

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.

**Методические указания
по лабораторной диагностике
стрептококкового полиартрита ягнят**

(Утверждены Главным управлением ветеринарии
Минсельхоза СССР 3 марта 1980 г.)

1. Общие положения.

1.1. Лабораторная диагностика стрептококкового полиартрита ягнят основана на обнаружении возбудителя в содержимом пораженных суставов, спинномозгового канала и внутренних органах.

1.2. Возбудитель болезни — стрептококк. По антигенной структуре является серовариантом *Str. disgalactiae* (семейство *Streptococcaceae*, род *Streptococcus*, Bergey, 1974), содержит групповой специфический полисахарид группы С. Его особенности — наличие капсулы, требовательность к питательным средам (хорошо растет только на средах, обогащенных сывороткой крови и глюкозой), изменчивость при переходе болезни в хроническую форму, которая позднее наступает у микроорганизмов, локализованных в суставах.

1.3. Для исследования в лабораторию направляют патологический материал от 2—3 живых, или убитых с диагностической целью, или павших животных. Трупы ягнят можно направлять целиком.

Материалом для исследования служит содержимое пораженных суставов, спинномозгового канала, собранное в стерильные пробирки, предлопаточные и подколенные лимфатические узлы, печень, селезенка, почка, кровь сердца.

Для прижизненной диагностики берут содержимое пораженных суставов. С этой целью на месте пункции опухшего сустава выстригают шерсть, кожный покров обрабатывают дезинфицирующим раствором. Затем стерильным шприцем с иглой большого диаметра делают пункцию сустава, отсасывают жидкость и переносят ее в стерильную пробирку. От каждого животного патологический материал помещают в отдельную пробирку, закрывают стерильной резиновой пробкой и отправляют в лабораторию.

Патологический материал должен быть свежим, получен от животных с признаками острого течения болезни, не подвергавшихся лечению.

1.4. Исследование патологического материала заключается в микроскопии мазков из него, выделении культуры возбудителя на обогащенных средах, идентификации ее и при необходимости заражения животных.

При первоначальном установлении диагноза в местности, ранее благополучной по стрептококковому полиартриту ягнят, проводят полное бактериологическое исследование и биопробу. Биопробу также проводят при получении нечетких результатов бактериологического исследования в случаях, когда невозможно провести повторное исследование материала от других ягнят.

2. Лабораторная диагностика.

2.1. Микроскопическое исследование. Мазки готовят из печени, селезенки, содержимого пораженных суставов, спинномозгового канала, фиксируют и окрашивают по Граму и на капсулу краской Гимзы или по методу Ольта.

При микроскопии мазков учитывают, что микробные клетки располагаются одиночно, по две, цепочками, иногда кучками.

2.2. Бактериологическое исследование. Посевы из исходного материала делают на мясо-пептонный бульон с добавлением 1% глюкозы и 5% нормальной сыворотки крови овец, мясо-пептонный агар с 1% глюкозы или с 1% глюкозы и 5% дефибрированной крови овец.

В указанные среды вносят 0,2—0,4 мл патологического материала. Посевы инкубируют в термостате при 37—38°C в течение 18—20 ч, а при отсутствии характерного роста — еще сутки.

При просмотре посевов следует учитывать, что на МПА с добавлением глюкозы возбудитель образует мелкие, прозрачные, изолированные, с ровными краями колонии, наподобие капелек росы. На кровяном агаре вырастают мелкие колонии, окруженные зеленоватой зоной гемолиза.

На дне пробирки с жидкой средой образуется хлопьевидный осадок, выше которого среда прозрачная или помутневшая. Осадок легко разбивается и переходит в равномерную муть.

В мазках из 18—20-часовых бульонных культур микробные клетки расположены в форме диплострептококка. Количество клеток в це-

почке колеблется от четырех до нескольких десятков, длинных цепочек — большинство.

В мазках из агаровых культур микробные клетки располагаются одиночно, по две или короткими цепочками.

Выделенную культуру идентифицируют по биохимическим свойствам. Возбудитель стрептококкового полиартрита ягнят ферментирует с образованием кислоты без газа трегалозу, сахарозу и не разлагает сорбит, глицин, маннит, лактозу, раффинозу, салицин, инулин, эскулин. Биохимическая активность возбудителя может быть непостоянной, часть штаммов сбраживают и другие сахара.

2.3. Биологическое исследование. При постановке биопробы необходимо учитывать, что ко всем штаммам возбудителя высокочувствительны ягнята в первые дни жизни. Чувствительность белых мышей и молодых кроликов непостоянна, одни штаммы вызывают гибель зараженных животных, другие — авирулентны для них.

В необходимых случаях (см. п. 1.4) вирулентность выделенной культуры определяют на одном из чувствительных видов животных.

2.3.1. Для заражения используют свежeweделенные 18—20-часовые бульонные или агаровые культуры. Агаровую культуру суспендируют в 0,85%-ном растворе хлорида натрия, доводя концентрацию бактериальной массы до 25—30 ед. оптического стандарта мутности, или берут эквивалентную по концентрации бактерий бульонную культуру.

Бульонную культуру или суспензию вводят двум белым мышам массой 12—15 г подкожно или внутривентрально в дозе 0,5 мл; двум кроликам массой 500 г — внутривенно или внутримышечно в дозе 1 мл; двум ягнятам в возрасте 3—5 сут в яремную вену в дозе 2—3 мл. К заражению последних прибегают в случае особых затруднений в установлении диагноза.

2.3.2. Ягнят можно заражать и содержимым опухших суставов, которое вводят внутривенно в дозе 5 мл.

2.3.3. У ягнят болезнь проявляется клинически через 1—3 сут после заражения. Мыши гибнут в течение 72 ч, кролики — 5 сут.

Срок наблюдения за подопытными животными — 5 сут.

2.3.4. Биопроба считается положительной при развитии у ягнят клинических признаков стрептококкового полиартрита или гибели лабораторных животных с последующим выделением от них исходной культуры возбудителя.

От павших мышей и кроликов делают мазки и проводят посевы из крови сердца, селезенки, печени.

От заболевших или павших ягнят патологический материал для исследований берут, как указано в п. 1.3.

2.4. Лабораторный диагноз на стрептококковый полиартрит ягнят считают установленным при получении одного из следующих показателей:

выделение культуры со свойствами, типичными для возбудителя стрептококкового полиартрита ягнят;

положительная биопроба при заражении культурой;

положительная биопроба при заражении ягнят патологическим материалом, если даже в посевах исходного материала культура возбудителя не выделена.

В хозяйствах, ранее неблагополучных по данному заболеванию, достаточно обнаружить в мазках из патологического материала стрептококки, характерные для возбудителя данного заболевания.

2.5. Срок исследования — 8 сут,

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 дефибринированной 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 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 сибирезуспенного бактериофага «К» ВИЭВ для определения возбудителя сибирской язвы	17
Временное наставление по применению сибирезуспенного 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
Колібактериоз	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.