25383.3-82
Изм 1 +

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ
СОЮЗА ССР

ЖИВОТНЫЕ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫЕ

МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ КОКЦИДИОЗА

ГОСТ 25383—82
(СТ СЭВ 2547—80)

Издание официальное

Цена 3 коп.

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР ПО СТАНДАРТАМ
Москва

gost.e-ecolog.ru

РАЗРАБОТАН Министерством сельского хозяйства СССР

ИСПОЛНИТЕЛИ

Б. А. Тимофеев, И. А. Коблова, Л. М. Шапова

ВНЕСЕН Министерством сельского хозяйства СССР

УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 11 августа 1982 г. № 3154

УДК 636 : 576.8.07 : 006.354 Группа С79

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ СОЮЗА ССР

ЖИВОТНЫЕ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫЕ
Методы лабораторной диагностики кокцидиоза

ГОСТ 25383—82

Domestic animals. Methods of laboratory diagnostics of coccidiosis

(СТ СЭВ 2547—80)

Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 11 августа 1982 г. № 3154 срок действия установлен

с 01.01.83
до 01.01.88

Несоблюдение стандарта преследуется по закону

Настоящий стандарт распространяется на все виды сельскохозяйственных животных и птиц и устанавливает методы лабораторной диагностики кокцидиоза.

Стандарт полностью соответствует СТ СЭВ 2547—80.

1. МЕТОДЫ ОТБОРА ПРОБ

1.1. Для проведения исследований отбирают пробы кала животных, пробы патологического материала, а также пробы подстилки.

1.2. Пробы кала берут от живых и павших животных.

1.2.1. От живых животных пробы кала берут у животных из одного стада, станка или же стаи с учетом числа животных в группе.

Если число животных в группе менее 100, кал берут не менее чем от 20 животных; в группе с числом животных от 101 до 500 — от 10%; с числом животных от 501 до 1000 — от 5% и с числом животных свыше 1000 — от 2% животных.

1.2.2. Кал берут из прямой кишки животного. От каждой головы крупного рогатого скота берут 50 г кала, овец, коз и свиней — 20 г, домашней птицы и кроликов — 10 г.

Отобранные пробы смешивают, получая объединенную пробу.

В случае проведения исследований кала от каждого животного смешивание проб не производят.

Издание официальное **Перепечатка воспрещена**

© Издательство стандартов, 1982

Допускается отбирать пробы кала с пола станков, выгулов и т. п.

1.2.3. От павших животных кал берут из конца ободочной кишки или из прямой кишки в количествах, указанных в п. 1.2.2.

1.2.4. Отобранные пробы кала упаковывают в полиэтиленовый пакет или помещают в хорошо закрывающийся сосуд.

До проведения исследований пробы хранят при температуре 2—4°С или консервируют, добавляя 2,5%-ный раствор бихромата калия.

1.3. Пробы патологического материала отбирают при вскрытии павших животных.

Пробы берут из патологоанатомически измененных частей кишки, у кроликов—также из желчного пузыря и паренхимы печени, у гусей — из почек. Если пробы нельзя исследовать сразу, кишку разрезают в продольном направлении и помещают в 2,5%-ный раствор бихромата калия. Из печени кроликов вырезают беловатые очаги и консервируют их тем же способом. Пробы для гистологического исследования хранят в 10%-ном растворе формальдегида.

1.4. Пробы подстилки в зависимости от размера помещения отбирают не менее чем из десяти разных мест в бумажный или полиэтиленовый пакет.

1.5. Ко всем отобранным пробам прилагают сопроводительный документ с указанием:

количества проб;
размера поголовья;
системы содержания;
возраста и пола животных;
категории упитанности;
заболеваемости или смертности;
продолжительности заболевания;
способа проведенной санитарной обработки;
даты взятия материала для исследования.

2. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. **Методы определения наличия ооцист в кале**

Сущность метода заключается в определении с помощью микроскопа наличия ооцист кокцидий, всплывающих на поверхность раствора с исследуемым материалом.

