Библиотечка консультанта информационно-консультационной службы Минсельхозпрода России



Сборник инструкций по борьбе с болезнями рыб

Москва

gost.e-ecolog.ru

Министерство сельского хозяйства и продовольствия
Российской Федерации

Сборник инструкций по борьбе с болезнями рыб.

Москва
Отдел маркетинга АМБ-агро
1998

УДК 597-12 + 616.99-08 +576.893.1+576.895.1+576.895-3+576.89 +616.98-036.2:578+616.98-036.2:579.8

ISBN 5-93098-002-0

Сборник включает документы по организации ветеринарного надзора за рыбохозяйственными предприятиями и инструкции по борьбе с основными инфекционными и инвазионными болезнями рыб.

Подготовлен специалистами ветеринарных, рыбохозяйственных и других НИИ (ВИЭВ, ВИГИС, ВГНКИ, ЦНМВЛ и Республиканский эпизоотический отряд Департамента ветеринарии Минсельхозпрода России, ВНИИПРХ, ГосНИОРХ, СибрыбНИИПроект, РосрыбНИИПроект, АГТУ, ВНИИР, КаспНИИРХ, ВНИРО, ИнПА РАН, Институт цитологии РАН, ЦПС, ЦИПС).

Сборник предназначен для специалистов широкого профиля рыбоводных предприятий всех форм собственности, ихтиопатологической и ветеринарной службы, рыбохозяйственных и ветеринарных НИИ и ВУЗов.

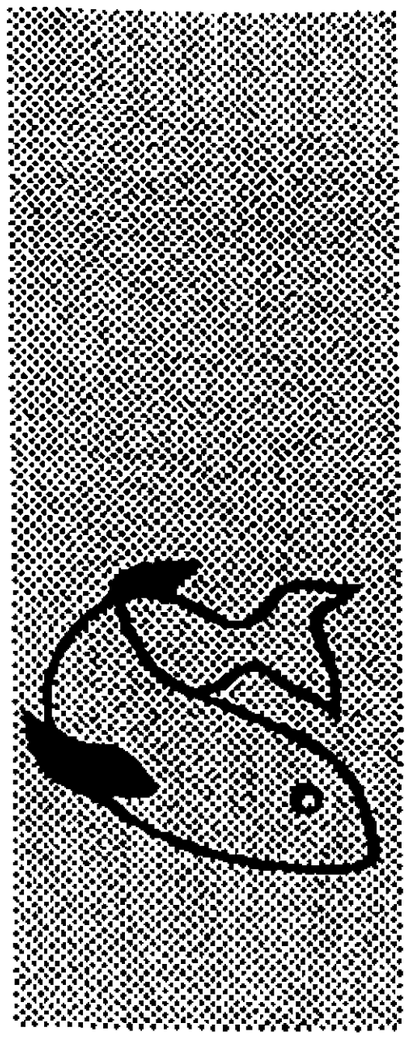
Ответственные за выпуск: начальник отдела организации противоэпизоотических мероприятий, к.в.н. Н.А.Яременко, гл. специалист, к.в.н. А.Н.Мачнев (Департамент ветеринарии Минсельхозпрода России), проф. Ю.А.Стрелков, д.б.н. А.М.Наумова (Межведомственная ихтиологическая комиссия Департамента рыболовства Минсельхозпрода России, ГосНИОРХ, ВНИИ ирригационного рыбоводства РАСХН).

Издается по заказу Департамента ветеринарии, Межведомственной ихтиологической комиссии, Департамента рыболовства, Центральной производственной станции по борьбе с болезнями рыб Ассоциации Росрыбхоз Минсельхозпрода России, Отделения ветеринарной медицины РАСХН

© Департамент науки и технического прогресса

© Департамент ветеринарии

© Межведомственная ихтиологическая комиссия Департамента рыболовства Минсельхозпрода России



Инфекционные болезни рыб

2.2.2. Временная инструкция по борьбе с вибриозом рыб

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА И ПРОДОВОЛЬСТВИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(Минсельхозпрод России)

ДЕПАРТАМЕНТ ВЕТЕРИНАРИИ

107139, Москва, Орликов пер., 1/11
Для телеграмм: Москва, 84
Минсельхозпрод
Телекс: 417738 ЛЕН
Телефоны: 975-58-50; 975-54-23
26.05.98 № 13-4-2/1249

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Департамента ветеринарии



В.М. Авилов

мая 1998 г.

ВРЕМЕННАЯ ИНСТРУКЦИЯ
по борьбе с вибриозом рыб

1. Вибриоз - инфекционное заболевание, чаще поражающее рыб и других гидробионтов, обитающих в соленых, солоноватых и реже - в пресных водах.

Заболевание вибриозом регистрируют у лососевых рыб, угря, щуки, плотвы. окуня, камбалы, трески, сельдевых и рыб других видов.

Болезнь чаще всего протекает в острой септической форме, а при эпизоотиях и после лечения антибиотиками - в хронической форме.

Возбудитель болезни - бактерии Vibrio anguillarum, входят в род Vibrio, семейство Vibrionaceae.

