

СПРАВОЧНИК



ЛАБОРАТОРНЫЕ
ИССЛЕДОВАНИЯ
В ВЕТЕРИНАРИИ



БАКТЕРИАЛЬНЫЕ
ИНФЕКЦИИ

СПРАВОЧНИК
•
ЛАБОРАТОРНЫЕ
ИССЛЕДОВАНИЯ
В ВЕТЕРИНАРИИ
•
БАКТЕРИАЛЬНЫЕ
ИНФЕКЦИИ

Под редакцией Б. И. АНТОНОВА



МОСКВА АГРОПРОМИЗДАТ 1986

ББК 48.73

Л 12

УДК 619:616.9—08 (031)

Составители: *Б. И. Антонов, В. В. Борисова, П. М. Волкова, Л. П. Каменева, Л. В. Кошеленко, Г. А. Михальский, В. В. Поповцев, Л. И. Прянишникова, В. Е. Храпова*

Лабораторные исследования в ветеринарии. Бактериальные инфекции: Справочник/Сост. Б. И. Антонов, В. В. Борисова, П. М. Волкова и др.; Под ред. Б. И. Антонова.— М.: Агропромиздат, 1986.— 352 с.

В книге даны методы лабораторных исследований патологического материала с целью определения возбудителя инфекционной болезни. Они изложены по единой схеме: бактериологические и бактериоскопические исследования, биопроба, идентификация и дифференциация возбудителей. Методы унифицированы и стандартизированы

Для ветврачей и фельдшеров, лаборантов ветеринарных лабораторий.

Л $\frac{3805020000-079}{035(01)-86}$ 305—86

ББК 48.73

ПРЕДИСЛОВИЕ

В деле выполнения решений партии и правительства по дальнейшему развитию животноводства, а также задач, поставленных Продовольственной программой страны, ветеринарной службе большую помощь оказывают ветеринарные лаборатории.

Ветеринарные лаборатории осуществляют диагностику инфекционных и паразитарных болезней животных, выявляют нарушения обмена веществ в их организме, проводят исследования, направленные на предупреждение отравлений, помогая тем самым специалистам совхозов, колхозов и других хозяйств успешно осуществлять лечебно-профилактические мероприятия. От того, насколько своевременно ставится диагноз, разработаны и рекомендованы профилактические и лечебные меры, зависит успех ликвидации болезней, сохранность поголовья животных и повышение их продуктивности.

Последнее время в лабораториях появилось много приборов и приспособлений, облегчающих труд специалистов и позволяющих проводить исследования на более современном и качественном уровне, с большой достоверностью. В связи с этим многие ранее действовавшие методические указания переработаны.

Кроме того, ежегодно для лабораторной практики предлагаются новые методы диагностики. В отечественной и зарубежной литературе постоянно публикуется большое количество материалов о новых методах исследований, предлагаются различные модификации существующих методик, вводятся дополнительные диагностические тесты.

Ветеринарные лаборатории в своей работе не могут использовать всего многообразия имеющихся в литературе методов исследования или из-за того, что они недостаточно апробированы, или из-за сложности применяемого оборудования. Иногда методы, предлагаемые различными авторами, при определении одних и тех же показателей дают несопадающие результаты.

В связи с этим в справочник включены методы лабораторных исследований патологического материала, получаемого от больных, убитых или павших сельскохозяйственных животных, апробированные Центральной ветеринарной лабораторией и утвержденные Главным управлением ветеринарии Министерства сельского хозяйства СССР. Книга содержит методические указания по диагностике инфекционных болезней бактериальной этиологии, а также методические указания по применению культур клеток в диагностических исследованиях.

Методики изложены по единой схеме: взятие и пересылка патологического материала, методы его обработки и обогащения; бактериоскопические исследования, включая световую и люминесцентную микроскопию; выделение культур возбудителей инфекционных болезней на питательных средах; заражение лабораторных животных как с целью выделения чистой культуры возбудителя, так и определения степени ее патогенности; гистологические исследования; идентификация и дифференциация возбудителей с использованием различных методов; серологические исследования для определения вида возбудителя.

