі черви таким способом не фарбуються, тому що їх товста кутикула фарбу не пропускає, їх просвітлюють до повної прозорості в гліцерині або молочній кислоті, куди переносять безпосередньо із 70° спирту або формаліну. Дрібні черви просвітлюються швидко, крупні - протягом кількох діб. Після вивчення нематод їх переносять знову в спирт або готують гліцерин-желатинові препарати, попередньо розігрівши пробірки з середовищем у гарячій воді.

Мазки із найпростіших, фіксовані рідиною Шаудінга, для відмивання 70° спирту, переносять у воду на декілька хвилин. Поті поміщають на 2-8 год у 3 %-ний розчин залізоаміачних галунів чашці Петрі, після чого ополіскують і переносять у розчин залізного гематоксиліну на 6-24 год. Від фарби мазки промивають водою диференціюють у 1,5 %-ному розчині залізоаміачних галунів. Диференціювання проводять під контролем малого або середнього збільшення мікроскопа. Після диференціювання мазки переносять у проточну водопровідну воду на декілька годин. У кінці промивки до води добавляють декілька крапель аміаку. Після цього мазки проводять через спирти зростаючої міцності, просвітлюють карболксилолом і помішують в бальзам. Добре пофарбовані мазки мають темно-синій або майже чорний колір.

Кристали залізоаміачних галунів, які використовуються для приготування розчинів, повинні мати слабо-фіолетовий колір. Пожовтілі кристали непридатні для роботи.

Національний університет
водного господарства
та природокористування

Фіксуючі рідини і фарби. Формалін нейтральний у різних розведеннях - 2, 4, 10%. В одержаний зі складу формалін добавляють крейду (порошок) із розрахунку 1-1,5 кг на 10 л формаліну, збовтують і дають відстоятися. Після того, як крейда осяде на дно і рідина просвітлиться, використовують як нейтральний формалін.

Рідина Барбагало - 3% -ний розчин формаліну на фізіологічному розчині (формалін нейтральний-30 мл, NaCl -7 г. дистильована вода - 1000 мл).

Розчин Буена. Приготування:

1.15 мл насиченого розчину пікринової кислоти;

2. 5 мл нейтрального формаліну;

3.1 мл льодяної оцтової кислоти (перед використанням).

Для приготування насиченого розчину пікринової кислоти потрібно 22 г кислоти (порошок) розчинити з підігріванням в 1 л дистильованої води і використовувати (через добу) після випадання осаду.

Спирт 70° використовується як фіксатор і як рідина для зберігання матеріалу. Приготування: до 100 мл 96° спирту слід добавити 39,2 мл дистильованої води. Абсолютний спирт можна приготувати із 96°, обробивши його порошком зневодненого мідного купоросу, прожареного у фарфоровій чашці до сірувато-білого кольору. Порошок засипають у банку з притертою пробкою, приблизно на 1/4 її об'єму, і заливають майже доверху 96° спиртом, збовтують. Після осадження купоросу абсолютний спирт готовий до використання.

Рідина Шаудіна **-** сулемовий фіксатор для фіксації найпростіших на мазках покривних скелець.

Сулема - сильна отрута (список "А"), тому під час роботи і зберігання слід дотримуватися відповідних правил.

Склад рідини: насичений водний розчин сулеми - 2 частини і сгіирт-ректифікат - 96°, або краще абсолютний - 1 частина.

0,5 л дистильованої води і розчинити в ній 35 г сулеми. Остудити і після випадання кристалів розчин можна використовувати.

Фіксують мазок вологим, опускаючи скло рівномірно на поверхню підігрітого розчину Шаудіна мазком донизу на 15-20 хв (зручно в чашці Нетрі). Потім мазок слід промити в йодованому

Національний університет водного господарства та природокористування

спирті з метою видалення залишків сулеми, а далі відмивають йод в 70° спирті.

Зберігають мазки в гістологічних скляночках в 70° спирті, перекладаючи скло етикетками.

Оцтовокислий кармін одночасно фіксує і забарвлює. Приготування: 45 мл льодяної оцтової кислоти, 35 мл дистильованої води, 3 г карміну в порошку.

Суміш кип'ятять близько однієї години на повільному вогні, потім охолоджують і фільтрують; для приготування робочого розчину необхідно взяти один об'єм фарби і два об'єми 45 %-ної оцтової кислоти. Розчин зберігається тривалий час.

Фіксатор успішно використовують для фіксації і фарбування живих личинок трематод без попередньої компресії між склом, оскільки личинки витягуються в розправленому вигляді.

Рідина Калецької. Склад: дистильована вода - 25 мл, желатин харчовий -17 г, хлоралгідрат - 50 г, гліцерин - 10 мл.

Для приготування суміші желатин заливають водою, а після набухання підігрівають і ставлять у термостат на дві доби за температури 35-37°С. Поміщення об'єкта в рідину не потребує попереднього зневоднювання та просвітлення. Застосовується для виготовлення препаратів гельмінтів і членистоногих.

Пікриновокислий амоній (амоніум нікратум). Приготування: насичений розчин пікриновокислого амонію (1 г речовини на 100 мл води) змішують з гліцерином у співвідношенні 1:1. Розчин використовують для виготовлення препаратів із моногеній та міксо- споридій, як фіксатор і середовище. Моногенегичних сисунів можна фіксувати 0,1 %-ним розчином.аміаку.

Гліцерин-желитинова суміш. Використовується для розміщення моногеній і мікроспоридій.

Приготування: 7 г харчового желатину розмочують протягом 2-3 год в 42 мл дистильованої води, добавляють 50 г чистого гліцерину і 0,5 г кристалічної карболової кислоти, все підігрівають у водяній бані за температури 80 °С - 30 хв, потім фільтрують і розливають в серологічні пробірки. Перед використанням пробірки поміщають у фарфорову скляну ємність з кип'ятком.

Галуновий кармін. Приготування: 1 г карміну, 5 г алюмокалієвих галунів розчиняють в 100 г дистильованої води і кип'ятять 10-15 хв, потім фільтрують і добавляють кристалик

Національний університет водного господарства та природокористування

тимолу для запобігання від плісняви. Барвник використовується для забарвлення тотальних препаратів.

Залізний гематоксилін за Гейденгайном є одним із кращих барвників для зрізів і мазків найпростіших.