2. Диагноз на вибриоз устанавливают:

- по результатам изучения культуральных, морфологических и ферментативных свойств возбудителя, выделенного при бактериологическом исследовании патологического материала от рыб, при наличии у рыб клинических признаков и патологоанатомических изменений, характерных для данной болезни, а в случае бессимптомного течения болезни при гибели рыб;

- при получении положительного результата биопробы с использованием возбудителя болезни, выделенного из патологического материала от рыб и наличии у рыб клинических признаков и патологоанатомических изменений, характерных для данной болезни, а в случае бессимптомного течения болезни при гибели рыб;

- при положительном результате серологического типирования возбудителя, выделенного из патологического материала от рыб, при наличии у рыб клинических признаков и патологоанатомических изменений, характерных для данной болезни, а в случае бессимптомного течения болезни при гибели рыб;

- при положительном результате исследования сыворотки крови рыб в РА с антигеном эритроцитарным вибриозным и наличии у рыб клинических признаков и патологоанатомических изменений, характерных для данной болезни, а в случае бессимптомного течения болезни при гибели рыб.

В каждом случае при постановке диагноза учитывают эпизоотологические данные.

3. При подозрении на вибриоз рыб ветеринарный врач, обслуживающий рыбоводный завод или рыбоводное хозяйство, совместно с представителем завода (хозяйства) выясняет:

- время зарыбления водоемов и рыбоводно-биологические показатели;

- показатели температуры воды в водоемах и содержание в ней кислорода в течение недели перед заболеванием;

- время появления первых случаев заболевания;

- динамику отхода рыб в каждом садке (бассейне);

- состав и качество кормов и режим кормления;

- плотность посадки рыб и возможность загрязнения воды.

О возникшем заболевании ветеринарный врач сообщает руководителю завода (хозяйства), главному ветеринарному врачу района, направляет материал для лабораторного исследования и организует мероприятия по ликвидации и недопущению распространения болезни.

4. При подтверждении диагноза рыбоводный завод (рыбоводное хозяйство) в установленном порядке объявляют неблагополучным по вибриозу рыб. Гдавный ветеринарный врач района берет такой завод (хозяйство) на учет и совместно с руководителем и специалистами завода (хозяйства) разрабатывает план оздоровительных, ветеринарно-санитарных и организационно-хозяйственных мероприятий в соответствии с действующими Ветеринарно-Санитарными правилами для рыбоводных хозяйств и Ветеринарно-Санитарными правилами для лососевых рыбоводных заводов.

5. В неблагополучных по вибриозу заводах (хозяйствах) вводят ограничения, при которых запрещается:

- ввоз и вывоз икры и живой рыбы для целей разведения и выращивания;

- вывоз кормов, изготовленных из больных рыб, и использование их в корм рыбам без термической обработки;

- пересаживание рыб из неблагополучных по вибриозу садков (бассейнов) в благополучные и наоборот;

- использование орудий лова, оборудования, инвентаря из неблагополучных садков (бассейнов) для работы в благополучных.

6. В водоемах (емкостях), где установлено заболевание, прекращают кормление рыб до начала лечения, затем назначают качественные витаминизированные, а также лечебные корма в количестве 50-70 процентов от нормы.

7. В водоемах (емкостях), где установлено заболевание, повышают аэрацию за счет увеличения подачи холодной пресной воды из глубоких мест водозабора или артезианских скважин, при возможности садки отбуксировывают или притапливают в зоны с более низкой температурой воды

8. Ветеринарный врач, обслуживающий завод (хозяйство), проводит ежедневный клинический осмотр рыб в водоемах и организует сбор погибшей рыбы с последующим ее обеззараживанием и утилизацией

9. Ограничения с рыбоводного завода (рыбоводного хозяйства) снимают и объявляют его благополучным по вибриозу рыб по истечении одного года, а с естественного водоема - по истечении двух лет после полного прекращения заболевания (отсутствие у рыб клинических признаков болезни, отрицательные результаты бактериологических исследований рыб) и только после проведения комплекса оздоровительных ветеринарно-санитарных и организационно-хозяйственных мероприятий.

10. Для лечения рыб применяют фуразолидон, окситетрациклин, тетрациклин, левомицетин.

10.1. Выбор препарата, его дозировку и продолжительность лечения определяют в зависимости от чувствительности возбудителя к препарату, формы течения заболевания, возраста и состояния рыбы, температуры воды и других факторов.

10.2. Фуразолидон при остром течении вибриоза применяют для лечения всех возрастных групп в течение 10 дней из расчета 9 г на 100 кг массы первый день и по 8 г в последующие дни лечения.

10.3. При хроническом течении вибриоза фуразолидон применяют к течения 10 дней из расчета 10 г на 100 кг массы рыбы в день. При необходимости после окончания первого курса лечения проводят второй.

10.4. При температуре воды выше 17°С, а также при появлении первых признаков болезни, рыбам назначают фуразолидон в течение 10 дней в дозе 7-8 г на 100 кг массы рыбы в день.

10.5. Окситетрациклин дают из расчета 7 г на 100 кг массы рыбы в течение 10 дней.

10.6. Левомицетин применяют из расчета 5 г на 100 кг массы рыбы в первый день и по 3 г в течение 2-6 последующих дней лечения.

10.7. Товарную рыбу, получавшую препараты, нельзя направлять в реализацию ранее, чем через 30 дней после окончания лечения.

