


*На правах рукописи*



**Адиатулин Ильяс Фаритович**



003 165029

**Ветеринарно-санитарная экспертиза рыбы при описторхозе**

**16.00.06. – Ветеринарная санитария, экология, зоогигиена и  
Ветеринарно-санитарная экспертиза**

**АВТОРЕФЕРАТ**

**диссертации на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук**

06 МАР 2008

Москва – 2008

Работа выполнена в лаборатории ветеринарной санитарии на государственной границе, транспорте и мясоперерабатывающих предприятиях Всероссийского научно-исследовательского института ветеринарной санитарии, гигиены и экологии Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИИВСГЭ РАСХН)

**Научный руководитель:**

Заслуженный деятель науки РФ, доктор  
ветеринарных наук, профессор

М П Бутко  
(ВНИИВСГЭ)

**Официальные оппоненты:**

доктор ветеринарных наук, профессор

В И Белоусов  
(Россельхознадзор)

доктор биологических наук, профессор

В В Светличкин  
(ВНИИВСГЭ)

**Ведущая организация:** Всероссийский научно-исследовательский институт гельминтологии им К И Скрябина

Защита состоится «20» февраля 2008 г в 10 часов 30 минут на заседании диссертационного совета Д 006 008 01 при Всероссийском научно-исследовательском институте ветеринарной санитарии, гигиены и экологии (123022, Москва, Звенигородское шоссе,5)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Всероссийского научно-исследовательского института ветеринарной санитарии, гигиены и экологии

Автореферат разослан «10» января 2008 г

Ученый секретарь  
диссертационного совета



Е С Майстренко

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ.

**Актуальность темы.** Одной из основных задач ветеринарной службы является обеспечение населения безопасной и качественной рыбопродукцией (Борисова М Н, Яковлев С С, 2004) Рыба, являясь ценным пищевым продуктом, может стать причиной заболевания человека серьезными гельминтозами Наиболее тяжелым гельминтозом из числа трематодозов, распространенных на территории России, является описторхоз

Описторхоз – пероральный биогельминтоз, вызываемый трематодой из семейства *Opisthorchidae*, *Opisthorchis felineus* (Rivolta, 1884) Заражение человека, кошек, собак, лисиц, песцов, свиней и некоторых других плотоядных животных (окончательных хозяев данного паразита) происходит при употреблении в пищу инвазированной личинками описторхисов рыбы семейства карповых (язь, елец, чебак, вобла, лещ, красноперка и др) (Герасимов А С, 1999, Грищенко Л И, 1999, Соторов П П, 1999, Акбаев М Ш., Быков В П, 2001, Судариков В Е, 2002; Фаттахов Р Г, 2004, Беэр С А, 2005)

Ареал возбудителя описторхоза простирается практически непрерывно от Байкала до западных границ России с наивысшей интенсивностью циркуляции паразита в Обь-Иртышском бассейне, где сложилась наиболее неблагоприятная эпидемиологическая и эпизоотическая ситуация Волжско-Камский бассейн является второй после Западной Сибири эндемичной по описторхозу территорией России (Никитин В В, Куимова Р Т, 1992, Довгалев А С, 1999) Выявлены очаги описторхоза и степень заражения в них людей (Успенский А В, Малахова Е И, Шубадеров В Я, 2007) По данным Всемирной Организации Здравоохранения за 1995 год заболело описторхозом, вызываемым *O. felineus*, более 2 млн человек По данным Роспотребнадзора, ежегодно на территории Российской Федерации регистрируется до 40 тыс больных описторхозом людей Выявлен описторхоз среди населения практически всех субъектов Российской Федерации, а заболеваемость описторхозом на 2005 год составила 30,5

человек на 100 тыс населения, а на долю описторхоза от всех биогельминтозов в год приходится 77,2% (Онищенко Г Г , 2002)

При ветеринарно-санитарной экспертизе рыбы описторхоз регистрировался в 2005 году 6,7%, в 2006г – в 5,4% случаев

В связи с этим в целях повышения эффективности ветеринарного контроля за рыбой и качеством пищевой продукции, получаемой из рыб, как возможных источников инвазионных заболеваний, необходимо, прежде всего, улучшить проведение ветеринарно-санитарной экспертизы и оценки рыб и рыбопродуктов, в частности, при описторхозе

Этим обосновывается выбор и актуальность исследовательской работы

**Цель и задачи исследований.** Целью настоящего исследования является разработка вопросов ветеринарно-санитарной экспертизы рыбы при описторхозе с решением следующих задач

1 Изучить распространенность описторхоза среди рыб в различных регионах Российской Федерации

2 Провести сравнительную оценку паразитологических методов исследования рыб при описторхозе

3 Провести исследования по изучению органолептических и физико-химических показателей мяса рыб, пораженных описторхозом, с учетом интенсивности инвазии

4 Изучить общий химический состав и биологическую ценность мяса рыб, пораженных описторхозом

5 Провести микробиологические исследования мяса рыб при данном заболевании

6 Изучить устойчивость метацеркарий описторхисов к воздействию ряда физических и химических факторов

7 На основании проведенных исследований подготовить «Методические рекомендации по проведению ветеринарно-санитарной экспертизы рыбы при описторхозе»

**Научная повизна.** Изучена зараженность описторхозом различных видов пресноводных рыб бассейнов рек Обь (среднее течение в районе г. Ханты-Мансийска), Волга и Большой Могой (в районе г. Астрахани) и Тавда (приток Тобола в районе г. Тавда) с определением экстенсивности (ЭИ) и интенсивности инвазии (ИИ)

Установлено, что описторхоз рыб может протекать как моноинвазия, так и в смешанной форме с другими метацеркариями трематод, а именно *Paracaenogonimus ovatus* (сем. Prohemistomidae), *Bolbophorus confusus* (сем. Posthodiplostomidae) и *Hysteromorpha tribola* (сем. Diplostomidae)