Приготування: 0,5 г гематоксиліну розчиняють в 10 мл 96° спирту і добавляють 90 мл дистильованої води. Розчин повинен "дозріти" у відкритій посудині на світлі 3-5 тижнів. Перед використанням розбавляють у 2 рази водою.

У ході дослідження живих паразитів (найпростіших, личинок, гельмінтів) часто користуються вітальним (прижиттєвим) фарбуванням у дуже слабкій концентрації (до 0.0001%) такими барвниками, як нейтральрот, метиленовий синій, нільблаусульфат.

Розчин Люголя дозволяє виявити запаси глікогену і хітиноїдні утворення. Сироватка крові коней і сечовина в слабкому розведенні також спроможні просвітлити деякі дрібні об'єкти.

Каніфольна замазка використовується для обведення країв покривного скла гліцерин-желатинових препаратів. Приготування: 7 г каніфолі сплавляють з 1 г воску і використовують у розігрітому вигляді.

Національний університет водного господарства та природокористування

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 6.
ПОКАЗНИКИ, ЗА ЯКИМИ ДІАГНОЗ НА ЗАРАЗНУ ХВОРОБУ РИБ ВВАЖАЄТЬСЯ ВСТАНОВЛЕНИМ

Мета заняття: Вивчити показники за якими діагноз на заразну хворобу рахується встановленим.

Порядок виконання.

Краснуха (аеромоноз) коропа. Наявність клінічних ознак, патолого-анатомічнин змін і епізоотологічних даних з урахуванням виділень із патологічного матеріалу культури з властивостями, характерними для Аеромонас гідрофіла або пунктата, і загибель риби, зараженої цією к у льтурою, отримання позитивних результатів в реакції аглютинації виділеної культури з однією із типових аглютинуючих аеромонадних сироваток; наявність характерних клінічних **ознак та** патолого-анатомічних змін у риби під час постановки **біологіч**ної проби за гострої та підгострої форм хвороби, наявності клінічних ознак, патолого-анатомічних даних у разі хронічної форми хвороби.

Псевдомоноз. Наявність клінічних ознак, патолого-анатомічних змін і епізоотологічних даних. Виділення з

Національний університет водного господарства та природокористування

патологічного матеріалу культури із властивостями, характерними для збудника хвороби; загибель риби (коропа, товстолоба) після зараження отриманою культурою з наступним виділенням її з органів.

Весняна вірусна хвороба. Наявність характерних клінічних ознак, патолого-анатомічних змін і епізоотологічних даних. Виділення із патологічного матеріалу вірусу та отримання позитивного результату в ході постановки біологічної проби.

Запалення плавального міхура. Наявність характерних клінічних ознак з урахуванням епізоотологічних даних.

Віспа коропів. Наявність характерних клінічних ознак з урахуванням епізоотологічних даних.

Вібріоз риб. Наявність характерних клінічних ознак і епізоотологічних даних. Виділення з патологічного матеріалу культури із властивостями збудника хвороби і загибель риби, зараженої вихідним матеріалом або культурою з подальшим виділенням вихідної культури.

Аеромоноз (краснуха) вугрів. Наявність характерних клінічних, патолого-анатомічннх ознак і епізоотологічних даних, а також виділення з патологічного матеріалу культури збудника хвороби і загибель риби, зараженої вихідним матеріалом або культурою з виділенням від них вихідного збудника.

Краснуха (чума) щук. Наявність характерних клінічних ознак хвороби, патолого-анатомічних змін з урахуванням епізоотологічних даних.

Вірусний бранхіонекроз коропів. Наявність клінічних ознак, патолого-анатомічних змін з урахуванням епізоотологічних даних. Виділення з патологічного матеріалу вірусу й отримання позитивного результату під час постановки біологічної проби з наступним виділенням вихідного вірусу.

Вірусна геморагічна септицемія лососевих риб. Наявність клінічних ознак, патолого-анатомічних змін з урахуванням епізоотологічних даних і виділення вірусу, отримання позитивного результату в ході постановки біологічної проби з подальшим виділенням вихідного вірусу.

Інфекційний некроз гемопоетичної тканини. Наявність клінічних ознак хвороби з урахуванням епізоотологічних даних. Виділення з патологічного матеріалу вірусу й отримання

Національний університет водного господарства та природокористування

позитивного результату під час постановки біологічної проби з наступним виділенням вихідного вірусу.

Бранхіомікоз. Наявність клінічних ознак, патолого-анатомічних змін з урахуванням даних. Виявлення гриба під час мікроскопії зябрових пелюсток, виділення культури гриба на живильних середовищах.

Сапролегніоз.Наявність клінічних ознак і патолого-анатомічних змін, виявлення гриба із родини Сапролегнія за мікроскопічного дослідження свіжих препаратів.

Іхтіоспоридіоз. Наявність клінічних ознак, патолого-анатомічннх змін з урахуванням епізоотологічних даних. Виявлення капсул, що містять тіло гриба, у ході мікроскопічних досліджень внутрішніх органів. Виділення культури гриба із внутрішніх органів риб за мікологічного дослідження.

Апіозомоз. Виявлення збудників-інфузорій Апіозома пісцікола або Апіозома мінута під час мікроскопічного дослідження зіскрібків зі шкірного покриву плавців та зябер за наявності клінічних ознак з урахуванням епізоотологічних даних.

Міксозомоз (вертячка) лососевих риб. Виявлення збудника хвороби - плазмодії або спор Міксозомоза церебраліс за мікроскопічного дослідження з урахуванням клінічних ознак і патолого-анатомічннх змін, результатів гістологічних досліджень хрящової тканини та епізоотологічних даних.

Криптобіози. Виявлення збудника хвороби - джгутиконосця із роду Криптобіа в ході мікроскопічного дослідження мазків крові і зскрібків із зябер за наявності клінічних ознак з урахуванням епізоотологічних даних.

Міксобольози. Виявлення збудника хвороби - міксоспоридії із роду Міксоболюс під час мікроскопічного дослідження внутрішніх органів та зябер зарахуванням клінічних ознак і епізоотологічних даних.

Кокцидіози. Виявлення збудника хвороби - споровиків із роду Еймеріде в ході мікроскопічного дослідження ураженого кишечнику або гістологічного дослідження ураженого кишечнику за наявності клінічних ознак з урахуванням епізоотологічних даних.

Костіоз (іхтіободоз) Виявлення збудника хвороби під час мікроскопічного дослідження зскрібків зі шкірного покриву, зябер

Національний університет водного господарства та природокористування

та плавців за наявності клінічних ознак з урахуванням епізоотологічних даних.

