

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 $\frac{380502000-079}{035 (01)-86}$ 305—86

ББК 48.73

© ВО «Агропромиздат», 1986

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 несоответствующие 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 явится 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.

СТОЛБНЯК

Методические указания по лабораторной диагностике столбняка

(Утверждены Главным управлением ветеринарии
Минсельхоза СССР 2 февраля 1983 г.)

1. Общие положения.

1.1. Столбняк — острая инфекционная болезнь животных, вызываемая токсином возбудителя *Cl. tetani* и характеризующаяся судорожными сокращениями мускулатуры.

Возбудитель — строгий спорообразующий анаэроб, представляет собой тонкую грамположительную палочку с закругленными концами и концевым расположением спор.

1.2. Диагноз на столбняк ставят на основании клинических признаков, а также результатов лабораторных исследований.

1.3. Для исследования в лабораторию направляют раневую секрет, кусочки ткани, которые берут из глубоких слоев мест поражения. Для этого подозрительные места освобождают от грязи, обрабатывают спиртом, затем стерильными инструментами делают глубокий разрез и извлекают кусочки пораженной ткани.

От павших животных, кроме материала из мест поражения, берут кровь (5—10 мл), кусочки печени и селезенки.

1.4. Лабораторные исследования проводят в двух направлениях — обнаружение токсина и выделение культуры возбудителя с последующей проверкой ее токсичности.

2. Обнаружение токсина.

2.1. Исследуемый материал растирают со стерильным песком в стерильной ступке, заливают физиологическим раствором в двойном объеме и делят на две части. Одну часть используют для выделения возбудителя; вторую оставляют при комнатной температуре на 1 ч для экстрагирования токсина, после чего ее фильтруют через ватно-марлевый или бумажный фильтр.

2.2. Фильтратом заражают подкожно в заднюю лапку 2—3 белых мышей массой 16—18 г в дозе 0,5—1 мл или двух морских свинок массой 300—350 г в дозе 3—5 мл.

2.3. При наличии в исследуемом материале столбнячного токсина через 48—96 ч у зараженных животных развиваются признаки заболевания, характеризующиеся тетаническими сокращениями мышц, вначале отдельных групп, затем всей мускулатуры. Животные погибают в характерной позе с вытянутыми лапками и искривлением позвоночника в сторону лапки, в которую вводили материал.

2.4. Срок наблюдения за зараженными животными — до 10 дн.

2.5. При обнаружении в исследуемом материале столбнячного токсина дальнейшую работу по выделению культуры не проводят.

3. Выделение культуры возбудителя.

3.1. Патологический материал, подготовленный, как указано в п. 2.1, высевают на среду Китта — Тароцци (рН 7,2—7,4) с добавлением 0,5% глюкозы. Среду перед посевом и добавлением глюкозы подвергают регенерации, для этого ее прогревают в кипящей водяной бане в течение 15—30 мин, после чего быстро охлаждают до 45—50°C.

Посевы лучше делать во флаконы емкостью 100—250 мл, которые

на две трети заполняют питательной средой. Толщина слоя масла должна быть не менее 0,5 см.

Каждый материал высевают не менее чем в две пробирки или два флакона, один из которых после засева прогревают при температуре 100°C в течение 1 ч. Одновременно делают посев в МПБ и на МПА для контроля на контаминацию материала аэробной микрофлорой.

3.2. Посевы инкубируют в термостате при 37—38°C.

На среде Китта — Тароцци возбудитель столбняка образует интенсивную муть с незначительным газообразованием. Через 48—72 ч наступает просветление бульона, на дне пробирки образуется осадок. Культура издает своеобразный запах жженого рога.

В мазках из культур обнаруживают тонкие грамположительные палочки с круглыми концевыми спорами, так называемые барабанные палочки.

3.3. При получении в первичных посевах характерного роста и обнаружении палочек, морфологически сходных с *Cl. tetani*, культуры выдерживают в термостате и на 4—5-е сутки определяют наличие в них токсина. Исследуемую культуру вводят белым мышам или морским свинкам, как указано в п. 2.2.

