

## **МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ГЕЛЬМИНТОЗООНОЗОВ В ПРЕСНОВОДНЫХ РЫБАХ**

УТВЕРЖДАЮ Руководитель Департамента ветеринарии Минсельхозпрода России В.М.Авилов 4 октября 1999 г. N 13-4-2/1738

С утверждением настоящих Методических указаний утрачивает силу "Методика определения возбудителей гельминтозоонозов в пресноводных рыбах", утв. ГУВ МСХ СССР 21.03.83 N 115-6а.

### **1. Общие положения**

1.1. Гельминтозоонозы - группа паразитарных болезней, возбудители которых в личиночной стадии обнаруживаются у различных видов рыб, а в половозрелой - у человека и животных.

1.2. Возбудители гельминтозоонозов проходят сложный цикл развития с участием промежуточных (моллюски, циклопы, диаптомусы и олигохеты), дополнительных (пресноводные рыбы) и окончательных (человек, кошка, собака, дикий кабан, волк, лисица, выдра и др.) хозяев.

1.3. Личиночные стадии возбудителей гельминтозоонозов по отношению к дополнительным хозяевам имеют определенную приуроченность и характерные места локализации (приложение 1).

### **2. Исследование рыб**

2.1. Для исследования отбирают 10-15 экземпляров живых или свежееуснувших рыб обследуемого вида, регистрируют с указанием даты исследования, вида рыб и места вылова.

2.2. Рыб взвешивают, измеряют длину от вершины рыла до начала лучей хвостового плавника. Осматривают плавники, чешую, жабры. Участки с изменениями просматривают под лупой и микроскопом (увеличение 2x8). Ножницами разрезают брюшко по средней линии от анального отверстия до области сердца. С помощью лупы просматривают сердце, гонады, печень, селезенку, почки, стенки желудка, кишечник, серозные покровы. Каждый орган отдельно помещают в чашки Петри или на часовые стекла. Из органов и тканей нарезают полоски длиной до 10 мм и толщиной 3-4 мм, помещают в компрессориум или между стеклами 9x12 см и микроскопируют. Мышцы осматривают, разрезая на продольные и поперечные полоски, и исследуют под микроскопом.

2.3. В мускулатуре рыб встречаются метацеркарии трематод, патогенные и непатогенные для человека и животных. Последних в половозрелой стадии обнаруживают в кишечнике рыбоядных птиц (чайки, цапли) и хищных рыб (щука). Для дифференциации этих личинок гельминтов у рыб пользуются таблицей (приложение 2).

2.4. Для патогенных человеку и животным метацеркарий трематод из сем. Opisthorchidae (описторхисы, меторхисы, псевдамфистомы, клонорхисы) при осмотре под микроскопом характерно наличие двух круглых одинакового размера присосок, которые окрашены светлее тела личинки, и черного экскреторного пузыря овальной или грушевидной формы, занимающего 1/3-1/4 тела личинки (рис.1-2). Для живых личинок характерно активное движение в цисте.

2.5. Из непатогенных для человека и животных метацеркарий трематод близкое строение к описторхидам имеют личинки из рода буцефал и рипидокотил, для которых характерно наличие одной крупной ротовой присоски чашеобразной формы с пальцеобразными выступами, экскреторного пузыря зигзагообразной формы, занимающего 2/3 тела личинки (рис.3), и слабой подвижности живых личинок в цисте.

2.6. Для метацеркарий параценогонимусов характерна большая черная экскреторная система с 3 белыми щелевидными пространствами (рис.4). Другие личинки, встречающиеся у рыб, определяют, пользуясь табл.2.

### 3. Определение жизнеспособности личинок

3.1. Извлеченных из органов и тканей рыбы (из цисты) плероцеркоидов помещают в подогретый (до 40°С) физиологический раствор или в искусственный желудочный сок (100 мл 0,5%-ного раствора поваренной соли, 0,5 г пепсина, 0,75 мл 35%-ного раствора соляной кислоты). Под лупой осторожно раздражают личинку препаровальной иглой. Наличие даже слабых движений указывает на жизнеспособность плероцеркоида.