С учетом интенсивности инвазии определены органолептические, физико-химические и микробиологические показатели рыб, пораженных описторхозом

При описторхозе с высокой интенсивностью инвазии из мяса рыб выделяется сопутствующая микрофлора (*E coli*)

Впервые выявлена зависимость, что повышение интенсивности инвазии, сопровождающееся повышением влаги в мясе рыб, сопровождается уменьшением содержания белка, жира, золы, кальция и фосфора, что снижает его (мяса) калорийность в сравнении со здоровой рыбой

Гистологическими исследованиями установлено, что заболевание рыб описторхозом сопровождается образованием в местах локализации метацеркарий капсул из соединительной ткани и поражением мышечной ткани в виде дегенеративных изменений

Проведенными исследованиями разработаны (в дополнение к существующим) режимы обезвреживания мяса рыб, пораженных описторхозом, в частности замораживание при  $-18^{\circ}\text{C}$  и экспозиции 7 суток и  $-20^{\circ}\text{C}$  – 48ч, воздействие высокими температурами ( $+60^{\circ}\text{C}$  и экспозиции 35 мин, варка – 10 мин и жарка – 15 мин), посол рыбы при применении хлорида натрия в концентрации 50 г/л в течение 30 суток, 100 г/л – 21 сутки и 150 г/л – 10 суток, применение СВЧ при мощности 900 Вт и экспозиции 3,5 мин и 600 Вт и экспозиции 4,5 мин

Установлено, что применение процессов вяления и воздействие ультразвуком не приводят к обезвреживанию от описторхисов

**Практическая ценность работы.** На основании проведенных исследований подготовлены предложения по проведению ветеринарно-санитарной экспертизы рыб при описторхозе и определению устойчивости описторхисов к физическим и химическим факторам, которые включены в разработанные нами «Методические рекомендации по проведению ветеринарно-санитарной экспертизы рыбы при описторхозе» (Утв Отделением ветеринарной медицины РАСХН 04 09 2007 г )

**Апробация работы.** Материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на

- заседаниях ученого совета ВНИИВСГЭ (2006-2007 г ),
- Всероссийской конференции с международным участием «Биоразнообразие экосистем внутренней Азии» (Улан-Удэ, 5-10 09 2006 г.),
- межлабораторном совещании ВНИИВСГЭ (2007 г )

**Публикации.** По результатам выполненных исследований опубликовано 5 научных статей

**Объем и структура работы.** Диссертация изложена на 114 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, списка литературы и приложений Работа содержит 21 таблицу, 11 рисунков, в том числе 2 диаграммы Список литературы включает 126 источников отечественных и зарубежных авторов

## **СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

**Материалы и методы.** Диссертационная работа выполнена в период с 2004 по 2007 гг , в лаборатории ветеринарной санитарии на государственной границе, транспорте и мясоперерабатывающих предприятиях ГНУ ВНИИВСГЭ РАСХН, в бассейнах рек Обь, Волга с ее притоками и Тавда (приток Тобола), а также ГУ АО «Астраханская областная ветеринарная лаборатория», ГУ «Ханты-мансийская окружная ветеринарная лаборатория»,

ФГУ ЦНМВЛ, ГНПЛ «Дельта» (Москва), сотрудникам которых выражаем искреннюю благодарность за организационно-техническое содействие

Материалом для исследований служили рыбы, выловленные в акваториях рек Обь, Волга и Тавда. Всего было исследовано 195 экземпляров рыб 4 отрядов, 6 семейств, 18 видов, а именно 40 - язя, 29 - красноперки, 5 - густеры, 3 - чехони, 27 - леща, 45 - воблы, 2 - чебака, 3 - линя, 9 - серебристого карася, 5 - карпа из отряда карпообразные (Cypriniformes), семейства карповые (Cyprinidae), 5 - осетра русского, 1 - осетра сибирского, 5 - стерляди из отряда осетрообразные (Acipenseriformes), семейства осетровые (Acipenseridae), 5 - налима из семейства тресковые (Gadidae) отряда трескообразные (Gadiformes), 5 - форели радужной из семейства лососевые (Salmonidae), 1 - нельмы из семейства сиговые (Coregonidae), 5 - щуки из семейства щуковые (Esocidae) отряда лососеобразные (Salmoniformes). Обследованию была подвергнута рыба-сырец (свежая), охлажденная, свежемороженая и вяленая.

Вид рыбы определяли по атласу «Определитель рыб» (Мягков Н.А., 1994) и учебному пособию «Система промысловых рыб» (Азизов Н.А., Моисеев П.А., 1996).

Материал исследован комплексно с использованием паразитологических, органолептических, микробиологических, физико-химических, химических и гистологических методов исследования. Для полноты оценки по всем этим показателям с учетом интенсивности инвазии нами рыба условно была разделена на 4 группы: 1) Неинвазированные, 2) С низкой ИИ (до 25 экз.), 3) Со средней ИИ (от 26 по 50 экз.), 4) С высокой ИИ (свыше 51 экз.).

При паразитологических исследованиях для диагностики и выявления рыб с наличием метацеркарий *O. felipeus*, дифференциальной диагностики описторхоза пользовались Методическими указаниями МУК 3.2.988-00 «Методы санитарно-паразитологической экспертизы рыбы, моллюсков, ракообразных, земноводных и продуктов их переработки», а также МУК по

определению возбудителей гельминтозоонозов в пресноводных рыбах, Методическими указаниями МУ 3 2 1756-03 «Эпидемиологический надзор за паразитарными болезнями»

**Гистологические исследования** Для исследования использовали рыб (язь), выловленных из реки Тавда с высокой ИИ, от которых отбирали пробы мышечной ткани из среднеспинной мускулатуры. Препараты готовили согласно «Методических указаний по патогистологической технике», основанных на методе парафиновой проводки и окраски гематоксилин-эозином

Для исследования на органолептические и физико-химические показатели использовали язей с разной интенсивностью инвазии, выловленных из реки Обь в районе г Ханты-Мансийск. Органолептическую оценку и отбор проб для лабораторных исследований проводили согласно ГОСТ 7631-85 «Рыба, морские млекопитающие, морские беспозвоночные и продукты их переработки. Правила приемки, органолептические методы оценки качества, методы отбора проб для лабораторных испытаний» (переиздан с изменениями в 1991 г.)