2.1.1. Аппаратура, материалы и реактивы

2.1.1.1. Для проведения исследования применяют:

микроскоп с окулярным микрометром марки МБИ-3 по ГОСТ 8284—78,

весы лабораторные по ГОСТ 24104—80;

центрифугу марки М-24 или других марок с частотой вращения 2000 об/мин;

сита с ячейками размером 0,5 –1,0 мм[2];

стаканы стеклянные вместимостью 150—200 см[3] по ГОСТ 10394—75;

чашки стеклянные лабораторные по ГОСТ 10973—75;

стекла предметные по ГОСТ 9284—75 и покровные по ГОСТ 6672—75;

пипетки градуированные вместимостью 50 см[3] по ГОСТ 20292—74;

посуду лабораторную фарфоровую;

воронки стеклянные по ГОСТ 8613—75;

штатив для пробирок;

петли;

вату гигроскопическую медицинскую по ГОСТ 5556—75;

натрий хлористый по ГОСТ 4233—77;

цинк сернокислый по ГОСТ 4174—77;

магний сернокислый по ГОСТ 4523—77;

воду дистиллированную по ГОСТ 6709—72.

2.1.2. Подготовка к исследованию

2.1.2.1. *Приготовление раствора Бреза*

Готовят насыщенный раствор сульфата магния и насыщенный раствор тиосульфата натрия. Растворы смешивают с дистиллированной водой в соотношении 3 : 3 : 1.

2.1.2.2. *Приготовление флотационного раствора*

К 1 л горячей дистиллированной воды добавляют избыток соответствующего химического реактива (насыщенного раствора хлористого натрия или сульфата цинка или раствора Бреза), выдерживают в течение 12 ч и фильтруют через вату в чистую склянку. Плотность флотационного раствора должна составлять приблизительно 1,3 г/см[3].

2.1.3. Проведение исследования

2.1.3.1. Из пробы выделяют навеску кала массой 3 г, заливают в ступке 15–20 см[3] воды, размешивают до жидкой консистенции и процеживают через сито и воронку в центрифужные пробирки.

Пробирки центрифугируют с частотой вращения 2000 об/мин в течение 1—2 мин. Жидкую часть сливают, затем добавляют 10 см[3] флотационного раствора и тщательно перемешивают палочкой так, чтобы не образовались пузыри. Не рекомендуется встряхивать содержимое пробирки. Пробирки с флотационным раствором снова центрифугируют, как указано выше.

С помощью петли из каждой пробирки берут по три капли раствора и наносят на предметное стекло. Покровное стекло используют лишь для рассеяния капли в случае недостаточной обзорности поля зрения. При массовых исследованиях одной и той же пробы допускается не обжигать петлю после каждого переноса

раствора на предметное стекло, достаточно лишь промыть ее несколькими резкими движениями в пробирке с водой. Однако в начале и конце исследования петлю необходимо обжигать.

Определение наличия ооцист проводят под микроскопом, используя соответствующий определитель.

2.2. **Метод определения количества ооцист в кале**

2.2.1. Аппаратура, материалы и реактивы

2.2.1.1. Для проведения исследования применяют аппаратуру, материалы и реактивы, указанные в п. 2.1.1, и дополнительно счетную камеру Горяева или Мак-Мастера.

2.2.2. Проведение исследования

2.2.2.1. Исследуемую пробу кала тщательно гомогенизируют. Взвешивают от 3 до 5 г кала (в зависимости от необходимости точности определения) и размешивают в стакане с 45 см³ воды. Полученную таким образом суспензию фильтруют через сито. 10 см³ фильтрата помещают в центрифужную пробирку и центрифугируют с частотой вращения 2000 об/мин в течение 2 мин.

Жидкую часть сливают, к осадку добавляют 10 см³ флотационного раствора и тщательно перемешивают. Полученной суспензией заполняют счетную камеру. Допускается при отсутствии счетной камеры использовать предметное стекло, на которое наносят 0,15 см³ суспензии и накрывают покровным стеклом. Заполненную камеру или предметное стекло с 0,15 см³ суспензии выдерживают в течение 2 мин, чтобы ооцисты могли подняться к поверхности, и подсчитывают количество ооцист. Полученное число, умноженное на 100, представляет собой содержание ооцист в 1 г кала.

Для более точного определения допускается использовать несколько камер и ооцисты подсчитывают в нескольких камерах. При использовании камеры Горяева ооцисты подсчитывают во всех 225 квадратах и полученную сумму умножают на коэффициент 1111. Полученное количество показывает число ооцист в 1 см³ взвеси.

2.2.3. