

**ФІЗИКО-ХІМІЧНЕ ТА МІКРОБІОЛОГІЧНЕ
ДОСЛІДЖЕННЯ БИЧКОВИХ РИБ,
УРАЖЕНИХ ЛИЧИНКАМИ НЕМАТОДИ
*EUSTRONGYLIDES EXCISUS***

О. А. Моргун, лікар ветеринарної медицини

Миколаївська регіональна лабораторія ветеринарної медицини

Н. М. Сорока, доктор ветеринарних наук, професор

Національний університет біоресурсів і природокористування України

*Проведено фізико-хімічні та мікробіологічні дослідження бичкових риб, уражених личинками *Eustrongylides excisus*. У м'язовій тканині уражених риб відмічали підвищення концентрації водневих іонів та вмісту масової частки вологи і жиру. Також у м'язах риби, ураженої личинками нематоди, виявили продукти розпаду білків (сірководень і аміак).*

Ключові слова: аграрний сектор, земельно-ресурсний потенціал, посівні площі, технічний потенціал, Запорізька область.

Постановка проблеми. Бичкові риби (Gobiidae) є традиційними об'єктами промислу, а також всюди виловлюються рибалками-любителями. Одним з найбільш масових представників цієї родини є бичок-кругляк – *Neogobius melanostomus* (Pallas, 1811). У нього були виявлені потенційно небезпечні для людини гельмінти – *Eustrongylides excisus* (Jägerskiöld, 1909), які здатні заражати ссавців. Тому метою дослідження було визначити фізико-хімічні та мікробіологічні показники м'язової тканини бичкових риб, заражених личинками *E. excisus*.

Аналіз останніх наукових досліджень та публікацій. Нематода *E. excisus* досить поширена в Європі, зокрема, в Румунії, Болгарії, Угорщині, в басейнах Дунаю, Дніпра, Дністра, Волги, а також у Центральній Азії та Китаї. Дефінітивним хазяїном гельмінтів є баклани, в яких вони паразитують у стінці залозистого шлунка [1]. Розвиток *E. excisus* включає двох проміжних хазяїв – риб-бентофагів, що заражаються при поїданні інвазованих збудником олігохет. У рибах личинки локалізуються в черевній порожнині, рідше в стінках кишок, печінки, сім'яниках [2,5]. За результатами досліджень Н. М. Дубініної (1949) личинки *E. excisus* є досить патогенними для риб і часто спричиняють їх масове захворювання та загибель

[1]. Також відмічено, що личинки гельмінтів можуть викликати «безпліддя» у риб. Про це свідчать дослідження, за яких у 34% окунів з дельти Волги виявляли личинки *E. excisus* в яєчниках, внаслідок чого їх нерест не відбувався. За даними В. А. Догеля і Б. О. Биховського (1939) личинки *E. excisus* здатні викликати важкі ураження м'язової тканини в осетрових риб. Відмічено, що у молодих риб у місцях локалізації личинок (у м'язах, на стінках шлунка і кишок) утворюються великі виразки завбільшки з горошину. Крім того, личинки здатні «прошивати» нирки риб у кількох напрямках і викликати майже повне їх руйнування [1].

Відсутні наукові дані щодо впливу зараженості цим видом нематоди та фізико-хімічний склад й загальне мікробне обмінення м'яса риби і ступінь контамінації умовно-патогенною та патогенною мікрофлорою. Тому, враховуючи актуальність даного питання, виникає нагальна необхідність провести відповідні дослідження.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження бичкових риб проводили у відділах ветеринарно-санітарної експертизи, бактеріологічному та хіміко-токсикологічному Миколаївської регіональної лабораторії ветеринарної медицини в 2015 році. Для дослідження з партії бичків-кругляків було відібрано дві групи риби по 5 особин (контрольна група – риба неуражена; дослідна – уражена личинками нематоди *E. excisus*).

Проводили розтин риби та видаляли внутрішні органи. Після огляду внутрішніх органів, досліджували м'язову тканину. У м'язовій тканині виявляли личинок нематоди *E. excisus*. Цей вид нематоди має 12 папіл, що лежать в 2 кола по 6 у кожній. Папілли внутрішнього кола подовжені, пальцеподібні, з розширеною основою. Сосочки зовнішнього кола короткі, з широкою основою, у вигляді горбків з тупими вершинами. Нервово кільце розташоване в 0,09–0,11 мм від головного кінця тіла. Під нервовим кільцем знаходиться 7 цервікальних залоз (дейридів).

