



СПРАВОЧНИК

ЛАБОРАТОРНЫЕ
ИССЛЕДОВАНИЯ
В ВЕТЕРИНАРИИ



ВИРУСНЫЕ,
РИККЕТСИОЗНЫЕ
И ПАРАЗИТАРНЫЕ
БОЛЕЗНИ

СПРАВОЧНИК
•
ЛАБОРАТОРНЫЕ
ИССЛЕДОВАНИЯ
В ВЕТЕРИНАРИИ

•
ВИРУСНЫЕ,
РИККЕТСИОЗНЫЕ
И ПАРАЗИТАРНЫЕ
БОЛЕЗНИ

Под редакцией Б. И. АНТОНОВА



МОСКВА АГРОПРОМИЗДАТ 1987

ББК 48.73

Л12

УДК 619:616.98/.99(031)

Составители: *Б. И. Антонов, В. В. Борисова, Л. П. Каменева, Л. И. Ковалерчук, Г. А. Михальский, В. Д. Певнева, Л. И. Прянишникова.*

Лабораторные исследования в ветеринарии: Вирусные, риккетсиозные и паразитарные болезни: Справочник/Под ред. Б. И. Антонова. — М.: Агропромиздат, 1987. — 240 с.: ил.

В книге даны методы лабораторного исследования патологического материала с целью определения возбудителей вирусных, риккетсиозных и паразитарных болезней животных. Они изложены по единой схеме. Методы унифицированы и стандартизированы.

Для ветврачей и фельдшеров, лаборантов ветеринарных лабораторий.

Л 3805020000—166 332—87
035(01)—87

ББК 48.73

ЛАБОРАТОРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ВЕТЕРИНАРИИ:
ВИРУСНЫЕ, РИККЕТСИОЗНЫЕ И ПАРАЗИТАРНЫЕ БОЛЕЗНИ

Справочник

Составители: **Борис Иванович Антонов, Валерия Валентиновна Борисова, Людмила Петровна Каменева и др.**

Зав. редакцией *В. Г. Федотов*. Редактор *В. Н. Сайганиди*. Художественный редактор *Н. А. Никонова*. Технический редактор *Н. А. Зубкова*. Корректор *Н. В. Карпова*

ИБ № 5093

Сдано в набор 02.10.86. Подписано к печати 22.01.87. Т-00912. Формат 84×108¹/₃₂. Бумага тип. № 2. Гарнитура Литературная. Печать высокая. Усл. печ. л. 12,6. Усл. кр.-отт. 12,6. Уч.-изд. л. 18,25. Изд. № 226. Тираж 33 000 экз. Заказ № 668. Цена 1 р. 10 к.

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

Владимирская типография Союзполиграфпрома при Государственном комитете СССР по делам издательства, полиграфии и книжной торговли 600000, г. Владимир, Октябрьский проспект, д. 7

© ВО «Агропромиздат», 1987

ПРЕДИСЛОВИЕ



Успешное выполнение намеченной XXVII съездом КПСС широкой программы развития в нашей стране агропромышленного комплекса в немалой степени зависит от хорошей организации ветеринарного обслуживания животноводства, четко налаженной работы ветеринарных диагностических лабораторий. Проводимые в лабораториях исследования позволяют правильно организовать мероприятия по предупреждению инфекционных и инвазионных болезней, а в случаях возникновения заболевания своевременно поставить диагноз и принять целенаправленные меры по его быстрой ликвидации.

В работе ветеринарных лабораторий все большее применение находят современные методы исследований, одновременно идет совершенствование диагностики многих заболеваний, предлагаются новые более чувствительные и достоверные методы, позволяющие полнее и на ранних стадиях выявлять заболевших животных и тем самым способствовать быстрейшему оздоровлению хозяйств.

Специалисты лабораторий постоянно расширяют перечень показателей и болезней, на которые проводятся исследования.

За последнее время утверждено значительное количество инструктивных документов по проведению лабораторных исследований, что позволило более четко организовать работу специалистов, улучшить качество исследований, получать сопоставимые результаты.

Обнащение лабораторий современным оборудованием позволяет внедрять в работу более точные инструментальные методы.