3.2. Личинки из органов рыб освобождают от остатков ткани под контролем лупы. На препарат наносят 2 капли 3%-ного раствора розоловой кислоты на 70%-ном спирте на 2 минуты, добавляют каплю 0,1%-ного раствора едкого калия, оставляют на 2 минуты. Излишек краски смывают физиологическим раствором, препарат высушивают полоской фильтровальной бумаги, накрывают покровным стеклом и просматривают под микроскопом. Мышечная ткань и мертвые личинки окрашиваются в розовый цвет, живые личинки не окрашиваются.

3.3. Жизнеспособность личинок трематод можно определять, используя микроскоп с подогревательным столиком. Выделенных паразитов переносят на столик (при 36-37°С), добавляют 2-3 капли желчи или 0,5%-ного раствора трипсина. Живые личинки через 5-10 минут выходят из цист.

3.4. Цисту, извлеченную из ткани рыб, под микроскопом в капле физиологического раствора препаровальными иглами освобождают от наружной оболочки. При легком надавливании иглой на покровное стекло, под которое помещают препарат, внутренняя оболочка разрывается. Наличие движений у личинки указывает на ее жизнеспособность.

### 4. Определение видовой принадлежности личинок

4.1. В сомнительных случаях, если не удастся сразу установить вид метацеркарий трематод, обнаруженных в пробе, рекомендуется произвести освобождение личинок от оболочек механически (п.3.4) или химическим способом (п.3.2 и п.3.3).

4.2. Измельченные кусочки поверхностного слоя спинных мышц (0,3x0,5 см) в количестве 10-15 г помещают в искусственный желудочный сок в соотношении 1:10. Выдерживают в термостате при 37-40°С 2-3 часа, процеживают через марлю. Осадок переносят в чашку Петри, цисты вылавливают пипеткой при проходящем свете под лупой или под микроскопом или, добавив физиологический раствор, круговыми движениями чашки отмывают, при этом цисты концентрируются в центре чашки. Раствор с края осторожно удаляют резиновой грушей. Промывку повторяют до полного удаления остатков непереваренной мышечной ткани. Для освобождения от внутренней оболочки цисты помещают в теплый (22-24°С) раствор трипсина и поваренной соли (на 100 мл 1%-ного раствора поваренной соли берут 1 г трипсина).

4.3. Личинки гельминтов, освобожденные от оболочек, имеют характерные признаки, по которым их можно отнести к определенному виду. Определяют видовую принадлежность личинок, используя приложение 2.

4.4. Видовую принадлежность личинок гельминтов определяют также, используя биологическую пробу. Для этого подопытным животным (предпочтительно - котяткам, в крайнем случае - щенкам, морским свинкам, хомякам) скармливают мясо рыб с личинками гельминтов или мелкую инвазированную рыбу. Определение вида паразита проводят через 3-4 недели после начала опыта по обнаруженным в фекалиях животных яйцам или по половозрелым гельминтам в печени, желчном пузыре, кишечнике (в зависимости от вида гельминта) при вскрытии подопытных животных.

### 5. Меры профилактики

5.1. При работе с патологическим материалом необходимо соблюдать меры личной профилактики. По окончании исследования следует тщательно мыть руки с мылом и щеткой, а место работы обрабатывают 2%-ным раствором кальцинированной соды.

5.2. Выловленная из водоема рыба, где обнаружены возбудители гельминтозоонозов, считается условно

годной и подлежит переработке в соответствии с Инструкцией по санитарно-гельминтологической оценке рыбы, зараженной личинками дифиллоботриид (возбудителями дифиллоботриозов) и личинками описторхисов (возбудителями описторхоза), и ее технологической обработке.

