

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ БЕЛОВСКОГО КАРПА

Ростовцев А.А., Законнова Л. И.

Филиал КузГТУ, Белово, Россия (652644, Кемеровская обл., г. Белово, пгт. Инской, ул. Ильича, 32-а), e-mail:nir_belovo@mail.ru

Ранняя диагностика заболеваний различной этиологии и своевременно принятые меры по их устранению могут значительно повысить рентабельность рыбных хозяйств. В условиях ООО «Беловское рыбное хозяйство» были проведены исследования по применению экспресс-методов для ранней диагностики заболеваний инфекционных и инвазионных заболеваний рыб. Картина воспаления выявлена не только у пораженных эктопаразитами рыб, но и у внешне здоровых. Единственное различие – низкое содержание моноцитов у незараженных рыб по сравнению с зараженными. Выявлено, что изменение лейкоцитарной формулы рыб не является строго специфичным, так как различные возбудители инвазионных заболеваний вызывают сходные воспалительные процессы в организме рыбы. Биохимические параметры сыворотки крови могут быть использованы для ранней диагностики алиментарных патологий карпа.

Ключевые слова: инфекционные, инвазионные, алиментарные заболевания, лейкоцитарная формула, биохимические показатели.

EXPERIENCE WITH HEMATOLOGICAL AND BIOCHEMICAL METHODS FOR DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF DISEASES BELOVSKY CARP

Rostovtsev A.A., Zakonnova L. I.

Branch KuzGTU, Belovo, Russia (652 644, Kemerovo region., Belovo, smtInskaya, Str. Illich, 32-a) , e-mail:nir_belovo@mail.

Early diagnosis of diseases of different etiologies and timely measures taken to address them can significantly improve the profitability of fisheries. In the Company "Belovsky fisheries" studies were conducted on the application of rapid methods for early diagnosis of diseases of infectious and parasitic diseases of fish. The picture of inflammation found not only in affected fish ectoparasites, but also in apparently healthy, the only difference - low in monocytes from non-infected fish as compared with the infected. It was revealed that the change in leukocyte formula of fish is not strictly specific, as different pathogens causing invasive diseases related inflammatory processes in the body of fish. Biochemical parameters of blood serum can be used for early detection of nutritional pathologies carp.

Key words: infectious, parasitic, nutritional disease, leukocyte counts, biochemical parameters.

В связи с различными заболеваниями рыб уменьшается их выживаемость, скорость роста, нивелируется достигнутый гетерозисный эффект от межлинейных скрещиваний, увеличиваются коэффициенты оплаты кормов. Все это приводит к снижению рентабельности хозяйства.

Ранняя диагностика заболеваний различной этиологии и своевременно принятые меры по их устранению могут, на наш взгляд, значительно повысить рентабельность рыбных хозяйств.

Беловское тепловодное рыбное хозяйство создано в 1979 г. В первые годы рыбхоз функционировал как нагульный для выращивания преимущественно товарного карпа из прудовых сеголетков Скарюпинского рыбхоза Кемеровской области. В 1982 г. проведен опыт заводского получения собственного посадочного материала от производителей беспородного карпа, выращенных в производственных условиях рыбхоза. С этого времени хозяйство функционирует как полносистемное. В настоящее время ООО «Беловское рыбное хозяйство» специализируется на разведении и выращивании карпа, белого и пестрого толстолобика, белого амура, канального сомика. Из привозного посадочного материала выращивают товарного осетра, бестера, форель. Рыбопосадочный материал поступает из Краснодарского края, Московской, Ростовской областей, Хакассии [3].

Беловское рыбное хозяйство следует признать благополучным в эпидемиологическом отношении. Благодаря неукоснительному соблюдению санитарно-эпидемиологических норм и своевременным профилактическим мероприятиям, за весь период работы рыбхоза не было зарегистрировано ни одного случая вирусных заболеваний рыб. Тем не менее, заболевания невирусной этиологии в разные годы работы рыбного хозяйства были отмечены. Так, например, в середине 80-х годов отмечалась вспышка ботриоцефалеза у молоди карпа, в лечении которого успешно использовали лечебные корма с добавлением препарата феносал. Паразитарные инвазии невысокой степени отмечаются постоянно, особенно в зимне-весенний периоды. При дефиците кормов и их низком качестве в период зимовки регистрируются вспышки алиментарного заболевания товарной молоди карпа [1, 2]. В связи с этим нами были проведены исследования по применению экспресс-методов для ранней диагностики заболеваний инфекционных, инвазионных и алиментарных заболеваний рыб.