Життєздатність личинок перевіряли відразу ж після їх вилучення з риби. Використовували методи механічного та хімічного стимулювання. Для цього ізольованим личинкам робили слабкі уколи голкою або поміщали їх у теплий (35–40 °С) 0,5% розчин трипсину.

Визначали інтенсивність та екстенсивність інвазії.

За фізико-хімічних досліджень робили постановку реакції на пероксидазу (бензидинова проба) реакцію з міді сульфатом, реакцію Неслера та Ебера. Також визначали вміст масової частки вологи, масової частки жиру, величину рН згідно загальноприйнятих методик [6].

Санітарно-мікробіологічні дослідження м'язової тканини риби склалися з проведення як прямих, так і непрямих методів аналізу. Із прямих методів здійснювали мікроскопію мазків-відбитків із поверхневих і глибоких шарів м'язів, пофарбованих за Грамом, а із непрямих – визначали загальну кількість мікроорганізмів за редуцтажною пробою з метиленовим блакитним.

Для бактеріологічного контролю кількість мезофільно-аеробних та факультативно-анаеробних мікроорганізмів (МАФАНМ) визначали за ДСТУ ISO 4833-2006, бактерії групи кишкової палички – згідно з ГОСТ 30518-97, патогенні мікроорганізми, в тому числі і сальмонели – згідно з ДСТУ EN12824:2004, *Staphylococcus aureus* – за ГОСТ 10444. 2-94, *Listeria monocytogenes* – за ДСТУ ISO 11290-1:2003.

Результати досліджень. Для дослідження рибу виловлювали з Дніпро-Бузького лиману (м. Аджигол). Як показали результати досліджень, екстенсивність інвазії нематодами у бичкових риб становила 67%. Кількість личинок нематод, виявлених у рибах, наведена у табл. 1. Всі знайдені личинки були живими. Дослідження проводили двох груп м'язової тканини риб, інвазованих личинками нематоди *E. excisus* і клінічно здорових.

Таблиця 1

Зараженість бичкових риб личинками нематоди *E. excisus*

№ п/п	Вид хазяїна	Інтенсивність інвазії, екз
1	<i>Neogobius fluviatilis</i>	3
2	<i>Neogobius fluviatilis</i>	4
3	<i>Neogobius fluviatilis</i>	2
4	<i>Neogobius fluviatilis</i>	5
5	<i>Neogobius fluviatilis</i>	2

Визначали фізико-хімічні показники у м'язовій тканині риб. Кожний з отриманих показників є середнім значенням трьох реплікацій (табл. 2).

Таблиця 2

Фізико-хімічні показники м'язової тканини бичкових риб

Групи	pH витяжки	Число Неслера	Реакція з 5% CuSO ₄	Бензидинова проба	Реакція на H ₂ S	Реакція за Ебером	Вміст вологи%	Вміст жиру, %
Норма	до 6,9	до 1	-	+	-	-		
Контроль	6,9± 0,6	0,7± 0,04	-	+	-	-	76,9± 0,4	0,6± 0,03
Дослід	7,40± 1,2	0,9± 0,04	±	±	±	±	80,15± 0,06	1,03± 0,01

Примітки: "+" – реакція позитивна; "±" – сумнівна; "-" – реакція негативна;

Відомо, що риба – продукт, який швидко псується в силу різних факторів: стан середовища її існування, санітарні-гігієнічні умови вилову, транспортування, зберігання тощо. Окрім того, фізіологічний стан і захворювання риби також не можуть не впливати на хімічний склад м'яса. Харчова цінність риби, як і м'яса теплокровних тварин, характеризується не лише ступенем та швидкістю перетравлення, а й засвоєнням організмом людини поживних речовин даного продукту. Така цінність продукту полягає у задоволенні потреб людини в поживних і біологічно активних речовинах.

Як показали результати досліджень, величина pH витяжки з м'яса контрольної групи знаходилась в межах норми, тоді як у дослідної групи вона була вище норми і дорівнювала 7,40±1,2. Число Неслера в усіх контрольних і дослідних пробах м'яса риби було в межах норми. Проте, в м'ясі дослідної групи цей показник знаходився біля верхньої межі допустимого рівня. Реакція на пероксидазу у м'ясі бичків була позитивною для контрольної групи, а для дослідної – сумівною. У дослідній пробі м'язів бичків з'являються продукти розпаду білків: сір-

ководень та аміак, які, у свою чергу, призводять до швидкого псування риби. Вміст вологи у контрольному зразку був нижчим на 3,25% порівняно з дослідним, вміст жиру – на 0,7%.