Приведенные в справочнике методы лабораторных исследований унифицированы и стандартизированы. В широком смысле слова унификация и стандартизация подразумевают применение для различных исследований одних и тех же аппаратов, приборов, инструментов, посуды, реактивов, исключая, конечно, специальные методы исследования; применение стандартных (унифицированных) питательных сред и диагностикумов; разработку методических указаний по единой форме. Все это позволяет лабораторным работникам с меньшей затратой сил и средств, на высоком методическом и техническом уровне, качественно и в срок проводить диагностические исследования. Таким образом, стандартизация методов исследования является способом наведения строгого порядка в работе ветеринарных лабораторий.

Книга предназначена для ветеринарных врачей, фельдшеров, а также лаборантов ветеринарных диагностических лабораторий.

В справочник не вошли материалы по диагностике туберкулеза, так как они пересматриваются и дополняются, поэтому их публикация будет осуществлена в последующих изданиях.

НАСТАВЛЕНИЕ ПО ПРИМЕНЕНИЮ ГИДРОЛИЗАТА МЫШЕЧНЫХ БЕЛКОВ ФЕРМЕНТАТИВНОГО СУХОГО (ФГМ-С) ДЛЯ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ТКАНЕВЫХ КУЛЬТУР

(Утверждено Главным управлением ветеринарии
Минсельхоза СССР 23 июля 1980 г., согласовано
с Главным управлением научно-исследовательских
и экспериментально-производственных учреждений
и Главным управлением биологической промышленности
Минсельхоза СССР)

1. Общие положения.

1.1. Сухой ферментативный гидролизат мышечных белков (ФГМ-С) используют для приготовления питательных сред с целью выращивания *in vitro* клеток и вирусов животных. ФГМ-С содержит 18 аминокислот, необходимых для жизнедеятельности клеток. По набору и количественному содержанию аминокислот ФГМ-С не уступает импортному гидролизату лактальбумина (ГЛА).

1.2. ФГМ-С представляет собой продукт расщепления мышечной ткани крупного рогатого скота до свободных аминокислот и пептидов в результате гидролиза ферментами поджелудочной железы или панкреатином.

1.3. Срок годности ФГМ-С в герметически закрытых емкостях при температуре 4—18°C — 3 года, а в полиэтиленовых пакетах — 2 года со дня изготовления.

2. Приготовление питательной среды.

2.1. Питательную среду с ФГМ-С для выращивания клеток и вирусов животных готовят на любом сбалансированном солевом растворе по методикам, описанным в соответствующих руководствах по приготовлению среды с импортным гидролизатом лактальбумина (среда ГЛА).

Питательная среда с ФГМ-С применяется для выращивания однослойных культур различных клеток животного происхождения (первичных, субкультур и перевиваемых) и размножения в них вирусов.

2.2. Для приготовления питательных сред с ФГМ-С используют химически чистые соли и свежеприготовленную деминерализованную воду (сопротивление не менее $1,0 \cdot 10^7$ Ом). В качестве примера приведена пропись приготовления питательной среды с ФГМ-С на солевом растворе Хенкса, г/л: NaCl — 8,0; K_2HPO_4 — 0,06; $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ — 0,06; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,1; KCl — 0,4; $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ (глюкоза) — 1,0; $\text{MgCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ — 0,1; CaCl_2 (безводный) — 0,14; фенолрот (водорастворимый) — 0,02; стрептомицинсульфат — 0,1; пенициллина натриевая соль — 100 000 ЕД; ФГМ-С — 2,5; вода деминерализованная — до 1 л. Соли растворяют в последовательности, указанной в прописи. Последующие соли добавляют только после полного растворения предыдущих. Кальций хлористый и магний хлористый добавляют в виде предварительно приготовленных концентрированных (60—80 и 40%-ные соответственно) титрованных растворов до конечной концентрации, указанной в прописи. Антибиотики также растворяют отдельно и добавляют к смеси при постоянном перемешивании. Затем добавляют ФГМ-С. После полного растворения ФГМ-С устанавливают рН 6,6—6,8 с помощью 0,1 н. раствора NaOH или HCl, а затем добавляют NaHCO_3 до рН 7,0 — 7,2.