Триходінози, хілодонельоз Виявлення збудників відповідних хвороб у ході мікроскопічного дослідження зскрібків зі шкірного покриву, зябрових пелюсток за наявності клінічних ознак хвороби з урахуванням епізоотологічних даних.

Іхтіофтиріоз. Виявлення збудників хвороби - інфузорії іхтіофтіріус мультифіліс під час мікроскопічного дослідження зскрібків зі шкірного покриву та зябер за наявності клінічних ознак з урахуванням епізоотологічних даних.

Моногеноїдози (дактилогіроз, гіродактильоз, нітшіоз). Виявлення збудників відповідної хвороби в ході мікроскопічного дослідження зскрібків шкірного покриву та зябер за наявності клінічних ознак хвороби з урахуванням епізоотологічних даних.

Диплостомози. Виявлення збудника хворрби - метацеркарій трематод із роду Диплостомум під час мікроскопічного дослідження кришталика, склоподібного тіла та внутрішніх оболонок ока і церкарій із роду Диплостомум за мікроскопії зябер, підшкірної клітковини, внутрішніх органів і тканин з урахуванням клінічних ознак хвороби та епізоотологічних даних.

Постодиплостомоз. Виявлення збудника хвороби - метацеркарія сисуна Постодиплостомум кутикула за наявності клінічних ознак хвороби з урахуванням епізоотологічних даних.

Сангвінікольоз. Виявлення збудника хвороби - сисуна із родини Сангвініколіде та його яєць в органах у ході мікроскопічного дослідження за наявності клінічних ознак хвороби, патолого-анатомічних змін і епізоотологічних даних.

Дискокотильоз. Виявлення збудника хвороби - моногенегичного сисуна Дискокотиле сагітата на зябрах з урахуванням клінічних ознак хвороби і епізоотологічних даних.

Тетракотильоз. Виявлення збудника хвороби - метацеркарія сисуна із роду Тетракотиле на різноманітних внутрішніх органах під час мікроскопічного дослідження вмісту горбків з поверхні за наявності клінічних ознак хвороби з урахуванням епізоотологічних даних.

Цестодози (ботріоцефальоз, кавіоз, каріофільоз). Виявлення збудника відповідної хвороби в кишечнику риби з урахуванням клінічних ознак і епізоотологічних даних або виявлення яєць

Національний університет водного господарства та природокористування

гельмінтів під час копрологічного дослідження вмісту кишечнику з урахуванням клініко-епізоотологічних даних.

Лігульоз, диграмоз. Виявлення збудника відповідної хвороби в черевній порожнині з урахуванням клінічних ознак, патолого-аиптомічннх змін та епізоотологічних даних.

Трієнофорози. Виявлення збудника хвороби - стьожкового гельмінта роду Трієнофорус в кишечнику риб за наявності клінічних ознак, патолого-анатомічних змін і епізоотологічних даних, або виявлення цист (капсул) з плероцеркоїдами гельмінта в печінці риб з урахуванням клінічних ознак, патолого-анатомічних змін та епізоотологічних даних.

Філометроїдоз.Виявлення збудника хвороби - нематоди із роду Філометроїдес (самців у плавальному міхурі, самок у лускатих кишеньках) з урахуванням клінічних ознак і епізоотологічних даних.

Дифілоботріоз. Виявлення збудника хвороби - плероцеркоїдів стьожака роду Дифілоботріум у внутрішніх органах та м'язах риб з урахуванням епізоотологічних даних.

Опісторхоз. Виявлення збудника хвороби - метацеркарія трематоди Опісторхіз фелінеус під час мікроскопічного дослідження підшкірної клітковини та м'язової тканини з урахуванням епізоотологічних даних, виділення статевозрілого паразита із жовчних проходів та жовчного міхура піддослідних тварин (кошенят, морських свинок та щурів) після згодовування їм риби з урахуванням епізоотологічних даних.

Крустацеози (аргульоз, ергазильоз, лернеоз, синергазільоз). Виявлення збудника відповідної хвороби на шкірному покриві та зябрах з урахуванням клінічних ознак і епізоотологічних даних.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 7.
ДІАГНОСТИКА ІНФЕКЦІЙНИХ ХВОРОБ

Мета заняття – вивчити особливості клінічної та лабораторної діагностики інфекційних хвороб риб, освоїти методи відбору пат матеріалу і проведення лабораторних досліджень.

Прилади та устаткування: предметні скельця, препарувальні голки, реактиви, ножиці, пінцети

Досліджуваний матеріал: жива риба (короп або інші риби).

Порядок виконання.

Класифікація інфекційних хвороб риб:

Національний університет
водного господарства
та природокористування

вірусні: весняна вірусна хвороба (ВВХ) коропових, вірусна геморагічна септицемія форелі (ВГС), інфекційний некроз гемопоетичної тканини (ІН), інфекційний некроз підшлункової залози (ІР), віспа коропів, запалення плавального міхура (ЗПМ);

бактеріальні: аеромоноз (краснуха) коропів, псевдомоноз, псеромоноз (фурункульоз) лососевих; ієрсиніоз, флексибактеріоз, вібріоз, дерматит;

мікозні: бранхіомікоз, сапролегніоз, глибокий мікоз плавального міхура.

Під час виявлення особливостей діагностики інфекційних хвороб слід враховувати дві умови: необхідність термінової постановки діагнозу і обов'язкове застосування комплексного методу діагностики, оскільки в разі появи інфекційної хвороби риб у першу чергу мова повинна йти не стільки про лікування хворих риб, скільки про розробку заходів щодо нерозповсюдження хвороби у сусідні водойми, особливо природні.

Комплексний метод діагностики забезпечує постановку більш точного діагнозу, що дуже важливо для розробки цілеспрямованої системи заходів з ліквідації захворювання, оздоровлення господарства або водойми.

Комплексний метод включає різнобічні дослідження: епізоотологічні, клінічні, патоморфологічні і лабораторні, які наведені на схемі (рис. 1).

Епізоотологічне обстеження водойми має бути спрямоване на своєчасне встановлення діагнозу і виявлення в кожному випадку основних ланок епізоотичного ланцюга джерела збудника хвороби, механізму передачі збудника та шляхів занесення його в господарство.