11. В целях профилактики вибриоза рыб посадочный материал следует отбирать из хозяйств, благополучных по данной болезни. Рыбы не должны иметь травматических повреждений и признаков других болезней.

12. Из пресной воды в морскую и солоноватую переводят рыб не моложе двухлетнего возраста, массой не менее 100 г. Перемещают их постепенно: каждому изменению солености на 5‰ должен предшествовать период в 4-5 дней.

13. При перевозках и пересадках рыбы нельзя допускать резких колебаний температуры воды (предельная разница 2 -2,5°С). Температура воды в акваториях, куда помещают садки с посадочным материалом, должна быть не выше 20°С.

14. В период выращивания рыб необходимо следить за качеством кормов и режимом кормления, не допускать воздействия на рыб стрессовых факторов.

15. Для создания резистентного к вибриозу маточного стада следует отбирать особей не болевших в период вибриозной эпизоотии и имеющих нормальные физиологические показатели.

16. В хозяйствах необходимо осуществлять мероприятия, предусмотренные действующими ветеринарно-санитарными правилами для рыбоводных хозяйств.

17. В общий комплекс мероприятий против вибриоза рыб должна быть включена специфическая профилактика болезни с применением вакцин, приятых в ветеринарную практику.

Временная инструкция по профилактике и ликвидации с вибриоза рыб разработана взамен Методических указаний по лабораторной диагностике вибриоза рыб, утвержденных ГУВ МСХ СССР 30.03.1983 г. и Временной инструкции о мероприятиях по борьбе с вибриозом радужной форели, утвержденной ГУВ МСХСССР 30.03.1983 г.

Приложение №1
к Временной инструкции по борьбе с вибриозом рыб от 26 мая 1998 г.

Вибриоз рыб (справка)

1. Возбудитель вибриоза рыб - бактерии Vibrio anguillarum представляют собой короткие, тонкие (1,6-2,5 х 0,4-1,0 мкм), слабоизогнутые грамотрицательные палочки не образующие спор и капсул. Активную подвижность бактерий обеспечивает один полярно расположенный жгутик. Бактерии являются факультативными анаэробами. Они продуцируют протеолитические ферменты и токсины.

Бактерии Vibrio anguillarum выделяют из воды, ила и от гидробионтов. Возбудитель болезни попадает в организм рыбы через жабры, оральным и анальным путями.

2. При подозрении на вибриоз обращают внимание на частоту и время вспышек болезни со сходной клинической картиной, температуру воды и ее соленость, динамику заболевания и отход рыбы:

а) рыбы заболевают вибриозом преимущественно в летние месяцы при нагревании воды до температуры выше 16°С. Заболевание достигает максимума при температуре 19-20°С.

б) максимальный отход рыбы регистрируется при солености воды 6,5-8,5‰.

в) наибольшие потери (гибель) регистрируют среди годовиков и сеголетков в первый месяц с момента заболевания, особенно при высокой плотности посадки.

3. Из клинических признаков при остром течении болезни у рыб в первую очередь регистрируют отказ от корма и снижение двигательной активности. У части рыб наблюдается ерошение чешуи, покраснение кожных покровов у основания плавников, анального отверстия и в других частях брюшной стенки, а также геморрагии, некротические изменения и изъязвления в коже и мышцах. У части рыб болезнь протекает бессимптомно, но со значительным отходом, особенно среди годовиков и двухлетков. При бактериологическом исследовании возбудитель болезни легко высевается из крови.

При хроническом течении болезни (свыше 7-8 недель) характерным признаком является наличие в мышцах рыб абсцессов и длительно незаживающих язв. Возбудитель болезни редко высевается из крови, но высевается из внутренних органов.

4. Патологоанатомические изменения характеризуются выраженной гиперемией и геморрагиями тканей внутренних органов при увеличении их размеров, наличием интрамускулярных абсцессов, некрозов и язв, а в брюшной полости - асцитной жидкости. Желудок

и кишечник пустые, гиперемированные. Анус выпяченный и отечный. Кожа на разрезе в месте припухлостей темно-красного цвета, мышечная ткань дряблая.

5. При бактериологическом исследовании на вибриоз патологический материал отбирают только от живых рыб:

5.1. Для исследования берут пробы крови из сердца и содержимого брюшной полости, материал из полости абсцессов и стенок язв, сердце, печень, селезенку и почки.

5.2. Место отбора материала прижигают шпателем, после чего стерильной пастеровской пипеткой отбирают пробу материала и переносят ее в одну пробирку с 6 $см^3$ мясо-пептонного бульона (МПБ - см. приложение №2, п.1.1.) или пептонной воды, содержащих 1,5% хлорида натрия. После 2-3 пипеттирований посевной материал в объеме 0,5-1,0 $см^3$ засевают в две пробирки на скошенный мясо-пептонный агар (МПА - см. приложение №2, п.1.2.) с 1,5% хлористого натрия и в две пробирки на скошенный дифференциально-диагностический агар (ДДА - см. приложение №2, п. 1.3.). Посевы инкубируют при температуре 20-22°С. Учет проводят каждый день в течение 7 суток. Полученные культуры подвергают бактериоскопии. Затем определяют их подвижность и галофильность, оценивают рост колоний при посеве на обычные и дифференциальные среды и ставят с ними биопробу .

