МИНИСТЕРСТВО
СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА СССР

ГЛАВНОЕ УПРАВЛЕНИЕ
ВЕТЕРИНАРИИ
(с Государственной ветеринарной инспекцией)

УТВЕРЖДАЮ
Начальник Главного управления
ветеринарии МСХ СССР
А.Д. Третьяков

31 01 90 г 045-17

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ПАРАЗИТОЛОГИЧЕСКОМУ ИССЛЕДОВАНИЮ РЫБ

1. Больных или подозрительных по заболеванию инфекционными и инвазионными болезнями рыб доставляют в лабораторию в живом виде. Для исследования отбирают 15-20 рыб с явно выраженными клиническими признаками болезни.

2. Рыб перевозят в чистых молочных бидонах, ваннах или других емкостях, предназначенных для перевозки живой рыбы, заполненных на 3/4 объема водой из того же водоема, откуда взята рыба, или из артезианской скважины. Рыба, доставленная в лабораторию в бумаге, марле и др. упаковочных материалах, для исследования непригодна.

Летом при длительной транспортировке воду с рыбой постепенно охлаждают до температуры 12-15°С, добавляя кусочки льда. Чтобы не вызвать температурного шока и простудных явлений, нельзя пересаживать рыбу в воду, имеющую температуру ниже, чем в водоеме (на 7°С и более).

3. При отсутствии возможности доставить живую рыбу, у крупных рыб берут кусочки пораженных органов и тканей, помещают их в стерильную стеклянную посуду, заливают стерильным 40%-ным водным раствором глицерина, закрывают пробкой, заливают парафином и направляют с нарочным в лабораторию. Жидкий патологический материал (кровь, экссудат и др.) доставляют в лабораторию в запаянных стерильных пастеровских пипетках. Летом патологический материал пригоден для бактериологического исследования в течение 2 часов после его взятия. Зимой патологический материал можно посылать замороженным.

4. Для вирусологического исследования живых рыб помещают в двойной полиэтиленовый пакет, заполненный водой на 1/3 объема. В наружный пакет для охлаждения воды кладут лед. Пакет помещают в ящик, отправляют с нарочным в лабораторию. Мертвая рыба направляется только в том случае, если она погибла после отлова перед отправкой в лабораторию. Такую рыбу кладут в полиэтиленовый пакет, который помещают в термос или пакет со льдом. При направлении рыбы для исследования на вирусоносительство берут, с соблюдением правил асептики, внутренние органы (можно объеди-

gost.e-ecolog.ru

нять органы от пяти рыб в одну пробу) и помещают в стерильный флакон, который плотно закрывают резиновой пробкой. Флакон помещают в термос или полиэтиленовый пакет со льдом.

В тех случаях, когда невозможно направить материал немедленно, его можно хранить в холодильнике при температуре не выше +4° С не более суток. Патологический материал от больных рыб или подозреваемых в заболевании вирусной этиологии можно консервировать 50%-ным фосфатно-буферным раствором глицерина pH 7,2-7,4.

4.1. Вирусная геморрагическая септицемия (ВГС). У производителей и ремонтной форели отсасывают из брюшной полости шприцем с иглой перитонеальную жидкость, сливают ее в стерильную пробирку с резиновой пробкой и направляют в ветеринарную лабораторию.

При подозрении на вирусную геморрагическую септицемию патматериал 50%-ным фосфатно-буферным раствором не консервируют, а отправляют в пакетах со льдом.

4.2. Инфекционный некроз гемопоэтической ткани (ИНГТ). В лабораторию посылают от рыб маточного поголовья внутренние органы, а в период нереста – овариальную жидкость вместе с икрой, которые помещают в стерильные флаконы или пробирки с резиновыми пробками и отправляют в термосе или полиэтиленовом пакете со льдом.

4.3. Инфекционный некроз поджелудочной железы (ИНПЖ). От производителей и ремонтной рыбы берут перитонеальную жидкость, которую набирают из брюшной полости шприцем с иглой, сливают ее в стерильную пробирку с резиновой пробкой. Для исследования в период между сезонами нереста от производителей берут фекалии, пробы которых перевозят в термосе со льдом в стерильных пробирках или флаконах, закрытых резиновыми пробками.

5. Материал для патологического исследования берут от больных снулых рыб. Мелких рыб (мальки и сеголетки) после вскрытия брюшной полости фиксируют целиком, а от крупных берут органы или кусочки органов размером 2х3 см и толщиной 0,5-1,0 см.

Кусочки из пораженных органов и тканей вырезают так, чтобы были захвачены нормальные и пораженные участки.