Результати досліджень показали, що м'ясо риби, ураженої личинками нематоди *E. excisus*, відрізняється за хімічними властивостями від м'яса неуразеної риби.

Отже, захворювання риби на еустронгіатоз зумовлює зміни концентрації водневих іонів (рН) та збільшення масової частки вологи і жиру в її м'ясі.

Проводили мікробіологічні дослідження, адже відомо, що мікробне обсіменіння є одним із основних показників санітарної безпеки риби. Ступінь мікробного обсіменіння м'язової тканини риби залежить від умов її зберігання переробки, середовища мешкання та інвазованості різними паразитами [3,4]. У доступній літературі ми не виявили інформації щодо рівня мікробного обсіменіння риби, ураженої личинками нематоди *E. excisus*.

За результатами мікробіологічних досліджень мазків-відбитків, виготовлених із м'язової тканини бичків контрольної та дослідної груп, суттєвих змін не реєстрували. Лише в окремих полях зору поверхневого шару виявляли від 4 до 10 коків та поодинокі паличкоподібні мікроорганізми. В м'язах глибоких шарів риби, в окремих полях зору, знаходили лише поодинокі коки або їх не виявляли зовсім.

Результати бактеріологічного дослідження м'язової тканини бичків наведені у табл. 3.

Таблиця 3

Бактеріологічні дослідження бичкових риб

Групи	МАФАНМ, КУО в 1 г, не більше	БГКП в 0,001	<i>S. aureus</i> в 0,01	<i>L. topocuygenes</i> у 25 г	Патогенні м. о., у т. ч. сальмонели в 25 г
МДР за чинним НД	не >5×10 ⁴	не допускається	не допускається	не допускається	не допускається
Контроль	3,5± 0,08×10 ⁴	не виявлено	не виявлено	не виявлено	не виявлено
Дослід	3,5± 0,06×10 ⁴	не виявлено	не виявлено	не виявлено	не виявлено

Мікробіологічні дослідження показників безпеки рибної продукції методом визначення кількості мезофільно-аеробних та факультативно-анаеробних мікроорганізмів (МАФАНМ) показали, що в м'язовій тканині кругляків контрольної та дослідної груп показник не перевищував допустимих рівнів і склав $3,5 \pm 0,08 \times 10^4$ КУО/г (колонієутворюючих одиниць в 1 г м'язів риби) та $3,5 \pm 0,06 \times 10^4$ КУО/г відповідно. Як видно з даних таблиці, бактерії групи кишкової палички (БГКП), патогенні мікроорганізми, у тому числі, сальмонели, *S. aureus*, *L. monocygenes* у контрольної та дослідної груп не виявлені.

Згідно з вимогами нормативних документів (ДСТУ ISO 4833-2006, ГОСТ 30518-97, ДСТУ EN 12824:2004, ГОСТ 10444.2-94, ДСТУ ISO 11290-1:2003), наявність патогенних мікроорганізмів у тому числі сальмонел, *S. aureus* і *L. monocygenes* не допускається. Проби м'яса бичків відповідали вказаним стандартам.

Зазначимо, що частина проведених експериментів допомогла нам виявити ряд змін при ураженні риби личинками нематоди *E. excisus*. Встановлено, що у бичкових риб при ураженні *E. excisus* екстенсивність інвазії становила 67%, інтенсивність – від двох до п'яти гельмінтів на одну особину. У зв'язку з тим, що всі виявлені паразити були живі, така риба може бути, як джерелом інвазування інших риб, так і небезпечною для харчування людей. Оскільки залишається спірним питання про можливість зараження людини *E. excisus*. Крім того, відомо, що важкі метали, що поступають в зовнішнє середовище у великих кількостях, спричиняють шкідливу дію на живі організми. Вони мають не лише токсичну дію, а й властивість накопичуватися (акумуляуватись) в організмі гідробіонтів у більш високих концентраціях порівняно з їх вмістом у водному середовищі. Також, в організмі ураженої риби може накопичуватися у великих кількостях гістамін, досягаючи в деяких випадках токсичних рівнів, тому шкода здоров'ю людини від вживання ураженої риби може бути досить значною. Саме тому ми плануємо додатково провести гістологічні та хімічні дослідження ураженої риби.