Для ранньої діагностики важливе значення мають наступні епізоотологічні особливості інфекційних хвороб: масове охоплення поголів'я в деяких або сполучених між собою ставах; ураження одного й більше родинних видів тієї чи іншої вікової групи риб; захворювання після підсадки до місцевих риб привізного посадкового матеріалу з неблагополучних господарств і навпаки; сезонність, провокуюча дія абіотичних факторів (температури, pH, вмісту кисню, органічного забруднення і т. д.). Під час епізоотологічного обстеження відбирають патматеріал для лабораторних досліджень, а також проводять клінічні

Національний університет водного господарства та природокористування

спостереження і патолого-анатомічний розтин риб.

Вирішуючи питання про джерела і шляхи передачі інфекції у водоймах, слід пам'ятати, що основним джерелом збудника є клінічно хворі риби та їх трупи, де патогенний мікроорганізм здатний зберігатися, розмножуватися, накопичуватися і виділятися у зовнішнє середовище. За більшості бактеріально-вірусних інфекцій риб збудники виділяються у зовнішнє середовище з екскрементами (калом, сечею), з поверхневими некротизованими тканинами, кров'ю, гноєм, у процесі розкладення трупів. Останні можуть зберігатися у воді, мулі, гідробіонтах. Риби, що видужують (реконвалесценти), та перехворілі часто залишаються мікробоносіями і здатні передавати збудника трансоваріально (з ікрою). Тому своєчасна діагностика хвороб має важливе значення для їх профілактики.

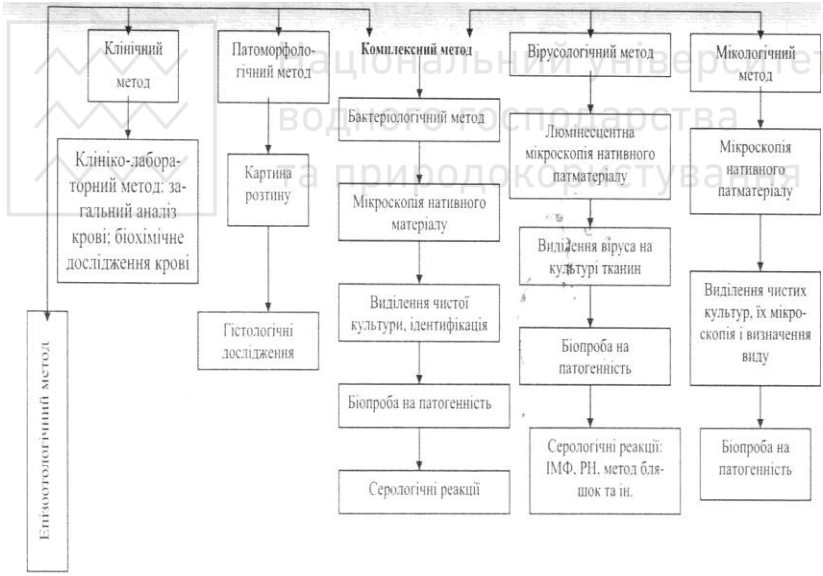


Рис. 1

За мікозів (бранхіомікоз, сапролегніоз) гриби потрапляють безпосередньо у воду з поверхні тіла або під час розкладення зябрової тканини.

Найбільш розповсюдженими шляхами передачі інфекції в рибницьких господарствах є вода, ложе ставів, рослинність,

Національний університет водного господарства та природокористування
знаряддя лову, наземний та водний транспорт, синатропні гідробіонти (зоопланктон, зообентос, риби, паразитичні ракоподібні) та ін.

Клінічна картина за більшості бактеріальних і вірусних хвороб не є строго специфічною, але її слід враховувати у комплексній діагностиці. У разі аеромонозу (краснухи), псевдомонозу, вібріозу, дерматитів, ієрсиніозу, фурункульозу спостерігається гіперемія шкіри, крововиливи, виразки. Черевна водянка і вирячкуватість проявляється у риб, хворих на аеромоноз, весняну віремію, гісевдомоноз, вірусну геморагічну септицемію форелі. Достатньо характерна ознака бранхіомікозу, яка проявляється ураженням зябер; сапролегніозу - ватоподібним розростанням міцелію гриба на різних ділянках ураженої шкіри і зябер; мікробактеріозу - появою блідих ділянок шкіри біля спинного плавця (сіре сідло, сірий ремінець).

Клінічні ознаки можуть коливатися залежно від форми і стадії інфекційного процесу. Тому за клінічного обстеження враховують характер перебігу (швидкоплинний, гострий, підгострий, хронічний); стадію (інкубаційний або продромальний період, клінічний прояв, загибель, одужання) та ускладнення хвороби; вид інфекції і локалізацію збудника (осередкова, септицемія, септикопіємія, бактеріємія, віремія, токсемія та ін.); типовість або атиповість прояву і т. д. Необхідно також мати на увазі можливість наявності змішаних (мікст) інфекцій.

У загальній симптоматиці більшості інфекційних хвороб провідне місце займають такі ознаки: почервоніння (ділянки гіперемії або крововиливу) на поверхні тіла, осередкове або дифузне скуйовдження луски, вирячкуватість (екзофтальм), здуття черевця (асцит), флегмони або абсцеси в скелетній мускулатурі, виразки. Безперечно, що кожне захворювання відмічається властивим йому симптомокомплексом, який слід чітко диференціювати і визначити його діагностичну значимість.

Мікози риб найчастіше проявляються локальним ураженням окремих органів. Наприклад, за бранхіомікозу основні зміни спостерігаються в зябрах (вузлове потовщення зябрових пелюсток, мозаїчність малюнка, осередковий некроз і відторгнення уражених тканин). Сапролегнієві гриби (сапролегніоз), потрапляючи на пошкоджені ділянках шкіри і зябер, спричинюють осередкове запалення і некроз тканин,

Національний університет водного господарства та природокористування

розростаються на них у вигляді ватоподібного нальоту і добре виявляються в ході зовнішнього огляду.

У клінічній діагностиці інфекційних хвороб нерідко користуються результатами гематологічних досліджень: визначення концентрації гемоглобіну, швидкості осідання еритроцитів, кількості еритроцитів і лейкоцитів, вивчення гемограми. Для виключення низки, незаразних хвороб і отруєнь користуються біохімічним дослідженням крові: білковий спектр, активність ферментів і т. п.