5.3. Бактериоскопия. На чистое обезжиренное стекло наносят стандартной бактериологической петлей (диаметр 2 мм) каплю физиологического раствора, тщательно суспендируют в ней небольшое количество исследуемой культуры и равномерно распределяют суспензию по поверхности стекла. Препарат высушивают при комнатной температуре и фиксируют путем проведения 5-6 раз над пламенем горелки. После охлаждения препарат окрашивают по Граму. Вначале - в течение 2 мин карболовым раствором генцианового фиолетового. Смыв краску водой, препарат помещают на 2 мин в раствор Люголя. Затем в течение 30 секунд обрабатывают 96%-ным спиртом. Тщательно отмыв препарат от спирта окрашивают его в течение 2 мин фуксином Пфейфера.

После промывания водой и просушивания фильтровальной бумагой препарат микроскопируют при увеличении 10х90 под иммерсией. Бактерии, окрасившиеся в синий, цвет считают грамположительными; в красный цвет - граморицательными. Вибрионы грамотрицательны.

5.4. Определение подвижности. На обезжиренное предметное стекло наносят бактериологической петлей каплю физиологического раствора, суспендируют в ней небольшое количество испытуемой

культуры и накрывают покровным стеклом. Препарат микроскопируют при увеличении 10х90. Бактерии Vibrio anguillarum активно подвижны.

5.5. Определение галофильности. Исследуемую культуру высевают на МПА без содержания хлористого натрия и на МПА с 1,5-, 3-, 7-, 10% хлористого натрия, скошенный в пробирках. Посевы инкубируют при 20-22°С в течение 48 часов. Оценку результатов теста проводят, исходя из того, что культуры Vibrio anguillarum, кроме типа С, не растут на среде без содержания хлористого натрия, а также, что все они не растут при содержании в среде 7,0% и более хлористого натрия, но хорошо растут при концентрации соли от 0,25 до 5,2%.

5.6. Оценка роста вибрионов на плотных питательных средах. Испытуемые культуры бактерий, сходные по культуральным свойствам и морфологии с вибрионами, суспендируют в стерильном физиологическом растворе с таким расчетом, чтобы концентрация микробных клеток составила 1 млрд/см^3 по оптическому стандарту мутности ГИСК. Приготовленные суспензии разводят последовательно десятикратно до 10^{-6} и из последних разведений в объеме 0,1см^3 высевают на МПА с 1,5% хлористого натрия и ДДА, разлитые в чашки Петри. Посевы инкубируют при температуре 20-22°С в течение 48 часов.

На МПА вибрионы растут в виде прозрачных, светлых выпуклых колоний с ровными краями, имеющих в проходящем свете светло-голубоватый оттенок.

По оценке роста колоний на ДДА проводят ориентировочную дифференциацию вибрионов от других микроорганизмов. На данной среде вибрионы формируют колонии желтого цвета, без изменения цвета среды вокруг колоний. Также в виде колоний желтого цвета на ДДА растут некоторые штаммы аэромонад и псевдомонад, но среда вокруг колоний становится синеватой. Колонии V. parachemolyticus на этой среде имеют голубоватый цвет.

Типичные для Vibrio anguillarum колонии отбирают бактериологической петлей и пересевают на МПА с 1,5% хлористого натрия, скошенный в пробирках. Посевы инкубируют при температуре 20-22°С в течение 24-48 часов. Выращенные культуры используют для постановки биопробы и изучения ферментативных свойств бактерий.

5.7. Биопроба. Для определения патогенности односуточную культуру вибрионов суспендируют в физиологическом растворе и вводят 3-5 рыбам аналогичного вида массой 100-200 г внутримы-

шечно и 3-5 рыбам -внутрибрюшинно в дозе 200 млн микробных клеток в объеме 0,2 см³.

Из пяти рыб аналогов формируют контрольную (без введения культуры) группу и выдерживают ее в отдельном аквариуме. Температура воды в аквариумах должна быть 18-20°С. Срок наблюдения 18 суток.

В случае заболевания или гибели инфицированной рыбы проводят бактериологическое исследование взятого от нее патологического материала, с последующей идентификацией выделенной культуры по результатам серологического исследования с агглютинирующей сывороткой против Vibrio anguillarum, или - результатам изучения ферментативных свойств.

Биологическая проба считается положительной, а диагноз на вибриоз установленным при проявлении не менее чем у 50% рыбы, инфицированной испытуемой культурой, клинических признаков болезни или при ее гибели и выделении от такой рыбы культуры Vibrio anguillarum. Рыбы контрольной группы, при этом, должны оставаться живыми.

6. Изучение ферментативных свойств:

6.1. Определение продукции цитохромоксидазы. α-нафтол в количестве 30-40 мг растворяют в 2,5 см³ 96%-ного этилового спирта (ректификованного), затем прибавляют 7,5 см³ дистиллированной воды и 60 см³ диметил-парафенилендиамина. Реактив готовят ex temproe и обрабатывают им полоски фильтровальной бумаги размером 1,5 х 9 см. Исследуемую культуру наносят штрихом с помощью бактериологической петли на обработанную реактивом полоску бумаги. Если на полоске бумаги в месте нанесения культуры появляется синее окрашивание культуру оценивают как оксидазоположительную. Если цвет не изменяется - как оксидазоотрицательную. Бактерии Vibrio anguillarum оксидазоположительные.