Питательную среду стерилизуют фильтрованием через любые стерилизующие пластины (СФ, ЕКС-2 или миллипор) при положительном

давлении ($P=0,4-1,0$ атм). Перед фильтрованием пластины (СФ; ЕКС-2) промывают деминерализованной водой (2 л на одну пластину диаметром 300 мм), а затем средой (1 л на одну пластину). После удаления промывной жидкости приступают к фильтрованию среды. При использовании фильтров миллипор пластины предварительно промывают. Однако рекомендуется первую порцию фильтрата (1% объема фильтруемой среды) отбросить. Перед стерилизующими пластинами необходимо помещать префильтры (согласно инструкции).

Приготовленную таким образом питательную среду проверяют на стерильность.

2.4. Питательную среду с ФГМ после стерилизации фильтрованием и расфасовки по флаконам (бутылям) выдерживают для контроля на бактериальный пророст при $36-37^{\circ}\text{C}$ в течение 5 сут, а затем при комнатной температуре в течение 10 сут. Кроме того, с той же целью высевают питательную среду на МПА, МПБ, которые выдерживают при $36-37^{\circ}\text{C}$ 10 сут. При отсутствии контаминации питательная среда считается пригодной и используется в работе.

2.5. Готовая среда с ФГМ-С представляет собой прозрачную жидкость красновато-оранжевого цвета с рН 7,0—7,2.

Для выращивания клеток животных вне организма к питательной среде добавляют 5—10% стерильной сыворотки крови необходимого вида животных (крупного рогатого скота, телят, свиней и т. д.).

2.6. Срок годности готовой питательной среды при $4-6^{\circ}\text{C}$ — 6 мес, при $16-20^{\circ}\text{C}$ — 1—2 мес.

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

- Агар** глюкозо-кровяной 227
— дрожжевой 27
— картофельный 82
— кровяной 230
— молочно-солевой 228
— мясо-пептонный печеночно-глюкозо - глицериновый (МППГГА) 82
— печеночно-аминопептидный 85
— печеночно-глюкозо-глицериновый (ПГГА) 82
— плотный печеночно-сывороточный 85
— полужидкий печеночно-сывороточный 85
— полужидкий с дефибрированной кровью 248
— сывoroточно-декстрозный 85
— шоколадный 239
- Бульон** глюкозо-сывороточный 227
— дрожжевой 27
— мясо-пептонный печеночный (МППБ) 82
— печеночно-глюкозо-глицериновый 82
— с желчью 10%-ный 186, 227
— 40%-ный 230
- Вода** мясная 82
— печеночная 82
- Выбор** питательных сред 271
- Гель** агаровый 1%-ный 31
- Дезагрегация** ткани 314
- Жидкость** Карнуа 309
- Индикатор** для определения анаэробных условий 39
- Консервирующая** смесь глицериновая 185
— — фосфатная буферная 185
- Лизис** желчью 225
- Метод** выявления капсулообразования 13, 14
— определения вирулентности сибиреязвенных культур 14
— флуоресцирующих антител (МФА) 180
- Молоко** с метиленовым синим 228
— с 0,02%-ным метиленовым синим 230
- Обнаружение** индола 217
- Окраска** мазков гематоксилин-эозином 309
— — по Козловскому 81
— — по методу Гисса 239
— — по Романовскому — Гимзе 309
— — по Стампу 81
— — по Фельгену 309
— — по Шуляку — Шину 82
- Определение** гемолитической активности 8
— концентрации углекислого газа 85
- Получение** и подготовка эритроцитов барана для постановки РСК и РДСК 86
- Приготовление** индикаторных бумажек 187
- Раствор** антибиотиков 272
— веронал-мединаловый буферный 329
— версена 282
— гидролизата лактоальбумина 0,5%-ный 283
— гидролизата мышечных белков 0,3%-ный 282
— глицерина 216
— двууглекислого натрия 282
— двухромовокислого калия 279
— полиэтиленгликоля 326
— Тирода 281
— трипсина 283
— уксусной кислоты 282