Приложение N 1  
 к Методическим указаниям  
 по определению возбудителей  
 гельминтозоонозов в пресноводных рыбах,  
 утв. 4 октября 1999 года

### Поражаемые виды рыб и места локализации личинок - возбудителей гельминтозоонозов

Вид паразита	Поражаемые виды рыб	Наиболее частая локализация личинок
Opisthorchis felineus, Metorchis albidus, Pseudamphistomum truncatum	В наибольшей степени язь, елец, линь, меньше - плотва, усач, лещ, густера, жерех, пескарь, сазан, красноперка, уклея, сырть, подуст, голян, вобла, овсянка и др.	Поверхностный слой мышц на глубине 2-3,4 см (в небольшом количестве обнаруживаются во внутренних органах, жабрах, стенках кишечника, на чешуе)
Clonorchis sinensis	Сазан, черный и белый амур, толстолобик, верхогляд, карась, окуневые, бычковые и др.	То же
Metagonimus yokogawai	Преимущественно карповые	Плавники, поверхность кожи
Diphyllobotrium latum	Щука, окунь, ерш, налим	Икра, молоки, печень, серозные покровы, мышцы (без цист)
D.dendriticum	Хариус, омуль, сиг, корюшка, окунь, ряпушка, голец, муксун, форель	Мышечная ткань, молоки, икра, печень, серозные покровы (инцистируются)
Nanophyetes schikchobalowi	Ленок, таймень, амурский сиг, кета, горбуша, амурский хариус	Мышцы плавников, сердце, почки, реже - мышцы тела, головы, жабры
Rossicotrema donicum	Окунь, ерш, судак	Плавники, поверхность кожи
Echinochasmus perfoliatus	Щука, линь, сазан, лещ, язь, густера, вобла, красноперка, плотва, тарань, жерех, белоглазка, синец, карась, уклея, окунь, судак, ерш, вьюн, сом, карп	Жаберные лепестки
Diocotphyeme renale	Язь, плотва, щука, шемая, лопатонос, усач, сом	Стенки кишечника, мышечная ткань (в виде цист)

Приложение N 2  
 к Методическим указаниям  
 по определению возбудителей  
 гельминтозоонозов в пресноводных рыбах,  
 утв. 4 октября 1999 года