**Физико-химические исследования и определение химического состава** мяса рыб проводили согласно ГОСТ 7636-85 «Рыба, морские млекопитающие, морские беспозвоночные и продукты их переработки. Методы анализа» и «Правилам ветеринарно-санитарной экспертизы пресноводной рыбы и раков» (1989). Определение фосфора проводили молибден-ванадиевым методом (ГОСТ Р 51482-99). Определение кальция проводили методом титрования трилоном Б.

**Микробиологические исследования** проводили согласно «Инструкции по санитарно-микробиологическому контролю производства пищевой продукции из рыбы и морских беспозвоночных» (Сазонова А С, Мухина Л Б., Крылов В А, 1991 г.) Для исследования использовали пробы из спинной мускулатуры красноперки (неинвазированные и с низкой интенсивностью инвазии) и язя (со средней и высокой интенсивностью



инвазии), выловленных из реки Обь в районе г Хангы-Мансийск и реки Волга в районе г Астрахань

Определение относительной биологической ценности (ОБЦ) проводили согласно «Методических рекомендаций для использования экспресс-метода биологической оценки продуктов и кормов (Беленький Н Г и др , 1990)» Материалом для определения ОБЦ служила рыба (красноперка и язь), пораженная описторхозом, от которой отбирали пробы мышечной ткани в области спинной мускулатуры Гоксико-биологическая оценка рыбы, пораженной описторхозом была проведена с применением культуры *Tetrahymena pyriformis* согласно вышеуказанных Методических указаний и культуры *Colpoda steinii* (ГОСТ 13496 7-97 «Зерно фуражное, продукты его переработки и комбикорма Методы определения токсичности») и, имели в виду, что она испытана на мясе, колбасах, куриных окорочках и рекомендована для определения токсичности продуктов из мяса, птицы и рыбы, где взяты за основу данные этих НД (Виноходов В О , 2006), а также при постановке биопробы на белых мышах (Методические указания по определению токсичности кормов, кормовых добавок и сырья для производства кормов в биопробе на лабораторных животных (2003)»)

Методы обезвреживания рыбы, пораженной описторхозом Материалом для опытов служила рыба (язь), выловленная из рек Обь, Волга и Тавда При каждой серии опытов проводили исследования на наличие метацеркарий описторхисов и их жизнеспособность до и после обеззараживания Обезвреживание путем замораживания проводили при температуре  $-18^{\circ}\text{C}$ ,  $-20^{\circ}\text{C}$  и  $-28^{\circ}\text{C}$  в морозильной камере, где рыбу пораженную описторхозом укладывали поштучно Обеззараживание при воздействии высоких температур проводили при обработке рыбы путем варки и прожаривания Варка в воде проводилась при достижении в толще куска температуры  $+80^{\circ}\text{C}$  в течение 15 минут Прожарку рыбы проводили в жире на открытых противнях в распластанном виде кусками массой 100 г при температуре  $150^{\circ}\text{C}$  Также проводили подогревание рыбы в условиях

термостага при  $+60^{\circ}\text{C}$  в течение 1 часа При обезвреживании рыбы посолом использовали растворы натрия хлорида при концентрации 50, 100, 140 и 150 г/л Посол рыбы проводили в ее пластованном виде При обезвреживании рыбы в СВЧ – печах использовали микроволновую печь Samsung electronics SK99FSR при мощности 900 Вт и экспозиции 3, 3,5 и 4 мин, а также при мощности 600 Вт при экспозиции 4, 4,5 и 5 мин Вяление язя проводили при температуре  $25^{\circ}\text{C}$  на открытом воздухе в течение 21 суток после предварительного посола 4% раствором хлорида натрия в течение 2 суток при температуре  $20^{\circ}\text{C}$  (без предварительного замораживания) При изучении воздействия ультразвука на метацеркарий в водной среде использована ультразвуковая установка УЗГ-04 с выходной мощностью 30 Вт и с тремя вибраторами из пьезокерамики марки ЦТБС-7  $\varnothing 40\text{мм}$  с частотой излучения 22 кГц

Статистическую обработку ряда данных исследований проведена с определением доверительного интервала ( $t_{p,n}=4,303$ ,  $n=5$ ) Полученные результаты статистически достоверны ( $P<0,05$ ) (Л Н Брянский, А С Дойников, 1991)

### Результаты исследований.

#### **1. Анализ распространенности описторхоза рыб.**

Так, среди рыб по рыбоводным хозяйствам на территории Российской Федерации показатель распространенности гельминтозов составляет 85% Удельный вес описторхоза по сравнению с другими гельминтозами составляет 2,33% Было зарегистрировано неблагополучных пунктов (рыбопромысловых водоемов и рыбоводных хозяйств) по описторхозу рыб (по годам) 2005 год – 268, 2006 г – 303 пунктов

Результаты наших исследований по изучению распространенности описторхоза показали, что речная рыба важнейших рыбопромысловых бассейнов России, в частности рек Обь, Волга и Тавда в значительной степени заражена метацеркариями описторхисов, опасных для человека и животных, с весьма значительным уровнем интенсивности инвазии Так,

высокая экстенсивность инвазии (ЭИ) отмечена среди язя реки Обь - 71,05%, при средней интенсивности (ИИ) 39,04 экз и красноперки реки Волга ЭИ 30,77% и ИИ 2-8 экз. Зараженность речных рыб рек Обь, Волга и Тавда метацеркариями *O. felineus* представлена в таблицах 1 и 2

Таблица 1

I Распространенность описторхоза среди рыб бассейна реки Обь (в районе г Ханты-Мансийск)