Исследование зависимости гематологических показателей и зараженности рыб эктопаразитами. Исследования проводились летом 2001 и зимой 2002 года на Беловском рыбхозе. Для исследования отбирали сеголетков карпа (*Cyprinus carpio*). Отбор был случайный, внешние поражения при этом не учитывались. Отдельно осматривали особей с видимыми поражениями: отмечались изменения наружных покровов, плавников, жаберных дуг, внутренних органов. Образцы пораженных участков и соскобы покровов исследовались под микроскопом при увеличении $\times 70$ – $\times 280$. Были приготовлены фиксированные препараты некоторых обнаруженных эктопаразитов. Параллельно с этим учитывалось наличие признаков алиментарной болезни рыб [4, 5].

Летнее ихтиопатологическое исследование показало следующее. При наружном осмотре товарных карпов-сеголетков у 4 % обследованных рыб выявлен некроз жаберных лепестков; кожные покровы были окрашены неровно, с очагами некротизированной ткани. При микроскопическом исследовании обнаружены триходины (*Trichodina* sp.) – 2–7 шт. в

поле зрения микроскопа. У внешне неповрежденных карпов признаки поражения отсутствовали, жабры были ослизнены, паразитов не обнаружено. В результате зимних ихтиопатологических исследований были выявлены единичные случаи заражения карпов *Chilodonella cyprini*, триходинами и моногенеями.

Существуют данные о том, что при различных паразитарных заболеваниях могут происходить изменения картины красной и белой крови, которые особенно четко можно проследить, изучая лейкоцитарную формулу. Изменение лейкоцитарной формулы является наиболее быстрой и типичной реакцией организма рыбы на проникновение возбудителей заболеваний.

В связи с этим осенью 2002 года в Беловском рыбхозе проведены работы с целью изучения лейкоцитарной формулы при различных паразитических заболеваниях. Сеголетки карпа подвергались ихтиопатологическому осмотру: отмечались изменения наружных покровов и плавников. Образцы пораженных участков и соскобы покровов исследовались под микроскопом при увеличении $\times 70$ – $\times 280$. Были приготовлены фиксированные препараты крови для изучения лейкоцитарной формулы рыб по стандартной методике, содержание гемоглобина определяли по методу Сали [4, 5].

При ихтиопатологическом исследовании карпа №1 установлено, что он заражен триходинами (2 шт. в поле зрения), хилодонеллами (1 шт. в поле зрения), моногенеями (1 шт. в поле зрения). Гемоглобин в норме, лимфоциты ниже нормы на 20,5 %, повышено содержание моноцитов на 26,0 %, присутствуют базофилы и эозинофилы, которые в норме должны отсутствовать, сегментоядерные нейтрофилы отсутствуют, палочкоядерные нейтрофилы соответствуют норме. При анализе лейкоцитарной формулы диагностирован острый воспалительный процесс.

При ихтиопатологическом исследовании карпа №2 установлено, что он заражен триходинами (3 шт. в поле зрения), аргулисом (1 шт. в поле зрения). Отмечен экзофтальм. На поверхности головы и жаберных крышках белый налет, гиперемия. Гемоглобин ниже нормы. Лимфоциты ниже нормы на 20,0 %, моноциты выше нормы на 11 %, базофилы выше нормы, эозинофилы выше нормы, сегментоядерные нейтрофилы ниже нормы на 75 %, палочкоядерные нейтрофилы соответствуют норме. Подтверждается диагноз острого воспалительного процесса и гиперемии.

При ихтиопатологическом исследовании карпа № 3 установлено, что он заражен хилодонеллами (10 шт. в поле зрения) и триходинами (10 шт. в поле зрения). Гемоглобин выше нормы, лимфоциты ниже нормы на 20 %, моноциты выше нормы на 66 %, базофилы и эозинофилы выше нормы, сегментоядерные нейтрофилы ниже нормы на 75 %, палочкоядерные нейтрофилы соответствуют норме.

палочкоядерные нейтрофилы соответствуют норме. Диагноз – гиперемия, острый воспалительный процесс.

При ихтиопатологическом исследовании карпа № 4 выявлено истощение, слабый налет по всему телу, эктопаразитов не обнаружено, гемоглобин ниже нормы, лимфоциты ниже нормы на 25 %, моноциты ниже нормы на 60 %, базофилы выше нормы, сегментоядерные нейтрофилы ниже нормы, палочкоядерные нейтрофилы соответствуют норме. Выявлен острый воспалительный процесс.

При ихтиопатологическом исследовании карпа № 5 внешних признаков заболевания не обнаружено. Гемоглобин выше нормы. Лимфоциты ниже нормы на 34 %, моноциты ниже нормы на 40 %, базофилы выше нормы в 11 раз, эозинофилы выше нормы в 3 раза, сегментоядерные нейтрофилы выше нормы на 75 %, палочкоядерные нейтрофилы выше нормы в 5 раз. Диагноз: острый воспалительный процесс, возможно, вызванный интоксикацией.