6.2. Определение продукции сероводорода. Полоску фильтровальной бумаги (1х10 см), обработанную насыщенным водным раствором уксуснокислого свинца и высушенную в термостате, помещают в пробирку со скошенным МПА с 1,5% NaCl непосредственно после засева испытуемой культуры таким образом, чтобы нижний край полоски находился на расстоянии 1 см от питательной среды. Посевы инкубируют при температуре 20-22°С в течение 5 суток. Результаты учитывают ежедневно. Почернение нижней части полоски фильтровальной бумаги оценивают как положительный результат. Бактерии Vibrio anguillarum сероводород не продуцируют.

6.3. Тест окисления ферментации на среде Хью-Лейфсона. Среду, состоящую из 3,0 г агара; 2,0 г пептона; 15,0 г хлорида натрия;

0,3 г двузамещенного фосфатнокислого калия; 3 см³ 1% водного раствора бромтимолблау; 1000 см³ дистиллированной воды стерилизуют при 121°С (1 атм) в течение 15 мин. После охлаждения до 45-50°С в среду вносят 25 см³ 40%-ного раствора глюкозы и разливают по 3 см³ в пробирки. Исследуемую культуру засевают уколом в две пробирки со средой. Стерильной пипеткой на поверхность среды одной из пробирок наносят 1 см³ стерильного вазелинового масла. Посевы инкубируют при 22-25°С в течение 4 суток. Видовую принадлежность культуры оценивают, исходя из того, что вибрионы и аэромонады ферментируют глюкозу как в аэробных условиях - пожелтение среды в пробирках без вазелина (О+), так и в анаэробных - пожелтение среды в пробирках под вазелином (F+). При прочих результатах теста культуру считают не принадлежащей к роду Vibrio и Aeromonas.

6.4. Протеолитические свойства. Исследуемую культуру засевают уколом в столбики желатина в 2 пробирки. Посевы инкубируют при температуре 20-22°С в течение 4 суток. Перед учетом результатов пробирки с посевами вместе с контролем (без посева) помещают на 20 мин в холодильник. Если желатин остается твердым, как в контроле, то результат оценивают как отрицательный. При положительном результате желатин разжижается и остается жидким при выдерживании в холодильнике. Бактерии Vibrio anguillarum разжижают желатин.

6.5. Проба на индол. Индол образуется в результате распада аминокислот под действием микроорганизмов. Испытуемую культуру выращивают на бульоне Хоттингера при температуре 20-22°С в течение 4 суток. В пробирку, содержащую 5 см³ бульонной культуры, вносят 6 капель реактива Ковача, который готовят следующим образом: в 150 см³ растворяют 10,0 г парадиметиламинобензоальдегида, после чего к раствору медленно добавляют 50 см³ концентрированной соляной кислоты. При окрашивании содержимого пробирки в розовый цвет результат пробы оценивают положительно. Если окрашивание не наступило - отрицательно. Бактерии Vibrio anguillarum - за исключением биотипов "В" и "С", - считаются индолоположительными.

6.6. Декарбоксилазная активность. Декарбоксилазную активность определяют на жидких питательных средах с аминокислотами (лизином, орнитином, аргинином), приготовленными по Меллеру (см. приложение №2. п.1.4.).

Каждый исследуемый штамм засевают в 4 пробирки - соответственно с лизином, орнитином, аргинином и без добавления амино-

кислоты (контроль). В каждую пробирку засевают по одной полной бактериологической петле культуры. Сразу после засева во все пробирки добавляют стерильное вазелиновое масло. Посевы инкубируют при температуре 20-22°С в течение 6 суток. Изменение цвета среды указывает на декарбоксилазную активность изучаемой культуры.

Бактерии Vibrio anguillarum не декарбоксилируют орнитин и лизин, но проявляют аргининдегидролазную активность.

6.7. Уреазную активность бактерий Vibrio anguillarum определяют на средах с мочевиной. Испытуемую культуру засевают петлей на агар Кристенсена (см. приложение №2, п.1.5.) и инкубируют при температуре 20-22°С в течение 2-4 суток. Расщепление мочевины определяют по изменению цвета среды от желтого к фиолетово-красному. Бактерии Vibrio anguillarum не обладают уреазной активностью и, таким образом, не разлагают мочевину.

6.8. Ферментация углеводов и многоатомных спиртов. В качестве основы для приготовления сред с углеводами используют 1%-ную пептонную воду (pH 7,2-7,4) с 1,5% хлористого натрия. В воду добавляют (отдельно) по 1% мальтозы, лактозы, глюкозы, сахарозы, маннозы, арабинозы, маннита, инозита и в каждую пробирку по 1% индикатора Андраде. Среды в объеме по 2 см разливают в пробирки с поплавками и стерилизуют при температуре 110-112°С (0,5 атм) в течение 20 мин. Результаты роста культур на средах с углеводами учитывают на 4-е сутки после культивирования при температуре 20-22°С. Об образовании кислоты , при расщеплении углеводов и спиртов судят по покраснению (бесцветных) сред, а о газообразовании - по наличию в поплавках пузырьков газа. Бактерии Vibrio anguillarum расщепляют углеводы, за исключением инозита, до кислоты без образования газа.