Вид рыбы	Исследовано, экз	Инвазировано, экз	Экстенсивность инвазии, %	Интенсивность инвазии, экз
Язь	38	27	71,05	39,04
Лещ	7	0	0	0
Чебак	2	0	0	0
Карась	6	0	0	0
Осетр сибирский	1	0	0	0
Нельма	1	0	0	0
Налим	5	0	0	0
Щука	5	0	0	0

II Распространенность описторхоза среди рыб реки Тавда (в районе г. Тавда, Свердловская область)

Вид рыбы	Исследовано, экз	Инвазировано, экз	Экстенсивность инвазии, %	Интенсивность инвазии, экз
Язь	7	7	100	28,75

При изучении зараженности рыб метацеркариями *O. felineus* нас не могло не заинтересовать их обнаружение в различных органах и тканях (мускулатуре, сердце, селезенке и др.), что было проведено на примере язей, выловленных в реке Обь в районе г Ханты-Мансийска. Метацеркарии были обнаружены только в мышечной ткани. В других органах и тканях метацеркарий обнаружено не было. Обобщив все случаи обнаружения метацеркарий *O. felineus* в мышечной ткани, определили их процент в различных группах мышц, что показано на Рис. 1. Как видно из этих данных, наибольший процент обнаружения метацеркарий падает на среднеспинную (51,52%) и переднеспинную мускулатуру (28,84%).

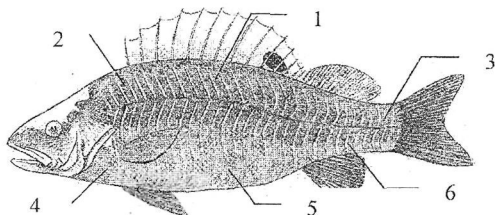
Таблица 2

Распространенность описторхоза и других трематодозов рыб в дельте реки Волга (Астраханская область).

Икрянинский район (основное русло реки Волга)					
Вид рыбы	Вид паразита	Исследовано, рыб	Инвазировано, рыб	Экстенсивность инвазии, %	Интенсивность инвазии, экз.
<b>Красноперка</b>	<i>O. felineus</i>	6	0	0	0
	<i>P. ovatus</i>		6	100	1-29
<b>Густера</b>	<i>O. felineus</i>	5	0	0	0
	<i>P. ovatus</i>		4	80	1-11
	<i>H. tribola</i>		3	60	1-3
Володарский район (река Б. Могой)					
<b>Красноперка</b>	<i>O. felineus</i>	10	0	0	0
	<i>P. ovatus</i>		6	60	1-26
	<i>B. confusus</i>		4	40	1-11
Володарский район, рукав Волги (Мало-Белинский банк)					
<b>Красноперка</b>	<i>O. felineus</i>	13	4	30,77	2-8
	<i>P. ovatus</i>		11	84,62	2-30
	<i>B. confusus</i>		5	38,46	2-8
<b>Лещ</b>	<i>O. felineus</i>	12	1	8,33	1
	<i>P. ovatus</i>		6	50	1-5
	<i>B. confusus</i>		1	8,33	1
<b>Вобла</b>	<i>O. felineus</i>	5	0	0	0
	<i>P. ovatus</i>		1	20	2
	<i>B. confusus</i>		1	20	1
<b>Чехонь</b>	<i>O. felineus</i>	3	0	0	0

Рис. 1

Частота обнаружения метацеркарий *O. felineus* (в %) в мышечной ткани исследованных рыб.



1. среднеспинная мускулатура – 51,52%, 2. переднеспинная мускулатура – 28,84%, 3. верхнехвостовая мускулатура – 15,94%, 4. грудная мускулатура – 1,52%, 5. брюшная мускулатура – 1,33%, 6. нижнехвостовая мускулатура – 0,85%.

## **2. Клинический осмотр и патологоморфологические исследования больной рыбы.**

Клинический осмотр У рыб, пораженных метацеркариями *O. felneus* заболевание протекает в субклинической форме, а поэтому внешне симптомы практически не проявляются. Вместе с тем, проведенные нами клинические наблюдения за пораженной описторхозом рыбой (высокая степень инвазии) позволили установить, что последняя отстает в росте в сравнении со здоровой. Так, установлено на примере рыбы язя трехлетнего возраста ее вес был на 1,5% меньше, а длина тела на 7,4% от непораженной. Пораженность рыб описторхозом подтверждали обнаружением личинок *O. felneus* в их мышечной ткани.

Патологоанатомические исследования При патологоанатомическом вскрытии больной рыбы (30 экз.) при внешнем осмотре внутренних органов (печень, желчный пузырь, селезенка, желудочно-кишечный тракт, почки, сердце, плавательный пузырь, половые железы, мочевого пузыря), а также кожи с чешуей и мышц никаких патологических изменений не было отмечено.

Гистологические исследования При исследовании гистологических срезов мышечной ткани в местах локализации метацеркарий отмечено образование капсул из соединительной ткани. Отмечено также повреждение мышечной ткани, которое выражается в виде зернистой дистрофии (дегенеративных изменений) – небольших участков мышечной ткани с утраченной поперечной исчерченностью, границы клеток и очертания ядер не различимы.

## **3. Исследования по сравнительной оценке методов индикации, определения жизнеспособности и дифференциальной диагностики метацеркарий *O. felneus***

Выявление метацеркарий *O. felneus* в рыбе На наличие метацеркарий описторхисов исследовали только верхний слой мышечной ткани – мест наиболее вероятной их локализации. Использовали методы компрессорный

и переваривания в искусственном желудочном соке, которые оценивали по их эффективности. Метод переваривания более затратный, требуется пепсин, соляная кислота, хлорид натрия, один из аппаратов для выделения личинок («Гастрос», «АВЛТ» или «Авта-3», время проведения более трех часов). Кроме того, если исследуется общая проба от партии рыбы, то при ее положительном результате, следует исследовать каждую пробу по отдельности. Это удлинит время экспертизы. Для проведения компрессорного метода необходим компрессор и трихинеллоскоп, время на просмотр одной пробы 10 минут. По эффективности обнаружения эти два метода одинаковы. В дальнейших исследованиях нами использовался компрессорный метод, как менее затратный и не требующий много времени для ответа.