Патоморфологічні дослідження мають дуже важливе, іноді вирішальне значення для ранньої і остаточної діагностики хвороб, ***а також*** визначення напряму лабораторних досліджень.

Розтину піддають свіжозагиблих і обов'язково вимушено забитих риб із зовнішніми ознаками захворювання, оскільки в теплий період року через швидке розкладення риб важко установити прижиттєві зміни і виділити від них специфічний збудник хвороби. Щоб не допустити розповсюдження інфекції, розтин риб проводять *в* ізольованому приміщенні (лабораторії), а потім їх закопують подалі від водойми.

Посмертні зміни зовнішніх покривів за інфекційних хвороб практично не відрізняються від вищеописаного комплексу клінічних ознак. Тільки вони більш глибокі і яскравіше виражені. Кожному захворюванню властива певна пат. анатомічна картина, яка змінюється залежно від форми і стадії хвороби.

У септичній формі захворювання перебігають найбільш тяжко і супроводжуються геморагічним діатезом, набряками, асцитом, перитонітом, катаральним ентеритом, спленомегалією, дистрофічними та біотичними змінами паренхіматозних органів. За переходу хвороби в підгостру і хронічну стадії гіатолого-анатомічні зміни поступово ослаблюються і часто набувають локалізованого характеру. Атипові, абортивні і латентні форми надто варіабельні, їх важко диференціювати. У таких випадках, а також за змішаного перебігу хвороб, проводять гістологічні дослідження.

За мікозів риб, за винятком глибоких, гіатолого-анатомічні зміни внутрішніх органів виражені слабо.

Лабораторні методи діагностики (бактеріологічні, вірусологічні та мікологічні) найбільш надійні і дозволяють встановити етіологічний діагноз, однак без урахування результатів

Національний університет
водного господарства
та природокористування

інших досліджень вони часто недостатні для остаточного діагнозу, особливо в разі змішаних і ускладнених захворювань та ін. Щоб виключити помилки, дуже важливо правильно відібрати проби патологічного матеріалу і грамотно провести лабораторні дослідження.

У лабораторію хворих риб краще доставляти живими. Якщо доставити живу рибу неможливо, то з великих екземплярів беруть шматочки уражених органів і тканин, кладуть їх у стерильний скляний посуд, щільно закривають і корки заливають парафіном. Кров, ексудат та інший рідкий патологічний матеріал доставляють у запаяних пастерівських піпетках. Відібрані матеріали перевозять у термосі з льодом. У теплий період року і за великих відстаней до лабораторії, патматеріал для бактеріологічних і вірусологічних досліджень фіксують 30-40%-ним розчином гліцерину на прокип'яченій воді або фізіологічному розчині. Проби для мікологічних досліджень консервують у розчині антибіотиків (пеніциліну і стрептоміцину по 100 ОД/мл. розчину).

Національний університет
водного господарства
та природокористування

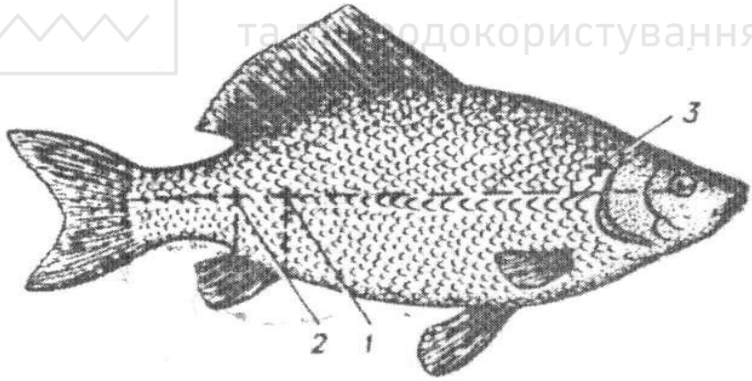


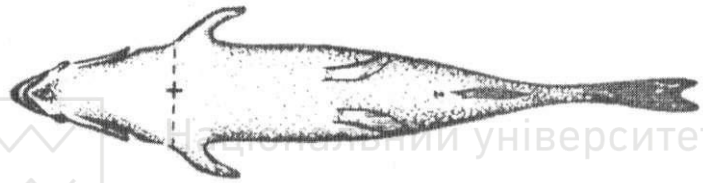
Рис. 2. Місце проколювання для взяття крові та кровотворної тканини у **риби** (за Кудрявцевим та ін., 1996): 1 - у цьоголітків та річняків: 2 - у риби старшого віку; 3 - місце проколу для взятгя кровотворної тканини у костистих риб

Як виняток роблять посіви в лабораторії рибницького господарства. Кров для досліджень беруть шприцом або пастерівською піпеткою із хвостових судин (артерії і вени) (рис.2) або із серця (рис. 3) з дотриманням правил асептики і

Національний університет водного господарства та природокористування

антисептики. У місці уколу луску знімають скальпелем, витирають слиз, шкіру дезінфікують 70° спиртом і припікають гарячим шпателем. Взяту кров використовують для посіву, приготування мазків, гематологічних і біохімічних досліджень. Незбирану кров, стабілізують гепарином (1000 ОД/мл) або лимоннокислим натрієм. Сироватку крові одержують загальноприйнятим методом, поміщають у стерильні запаяні ампули, а влітку консервують 5%-ним розчином фенолу (1-2 краплі на 1 мл сироватки) або тіомерсолом із розрахунку 10 мг препарату на 100 мл сироватки.

Рис. 3. Місце введення голки для взяття крові із серця риби (за Кудрявцевим та ін., 1996)



Для встановлення збудника захворювання вірусної чи бактеріальної етіології слід виділити його з організму хворої риби, ідентифікувати за морфологічними, культурально-біохімічними та антигенними ознаками, відтворити хворобу на здорових рибах, повторно виділити (реізолювати) від експериментально заражених тварин.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 8. ДІАГНОСТИКА ПРОТОЗОЙНИХ ХВОРОБ ТА КРУСТАЦЕОЗИ

Мета заняття – навчитися ставити діагноз на основі комплексних досліджень, освоїти техніку мікроскопічного дослідження зскрібків із поверхні тіла і зябер, методику визначення й підрахунку найпростіших та ракоподібних і аналізу кількісних показників.

Прилади і устаткування: Акваріум, сачок, відро, кювети, ножиці, пінцети, скальпелі, серветки, чашки Петрі, предметне скло, покривне скло, голки препарувальні, мікроскопи, лупи.

Досліджуваний матеріал: жива риба (коропи, карасі).