В своей работе ветеринарные лаборатории не могут использовать всего многообразия предлагаемых методов исследования из-за того, что они или недостаточно апробированы, или из-за сложности используемого оборудования. Имеют место случаи, когда предлагаемые различными авторами методы при определении одних и тех же показателей дают несопадающие результаты. Поэтому в настоящий справочник включены методы лабораторных исследований патологического материала, полученного от больных, убитых или павших сельскохозяйственных животных, апробированные Центральной ветеринарной лабораторией и утвержденные в разные годы бывшим Министерством сельского хозяйства СССР.

Книга содержит методические указания по диагностике вирусных, риккетсиозных, хламидиозных болезней, а также методические указания по лабораторной диагностике паразитарных болезней животных и пчел.

Методики излагаются по единой схеме: взятие и пересылка патологического материала, методы его обработки, микроскопические исследования, включая световую и люминесцентную микроскопию, выделение возбудителей на куриных эмбрионах и культурах клеток, заражение лабораторных животных, гистологические исследования, идентификация и дифференциация возбудителей с использованием различных методов, определение биологической активности вакцин и исследования на напряженность иммунитета.

Методы лабораторных исследований, представленные в справочнике, унифицированы и стандартизированы, что создает возможность для стандартизации аппаратов, приборов, инструментов, посуды, реактивов, биопрепаратов и другого специального имущества, определения объема подготовки специалистов и степень оснащения ветеринарных диагностических лабораторий. Таким образом, стандартизация методов исследования является способом наведения строгого порядка в ветеринарной лабораторной работе.

Методические указания по серодиагностике инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)

(Утверждены 22 июня 1984 г.)

1. Общие положения.

1.1. Серодиагностика инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота основана на выявлении специфических антител в сыворотках крови больных и переболевших животных в РНГА с использованием эритроцитарного антигена.

1.2. РНГА применяют в комплексе с вирусологическими методами исследования.

1.3. Для проведения исследований в лабораторию направляют не менее 10—15 проб сывороток крови от больных и переболевших животных.

1.4. Для исследования пригодны свежие сыворотки крови, полученные от больных и переболевших животных вначале заболевания и через 18—21 день. Сыворотки хранят при температуре 4—8 °С не более недели или при минус 20 °С в течение месяца.

Гемолизированные или проросшие сыворотки для исследования непригодны.

В реакции можно использовать как непрогретые, так и прогретые при 56 °С в течение 30 мин сыворотки.

2. Компоненты реакции.

2.1. РНГА ставят с использованием набора эритроцитарного диагностикума, в состав которого входят: жидкий эритроцитарный антиген — 6 ампул; сухая специфическая сыворотка крупного рогатого скота к вирусу ИРТ — 1 ампула; сухая отрицательная сыворотка крупного рогатого скота — 1 ампула; сухая нормальная сыворотка крови кролика — 2 ампулы. Антиген расфасован по 3,5 мл, сыворотки — по 1 мл.

2.2. Жидкий эритроцитарный антиген представляет собой взвесь эритроцитов, сенсibilизированных антигеном вируса ИРТ, темно-коричневого или бурого цвета, сыворотки — сухую гомогенную аморфную массу светло-серого или кремового цвета.

В процессе хранения эритроциты выпадают в осадок, легко разбивающийся при встряхивании в гомогенную взвесь. Концентрация эритроцитов в эритроцитарном антигене равна трем объемным процентам.

Срок годности набора 12 мес со дня изготовления при соблю-

дении условий хранения (в темном сухом помещении при температуре 4—8° С).

Эритроцитарный антиген, подвергшийся замораживанию, для применения непригоден.

3. Подготовка набора к использованию.

3.1. Ампулу с эритроцитарным антигеном тщательно встряхивают до получения однородной взвеси, вскрывают и разводят антиген в соотношении 1 : 2 разбавителем. В качестве разбавителя используют 0,15 М фосфатно-буферный физиологический раствор pH 7,2—7,4 с добавлением нормальной сыворотки крови кролика в количестве 1 % от объема буфера.

3.2. Приготовление 0,15 М фосфатно-буферного физиологического раствора pH 7,2—7,4.