У всех исследованных рыб присутствовали бластные формы моноцитов, которые в норме должны отсутствовать.

Сравнение лейкоцитарных формул показало, что по большинству лейкоцитов зараженные и незараженные рыбы различаются мало. Единственное различие – низкое содержание моноцитов у незараженных рыб по сравнению с зараженными.

Таблица 1. Показатели крови беловского карпа

№	степень заражения	гемоглобин, мг/%	Лейкоцитарная формула (%)						
			лимфоциты	моноциты	монобласты	базофилы	эозинофилы	нейтрофилы	
								сегментоядерные	палочкоядерные
1.	<i>среднее</i>	8,4	62,0	19,0	16,0	1,0	2,0	–	–
2.	<i>среднее</i>	4,4	63,0	17,0	8,0	8,0	3,0	1,0	–
3.	<i>сильное</i>	10,2	62,0	25,0	5,0	3,0	4,0	1,0	–
4.	паразиты отсутствуют, сильное истощение	5,0	59,0	6,0	14,0	16,0	5,0	–	–
5.	ЗДОРОВ	12,0	52,0	9,0	13,0	11,0	3,0	7,0	5,0
в среднем		8,0	59,6	15,2	11,2	7,8	3,4	1,8	1,0

НОРМА	7,5-8,8	78,0	15,0	–	–	–	4,0	–
--------------	---------	------	------	---	---	---	-----	---

Таким образом, изменение лейкоцитарной формулы рыб не является строго специфичным, так как различные возбудители инвазионных заболеваний вызывают сходные воспалительные процессы в организме рыбы. Так как картина воспаления выявлена не только у пораженных эктопаразитами рыб, но и у внешне здоровых, можно предположить, что причиной является интоксикация, либо неинвазионное заболевание.

Исследование зависимости биохимических показателей крови и алиментарных патологий рыб. Проблема алиментарных заболеваний рыб по-прежнему остается актуальной в промышленном рыбоводстве. Это связано с рядом причин, в первую очередь, с несоблюдением рекомендованных нормативов кормления, использованием несбалансированных, либо слаботоксичных кормов, несоответствием рецептуры кормов для различных видов рыб технологиям их выращивания. Алиментарные патологии зачастую проявляют себя на стадии запущенности болезни и обнаруживаются рыбоводами, особенно в период зимовки, только во время массовой гибели рыб. На такой стадии заболевание практически неизлечимо.

Ранняя диагностика алиментарных заболеваний и своевременно принятые меры по их устранению могут, на наш взгляд, полностью нивелировать негативные последствия нарушения технологий кормления рыбы и значительно повысить рентабельность рыбных хозяйств. Исследования биохимических параметров крови, характеризующих состояние метаболических процессов рыб, могут быть использованы для ранней экспресс-диагностики различных заболеваний карпа, связанных с алиментарной недостаточностью.

В 2007 г. нами были исследованы корреляции между биохимическими параметрами сыворотки крови и признаками алиментарной недостаточности зимующих сеголетков беловского карпа. Материалом для исследования послужили товарные зимующие сеголетки беловского карпа средней штучной массой 90 г., полученные в результате межлинейного скрещивания самок «разбросанного» (ssnn) беловского карпа четвертого селекционного карпа с самцами немецкого карпа (ssnn). Данная группа получала «поддерживающее» кормление, которое позволило молодежи не утратить товарных кондиций, но было значительно ниже существующих нормативов. Такой режим кормления был вызван нетипично низкими температурами воды в акватории рыбхоза: 8–10 °С, что на 2–30 °С ниже обычного.

Биохимию сыворотки крови исследовали по 13 параметрам: альбумин, общий белок, мочевины, мочевая кислота, щелочная фосфатаза, холестерин, триглицериды, глюкоза, железо, кальций, магний, фосфор, хлориды. Для исследования были использованы стандартные гематологические методики. Кровь для исследований брали прижизненно из

хвостовой вены карпов. Корреляционный анализ выявил следующее. Исследованные биохимические признаки карпов связаны между собой и с морфологическими параметрами сильными, средними и слабыми положительными и отрицательными корреляциями.

– *Сильные положительные корреляции* выявлены между концентрациями ионов кальция и фосфора в сыворотке крови.

– *Средние положительные корреляции*. Магний положительно коррелирован на среднем уровне с железом, фосфором и мочевиной, триглицериды – с содержанием общего белка и холестерином. Щелочная фосфатаза положительно связана с концентрациями в сыворотке ионов фосфора и общего белка, а холестерин положительно коррелирован на среднем уровне с альбуминами.