3.4. При необходимости выделения чистой культуры возбудителя столбняка первичный посев прогревают в течение 20 мин при 80°C или 2—3 мин при 100°C и делают дробный посев на чашки Петри с кровяным агаром Цейслера. Чашки помещают в микроанаэроаг. Учитывая, что возбудитель столбняка — строгий анаэроб, разрежение воздуха должно быть не выше 4—5 мм рт. ст. Через 2—4 дня культивирования посевы просматривают и отбирают характерные колонии.

На кровяном агаре *Cl. tetani* образует нежные колонии с отростками и приподнятым центром, иногда мелкие круглые колонии. Встречаются отдельные колонии, окруженные зоной гемолиза.

4. Диагноз считается установленным:

при обнаружении столбнячного токсина в исследуемом материале (без выделения культуры);

при выделении из патологического материала культуры со свойствами, характерными для возбудителя столбняка, продуцирующей токсин.

5. Срок исследования — до 15 дн.

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

- Агар** глюкозо-кровяной 227
— дрожжевой 27
— картофельный 82
— кровяной 230
— молочно-солевой 228
— мясо-пептонный печеночно-глюкозо - глицериновый (МППГА) 82
— печеночно-аминопептидный 85
— печеночно-глюкозо-глицериновый (ПГА) 82
— плотный печеночно-сывороточный 85
— полужидкий печеночно-сывороточный 85
— полужидкий с дефибринированной кровью 248
— сывороточно-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 Гинса 239
— — по Романовскому — Гимзе 309
— — по Стампу 81
— — по Фельгену 309
— — по Шуляку — Шину 82
- Спределение** 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
— Тироде 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 фенолезированные 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
- водно-сывороточная 145
- дифференциальная висмут-сульфат-агар 186
- — Левина 186
- — Плоскирева 186
- — трехуглеводная с мочевиной 186
- — Эидо 186
- для обнаружения сероводорода 216
- для определения способности бактерий расщеплять мочевины 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
- Кляггера 217
- комбинированная Олькеницкого 216
- Мартена 251, 260
- плотная ВИЭВ для изоляции кампилобактерий 125, 126
- сафранино-железо-новобиоциновая 123, 124
- Симмонса 216
- с лактозой 252
- с повышенным содержанием лактозы 187
- с теллуридом 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 сибиреязвенного бактериофага «К» ВИЭВ для определения возбудителя сибирской язвы | 17 |
| Временное наставление по применению сибиреязвенного 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 кожевенного 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 |
| Брадзот овец | 44 |
| Методические указания по лабораторной диагностике брадзота 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 копытной гнили в патологическом материале от больных овец с помощью непрямого метода иммуофлуоресценции | 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, профилактике 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-железо-новобициновой 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 |
| Листериоз | 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 иммуофлуоресценции) | 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 сальмонеллы 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 (РИГА) | 205 |
| Наставление по применению серогрупповых антигенов и сывороток В, С ₁ и D ₁ для диагностики сальмонеллеза в пробирочной реакции агглютинации (РА) | 207 |
| Колібактериоз | 209 |
| Методические указания по бактериологической диагностике колібактериоза (энтерихиоза) 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 плевронеумонии свиней | 240 |
| Методические указания по лабораторной диагностике контактного метрита лошадей | 243 |
| Микоплазмы | 248 |
| Методические указания по лабораторной диагностике инфекционной агалактии овец и коз | 248 |
| Методические указания по лабораторной диагностике инфекционной плевронеумонии 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 |
| | 351 |

| | |
|--|-----|
| 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 теленка | 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. Туманова, 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. 18,18. Усл. кр.-отт. 18,48. Уч.-изд. л. 27,27. Изд. № 360. Тираж 20000 экз. Заказ № 419. Цена 1 р. 40 к.

Ордена Трудового Красного Знамени ВО «Агрпроминдуст», 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 издательства, полиграфии и книжной торговли: 113054, Москва, Валовая, 28

Отпечатано с матриц во Владимирской типографии Союзполиграфпрома при Государственном комитете СССР по делам издательства, полиграфии и книжной торговли, 600090, г. Владимир, Октябрьский проспект, д. 7.