В мерную колбу на 1 л вносят 20,4 г химически чистого безводного однозамещенного фосфорнокислого калия, растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды и доводят водой до метки 1 л (раствор А). В другую мерную колбу на 1 л вносят 26,7 г химически чистого двузамещенного фосфорнокислого натрия двуводного, растворяют в небольшом количестве воды и доводят водой до метки 1 л (раствор Б). Растворы А и Б можно хранить при температуре 4—6° С в течение месяца.

Для приготовления буфера к 24 мл раствора А добавляют 76 мл раствора Б и вносят 0,85 г химически чистого хлористого натрия. С помощью рН-метра проверяют рН буфера и при необходимости доводят до рН 7,2—7,4 растворами А или Б.

3.3. Приготовление разбавителя. К 100 мл буфера добавляют 1 мл нормальной сыворотки крови кролика. Для этого ампулу с сухой сывороткой вскрывают, вносят в нее 1 мл дистиллированной воды, растворяют содержимое ампулы, прогревают при 56° С в течение 30 мин и переносят в буфер. Хранят буфер с сывороткой не более 48 ч при 4° С.

4. Постановка реакции.

4.1. РНГА ставят с использованием микропанелей с U-образными лунками наборов для микротитрования Такачи или Титертек. В лунки микропанели с помощью капельницы вносят по 0,05 мл разбавителя. В первые лунки специальной петлей или пипеткой вносят исследуемые сыворотки в количестве 0,05 мл и последовательными переносами получают двукратные разведения сывороток от 1 : 2 до 1 : 256. Затем во все лунки вносят по 0,025 мл 1 %-ной взвеси эритроцитарного антигена. Панель осторожно встряхивают и оставляют при комнатной температуре на 6 ч. Одновременно с постановкой РНГА ставят контроли: контроль на отсутствие спонтанной агглютинации эритроцитарного антигена в разбавителе. В 4—6 лунок микропанели вносят по 0,05 мл разбавителя, затем по 0,025 мл 1 %-ной взвеси эритроцитарного антигена; контроль на отсутствие агглютинации эритроцитарного антигена отрицательной сывороткой крупного рогатого скота. В ряд лунок микропанели вносят по 0,05 мл разбавителя, в первую лунку — 0,05 мл отрицательной сыворотки и титруют как исследуемые сыворотки, затем в каждую лунку вносят по 0,025 мл 1 %-ной взвеси эритроцитарного антигена; контроль на активность эритроцитарного антигена со специфической сывороткой крупного рогатого скота. В ряд лунок микропанели вносят по 0,05 мл разбавителя, в первую лунку вносят 0,05 мл специфической

сыворотки и титруют как исследуемые сыворотки, затем вносят по 0,025 мл 1 %-ной взвеси эритроцитарного антигена.

5. Учет реакции.

5.1. Реакцию учитывают через 6 ч. За титр в РНГА принимают наивысшее разведение сыворотки, дающее четкую агглютинацию (зонт).

5.2. Учет реакции проводят только при условии четких результатов, полученных в контролях.

5.3. Контроли реакции.

В контрольных лунках на спонтанную агглютинацию эритроциты должны осесть в виде луговицы или плотного кольца.

Титр отрицательной сыворотки не должен превышать 1:4.

Титр специфической сыворотки должен быть не ниже 1:128.

5.4. Результаты РНГА с испытуемыми сыворотками оценивают по титрам: положительные — 1:16 и выше, сомнительные — 1:8, отрицательные — 1:4, 1:2 и нулевые.

Увеличение титров антител в парных сыворотках в 2—4 раза свидетельствует о наличии инфекции.