- физиологический хлорида натрия с добавлением ионов магния и кальция (для постановки РСК и РДСК) 86
- Хенкса 281
- хлорида натрия фенолизированные для РА 86
- Реактив биуретовый 328
- йодистый калий 328
- Реакция диффузной преципитации в геле 333
- с метилротом 218
- нейтрализации с целью выявления антител к вирусу инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи 332
- непрямо́й гемагглютинации (РПГА) 332
- преципитации 8
- связывания комплемента (РСК) 334
- торможения гемагглютинации (РТГА) 332
- Фогеса — Проскауэра 218
- Эрлиха 181
- метиленового синего 226
- Среда Биттера с рамнозой 187
- водо-сывороточная 145
- дифференциальная висмут-сульфат-агар 186
- — Левина 186
- — Плоскирева 186
- — трехглицеродная с мочевиной 186
- — Эндо 186
- для обнаружения сероводорода 216
- для определения способности бактерий расщеплять мочевину 218
- для посева по Свену — Гарду 187
- Дюбуа — Смита 90
- Заксе 243
- Игла 282, 324
- из гидролизата мышцы сердца крупного рогатого скота 252
- из куриного мяса 260
- Кларка 218
- Клиглера 217
- комбинированная Олькеницкого 216
- Мартена 251, 260
- плотная ВИЭВ для изоляции кампилобактерий 125, 126
- сафранино-железо-новобициновая 123, 124
- Симмонса 216
- с лактозой 252
- с повышенным содержанием лактозы 187
- с теллури́том калия 228
- триптический перевар бычьего сердца 337
- Ферворта — Вольфа в модификации С. И. Тарасова 146
- Флетчера 146
- 6,5%-ного хлорида натрия 228
- Хоттингера 259
- Эдварда 258
- энтерококковая дифференциально-диагностическая 228
- Среды индикаторные с амидо-черным 168
- — с конгоротом 168
- — с лакмусом 167
- — с метилротом 167
- — с нейтральротом и метиленовой синью 167
- — обогащения Кауфмана 186
- — Киллиана 186
- — Мюллера 186
- — селенитовая 185
- плотные питательные 252
- Тест «жемчужного ожерелья» 6,7
- Фаготипирование 17—28
- Экстракт дрожжевой 252
- Эритрит-агар 85

СОДЕРЖАНИЕ



Предисловие	3
Методы диагностики бактериальных инфекций	5
Сибирская язва	5
Методические указания по лабораторной диагностике сибирской язвы	5
Методические указания по обнаружению возбудителя сибирской язвы в сырье животного происхождения и объектах внешней среды	9
Временное наставление по применению сибирезвенового бактериофага «К» ВИЭВ для определения возбудителя сибирской язвы	17
Временное наставление по применению сибирезвенового фага «Гамма-МВА» для определения возбудителя сибирской язвы	28
Временные методические указания по постановке реакции диск-преципитации при диагностике сибирской язвы и идентификации ее возбудителя	29
Наставление по исследованию кожевального и мехового сырья на сибирскую язву реакцией преципитации	31
Эмфизематозный карбункул	37
Методические указания по лабораторной диагностике эмфизематозного карбункула	37
Злокачественный отек	40
Методические указания по лабораторным исследованиям на злокачественный отек животных	40
Брадат овец	44
Методические указания по лабораторной диагностике брады овец	44
Инфекционная энтеротоксемия животных и анаэробная дизентерия ягнят	48
Методические указания по лабораторной диагностике инфекционной энтеротоксемии животных и анаэробной дизентерии ягнят	48
Столбняк	52
Методические указания по лабораторной диагностике столбняка	52
Ботулизм	53
Методические указания по лабораторной диагностике ботулизма	53
Некробактериоз	56
Методические указания по лабораторной диагностике некробактериоза	56
Копытная гниль овец и коз	58
Приложение к «Инструкции по профилактике и ликвидации копытной гнили овец и коз»	58