Порядок виконання. Паразитичні найпростіші риб за місцем локалізації поділять на дві групи: **ектопаразити** (інфузорії і

Національний університет водного господарства та природокористування

джгутиконосці), що паразитують на поверхні тіла й зябрах, і **ендопаразити** (джгутиконосці, кокцидії, мік- соспоридії), які паразитують у внутрішніх органах і тканинах. Відповідно до цього розподілу розрізняють **ектопаразитарні та ендопаразитарні протозоози,** діагностика яких має деякі відмінності.

А. Ектопаразитарні хвороби (хілодонельоз, триходіноз, апіозомоз, іхтіфтиріоз, іхтіободоз).

Під час аналізу епізоотологічних даних слід звернути увагу як на загальні, так і специфічні особливості цих хвороб. Загальним є те, що вони зустрічаються у ставових риб усіх видів, які вирощуються за високих щільностей посадки і часто проходять як змішані інвазії, спричинюючи масову загибель переважно молоді (мальків та цьогорічок). Тільки іхтіофтиріоз може мати тяжкий перебіг у товарної риби і плідників.

Хілодонельоз, триходіноз і апіозомоз відрізняються тим, що вони найчастіше зустрічаються у зимувальних ставах, оскільки їх збудники спроможні розмножуватися за низьких температур. Додатковим фактором, що сприяє виникненню вищеперерахованих хвороб, є ослаблення організму і виснаження риб, яке спостерігається в другій половині зимівлі.

Іхтіофтиріуси - теплолюбні паразити (оптимальна температура - 18 - 24°С). Тому спалахи іхтіофтиріозу зустрічаються навесні та влітку як у молоді, так і в дорослих риб.

Іхтіободоз найбільш небезпечний для мальків риб у весняно - літній період.

Клінічні ознаки і патолого-анатомічні зміни за хілодонельозу, іриходінозу, апіозомозу та іхтіободозу дуже подібні. Насамперед змінюється поведінка риби у водоймі. У зимувальних ставах починається масовий їх рух: підіймання з глибини, скупчення на притокові води і в ставах. Хвора риба легко виловлюється сачком, тіло в ділянці спинки покрите сірувато-блакитним нальотом слизу, зустрічається багато виснаженої риби. Зябра густо покриті слизом, іноді набряклі.

За іхтіофтиріозу на поверхні тіла і зябрах виявляють численні вузлики сірувато-білого кольору, які нагадують манну крупу. Для мікроскопічного дослідження із ставів відбирають живу рибу кожного виду і досліджують не менше 10-15 цьогорічок і 25 мальків. Живу рибу (нерухому) кладуть у кювету. Тильною або гострою частиною скальпеля роблять зскрібки слизу в ділянці

Національний університет водного господарства та природокористування

спинки, плавців, носових ямок і поміщають їх на предметне скло, добавляючи 1 2 краплі води. Зскрібки накривають покривним склом і злегка придавлюють препарувальною голкою.

Відділяють 1-2 зяброві дужки, зіскрібають з них слиз разом із зябровою тканиною і готують препарати аналогічним способом. Препарати проглядають спочатку під середнім збільшенням мікроскопа. Визначають рід виявлених паразитів, підраховують кількість у 10-25 полях зору малого збільшення мікроскопа. Відмічаючи середні, максимальні і мінімальні величини. Ці дані свідчать про інтенсивність інвазії (ІІ). Встановлюють також екстенсивність інвазії (ЕІ), яка визначається у відсотках, як відношення заражених до загальної кількості досліджуваної риби.

Найпростіші - це одноклітинні організми. Організм інфузорій складається з оболонки, цитоплазми, ядерного апарату: крупного (ма- кронуклеуса) та дрібного (мікронуклеуса) ядер, а також містять травні і скоротливні вакуолі. У більшості інфузорій є цитостом (ротовий отвір) і глотка, вистелена війками або наділена паличковим апаратом (хілодонели). Багато інфузорій (крім апіозом) рухомі. Органами руху їм служать війки, а у джгутиконосців - джгутики. Розмножуються вони безстатевим способом - поперечним діленням клітин, а іхтіофтиріуси - багаторазовим діленням інцистованої інфузорії. Розмножуються інфузорії й статевим способом - кон'югацією.

Родову належність найпростіших визначають за наступними основними ознаками. Розміри більшості інфузорій складають 20-80 мкм, і тільки іхтіофтиріус досягає 1-2мм. Хілодонели прозорі, мають овальну, листоподібну форму з невеликою виїмкою, постійно крутяться. Війки розташовані рядами з обох боків клітини, ядро овальне, в цитоплазмі 1-2 скоротливі вакуолі.

Триходини мають правильну дископодібну форму, нагадують дзвіночок. Війки розташовані в крайовій зоні клітини, а в центрі знаходиться опорний вінчик з колючками, які добре заломлюють світло. Ядро бобоподібне.

Іхтіофтиріуси - округлі крупні клітини, покриті рівномірними рядами мерехтливих війок. Цитоплазма грубозерниста, буруватого кольору, на фоні якого помітне світле ядро підково- або паличкоподібної форми.

Апіозоми нерухомі, бокалоподібної форми, біля основи мають підошву, якою прикріплюються до поверхні тіла риб. Війки

Національний університет водного господарства та природокористування
розташовані у вигляді вінчика на вільній частині клітини, ядро велике овальне або паличкоподібне.

Джгутиконосці іхтіободо відрізняються малими розмірами (9-15 мкм) та інтенсивними круговими рухами. їх, як правило, визначають і підраховують після фіксації за середнього збільшення мікроскопа. Форма паразита бобоподібна, цитоплазма світла, ядро овальне, помітні два довгих джгутики.

Б. Ендопаразитарні протозоози (вертячка лососевих, кокцидіоз та ін.). Збудником вертячки лососевих є міксоспоридія **Myxosoma cerebralis**, а кокцидіоз - **Eimeria carpelli.**

Міксозома, як правило, паразитує в хрящах голови і хребта лососевих риб, куди потрапляє під час зараження молоді. У процесі розвитку вона проходить спочатку плазмодіальну стадію (рухомі амебоїди) і споруляції. У хрящах утворюються цисти, в яких містяться амебоїди і спори. Найбільш важливе діагностичне значення має виявлення спор. Зрілі спори складаються з двох стулок, сполучених шовним валиком. Оболонка їх щільна, добре заломлює світло. Всередині спори на одному полюсі розташований амебоїдний зародок з ядром і йодофільною вакуолею, а на іншому - дві овальні полярні капсули зі скрученими в спіраль нитками.