Дифференциальная диагностика *O. felinus* по анатомо-морфологическим признакам. Стоит отметить также, что большинство из исследованных нами рыб были инвазированы другими метацеркариями трематод, а именно *Paracaenogonimus ovatus* (сем. Prohemistomidae), *Volbophorus confusus* (сем. Posthodiplostomidae) и *Hysteromorpha tribola* (сем. Diplostomidae), как моноинвазия, так и в смешанной форме. Так, для *P. ovatus* ЭИ у красноперки составила 60-100%, ИИ 1-3 экз., у густеры - ЭИ 80%, ИИ 1-11 экз., у леща - ЭИ 50%, ИИ 1-5 экз., у воблы - ЭИ 20%, ИИ 2 экз. Для *V. confusus* у красноперки ЭИ составила 38,46-40%, ИИ 1-11 экз., у леща - ЭИ 8,33%, ИИ 1 экз., у воблы - ЭИ 20%, ИИ 1 экз., для *H. tribola* для густеры ЭИ составила 60%, ИИ 1-3 экз.

Видовую принадлежность метацеркарий определяли по Сударикову В.Е. (2002). Приведенные автором описание метацеркарий свели в единую таблицу, так как мы считаем, что их нужно дифференцировать исходя из анатомо-морфологических признаков, и, имея в виду, что до наших исследований не указывалось на необходимость исследования наличия этих трематод. Принцип дифференциации указанных видов трематод основан на

строении метацеркарий, размеру и форме цист, размеру и форме метацеркарий, освобожденных из цисты

Сравнительная оценка методов определения жизнеспособности метацеркарий *O. felineus* При обнаружении личинок в рыбе, в том числе при оценке эффективности ее обеззараживания, необходимо определять их жизнеспособность. Нами проведена сравнительная оценка ряда методов определения жизнеспособности личинок описторхисов. При определении жизнеспособности личинок наиболее эффективным является биопроба, которая, однако, не дает быстрого ответа. Наиболее практичным является механическое воздействие и желчью, менее эффективными являются воздействие трипсином, окрашивание розоловой кислотой, и наименее приемлемым является определение жизнеспособности по морфологической структуре, который является трудоемким и длительным по времени получения результата.

#### **4. Органолептические показатели мяса рыб**

При органолептическом исследовании рыб с разной интенсивностью инвазии учитывали состояние кожных покровов, их окраску, наличие наружных повреждений, состояние слизи, чешуи, глаз, брюшка, цвет жабр, запахи рыбы, консистенцию мышечной ткани и пробу варкой. В результате проведения органолептической оценки рыб, пораженных описторхозом, установлено, что рыбы как со слабой, средней, так и сильной интенсивностью инвазии *O. felineus* по органолептическим показателям практически не отличаются от здоровых рыб и находятся в пределах нормы, за исключением длины и массы рыб с высокой ИИ, а также гистологических изменений в мышечной ткани рыб с высокой ИИ.

#### **5. Физико-химические показатели мяса рыб**

Исследования проводили с определением аммиака и сероводорода (качественные реакции), реакции на пероксидазу, реакции с сернистой медью и концентрации водородных ионов (рН), что показано в таблице 3

Таблица 3

Физико-химические показатели мяса рыб, пораженных метацеркариями

*O. felneus*

Физико-химический показатель	С низкой ИИ до 25 экз	Со средней ИИ от 26 по 50 экз	С высокой ИИ свыше 51 экз	Неинвазированные (контроль)
pH вытяжки из мышечной ткани (в норме рН до 6,9)	6,58±0,03 n=3	6,54±0,02 n=3	6,61±0,04 n=3	6,53±0,08 n=3
Реакция на пероксидазу (в норме положительная)	Вытяжка из жаберной ткани приобретает синий цвет, переходящий в коричневый за 1 минуту (положительная)	Вытяжка из жаберной ткани приобретает синий цвет, переходящий в коричневый за 1 минуту (положительная)	Вытяжка из жаберной ткани приобретает синий цвет, переходящий в коричневый за 1 минуту (положительная)	Вытяжка из жаберной ткани приобретает синий цвет, переходящий в коричневый за 1 минуту (положительная)
Определение продуктов первичного распада белка в бульоне с сернистой медью (в норме отрицательная)	Бульон слегка мутный (отрицательная)	Бульон слегка мутный (отрицательная)	Бульон слегка мутный (отрицательная)	Бульон слегка мутный (отрицательная)
Качественная реакция на сероводород (в норме отрицательная)	Реакция со свинцовой солью не происходит – фильтровальная бумага не изменяет свой цвет (отрицательная)	Реакция со свинцовой солью не происходит – фильтровальная бумага не изменяет свой цвет (отрицательная)	Реакция со свинцовой солью не происходит – фильтровальная бумага не изменяет свой цвет (отрицательная)	Реакция со свинцовой солью не происходит – фильтровальная бумага не изменяет свой цвет (отрицательная)
Качественная реакция на аммиак (в норме отрицательная)	Отсутствует реакция образования облачка хлористого аммония при взаимодействии соляной кислоты и пробы мяса (отрицательная)	Отсутствует реакция образования облачка хлористого аммония при взаимодействии соляной кислоты и пробы мяса (отрицательная)	Отсутствует реакция образования облачка хлористого аммония при взаимодействии соляной кислоты и пробы мяса (отрицательная)	Отсутствует реакция образования облачка хлористого аммония при взаимодействии соляной кислоты и пробы мяса (отрицательная)

Как видно из приведенных в таблице 5 данных, у рыб, инцистированных метацеркариями *O. felneus*, физико-химические показатели находятся в пределах требований к доброкачественной рыбе и не зависят от интенсивности инвазии