Висновки. 1. Встановлено підвищення концентрації водневих іонів та масової частки вологи і жиру у м'язовій тканині бичкових риб, уражених личинками нематоди *E. excisus*.

2. У м'ясі риби, ураженої личинками нематоди *E. excisus*, реєструється наявність продуктів розпаду білків (сірководень і аміак).

3. Зараженість бичкових риб личинками нематоди не впливає на рівень загального мікробного обсіменіння та бактеріологічні показники.

Перспективи подальших досліджень. Перспективою є додаткові гістологічні та хімічні дослідження м'яса риби, ураженої личинками нематоди *E. excisus*.

Список використаних джерел:

1. Карманова Е. М. Диоктофимидеи животных и человека и вызываемые ими заболевания. Основы нематодологии / Е. М. Карманова – М. : Наука, 1968. – Т. 20. – 262 с.
2. Манило Л. Г. Бычковые рыбы (Gobiidae, Perciformes) северо-западной части Черного моря и прилегающих лиманных экосистем / Л. Г. Манило // Зб. праць зоол. музею. – 2009. – № 40. – С. 19–46.
3. Петрухина А. Г. Микробиология сырья и продуктов из гидробионтов : Учебное пособие по дисциплине «Микробиология» спец. 271000 «Технология рыбы и рыб. продуктов и направление 552400 «Технология продуктов питания» (Праці / Мурман. гос. теск. ун-т) / А. Г. Петрухина – Мурманск, 1999. – 119 с.
4. Сафронова Т. М. Сырье и материалы рыбной промышленности / Т. М. Сафронова – М. : Агропромиздат, 1991. – 191 с.
5. Чернышенко А. С. Паразитофауна рыб Днестровского лимана // Науч. ежегод. Одесск. ун-та / А. С. Чернышенко – 1960. – № 2. – С. 120–127.
6. Міждержавні стандарти: каталог: в 3 т. [за заг. ред. Куртяка Б. М., Сімонова Р. П.]. – Львів : НІЦ «Леонорм», 2000. – Риба охолоджена. Технічні умови (Ветеринарно-санітарна експертиза продуктів в Україні. Нормативні документи) – Т. 2. – С. 240–243.

*О. А. Моргун, Н. М. Сорока. Физико-химические и микробиологические исследования рыбы, пораженной личинками нематоды **Eustrongylides excisus**.*

*Приведены изменения физико-химических и микробиологических показателей мышечной ткани рыб, пораженных личинками **Eustrongylides excisus**. Установлена повышенная концентрация водородных ионов и массовой части влаги и жира в мышечной ткани рыб. Также в мясе рыбы, пораженной личинками нематоды **E. excisus**, обнаружено наличие продуктов распада белков (сероводорода и аммиака).*

Ключевые слова: бычковые рыбы, личинки *Eustrongylides excisus*, мышечная ткань.

O. Morgun, N. Soroka. **Physico-chemical and microbiological examination of fish affected by the larvae of the nematode *Eustrongylides excicus*.**

Two groups of Gobiidae underwent physico-chemical and microbiological research with 5 specimen in each of them (a control group containing healthy fish and an experimental group-infested with nematodes E. excises). Changes in moisture, fat and concentration of hydrogen ions were revealed. The results of microbiological research taken from Gobiidae muscular tissue impression smears from both control and experimental groups didn't reveal any valuable changes. While conducting Bacteriological research of bacteria E. coli in control and experimental groups no trace of pathogenic microorganisms were found as well as salmonella S. aureus,

L. monocygenes. The quantity of mesole-aerobic and facultative anaerobic microorganisms equaled to $3,5 \times 10^4$ in both groups. Therefore, the research revealed high percent of Gobiidae infestation with parasite E. excises (the intensity of invasion was 67%) which first of all tampers with quality of material. Because of the fact that all the revealed parasites were alive, consuming this fish could be dangerous. Further study as well as histological and chemical analysis are necessary although the intensity of fish infestation in 2 to 5 parasites didn't alter bacteriological and physico-chemical indexes of quality

Key words: *Gobiidae, larvae of Eustrongylides excicus, muscle tissue.*