Результаты изучения культуральных, морфологических и ферментативных свойств используют для дифференциации бактерий Vibrio anguillarum от других бактерий, вызывающих у рыб заболевания со сходными клиническими признаками (таблица 1).

Кроме того, полученные результаты используют для подразделения испытуемых культур на биотипы (таблица2).

7. Серологическое типирование вибрионов проводят в соответствии с действующим Наставлением по применению сыворотки агглютинирующей против Vibrio anguillarum.

Диагноз на вибриоз считается установленным при положительном результате серологической идентификации возбудителя и наличии у рыб клинических признаков и патологоанатомических изменений, характерных для данной болезни.

8. Серологическую диагностику вибриоза рыб проводят путем исследования сыворотки крови рыб в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) на стекле с диагностикумом, принятым в ветеринарной практике.

При получении положительных результатов исследований и наличии у рыб клинических и патологоанатомических изменений, характерных для данной болезни, а в случае бессимптомного течения при гибели рыбы, диагноз на вибриоз считается установленным.

Таблица 1

Дифференциально-диагностические свойства бактерий Vibrio anguillarum и бактерий, вызывающих у рыб сходные заболевания

Основные признаки	Vibrio anguil-larum	Aero-monas	Pseudo-monas	Plesio-monas	Entero-bacteri-aceae	V.para-haemo-lyticus	Aero-monas-salmo-nicida
1	2	3	4	5	6	7	8
Подвижность	+	+	+	+	±	-	+
Оксидаза	+	+	+	+	-	+	+
Образование H_2S	-	+	±	-	±	-	+
Расщепление глюкозы:							
- окисление	+	+	+	-	+	+	+
- ферментация	+	-	-	±	±	+	-
Ферментация:							
- сахарозы	+к	±	-	-	±	-	±
- маннозы	+к	+	-	±	±	+	-
- маннита	+к	+	-	±	±	+	-
- инозита	-	-	-	-	±	±	-
Рост на среде:							
- без NaCl	-/+	+	+	+	+	-	+
- NaCl(10%)	-	-	-	-	-	+	-
Образование декарбоксилазы:							
- лизина	-	-	-	+	+	+	±
- орнитина	-	-	-	+	+	+	о
Образование дегидролазы:							
- аргинина	±	+	+	-	+	-	о

Примечания: + - реакция положительная;
- реакция отрицательная;
+/- - реакция чаще положительная;
-/+ - реакция чаще отрицательная;
± - признак вариабелен;
к - кислота;
о - данные отсутствуют

Таблица 2

Характеристика биотипов Vibrio anguillarum, выделенных от рыб

Биотип	Маннит	Сахароза	Индол	Рост на среде без NaCl
A	+к	+к	+	—
B	—	—	—	—
C	+к	+к	—	+
D	—	+к	+	—
E	—	—	+	—

Примечания: + - реакция положительная;
- реакция отрицательная;
к - кислота

Приложение №2
к Временной инструкции
по борьбе с вибриозом рыб
от 26 мая 1998 г.

1. Приготовление питательных сред

Основой селективных и элективных питательных сред для культивирования и дифференциации вибрионов является мясо-пептонный бульон (МПБ) в состав которого входят: 50% мясной воды; 1% пептона; 0,5% хлористого натрия; 50% дистиллированной воды.

1.1. Приготовление МПБ.

Мясо крупного рогатого скота, полученное от животных средней упитанности, отделяют от жира, костей и сухожилий, пропускают чере мясорубку. Фарш заливают дистиллированной водой из расчета 1:1, доводят до кипения и кипятят в течение 60 мин. После кипячения смесь доводят дистиллированной водой до первоначального объема, фильтруют через ватно-марлевый фильтр в стеклянные

бутыли и стерилизуют при 121°С (1 атм) в течение 60 мин. Мясную воду готовят впрок, содержание аминного азота в ней составляет 70-90 мг%.

К мясной воде, разведенной 1:1 водопроводной водой, прибавляют пептон и хлористый натрий. После их растворения к 20 см³ бульона приливают из бюретки 10%-ный раствор соды или едкого натра до слабощелочной реакции. Соответствующим расчетом определяют количество щелочи, необходимое для подщелачивания оставшейся среды, и это количество щелочи вносят в МПБ. Проверив pH МПБ, его кипятят в течение 30 мин, разливают в емкости и стерилизуют при температуре 121°С (1 атм) в течение 20 мин.

1.2. Приготовление мясо-пептонного агара (МПА). К 1 литру МПБ прибавляют соответственно 20,0 грамм агара в волокнах или порошке и 7,5 грамм хлористого натрия, нагревают до растворения, устанавливают pH 7,2 - 7,4, осветляют, фильтруют в горячем виде через ватно-марлевый фильтр и разливают в пробирки или флаконы. Для определения галофильности вибрионов применяют МПА, к которому перед стерилизацией добавляют 1,5; 3,0; 7,0; 10,0% хлористого натрия. Стерилизуют среду при температуре 121°С (1 атм) в течение 30 мин. Готовая питательная среда содержит 60-70 мг% аминного азота, pH 7,4-7,8.

1.3. Приготовление дифференциально-диагностического агара с пенициллином (среда ДДА).