	Временные методические указания по обнаружению возбудителя опытной гнили в патологическом материале от больных овец с помощью непрямого метода иммунофлуоресценции	59
Бруцеллез		60
	Наставление по диагностике бруцеллеза животных	60
Паратуберкулез		89
	Наставление по диагностике паратуберкулезного энтерита (паратуберкулеза) крупного рогатого скота	89
	Методика обнаружения в патологическом материале возбудителей туберкулеза и паратуберкулеза методом люминесцентной микроскопии	92
	Временное наставление по постановке реакции связывания комплемента для диагностики паратуберкулеза крупного рогатого скота и овец с антигеном Сибирского научно-исследовательского ветеринарного института	94
Сап		104
	Методические указания по лабораторной диагностике сапа	104
Кампилобактериоз (вibriоз)		112
	Извлечение из временной инструкции по диагностике, профилактики и ликвидации вibriоза крупного рогатого скота и овец	112
	Наставление по применению вibriозных агглютинирующих моноспецифических сывороток	116
	Наставление по применению кампилобактериозных (вibriозных) люминесцирующих сывороток при лабораторной диагностике кампилобактериоза (вibriоза) животных	120
	Рекомендации Центральной ветеринарной лаборатории по приготовлению и применению сафранино-жел зо-новобиоциновой среды (СЖН) при лабораторной диагностике вibriоза	123
	Временные рекомендации Центральной ветеринарной лаборатории по приготовлению и применению плотной среды ВИЭВ для изоляции кампилобактерий	125
	Наставление по применению кампилобактериозного (вibriозного) антигена для реакции агглютинации с вагинальной слизью (РАВС)	126
Лептоспироз		128
	Методические указания по лабораторной диагностике лептоспироза животных	128
	Методические указания по применению групповых агглютинирующих лептоспирозных сывороток	146
	Методические указания по применению флуоресцирующего глобулина для диагностики лептоспироза	148
Листерииоз		151
	Наставление по лабораторной диагностике листериоза животных	151
	Методические указания по применению набора лиофилизированных бактериофагов для идентификации возбудителя листериоза	169
Рожа свиней		170
	Методические указания по лабораторным исследованиям на рожу свиней	170
	Наставление по применению сухих рожистых люминесцирующих сывороток (для прямого метода иммунофлуоресценции)	173

Пастереллез	175
Наставление по лабораторной диагностике пастереллеза птиц	175
Сальмонеллезы	177
Методические указания по бактериологической диагностике сальмонеллезов животных	177
Наставление по применению наборов сывороток сальмонеллезных О-комплексных и монорецепторных О- и Н-агглютинирующих для экспресс-идентификации сальмонелл в РА на стекле	192
Наставление по применению комплексной и групповых сальмонеллезных флуоресцирующих сывороток (для прямого метода иммунофлуоресценции)	195
Временная методика серологической диагностики сальмонеллеза овец в реакции непрямой (пассивной) гемагглютинации (РНГА)	205
Наставление по применению серогрупповых антигенов и сывороток В, С ₁ и D ₁ для диагностики сальмонеллеза в пробирочной реакции агглютинации (РА)	207
Колибактериоз	209
Методические указания по бактериологической диагностике колибактериоза (эшерихиоза) животных	209
Наставление по применению агглютинирующих О-количесывороток	218
Диплококковые заболевания	221
Методические указания по лабораторным исследованиям на пневмококковую (диплококковую) инфекцию животных	221
Стрептококкозы сельскохозяйственных животных	224
Методические указания по лабораторной диагностике стрептококкоза животных	224
Методические указания по лабораторной диагностике стрептококковой септицемии птиц	228
Методические указания по лабораторной диагностике стрептококкового полиартрита ягнят	230
Методические указания по лабораторной диагностике мыта	233
Псевдомоноз	235
Временное наставление по применению набора О-агглютинирующих сывороток для диагностики псевдомоноза	235
Гемофилезы	237
Временные методические указания по лабораторной диагностике гемофилезного полисерозита свиней	237
Временные методические указания по лабораторной диагностике гемофилезной плевропневмонии свиней	240
Методические указания по лабораторной диагностике контактиозного метрита лошадей	243
Микоплазмозы	248
Методические указания по лабораторной диагностике инфекционной агалактии овец и коз	248
Методические указания по лабораторной диагностике инфекционной плевропневмонии коз	253
Наставление по диагностике респираторного микоплазмоза птиц	257
Реакция агглютинации для диагностики респираторного микоплазмоза птиц с цельной кровью (ККРА) и сывороткой крови (СКРА)	264