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

- Агар мясо-пептонный 83, 92
Альбумин бычий 63, 64
Аппарат Киппа 35, 39
- Бульон мясо-пептонный 92
— триптозно-фосфатный 113
- Гемолизин 105
Гемолитическая система (гем-система) 56, 105
Жидкость Барбагалло 170, 188
— Руге 127
- Иммуноасцитическая жидкость (ИАЖ) 13
- Иодный реактив Мелена 79
- Комплемент 16, 24, 105
- Метод гельминтоскопии 164, 176
— биопсии 176
— биохимический 179, 187
— Вишняускаса 160
— Гнединой 175
— Квоана 175
— комбинированный 177
— микроагглютинации с помощью аппарата Такачи 85, 105
— раздавленной капли 198, 204, 210, 213, 215, 226
— световой микроскопии (трихинеллоскопии) 179
— седиментации с целлофановыми пленками 160
— Щербовича 185
— Фюллеборна 183
- Методика Бермана 171, 183
— Кивако 176
— комбинированная в модификации Котельникова и Хренова 173
- Методика культивирования личинок стронгилят и лавроскопии 168
— седиментации с центрифугированием по Котельникову, Корчагину и Хренову 172
— упрощенная модификация методики Бермана 171
— флотации 160, 164, 166, 176
- Окраска гистопрепаратов по Ленцу 11
— — Туревичу 11
— мазков по Борману — Гайнуллиной 7
— — Бурри 227
— — Лейшману 225, 228
— — Михину 6
— — Морозову 127
— — Муромцеву 6
— — Нохту 70
— — Паппенгейму 70
— — Пашену 127
— — Романовскому 191, 199, 211, 215, 216, 225, 228
— — Романовскому — Гимзе 21
— — Селлерсу 6
— — Стемпу 21
— — Щуренковой 191
- Перевиваемая линия почки свиньи (СПЭВ) 92
Первично-трипсинизированная культура клеток почки свиньи (ПЭС) 41, 92
— — эмбриона коров (ПЭК) 58
— — тестикулов бычка (ТБ) 58
- Раствор азотнокислого натрия 185
— азотнокислого свинца 159, 160, 173
— азотнокислого серебра 127
— Альсевера 96
- Раствор аммиачной селитры 164, 166, 173, 176
— борной кислоты 184
— буферный борантный 157
— веронал-мединаловый 12, 13, 149
— гексаметафосфата 56, 61
— гипосульфита натрия 185
— забуференного глицерина 181
— забуференный физиологический (ЗФР) 82
— лимоннокислого натрия 97
— мертиолята 40, 98, 156
— сернокислого цинка 160, 171, 172
— соляной кислоты 179

- уксусной кислоты 177
- фосфатно-буферный 9, 66, 96
- Хенкс 53, 81
- хлорида цинка 177
- электролита 68
- Эрла 100

Реакция гемагглютинации (РГА) 36, 60

- гемадсорбции (РГАд) 42, 59
- диффузионной преципитации (РДП) 55, 61, 141, 155
- длительного связывания комплемента (РДСК) 16, 23, 28
- ИАТ 151
- иммунофлуоресценции (ИФ) 54, 79, 80, 91, 111
- иммуноэлектроосмосфореза (РИЭОФ) 147
- кольцепреципитации в капилляре 182
- нейтрализации (РН) 42, 81, 91, 94, 115, 117
- нейтрализации вирусных гемагглютининов (РНВГ) 63
- непрямой гемагглютинации (РНГА) 64, 65, 66, 82, 84
- непрямой иммунофлуоресценции 180
- подавления иммунофлуоресценции 54, 91
- радиальной иммунодиффузии (РРИД) 71, 76, 78
- связывания комплемента (РСК) 23, 24, 56, 57, 192, 199, 219