### Дифференциальная таблица личинок гельминтов, обнаруживаемых у пресноводных рыб

Вид паразита	Размер (мм), форма цист личинок	Оболочки цист, цвет, расположение	Форма, размер экскреторного пузыря	Количество, форма и величина присосок (РП - ротовая, БП - брюшная присоска) (размер в мм)	Подвижность живой личинки	Описание личинки, освобожденной от оболочек (размер в мм)
1	2	3	4	5	6	7
<b>Метацеркарии трематод, патогенных для теплокровных</b>						
<i>Opisthorchis felineus</i>	0,28-0,38x0,18-0,28 овальная, реже круглая	Наружная равномерно прилегает к внутренней	Черный, округлый, почковидный, занимает не более 1/3 тела личинки	Присоски круглые, РП - 0,088; БП - 0,077	Движения энергичные	Тело личинки покрыто шипиками до уровня БП, задний конец веретенооб. формы, 0,47-0,50, 0,12-0,14
<i>Pseudamphistomum truncatum</i>	0,21-0,38x0,14-0,24	То же	То же	Круглые, одинакового размера	Движения замедленные	0,6-0,9; 0,15-0,20, задний конец обрублен, все тело личинки покрыто шипиками
<i>Metorchis albidus</i>	0,32-0,46, 0,26-0,40 без капсулы - 0,30-0,44x0,24-0,38 круглые	Тонкие, рядом, без утолщений	Черный округлый, овальный; занимает 1/3 тела личинки	РП и БП одинакового размера 0,08x0,01	То же	0,6-0,9; 0,16-0,20, задний конец в нижней трети тела расширен
<i>Clonorchis sinensis</i>	0,150-0,180x0,150-0,165, круглая, овальная	Равномерно прилегают друг к другу	Черный грушевидный, занимает 1/4 тела; гранулы 10 мкм плотно расположены	РП - 0,54-0,56x0,51-0,60, БП - 0,66-0,75x0,63-0,72	Слабые движения	0,375-0,315x0,125-0,150
<i>Metagonimus yokogawai</i>	0,157-0,157, округлая	Толщина наружной оболочки отличается от внутренней	У-образный, экскр. гранулы мелкие, расположены не плотно	БП меньше РП и смещена в сторону	Движения активные	Шипы, покрывающие тело, чешуевидной формы
<i>Echinochasmus perfoliatus</i>	0,080-0,110x0,079-0,098, овальные, круглые	Наружная оболочка цисты прозрачная, эластичная	Из двух экскреторных полостей	БП выступает, лежит в задней трети тела; головной воротник несет 24 шипика	Движения слабые	0,1161-0,043, ротовая присоска имеет головной воротник с 24 шипиками
Плероцеркоиды цестод <i>Diphyllobotrium latum</i>	10-60x1-3 мм, беловато-молочные; не инцистируются	Тело булавовидное с поперечными морщинами	-	На головном конце щелевидное образование	Активно движутся в физ. растворе при 28-30°С	
<i>Diphyllobotrium dendriticum</i>	Чаще инцистируются, длина личинки вне цисты 7-45 мм и больше	Тело сигарообразное, со значительной морщинистостью. Передний отдел более заострен	-	На головном конце сильно выражена присасывательная бороздка	Подвижны при освобождении из цист	
<b>Метацеркарии трематод, непатогенных для теплокровных</b>						
<i>Paracoenogonimus ovatus</i>	0,42-0,50, с наружной капсулой до 0,70; сферичн., темн., прозрачн.	Наружная оболочка в 2-4 раза толще внутр. (равномерно отстает)	В виде тройника в конце со щелевидными пространствами, занимает все тело личинки	Две и орган Брандеса 0,08-0,12, РП - 0,04-0,07; БП - 0,02-0,04	Мало подвижна	Яйцевидной формы

<i>Висефалус polymorphus</i>	0,27-0,36x0,43, прозрачные, овальные (0,20-0,34x0,38-0,43)	Тонкие, неравномерно отстают друг от друга	Зигзагообразная, занимает 2/3 тела личинки	РП - 0,18-0,22, имеет пальцевидные мускульные отростки	Движение активное у освобожденной личинки	0,6-2,3x0,35, на РП 7 пальцевидных выростов
<i>Rhipidocotyle illense</i>	Прозрачн., сферическ., овальн., 0,27-0,37x0,27-0,37	То же	То же	РП - 0,18-0,23x0,15-0,22, имеет 2 ушкообразн. выроста	Движения замедленные, у основания личинки активные	0,8-1,0, 0,8x0,16-0,28, РП имеет 2 ушкообразных выроста
<i>Posthodiplostomum cuticola</i>	0,6-0,9 мм, чечевицеобразные, с черным пигментом	Вокруг наружной оболочки откладывается черный пигмент	Из-за черного пигмента не просматривается	РП меньше БП	Движения незаметные	0,15-1,5

Примечание: у рыб могут обнаруживаться также цисты миксоспоридий различных форм и размеров (от 0,04 до 1,00 мм). Эти цисты имеют специфические детали внутреннего строения, отличные от таковых личинок гельминтов.