### 6. Санитарно-микробиологический контроль рыб, пораженных описторхозом.

В этой связи были проведены микробиологические исследования на наличие в мясе больных рыб количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ), бактерий



группы кишечной палочки (БГКП), золотистого стафилококка, сальмонелл и листерий. Результаты этих исследований показаны в таблице 4

Таблица 4

Микробиологические показатели рыб, пораженных личинками *O. felineus*

Микробиологический показатель	Норма для свежей рыбы по СанПиН 2.3.2.1078-01 (п.1.3.1.1)	Неинвазивные (контроль) n=3	Пораженные описторхозом		
			ИИ до 25 экз n=3	ИИ 26- 50 экз n=3	ИИ свыше 51 экз n=3
КМАФАнМ	КОЕ/г не более $5 \times 10^4$	$1,6 \times 10^4$	$1,7 \times 10^4$	$2,8 \times 10^4$	Выделены $5,5 \times 10^4$
БГКП (колиформы)	в 0,01 г не допускается	-*	-	-	E coli O19
<i>S. aureus</i>	в 0,01 г не допускается	-	-	-	-
<i>Salmonella</i>	в 25 г не допускается	-	-	-	-
<i>L. monocytogenes</i>	в 25 г не допускается	-	-	-	-

\*Примечание «-» – микробов не выделено

Проведенные исследования позволили получить следующие результаты

- при определении КМАФАнМ отмечено превышение этого показателя в одной пробе мяса рыбы с высокой ИИ, что выше допустимой нормы (КОЕ/г должно быть не более  $5 \times 10^4$ ),

- при определении БГКП была выделена культура кишечной палочки серогипа O19 в пробе мяса рыбы также с ИИ более 51 экз ,

- при исследовании мяса рыб на наличие стафилококка, сальмонелл и листерий, последние в мясе рыб, пораженной описторхозом, независимо от степени инвазии, не были обнаружены

## 7. Изучение химического состава мяса рыб, пораженных метацеркариями *O. felineus*

Были определены массовые доли воды, белка, жира, содержание золы, фосфора и кальция. На основании этих показателей расчетным путем определена энергетическая ценность мяса рыб, пораженных описторхозом с учетом степени инвазии. В качестве контроля исследовано мясо здоровой рыбы (язя). Результаты этих исследований представлены в таблице 5

Таблица 5

Химический состав (%) мяса рыб, пораженных *O. felneus*

Показатель	неинвазированной (контроль) n=5	Пораженные описторхозом		
		с низкой ИИ до 25 экз n=5	со средней ИИ от 26 до 50 экз n=5	с высокой ИИ свыше 51 экз n=5
Влага	76,24±0,47	77,5±0,1	77,6±0,52	79,3±0,39
Белок	20,5±0,07	19,25±0,12	19,83±0,25	18,08±0,19
Жир	2,2±0,17	2,1±0,22	1,7±0,17	1,65±0,29
Зола	1,048±0,069	0,989±0,027	0,966±0,062	0,871±0,049
Фосфор	9,43±0,15	9,07±0,29	8,77±0,42	8,57±0,57
Кальций	1,28±0,57	0,94±0,37	0,78±0,12	0,38±0,09
Энергетическая ценность на 100г мяса, ккал	101,8	95,9	94,62	87,17
Процент снижения калорийности	100% «исходные данные»	-5,8%	-7,1%	-14,4%

Примечание 1 г белков = 4,0 ккал, 1 г жиров = 9,0 ккал

Как установлено исследованиями, мясо рыб, пораженных описторхозом, характеризуется более повышенным содержанием влаги в сравнении со здоровой рыбой при низкой ИИ на 1,26%, при средней ИИ – на 1,36% и при высокой – на 3,06%-тов. В этой связи отмечается зависимость, что чем выше ИИ и содержание влаги, тем меньше уровень содержания белка, жира, золы, кальция и фосфора соответственно. Так, например, при высокой ИИ отмечено снижение белка на 2,42%, жира – на 0,55%, золы – на 0,177%, фосфора – на 0,86%, кальция – на 0,90%-та.

Расчетным путем, исходя из таблицы Покровского КС (1971) по определению пищевой ценности продуктов, было определено, что энергетическая ценность на 100 г мяса (ккал) рыб, пораженных описторхозом в сравнении со здоровой рыбой составляет при низкой ИИ – 95,9, при средней ИИ – 94,62 и при высокой ИИ – 87,17 ккал, что указывает на снижение их калорийности соответственно на 5,8%, 7,1% и 19,9% в сравнении с контролем.

Данные обработаны методом определения достоверности различий между двумя средними величинами с использованием t критерия. Различия статистически значимо с вероятностью 95%. Расчеты по снижению веществ в

мышечной ткани проведены по определению абсолютного снижения, т.к. считаем этот подход показывает более объективно изменения по химическому составу

Таким образом, исходя из полученных данных, рыба, инвазированная *O. felineus*, особенно при высокой ИИ, имеет более низкую энергетическую ценность в сравнении со здоровой рыбой

### 8. Биологическая оценка мяса рыб при описторхозе

#### Определение относительной биологической ценности (ОБЦ)

Материалом для определения ОБЦ служила рыба (красноперка и язь), пораженная описторхозом, от которой отбирали пробы мышечной ткани в области спинной мускулатуры. Данные по определению ОБЦ приведены в таблице 6, из которой видно, что в мясе рыб, пораженных описторхозом, имеется тенденция снижения его биологической ценности. Так, при низкой и средней ИИ относительная биологическая ценность ниже на 1-1,7%, что недостоверно. Что касается мяса рыб с высокой ИИ, то снижение относительной биологической ценности составляет 2,7%, что является достоверным показателем и указывает на пониженную его биологическую ценность.