— — конглотинирующего комплекса 207

— торможения гемагглютинации (РТГА, или РЗГА) 43, 60

— — гемадсорбции (РТГАд) 42, 60

— — непрямой гемагглютинации (РТНГА) 62, 63, 142

— формалиновая 205, 226

Среда 199, 81, 92

— 0,5 %-ного гидролизата лактальбумина 81, 92, 113

— Игла 97, 100

— Игла (МЕМ) 113

— Китта — Тароци 83, 92

— пептонно-агаровая 211

— Петровского 211

— поддерживающая 87, 92

— ростовая 92

— Сабуро 134

Тельца Бабеца — Негри 5, 6

Тканевая цитопатическая доза (ТЦД) 64, 103

Термолабильные ингибиторы 35, 95

Термостабильные ингибиторы 35, 95

Цитопатическое действие (ЦПД) 58, 81, 87, 93

Эритроцитарный диагностикум 12, 65

СОДЕРЖАНИЕ



Предисловие	3
МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ВИРУСНЫХ И РИККЕТСИОЗНЫХ ИНФЕКЦИЙ	
Болезни, общие для всех видов животных	5
Бешенство	5
Методические указания по лабораторной диагностике бешенства	5
Болезнь Ауески	12
Методические указания по лабораторной диагностике болезни Ауески животных	12
Лихорадка Ку	16
Методические указания по серологической диагностике лихорадки Ку животных	16
Хламидийные инфекции	20
Методические указания по лабораторным исследованиям на хламидийные инфекции сельскохозяйственных животных	20
Болезни лошадей	33
Грипп	33
Временное наставление по лабораторной диагностике гриппа лошадей	33
Ринопневмония	40
Методические указания по лабораторной диагностике ринопневмонии лошадей	40
Инфекционная анемия	44
Временные методические указания по лабораторной диагностике инфекционной анемии лошадей	44
Методика постановки реакции диффузионной преципитации (РДП) для серологической диагностики инфекционной анемии лошадей	48
Болезни крупного и мелкого рогатого скота	51
Респираторно-кишечные инфекции крупного рогатого скота	51
Методические указания по лабораторной диагностике вирусных респираторно-кишечных инфекций крупного рогатого скота	51
Методические указания по серодиагностике инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)	65
Лейкоз крупного рогатого скота	67
Методические указания по диагностике лейкоза крупного рогатого скота	67
	237

Аденоматоз овец и коз	76
Временные методические указания по лабораторной диагностике аденоматоза овец и коз	76
Временная методика постановки реакции по определению гиперпротеинемии у овец и коз	79
Болезни свиней	79
Вирусный (трансмиссивный) гастроэнтерит	79
Методические указания по лабораторной диагностике вирусного (трансмиссивного) гастроэнтерита свиней	79
Временное наставление по применению набора для серодиагностики трансмиссивного гастроэнтерита свиней	84
Энтеровирусный гастроэнтерит	86
Методические указания по лабораторной диагностике энтеровирусного гастроэнтерита свиней	86
Грипп	89
Наставление по применению набора антигенов и сывороток для диагностики гриппа свиней	89
Энзоотический энцефаломиелит (болезнь Тешена)	91
Методические указания по лабораторной диагностике энзоотического энцефаломиелита (болезни Тешена) свиней	91
Парвовирусная болезнь	95
Методические указания по диагностике парвовирусной болезни свиней	95
Болезни птиц	97
Болезнь Марека (нейролимфоматоз птиц)	97
Методические указания по лабораторной диагностике болезни Марека (нейролимфоматоза) птиц	97
Вирусный энтерит гусят	102
Методические указания по лабораторной диагностике вирусного энтерита гусят	102
Лейкоз птиц	104
Временное наставление по лабораторной диагностике лейкоза птиц	104
Оспа птиц	125
Методические указания по лабораторной диагностике оспы птиц	125
Инфекционный ларинготрахеит кур	128
Временное наставление по лабораторной диагностике инфекционного ларинготрахеита кур	128
Временные методические указания по определению биологической активности вирусвакцины из штамма ВНИИБТ против инфекционного ларинготрахеита птиц	132
Инфекционный бронхит кур	138
Наставление по лабораторной диагностике инфекционного бронхита кур	138
Болезни пушных зверей и пчел	145
Миксоматоз кроликов	145
Временные методические указания по лабораторной диагностике миксоматоза кроликов	145
Алеутская болезнь норки (плазмоцитоз)	147
Наставление по применению набора антигена и контрольных сывороток в реакции иммуноэлектроосмосфореза для серологической диагностики алеутской болезни норки	147
Наставление по прижизненной диагностике алеутской болезни норки при помощи йодно-агглютинационного теста	151