К расплавленному щелочному МПА (pH 8,0 - 8,6), приготовленному из обычного МПА путем добавления 30 см³ 10-процентного раствора углекислого натрия и кипячения в течение 45 мин, остуженному до 45-50°С, добавляют по 1,5% хлористого натрия и сахарозы. Устанавливают pH 8,0-8,2 и стерилизуют при температуре 110 -112°С (0,5 атм) в течение 15 мин. После остывания среды до 45-50°С в нее добавляют 1% бромтимолблау (1,6-процентного спиртового раствора) и пенициллин из расчета 5 ЕД/см³, перемешивают и разливают в стерильные чашки Петри. Среду, имеющую сине-зеленый цвет, сохраняют при температуре 4 - 8°С и используют в течение 2 недель.

1.4. Среда Мелпера состоит из пептона 5,0 г, мясной воды (1 кг мяса на 1 литр дистиллированной воды) - 5 см³, бромкрезолпурпура (1,6%) - 0,6 см³, крезолрота (0,2%) -2,5 см³, D- глюкозы - 0,5 см³, пиридоксина - 5 мг (можно взять витамин B_6), дистиллированной воды до 1000 см³. Учитывая галофильность вибрионов в среду добавляют 1% хлористого натрия и устанавливают pH 6-6,2.

Для приготовлении среды все компоненты растворяют в дистиллированной воде при нагревании, устанавливают pH среды 6,0 и разделяют на четыре части, в три из которых добавляют по одной аминокислоте - соответственно аргинин, орнитин, лизин. Если аминокислоты в L-форме, тогда достаточно 1%, если - в DL-форме - 2%. После добавления аминокислот, перед стерилизацией устанавливают pH 6,2. Среды разливают по 2-3 $см^3$ в пробирки и стерилизуют при температуре 121°С (1 атм) в течение 10 мин.

1.5. Среда с мочевиной (Кристенсена)

В состав среды входит: пептон - 1,0 г; фосфат калия однозамещенный - 2,0 г; хлористый натрий - 5,0 г; глюкоза - 1,0 г; агар - 20,0 г; мочевина - 20,0 г; фенолрот - 0,012 г; дистиллированная вода 1000 $см^3$, pH среды 6,8.

Промытый агар расплавляют в воде при нагревании. Затем в среду вносят пептон, соли, глюкозу, доводят ее до кипения и добавляют фенолрот, предварительно растворенный в растворе едкого натрия. Среду в объеме по 5 $см^3$ разливают в пробирки и стерилизуют при температуре 110-112°С (0,5 атм) в течение 20 мин. После охлаждения среды до температуры 50°С в каждую пробирку добавляют по 0,5 $см^3$ 20%-ного раствора мочевины (20 г мочевины растворяют в дистиллированной воде и кипятят 30 мин на водяной бане). Приготовленную среду скашивают. Цвет среды зеленовато-желтый. При защелачивании цвет среды меняется до красно-фиолетового.

Содержание

1. ОРГАНИЗАЦИЯ ВЕТЕРИНАРНОГО НАДЗОРА ЗА РЫБОХОЗЯЙСТВЕННЫМИ ПРЕДПРИЯТИЯМИ 3

1.1. Ветеринарно-санитарные правила для рыбоводных хозяйств 5
1.2. Ветеринарно-санитарные правила для лососевых рыбоводных заводов 15
1.3. Ветеринарно-санитарные правила для заводов по разведению осетровых рыб 19
1.4. Ветеринарно-санитарные правила для карантинных рыбоводных хозяйств 26
1.5. Ветеринарно-санитарные правила для племенных рыбоводных хозяйств 30
1.6. Инструкция по ветеринарному надзору за перевозками живой рыбы, оплодотворенной икры, раков и других водных организмов 34
1.7. Рекомендации по планированию и проведению противоэпизоотических мероприятий в рыбоводных хозяйствах 44
1.8. Правила взятия патологического материала, крови, кормов и пересылки их для лабораторного исследования 53

2. ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ РЫБ 59

2.1. Вирусные болезни 60
2.1.1. Методические указания по идентификации вирусов и лабораторной диагностике вирусных болезней рыб *60*
2.1.2. Инструкция о мероприятиях по профилактике и борьбе с весенней виремией карпа (ВВК) *76*
2.1.3. Инструкция о мероприятиях по профилактике и борьбе с инфекционным некрозом гемопоэтической ткани лососевых рыб *87*
2.1.4. Инструкция о мероприятиях по профилактике и ликвидации инфекционного некроза поджелудочной железы лососевых рыб *96*
2.1.5. Инструкция о мероприятиях по борьбе с вирусной геморрагической септицемией рыб *105*
2.2. Бактериальные болезни и микозы 114
2.2.1. Инструкция о мероприятиях по профилактике и мерам борьбы с фурункулезом лососевых рыб *114*
2.2.2. Временная инструкция по борьбе с вибриозом рыб *125*
2.2.3. Методические указания по диагностике эритродерматита карпа *139*
2.2.4. Инструкция о мероприятиях по борьбе с аэромонозом карповых рыб *142*
2.2.5. Методические указания по определению патогенности аэромонад по степени ДНКазной активности *150*