Характерні клінічні ознаки міксозомозу - кругові рухи риб, викривлення хребта і почорніння хвостової частини.

Кокцидіоз найчастіше зустрічається у коропів і проявляється в кишковій формі. Кокцидії риб також проходять складний цикл розвитку з чергуванням стадії безстатевого (шизогонія) і статевого (гаметогонія) розмноження. Кінцевим етапом їх розвитку є утворення спорозоїтів, які у складі ооцист локалізуються в епітелії кишечнику. Клінічні ознаки кокцидіозу проявляються відставанням росту риб, а іноді й виснаженням. Остаточний діагноз на міксозомоз і кокцидіоз ставлять на підставі мікроскопічного дослідження.

Для виявлення кокцидій роблять зскрібки із слизової кишечнику і досліджують тим же способом, що й зовнішніх найпростіших. На міксозомоз досліджують подрібнені хрящі голови і хребта. Визначають рід збудника за формою і будовою спор, інтенсивністю та екстенсивністю інвазій.

Діагностика крустацеозів (аргульоз, лернеоз, ергазильоз та ін.)

Національний університет водного господарства та природокористування

Паразитичні ракоподібні належать до ектопаразитів, які поселяються на поверхні тіла і зябрах усіх культивованих риб. Однак захворювання спостерігають за сприятливих умов (оптимальна температура, високі щільності посадки риб і т. п.). Найбільш небезпечний аргульоз, який спричинює масову загибель риб, особливо молоді, а також лернеоз, що різко змінює товарний вигляд риби.

Основний метод діагностики крустацеозів - виявлення рачків на рибах і наявність клінічних ознак хвороб. Тому слід чітко засвоїти морфологічні особливості паразитичних стадій розвитку рачків і місця їх локалізації на рибах.

Згідно з класифікацією, рачків-аргулюсів відносять до роду зяброхвостих, а лерней - веслоногих, однак під час їх визначення слід враховувати, що у самок лерней (довжина 10-15мм), які паразитують на тілі риб, дуже змінюється зовнішній вигляд. Вони набувають червоподібної форми, головний кінець якореподібно розгалужений і служить для проникання й фіксації в мускулатурі риби. На задньому кінці - два яйцевих мішки.

Зовнішній вигляд аргулюсів не змінюється. На поверхні риб знаходяться самці і самки (довжина 2-8 мм), які колючим апаратом травмують шкіру. Розвиваються личинки обох рачків у воді.

Клінічні ознаки аргульозу і лернеозу зумовлені, в основному, травмуванням шкіри. Навколо лерней помітні кільцеподібні крововиливи і навіть виразки. Для визначення роду рачків спочатку їх проглядають на шкірі і зябрах візуально. Лерней знімають пінцетом або препарувальною голкою, обережно розриваючи тканину в місцях їх прикріплення, щоб не пошкодити головний кінець. Для збору аргулюсів роблять зскрібки з тіла. Потім їх переносять у чисту воду і продивляються під лупою або мікроскопом. За зовнішніми ознаками визначають рід і підраховують загальну кількість рачків, зібраних з усієї поверхні тіла риб (ІІ - інтенсивність інвазії). Екстенсивність інвазії (ЕІ) виражають у відсотках заражених риб.

Національний університет
водного господарства
та природокористування

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 9. ДІАГНОСТИКА МОНОГЕНОЇДОЗІВ І ТРЕМАТОДОЗІВ

Мета заняття – навчитися ставити діагноз на моногеноїдози і трематодози, освоїти техніку гельмінтологічного дослідження риб та методику визначення дорослих паразитів і їх личинок.

Прилади і устаткування: Акваріум, сачок, відро, кювети, ножиці, пінцети, скальпелі, серветки, чашки Петрі, предметне скло, покривне скло, голки препарувальні, мікроскопи, лупи.

Досліджуваний матеріал: жива риба (коропи, карасі).

Порядок виконання. Діагностика моногеноїдозів

Моногеноїдози відносять до групи ектопаразитарних хвороб, збудники яких локалізуються на поверхні тіла, плавцях і зябрах риб. Слід запам'ятати, що моногенеям властива чітко виражена специфічність стосовно господарів і місця локалізації. Дактилогіроз А і Б коропів спричиняють, в основному, дактилогіруси трьох **видів** (дактилогірус вастатор, екстензус, анхоратус), які паразитують тільки на зябрах. Збудники гіродактильозу (гіродактилюс елеганс і циприни) локалізуються на шкірі й зябрах. У інших риб відповідні хвороби зумовлюють специфічні для них сисуни.

На дактилогіроз А, *який викликається дактилогірусом вастатор. Хворіють мальки коропів у жаркий період літа. Ознаками хвороби є неспокій риб, киснева недостатність (риба захоплює повітря біля поверхні води), наявність молочно-білого нальоту та крововиливів на зябрах. Загибель досягає 80-90 % риб.*

Дактилогірозом Б, *який викликається дактилогірусами екстензус і анхоратус, інтенсивніше уражуються цьогорічки корона в літньо-осінній і зимовий періоди. Ознаки хвороби такі ж, як за дакгилогірозу А, але гинуть одиничні риби.*

Під час мікроскопії зскрібків слизу із зябрових пелюсток у хворих риб виявляють відповідних збудників, які відрізняються один під одного за деякими деталями будови гельмінтів. Дактилогіруси мають плоске тіло, білувато-коричневий колір, розмір 1-1,5мм. На задньому кінці знаходиться прикріплювальний диск, на якому розміщуються два великих серединних і чотирнадцять дрібних крайоних гачків. На передньому 4-лопатевому кінці є ротовий присосок, і боків якого розміщуються дві пари чорних очок. У центрі тіла помітний когіулятивний апарат. Розмножуються паразити шляхом відкладення яєць, із

Національний університет
водного господарства
та природокористування
яких у воді виходять інвазійні личинки, з війками. Останні поселяються на зябрах риб.