– *Слабые положительные корреляции*. Слабые положительные корреляции выявлены между кальцием и альбуминами. Мочевина коррелирована с мочевой кислотой и глюкозой, а также с ионами железа и фосфора. Фосфор, в свою очередь, связан слабыми положительными корреляциями с железом и холестерином сыворотки крови.

Сильных и средних отрицательных корреляций между исследованными биохимическими параметрами не выявлено. Среди слабых отрицательных корреляций следует отметить связи между альбуминами и магнием, общим белком и мочевой кислотой. Мочевина слабо отрицательно коррелирована с триглицеридами и глюкозой, мочевая кислота – с общим белком и щелочной фосфатазой. Глюкоза отрицательно коррелирована с ионами кальция, магния и фосфора.

Выявлены корреляции между биохимическими показателями сыворотки крови и морфологическими параметрами.

– Альбумины отрицательно коррелированы на низком уровне с толщиной тела и не коррелированы с остальными исследованными морфологическими параметрами.

– Мочевина коррелирована с морфологическими признаками слабыми связями: положительными – с массой, длиной, толщиной и высотой тела и отрицательными – с упитанностью.

– Мочевая кислота связана отрицательными корреляциями с массой, длиной и высотой тела.

– Щелочная фосфатаза положительно коррелирована с морфологическими признаками: на высоком уровне – с массой и длиной, на среднем – с высотой и толщиной тела.

– Глюкоза коррелирована со всеми пластическими параметрами: сильными отрицательными – с высотой, средними отрицательными с массой, длиной и толщиной тела; положительными – с прогонистостью и упитанностью.

– Катионы сыворотки крови незначительно коррелированы с морфологическими параметрами.

– Хлориды отрицательно коррелированы на среднем уровне с массой, длиной, толщиной, тела и прогонистостью.

– Общий белок и триглицериды сыворотки крови не коррелированы ни с одним из исследованных морфологических признаков.

Таким образом, в результате исследований был выявлен ряд корреляций, которые могут быть использованы для диагностики алиментарных патологий карпа. Мочевина, повышение содержания которой свидетельствует о нарушении экскреции у беловских карпов, отрицательно коррелирована с упитанностью. Высокий уровень продуктов белкового распада в крови сеголетков может свидетельствовать как об интоксикации, вызванной неблагоприятным гидрохимическим режимом в акватории беловского рыбхоза, так и о нарушении рационов и режима кормления рыб. Щелочная фосфатаза, которая может быть использована для характеристики пищеварительной активности, положительно коррелирована со всеми исследованными пластическими параметрами, но независима от экстерьерных индексов. Интересные данные получены при изучении корреляций глюкозы сыворотки крови зимующих сеголетков карпа и пластических параметров: они отрицательно коррелированы. Низкий уровень липидно-углеводного обмена свидетельствует о начале алиментарной болезни карпа, связанной с недостаточным кормлением в зимний период.

Список литературы

1. Законнова Л. И. Исследование физиологического состояния зимующих сеголетков карпа Беловского рыбхоза / Л. И. Законнова // Пресноводная аквакультура: состояние, тенденции и перспективы развития: сборник научных статей, посвященный 60-летию Станции. Кишинев: Есо–TIRAS, 2005. – С. 24–27.
2. Законнова Л. И. Корреляции биохимических показателей с алиментарными патологиями карпа / Л. И. Законнова // Рыбоводство и рыбное хозяйство. – № 8. – 2007. – С. 22–29.
3. Законнова Л. И. Технология формирования генетически отдаленных линий карпа на основе местного беспородного стада / Л. И. Законнова. – Белово: ООО «Канцлер», 2008. – 118 с.
4. Иванова Н. Т. Атлас крови рыб / Н. Т. Иванова. М.: Легкая промышленность, 1983. – 200 с.
5. Мусселиус В.А. Лабораторный практикум по болезням рыб / В. А. Мусселиус, В. Ф. Ванятинский, А. А. Вихман, Н. А. Головина, П. П. Головин. – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1983. – 296 с.

б. Яржомбек А. А. Справочник по физиологии рыб / А. А. Яржомбек, В. А. Аминева. – М.: Агропромиздат, 1986. – 192 с.

Рецензенты:

Ростовцев А. А., д.с.-х.н., профессор, директор Новосибирского филиала ФГУП «Госрыбцентр» – Западно-Сибирского научно-исследовательского института водных биоресурсов и аквакультуры, г. Новосибирск.

Жаров А. И., д.т.н., профессор, академик АГН и МАНЭБ, заслуженный шахтер России, профессор филиала КузГТУ, г. Белово.