Таблица 6

Относительная биологическая ценность мяса рыб, пораженных описторхозом

Показатель	Неинвазированные (контроль) n=5	С низкой ИИ до 25 экз n=5	Со средней ИИ от 26 до 50 экз n=5	С высокой ИИ свыше 51 экз n=5
Количество клеток в 1мл среды	300x10 <sup>3</sup>	297x10 <sup>3</sup> ±0,49	295x10 <sup>3</sup> ±0,25	292 x10 <sup>3</sup> ±0,37
Относительная биологическая ценность в % к контролю	100	99	98,3	97,3

Токсико-биологическая оценка. Токсико-биологическая оценка рыбы, пораженной описторхозом, была проведена с применением культур

*Tetrahymena pyriformis* и *Colpoda steinii*, а также при постановке биопробы на белых мышах. Результаты исследований представлены в таблице 7

Таблица 7  
Токсико-биологическая оценка мяса рыб, пораженных описторхозом

Показатель	Неинвазированные (контроль) n=5	С низкой ИИ до 25 экз n=5	Со средней ИИ от 26 до 50 экз n=5	С высокой ИИ свыше 51 экз n=5
Функциональные показатели <i>Tetrahymena pyriformis</i>	Морфологических изменений нет, гибели клеток не отмечено	Морфологических изменений нет, гибели клеток не отмечено	Морфологических изменений нет, гибели клеток не отмечено	Морфологических изменений нет, гибели клеток не отмечено
Функциональные показатели <i>Colpoda steinii</i>	В течение часа все инфузории остаются подвижными	В течение часа все инфузории остаются подвижными	В течение часа все инфузории остаются подвижными	В течение часа все инфузории остаются подвижными
Биопроба на белых мышах	Гибели животных и патологических изменений не отмечено	Гибели животных и патологических изменений не отмечено	Гибели животных и патологических изменений не отмечено	Гибели животных и патологических изменений не отмечено

В результате проведенных исследований установлено, что выживаемость тетрахимен и колпод в среде была одинаковой как в опыте, так и в контроле. Не обнаружено отрицательного влияния опытных образцов мяса рыб, пораженных описторхозом, на морфологические и функциональные показатели инфузорий, независимо от степени инвазии. В опытах на белых мышах гибели животных и патологических изменений не было отмечено.

### 9. Обезвреживание рыб, пораженных описторхозом

Нами проведены исследования по применению ряда новых режимов обезвреживания рыбы с применением физических и химических факторов, в том числе обработка в СВЧ печи и УЗ установке и уточнены некоторые из существующих режимов. Результаты исследований представлены в таблице

8

Таким образом, было установлено в трехкратной повторности экспериментов (в комиссионных опытах), что эффективное обезвреживание рыбы, пораженной описторхозом, нами получено при следующих факторах и условиях

Таблица 8

## Режимы обезвреживания рыб при описторхозе

№ п/п	Физические и химические факторы	Время обезвреживания (экспозиция), п=3
1	Замораживание рыбы при -18 °С	7 суток
2	Замораживание рыбы при -20 °С	48 часов
3	Замораживание рыбы при -28 °С	32 часа
4	Выдержка в условиях термостата при +60±1 °С	35 минут
5	Проварка рыбы в воде (при достижении температуры в толще куска рыбы не менее +80 °С)	10 минут (с момента закипания)
6	Прожарка рыбы в жире на открытых противнях в распластанном виде кусками массой 100г при температуре 150 °С	15 минут
7	Посол рыбы с применением хлорида натрия 50 г/л (5%)	30 суток
8	Посол рыбы с применением хлорида натрия 100 г/л (10%)	21 сутки
9	Посол рыбы с применением хлорида натрия 140 г/л (14%)	15 суток
10	Посол рыбы с применением хлорида натрия 150 г/л (15%)	10 суток
11	Обработка микроволнами в СВЧ печах при мощности 900 Вт	3,5 мин
12	Обработка микроволнами в СВЧ печах при мощности 600 Вт	4,5 мин
Не достигнуто обезвреживания		
13	Вяление без предварительного замораживания (предварительное соление 4% раствором хлорида натрия в течение 2 суток при температуре 20 °С) при температуре 25 °С на открытом воздухе	В течение 21 суток (срок наблюдения) не достигнуто обезвреживание язев от личинок описторхоза
14	Обработка ультразвуком при мощности 30 Вт и частоте 22 кГц	В течение 1 часа не достигнуто обезвреживание рыбы

- при минусовых температурах -18<sup>0</sup>С, -20<sup>0</sup>С и -28<sup>0</sup>С, среди которых первая предлагается впервые, а -28<sup>0</sup>С при экспозиции 32 ч подтверждается (согласно СанПиНу 3 2 1333-03), в тоже время режим -28<sup>0</sup>С при экспозиции 18 ч (согласно «Правил ветеринарно-санитарной экспертизы пресноводной рыбы и раков») – не эффективен, эффективный режим -20<sup>0</sup>С при экспозиции 48 ч вместо 72 ч согласно «Инструкции о мероприятиях по предупреждению и ликвидации заболеваний гельминтозами,

- при посоле с применением хлорида натрия получен эффективный режим обезвреживания при массовой доле соли 5%, 10% и 15%, при посоле рыбы при массовой доле соли 14% уточнена экспозиция обработки вместо 14сут рекомендуется 15сут,

- при прожарке рыбы в жире на открытых противнях положительный эффект обезвреживания получен при экспозиции 10 мин вместо 20-25 согласно Правил ветеринарно-санитарной экспертизы пресноводной рыбы и раков

Таким образом, проведенные исследования позволяют констатировать, что обезвреживание рыбы, пораженной описторхозом, является эффективным при применении режимов замораживания, высоких температур, микроволновой печи, технологического процесса посолом хлоридом натрия. Методы вяления рыб и воздействие ультразвуком не приводят к ее обезвреживанию и нами не рекомендуются к применению, так как в противном случае может привести к заражению человека при употреблении в пищу такой рыбы.

С ветеринарно-санитарной точки зрения и приемлемости технологического процесса, на наш взгляд, в первую очередь заслуживают применения режимы низких и высоких температур. Применение СВЧ печей является перспективным технологическим процессом и рекомендуется его применение, в том числе в домашних условиях.