Гіродактильозом уражуються цьогорічки, дворічки в літній і зимовий періоди, особливо в південних зонах країни. За гіродактильозу риба неспокійна, тіло покривається блакитно-сірим нальотом, плавці розпадаються на волокна, іноді на шкірі з'являються виразки. Під час мікроскопії зскрібків слизу із шкіри і плавців виявляють гіродактилюсів довжиною до 1 мм, на задньому кінці яких є прикріплювальний диск з двома крупними центральними і шістнадцятьма крайовими гачками. Головний кінець загострений, дволопатевий. Пігментні очка біля ротового присоска відсутні. Гельмінти живородні. У зрілих паразитів добре помітні зародки, які виходять у воду, а потім інвазійні личинки знову поселяються на рибі.

У моногенетичних сисунів-гермафродитів чоловіча статева система представлена сім'яниками, сім'япроводом і копулятивним апаратом. Жіночі органи включають яєчник, яйцевід, матку, вагінальну протоку і жовточники. Травна система добре розвинута, складається з ротового отвору, глотки, стравоходу і роздвоєного кишечнику, який закінчується сліпо.

Діагностика трематодозів

Трематодози риб спричинюють, в основному, личинки (метацеркарії) генетичних сисунів, розвиток яких відбувається із зміною декількох господарів. Виняток складає сангвінікольоз, при якому у риб паразитують, як личинки, так і дорослі гельмінти.

У прісноводних риб найбільш часто зустрічається диплостомоз і постодиплостомоз - їх збудники метацеркарії трематод родів диплостомум і постодиплостомум. На опісторхоз хворіють основні живителі - люди і м'ясоїдні тварини, а риба є переносником збудника й виступає як додатковий живитель.

Для правильної інтерпретації клінічних ознак і епізоотологічних даних необхідно чітко уявляти собі цикл розвитку трематод, який проходить за наступною схемою. Статевозрілі трематоди, поселяючись у кишечнику основних живителів (рибоїдних птахів або ссавців), виділяють яйця, із яких у воді вилуплюються рухливі, покриті війками личинки - мірацидії. Останні проникають у печінку прісноводних молюсків, де проходять три стадії: спороцисти, редії і церкарія. ГІокидаючи молюска, хвостаті церкарії плавають у воді, активно проникають

Національний університет водного господарства та природокористування

через шкіру в тіло коропових риб (другого проміжного господаря), мігрують в улюблені місця локалізації і переходять у наступну стадію - метацеркарія.

Із епізоотологічних даних для діагностики важливо відмітити, що на диплостоматоз і постодиплостоматоз найчастіше хворіють риби з дрібною, м'якою лускою (форель, товстолобик, лящ, плітка, густера та ін.) або риба, яка заразилася в молодому віці (мальок, цьоголіток, річняк). Остаточний діагноз на диплостомоз підтверджують мікроскопічним дослідженням кришталиків очей. За постодиплостомозу достатньо буває виявити специфічні клінічні ознаки - численні чорні плями під шкірою. Зараженість опісторхозом визначають за допомогою мікроскопічного дослідження шматочків мускулатури багатьох річкових риб родини коропових.

Метацеркарії цих трематод мають типову структуру дорослих гельмінтів, але у них ще недорозвинуті статеві органи. Личинки миють листочкоподібну форму, у постодиплостом перетяжкою вони розділені на дві частини; скорочуються, напівпрозорі, розміри близько 0,2-1,5мм. На передній частині тіла добре виявляються ротова, а в середній - черевна присоски.

Травна система складається з ротового отвору, глотки, стравоходу і кишечнику, два розгалуження якого закінчуються сліпо.

Дорослі гельмінти - гермафродити, чоловіча і жіноча статеві системи яких мають типову для трематод будову і служать важливою систематичною ознакою.

Сангвінікольоз коропових риб відрізняється від попередніх хвороб тим що збудник сангвінікола є кровопаразитом, який поселяється в судинній системі. Тому сангвінікола не має деяких морфологічних ознак трематод: відсутні присоски, розмір до 1 мм, форма ланцетоподібна, хрестоподібний кишечник, 15 пар сім'яників. У крові трематода виділяє яйця трикутної форми із сформованими мірацидіями, які нагромаджуються в капілярах зябер, після розриву їх стінок потрапляють у воду, а далі - у прісноводних черевоногих молюсків, де проходять ті ж стадії з утворенням церкаріїв, котрі повертаються в організм риби через зябра і в кровоносних судинах перетворюються в дорослого паразита.

Національний університет
водного господарства
та природокористування

Клінічно сангвінікольоз проявляється у двох формах: зябровій та нирковій. Зяброва форма зустрічається за гострого перебігу хвороби і зумовлена закупоркою судин зябер яйцями і личинками гельмінта. Внаслідок цього в зябрах виявляють смугасті крововиливи, ділянки анемії і осередкового некрозу тканини, що надає їм мозаїчного вигляду. Нерідко відбувається відторгнення некротизованої тканини.

Ниркова форма зумовлена порушенням саморегуляторної функції нирок у результаті закупорки дорослими паразитами капілярної сітки судинних клубочків. Вона проявляється збільшенням черевця, скуйовдженням луски і вирячкуватістю.

Остаточний діагноз на сангвінікольоз ставлять на основі клініко-анатомічної картини хвороби, виявлення великої кількості паразитів у крові, нирках і зскрібках із зябер.

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Болезни пресноводных рыб / Давидов О. Н., Темниханов Ю. Д. Киев : «Ветинформ», 2003. 544 с.: ил.249.: Библиограф.: с. 539-543.
2. Ветеринарно-санитарная экспертиза пресноводной рыбы / Микитюк П. В., Житенко П. В., Осетров В. С. и др. Москва : Агропромиздат, 1989. 250 с.
3. Практикум з ветеринарно-санітарної експертизи з основами технології та стандартизації продуктів тваринництва і рослинництва : під ред. Хоменка В. І. Київ : «Ветінформ», 1998. 238 с.
4. Ветеринарно-санітарна експертизаи з основами технології і стандартизації продуктів тваринництва / Хоменко В.І., Ковбасенко В. М., Оксамитний М. К. Київ : «Сільгоспосвіта», 1995. 716 с.
5. Ветеринарна санітарія і гігієна в рибництві / Секретарюк К. В., Данко М. М., Стибель В. В. Москва, 2002. 177 с.
6. Практикум з біології, патології та ветсанекспертизи прісноводної риби / Микитюк П. В., Джміль В. І., Букалова Н. В., Хіцька О. А., Ківа М. С., Джміль О. М., Слюсаренко С. В..; За ред. П. В. Микитюка. Біла Церква, 2009. 160 с.