Независимо от степени поражения берут кусочки из различных органов: кожи с подлежащей мускулатурой, жабр, печени, почек, селезенки, сердца, кишечника, плавательного пузыря, головного мозга.

Кишечник перед фиксацией осторожно вскрывают или делают на нем несколько надрезов, чтобы фиксирующая жидкость проникла

в его полость. Головной мозг осторожно извлекают целиком после вскрытия черепной коробки. Подлежащий исследованию материал помещают в широкогорлую стеклянную банку и фиксируют обычным способом.

Для гистохимических исследований патологический материал фиксируют так: его тотчас помещают в фиксирующую жидкость, объем которой должен в 10 раз превышать объем взятого материала. В качестве фиксирующей жидкости лучше всего использовать 10%-ный водный раствор продажного формалина или 96%-ный этиловый спирт. При применении спирта толщина кусочков ткани не должна превышать 0,5 см.

Фиксирующую жидкость во всех случаях через сутки необходимо заменить свежей.

Патологический материал фиксируют в стеклянной посуде.

Головной, спинной мозг фиксируют в 10%-ном нейтральном формалине. Формалин нейтрализуют прибавлением в продажный формалин сухого мела или углекислого магния до 1/10-1/20 его объема. Для фиксации кусочков мозга можно использовать также 96%ный этиловый спирт, жидкость Карнуа или смесь Буэна.

6. Кровь для исследования берут из хвостовой артерии или из сердца. Чешую на месте взятия крови слущивают скальпелем, кожу вытирают от слизи и дезинфицируют 70%-ным спиртом. Кровь насасывают в пастеровскую пипетку, затем переносят на часовое стекло и быстро отбирают количество, необходимое для гематологических исследований (подсчета количества форменных элементов, определения гемоглобина, приготовления мазков и т.д.).

7. Для биохимических исследований цельную кровь предохраняют от свертывания, добавляя к ней лимоннокислый или щавелевокислый натрий (на 1 мл 2 мг), или 1-2%-ный раствор гепарина (на 1 мл от 0,01 до 0,02 мл), и доставляют в лабораторию в герметически закрытых стеклянных сосудах (пробирках), снабженных этикеткой.

Сыворотку крови для биохимических исследований получают так: взятую кровь выдерживают около часа при 20-30° С для свертывания. Затем сгусток крови отделяют от стенок пробирки стальной спицей (проволокой), которую дезинфицируют раствором карболовой кислоты или обжигают на пламени после каждой пробы, после чего пробирки выдерживают при 4-10° С. Через 18-24 часа отстоявшуюся сыворотку в количестве 2-3 мл сливают в сухие стерильные пробирки (лучше пробирки Флоринского), которые маркируют так же, как пробирки с кровью, и направляют в лабораторию в свежем или консервированном виде.

Пробирки с сыворотками закрывают стерильными резиновыми пробками и устанавливают для пересылки в вертикальном положении (пробирки Флоринского – в одноименных штативах).

8. При подозрении на инвазионные болезни у крупных рыб извлекают пораженные паразитами органы и ткани (жабры, кишечник, печень и др.) и посылают для исследования законсервированными в банках, мелких рыб – целиком.

Целых рыб или кусочки органов и тканей консервируют в 70%ном этиловом спирте или 4%-ном растворе формалина.

9. Обнаруженных при клиническом осмотре и паразитологическом вскрытии рыб паразитических организмов помещают в пробирки или флаконы с консервирующей жидкостью.

Паразитических простейших наносят на покровное или предметное стекло и, не давая мазку подсохнуть, спускают в жидкость Шаудина (50 мл насыщенного раствора сулемы и 25 мл абсолютного спирта) на 20 минут. Маленькие кусочки пораженных паразитами тканей и органов фиксируют указанной смесью в течение 30-120 минут. Затем стекло промывают несколько раз водой и 70%-ным спиртом и сохраняют в нем до исследования. Влажные мазки, кусочки органов и тканей рыб с паразитами можно фиксировать также в жидкости Буэна. Фиксация мазков 1-20 минут, кусочков – 1-12 часов.

Гельминтов, прежде, чем консервировать, тщательно промывают в воде или физиологическом растворе.

Моногенетических сосальщиков (дактилогирус, гиродактилус и др.) консервируют в 4%-ном растворе формалина.