Приложение N 3  
 к Методике определения  
 возбудителей гельминтозоонозов  
 в пресноводных рыбах

### Метацеркарии трематод, патогенные (рис.1, 2) и непатогенные (рис.3, 4) для теплокровных

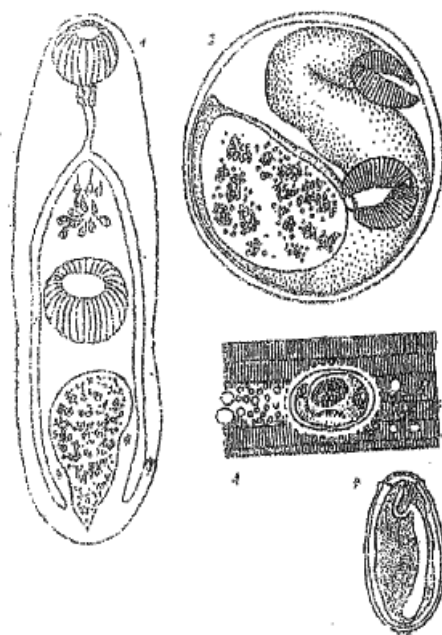


Рис.1. *Opistorchis felineus*

1 - личинка вне цисты; 2 - личинка в цисте; 3 - личинка в мускулатуре; 4 - яйцо.

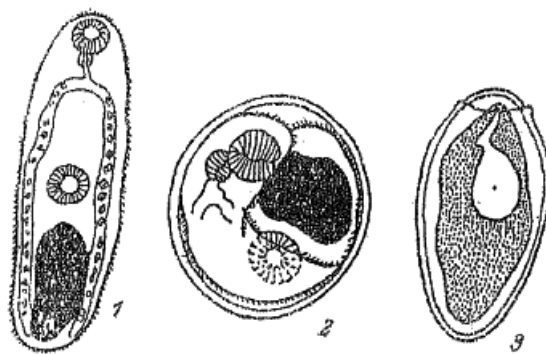


Рис.2. *Pseudamphistomum truncatum*

1 - личинка в цисте; 2 - личинка вне цисты; 3 - яйцо.

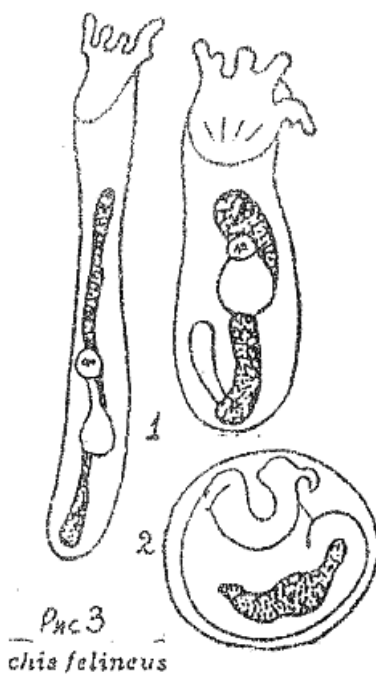


Рис.3  
*Viscerophorus polymorphus*

Рис.3. *Viscerophorus polymorphus*

1 - личинка, извлеченная из цисты; 2 - личинка в цисте

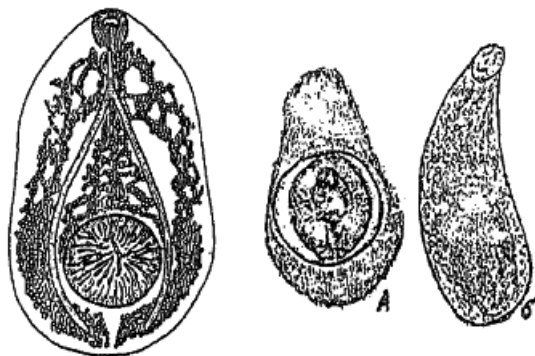


Рис.4. *Parascogenimus ovatus*

а) личинка в оболочке;

б) личинка без оболочки

Электронный текст документа  
подготовлен АО "Кодекс" и сверен по:  
/ Министерство сельского хозяйства и  
продовольствия РФ.- Сборник инструкций по  
борьбе с болезнями рыб. Часть 2. - М., 1999