Наставление по постановке РСК при перипневмонии крупного рогатого скота	265
Дизентерия свиней	268
Методические указания по лабораторным исследованиям на дизентерию свиней, вызываемую трепонемой	268
Методические указания по определению чувствительности к антибиотикам возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных животных	270
Методические указания по применению культур клеток в диагностических исследованиях	279
Методические рекомендации по получению, культивированию и использованию в научных и производственных ветеринарных лабораториях первичных, перевиваемых и диплоидных культур клеток животного происхождения	279
Наставление по применению гидролизата мышечных белков ферментативного сухого (ФГМ-С) для питательных сред тканевых культур	298
Рекомендации по профилактике, диагностике контаминирования культур клеток микроорганизмами и меры по их деконтаминации	299
Методические указания по получению и применению в вирусологической практике перевиваемых линий клеток из лимфоидных органов крупного рогатого скота и почек телят	314
Методические рекомендации по очистке сыворотки крови крупного рогатого скота, используемой для культивирования клеточных культур	326
Временное наставление по получению, контролю и использованию сыворотки крови животных для культивирования клеток и вирусологических исследований	337
Предметный указатель	347

ЛАБОРАТОРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ВЕТЕРИНАРИИ: Бактериальные инфекции

Составители: *Борис Иванович Антонов,*
Валерия Валентиновна Борисова, Галина Михайловна Волкова и др.

Заведующий редакцией *В. Г. Федотов.* Редактор *В. Н. Сайтаниди.*
Художник *А. И. Бершачевская.* Художественный редактор *М. Д. Северина.* Технический редактор *Е. В. Соломович.* Корректоры *Н. Я. Турманова, Т. Н. Бобрикова, М. В. Писарева*

ИБ № 4308

Сдано в набор 13.06.85. Подписано к печати 06.12.85. Т-22156. Формат 84×108^{1/32}. Бумага тип. № 3. Гарнитура литературная. Печать высокая. Усл. печ. л. 18,48. Усл. кр.-отг. 18,48. Уч.-изд. л. 27,27. Изд. № 360 Тираж 29000 экз. Заказ № 419. Цена 1 р. 40 к.

Ордена Трудового Красного Знамени ВО «Агропромиздат», 107807, ГСП, Москва, Б-53, ул. Садовая-Спасская, 18

Набрано в ордена Октябрьской Революции и ордена Трудового Красного Знамени МПО «Первая Образцовая типография имени А. А. Жданова» Союзполиграфпрома при Государственном комитете СССР по делам издательств, полиграфии и книжной торговли: 113054, Москва, Валовая, 28

Отпечатано с матриц во Владимирской типографии Союзполиграфпрома при Государственном комитете СССР по делам издательств, полиграфии и книжной торговли, 600000, г. Владимир, Октябрьский проспект, д. 7.