Трематод и мелких цестод помещают на предметное стекло, накрывают покровным стеклом или куском предметного стекла (для нежного прессования), заливают 70%-ным спиртом и оставляют на несколько часов. После этого гельминтов перекладывают при помощи кисточки в пробирку (флакон) со спиртом. Одновременно часть умерщвленных в физиологическом растворе трематод (цестод), не подвергая прессованию (для сохранения естественной формы), помещают в пробирку с 70%-ным спиртом.

Нематод и личиночные стадии цестод консервируют в жидкости Барбагалло.

Крупных ленточных гельминтов после умерщвления в физиологическом растворе помещают в 70%-ный спирт.

При консервировании скребней в 70%-ном спирте добиваются выдавливания хоботка из влагалища путем слабого прессования передних концов с помощью покровных стекол.

малина и сразу ... переносят для хранения в 70%-ный спирт.

Пиявок фиксируют в 1-2%-ном растворе формалина.

10. При подозрении на отравление рыб отбирают пробы воды из водоема непосредственно на месте гибели рыбы, сточные воды промышленных предприятий и сельскохозяйственных объектов, находящихся вблизи водосборной площади данного водоема.

10.1. Для гидрохимического и химико-токсикологического исследований пробы воды из водоемов берут в количестве 2-3 л каждая, батометром из поверхностных (на глубине 30-50 см от зеркала воды) и глубинных слоев (не менее 10-15 см от дна), не допуская взмучивания грунта, так, чтобы проба соответствовала всей массе исследуемой воды. Из проруби пробу воды берут на глубине 10-15 см от нижней поверхности льда. При отборе проб необходимо исключить элементы случайности (временная взмученность воды, поверхностный слой воды со случайным загрязнением).

В проточном водоеме пробы берут на быстринах, перепадах, водосборах и водоспусках. Из больших водоемов пробы берут в нескольких местах с учетом гидробиологических особенностей каждого участка (заросли, заболоченные участки, плесы и т.д.), в однотипных по гидробиологическим условиям водоемах – в одном-двух местах, на расстоянии 3-4 м от берега.

10.2. Вблизи сельскохозяйственных объектов, промышленных предприятий и мест сброса коммунально-бытовых сточных вод, пробы воды берутся на условно чистом участке выше источника загрязнения; в месте поступления сточных вод и на различном расстоянии в нескольких точках ниже места выпуска стоков.

На промышленном предприятии отбирают среднесуточные пробы (2-3 л) воды общего выпуска.

10.3. Воду для анализа отбирают в чисто вымытые (без мыла) склянки. Перед наполнением склянку промывают 2-3 раза исследуемой водой. При транспортировке проб зимой их нужно утеплить. Если доставка в лабораторию в теплое время займет свыше суток, взятые пробы консервируют. Для этого в пробу, предназначенную для определения взвешенных веществ, нитритов, нитратов, фосфатов на каждый литр воды добавляют 2 мл хлороформа и хорошо взбалтывают. В порцию, предназначенную для определения аммиака, окисляемости, хлоридов на 1 л добавляют 2 мл 25%-ной серной кислоты. Третью часть пробы для химического анализа на токсические компоненты сточных вод не консервируют.

11. Для химико-токсикологических исследований в лабораторию доставляют живых или недавно погибших рыб, не менее 5 эк-

земпляров каждого вида. Одновременно направляют рыб того же вида из благополучного водоема для контрольных исследований. Если доставить живых или свежеуснувших рыб невозможно, а также в теплое время года, рыб охлаждают на льду, промораживают или консервируют спиртом-ректификатом. Другие вещества для консервирования использовать нельзя. Вместе с пробами высылают 50-100 мл консерванта.

12. Грунт для исследований берут в количестве 2 кг с поверхности дна водоема дночерпателем Экмана или Кирпичникова. Пробы отбирают выше предполагаемого источника загрязнения, в месте поступления сточных вод и на различном расстоянии в нескольких точках ниже места выпуска стоков – на течении и в застойных зонах (ямах, бочагах, низинах). Грунт высушивают на воздухе, растирают в ступке, просеивают через мелкое сито и упаковывают в широкогорлые банки или полиэтиленовые мешочки по 50 г каждый.

13. Планктон берут планктонной сеткой. Для этого 50-100 л воды пропускают через сетку и собирают планктон.

14. Материал для исследования на отравление собирают комиссионно с участием ветврача-ихтиопатолога, специалиста органов рыбохраны водного хозяйства, санитарно-эпидемиологической станции и представителя местной администрации.

Весь материал (пробы воды, грунта, планктона и рыб) упаковывают в водонепроницаемую тару, опечатывают и вместе с актом комиссии направляют в лабораторию с нарочным.

gost.e-ecolog.ru