Трансмиссивная энцефалопатия норок	152
Временные методические указания по лабораторной диагностике трансмиссивной энцефалопатии норок	152
Вирусный энтерит норок	154
Временные методические указания по гистологическому исследованию на вирусный энтерит норок	154
Гепатит песцов, лисиц и собак	155
Временное наставление по постановке реакции диффузионной преципитации (РДП) в агаровом геле для диагностики вирусного гепатита песцов, лисиц и собак	155
Острый паралич пчел и заболевание, вызываемое нитевидным вирусом пчел	157
Методические указания по постановке реакции диффузионной преципитации (РДП) в агаровом геле для диагностики острого паралича пчел и заболевания, вызываемого нитевидным вирусом пчел	157
ПАЗИТАРНЫЕ БОЛЕЗНИ	
Гельминтозы	159
Методические указания по диагностике гельминтозов животных	159
Методические указания по лабораторным исследованиям на гельминтозы плотоядных	176
Трихинеллез	179
Методические указания по лабораторной диагностике трихинеллеза животных	179
Временное наставление по применению реакции непрямой иммунофлуоресценции для прижизненной диагностики трихинеллеза свиней	180
Трихинеллез клеточных пушных зверей и его диагностика	182
Приложение к «Инструкции по профилактике ликвидации трихинеллеза в звероводческих хозяйствах (фермах)»	182
Стронгилоидоз	183
Методические указания по лабораторным исследованиям на стронгилоидоз животных	183
Телязиоз	184
Методические указания по лабораторным исследованиям на телязиоз крупного рогатого скота	184
Акантоцефалезы	185
Методические указания по лабораторным исследованиям на акантоцефалезы животных (макроанторинхоз свиней, полиморфоз, филиколлез водоплавающих птиц)	185
Промежуточные (дополнительные) хозяева	186
Методические указания по лабораторным исследованиям промежуточных (дополнительных) хозяев на личинки гельминтов	186
Протозоозы	190
Пироплазмидозы	190
Извлечение из временной инструкции о мероприятиях по борьбе с пироплазмидозами животных	190
Анаплазмоз крупного и мелкого рогатого скота	191
(Приложение № 1 к «Инструкции по борьбе с анаплазмозом крупного и мелкого рогатого скота»)	191
Методика постановки РСК для диагностики анаплазмоза крупного и мелкого рогатого скота	192
	239

Эперитрозооноз	194
Методические указания по лабораторным исследованиям на эперитрозооноз овец	194
Трипанозомозы	198
Методические указания по лабораторным исследованиям на случайную болезнь лошадей, ослов, мулов	198
Извлечение из инструкции по борьбе с трипанозомозом верблюдов, лошадей, ослов, их гибридов и собак	204
Временные Методические указания по постановке и учету реакции связывания конглютинирующего комплекса (РСКК) для диагностики су-ауру у верблюдов	207
Трихомоноз	209
Методические указания по лабораторной диагностике трихомоноза крупного рогатого скота	209
Балантидиоз	212
Извлечение из временной инструкции о мероприятиях по борьбе с заболеванием свиней балантидиозом	212
Гистомоноз	213
Методические указания по лабораторным исследованиям на гистомоноз (тифлогепатит) птиц	213
Токсоплазмоз	216
Методические указания по лабораторным исследованиям на токсоплазмоз животных	216
Временное наставление по применению токсоплазменного антигена КазНИВИ и ИЗ АН КазССР в реакции связывания комплемента (РСК, РДСК) для серологической диагностики токсоплазмоза и токсоплазмозоносительства у животных	219
Лейшманиоз	224
Методические указания по лабораторным исследованиям на лейшманиоз собак	224
Боррелиоз (спирохетоз) птиц	226
Методические указания по лабораторным исследованиям на боррелиоз (спирохетоз) птиц	226
Безноитиоз крупного рогатого скота	227
Методические указания по лабораторным исследованиям на безоитиоз крупного рогатого скота	227
Акариозы	228
Саркоптоидозы	228
Извлечение из инструкции о мероприятиях по борьбе с саркоптоидозами (чесоткой) овец и коз	228
Извлечение из инструкции о мероприятиях по борьбе с саркоптоидозами (чесоткой) пушных зверей и кроликов	229
Извлечение из инструкции о мероприятиях по предупреждению и ликвидации саркоптоза свиней	230
Извлечение из инструкции по профилактике и ликвидации заболевания северных оленей чесоткой (саркоптозом)	231
Инвазионные болезни пчел	232
Нозематоз	232
Методические указания по лабораторным исследованиям на нозематоз медоносных пчел	232
Предметный указатель	235