2.2.6. Инструкция о мероприятиях по профилактике и ликвидации псевдомоноза рыб ... *152*
2.2.7. Методические указания по лабораторной диагностике псевдомонозов рыб ... *156*
2.2.8. Временная инструкция о мероприятиях по борьбе с миксобактериозами лососевых рыб ... *161*
2.2.9. Инструкция о мероприятиях по борьбе с бранхиомикозом рыб ... *165*
2.2.10. Временная инструкция о мероприятиях по борьбе с сапролегниозом рыбы и икры в рыбоводных хозяйствах ... *170*

3. ИНВАЗИОННЫЕ БОЛЕЗНИ ... **175**

3.1. Протозоозы ... 176
3.1.1. Временная инструкция о мероприятиях по борьбе с амбифриозом рыб в рыбоводных хозяйствах ... *176*
3.1.2. Инструкция о мероприятиях по борьбе с ихтиофтириозом рыб ... *179*
3.1.3. Инструкция о мероприятиях по борьбе с хилодонеллезом рыб в рыбоводных хозяйствах ... *185*
3.1.4. Инструкция о мероприятиях по борьбе с триходиниозом рыб в рыбоводных хозяйствах ... *190*
3.1.5. Временная инструкция о мероприятиях по борьбе с криптобиозом каспийской кумжи (каспийского лосося) на рыбоводных заводах ... *195*
3.1.6. Инструкция о мероприятиях по борьбе с костиозом рыб ... *198*
3.1.7. Временная инструкция о мероприятиях по борьбе с гексамитозом рыб ... *201*
3.1.8. Инструкция о мероприятиях по борьбе с кокцидиозным энтеритом карпа в прудовых хозяйствах ... *203*
3.1.9. Инструкция по борьбе с миксоболезом толстолобиков в прудовых рыбоводных хозяйствах ... *206*
3.1.10. Временная инструкция о мероприятиях по борьбе с хлоромиксозом лососевых рыб ... *213*
3.1.11. Временная инструкция о мероприятиях по борьбе с воспалением плавательного пузыря (ВПП) карпа ... *216*
3.1.12. Временная инструкция о мероприятиях по борьбе с микроспоридиозами лососевых рыб ... *222*
3.1.13. Временная инструкция о мероприятиях по борьбе с глугеозом судака ... *224*
3.2. Гельминтозы ... 227
3.2.1. Инструкция о мероприятиях по борьбе с гиродактилозом рыб ... *227*
3.2.2. Инструкция о мероприятиях по борьбе с дактилогирозом рыб в рыбоводных хозяйствах ... *230*
3.2.3. Инструкция о мероприятиях по борьбе с ботриоцефалезом рыб в прудовых хозяйствах и садковых хозяйствах на водоемах-охладителях ТЭС и АЭС ... *237*

3.2.4. Инструкция о мероприятиях по борьбе с кавиозом карпа в прудовых хозяйствах 242
3.2.5. Инструкция о мероприятиях по борьбе с кариофиллезом рыб 245
3.2.6. Временная инструкция о мероприятиях по борьбе с триенофорозом лососевых и сиговых рыб 248
3.2.7. Инструкция о мероприятиях по борьбе с лигулезом и диграммозом рыб 251
3.2.8. Временная инструкция о мероприятиях по борьбе с протеоцефалезом сиговых рыб 254
3.2.9. Инструкция о мероприятиях по борьбе с дилепидозом рыб 256
3.2.10. Временная инструкция о мероприятиях по борьбе с ихтиокотилюрозом сиговых рыб 261
3.2.11. Временная инструкция о мероприятиях по борьбе с диплостомозами пресноводных рыб 264
3.2.12. Методические указания по определению возбудителей диплостомозов пресноводных рыб 271
3.2.13. Инструкция о мероприятиях по борьбе с филометроидозом карповых рыб в прудовых хозяйствах 287
3.3. КРУСТАЦЕОЗЫ И ДРУГИЕ ПАРАЗИТОЗЫ 291
3.3.1. Инструкция о мероприятиях по борьбе с лернеозом рыб в прудовых хозяйствах 291
3.3.2. Временная инструкция о мероприятиях по борьбе с синэргазилезом растительноядных рыб в прудовых хозяйствах 294
3.3.3. Инструкция о мероприятиях по борьбе с аргулезом рыб 297
3.3.4. Инструкция о мероприятиях по борьбе с писциколезом рыб в рыбоводных хозяйствах 300
3.3.5. Инструкция о мероприятиях по борьбе с полиподиозом осетрообразных рыб 303

СБОРНИК ИНСТРУКЦИЙ ПО БОРЬБЕ С БОЛЕЗНЯМИ РЫБ

Координатор *А.В.Шестопалов*

Редактор, д.б.н. *А.М.Наумова*

Редактор, к.в.н. *А.Н.Мачнев*

Технический редактор,
оформление издания *А.В.Карпов*

Компьютерная верстка *Т.А.Перова*

Изд. лиц. ЛР №021259 от 05.12.97. Сдано в набор 07.09.98.
Подписано в печать 19.10.98. Бум. офсетная. Формат 60x86/16. Гарнитура Таймс.
Печать ризографическая. Усл. печ. л. 18,3. Тираж 500. Заказ 236.

gost.e-ecolog.ru

АМБ-агро, 111621, Москва, ул. Оренбургская, 15 «б».