### **Выводы**

1. При анализе эпизоотической ситуации в рыбоводных хозяйствах Российской Федерации и собственными исследованиями установлено, что описторхоз рыб имеет значительное распространение. Его удельный вес среди гельминтозов рыб составляет не менее 2,33%, а пораженность метацеркариями *O. felineus* составляет у язя 71,05-100%, красноперки – 30,77% и леща – 8,33% при интенсивности инвазии 1-92 метацеркария.

2. Проведенными исследованиями определено, что процент обнаружения метацеркарий *O. felineus* в разных группах мышц неодинаков и составляет в среднеспинных мышцах – 51,52%, переднеспинных – 28,84%, верхнехвостовых 15,94%, грудных – 1,52%, брюшных – 1,33% и нижнехвостовых – 0,85%.

3 Установлено, что описторхоз рыб может протекать как моноинвазия, так и в смешанной форме (в большинстве случаев) с поражением метацеркариями других трематод, в частности *Paracaenogonimus ovatus*, *Volbophorus confusus* и *Hysteromorpha tribola*, что необходимо учитывать при постановке диагноза на описторхоз

4 Наиболее результативными и паглядными методами определения жизнеспособности метацеркарий *O. felineus* являются методы с использованием желчи и механического воздействия, которые рекомендуются использовать как при проведении паразитологических исследований рыбы, так и после ее обезвреживания

5 При внешнем осмотре и патологоанатомическом исследовании рыб, пораженных описторхозом, клинических симптомов болезни и видимых патологических изменений в органах и тканях не отмечается, за исключением отставания в росте на 7,4% и уменьшении массы тела на 1,5% у рыб с высокой интенсивностью инвазии в сравнении со здоровой, а также наличия дегенеративных изменений в виде зернистой дистрофии небольших участков мышечной ткани с утраченной поперечной исчерченностью и разрастанием соединительной ткани вокруг метацеркарий

6 Установлено, что по органолептическим и физико-химическим показателям мясо рыб, пораженных описторхозом, находится в пределах требований к доброкачественной рыбе и не зависит от ее интенсивности инвазии

7 По результатам санитарно-микробиологического исследования мясо рыб с низкой и средней интенсивностью инвазии соответствуют требованиям существующих нормативов содержания микрофлоры, а при высокой интенсивности отмечено превышение уровня содержания КМАФАнМ и выделение *E. coli* (серотип O19)

8 При изучении химического состава мяса рыб, пораженных описторхозом, выявлена зависимость, что чем выше интенсивность инвазии, тем больше содержание влаги в нем и тем меньше белка, жира, золы, кальция

и фосфора и ниже калорийность, что указывает на более низкую энергетическую ценность, особенно мяса рыб с высокой ИИ (87,17 ккал) в сравнении со здоровой рыбой

9 Проведенными исследованиями определена тенденция достоверного снижения относительной биологической ценности (на 2,7%) мяса рыб, пораженных описторхозом, при высокой степени инвазии. Не обнаружено отрицательного влияния образцов мяса рыб, пораженных описторхозом, на жизнеспособность инфузорий *Tetrahymena pyriformis*, *Colpoda steinii* и белых мышей

10 Испытаны и предложены режимы по эффективному обезвреживанию рыб, пораженных описторхозом (в дополнение к существующим), с применением низких температур замораживание при  $-18^{\circ}\text{C}$  и экспозиция 7 суток, при плюсовых температурах. проварка (при достижении температуры в толще куска рыбы не менее  $80^{\circ}\text{C}$ ) - 10 минут (с момента закипания), выдержка в условиях термостата при  $+60\pm 1^{\circ}\text{C}$  - 35 мин, прожарка рыбы в жире на открытых противнях в распластанном виде кусками массой 100 г при температуре  $150^{\circ}\text{C}$  - 15 мин, посол с применением массовой доли хлорида натрия 5% - 30 суток, при 10% - 21 сутки, при 15% - 10 суток, СВЧ-излучение при мощности 900 Вт - 3,5 мин и 600 Вт - 4,5 мин.

11 Не обеспечивается обезвреживание язей, пораженных *O. felineus*, при вялении в течение 21 суток (с предварительным посолом 4% раствором хлорида натрия) на открытом воздухе, а также при обработке ультразвуком при мощности 30 Вт и частоте 22 кГц в течение 1 часа

12 На основании проведенных исследований предложены «Методические рекомендации по проведению ветеринарно-санитарной экспертизы рыбы при описторхозе»

#### **Практические предложения.**

1 «Методические рекомендации по проведению ветеринарно-санитарной экспертизы рыбы при описторхозе» (Утв. Отделением ветеринарной медицины РАСХН 04.09.2007 г.)



**Список опубликованных работ.**

1 Зимин Н Л, Адиатулин И Ф Профилактика описторхоза и дифиллоботриоза // Ветеринарный консультант Москва – 2005 - №20 – с 24-25

2 Адиатулин И Ф Зараженность рыб описторхозом и ветеринарно-санитарное и социальное значение заболевания // Сб научных трудов ВНИИВСГЭ Москва – 2006 – т 118 – с 265-273

3 Адиатулин И Ф Изучение распространенности описторхоза среди рыб бассейна реки Обь // Тезисы Всероссийской конференции с международным участием «Биоразнообразие экосистем внутренней Азии» /Материалы симпозиума «Паразиты и болезни гидробионтов Ледовитоморской провинции» Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН Улан-Удэ - 2006 т 2. - с 131

4 Адиатулин И Ф Описторхоз рыб и их ветеринарно-санитарная оценка с учетом интенсивности инвазии // Практик -Санкт-Петербург – 2006 - №6 – с 36-42

5 Адиатулин И Ф Распространение описторхоза и определение качественных показателей мяса рыб // Ветеринарная патология Москва – 2007 - № 3 – с 7-10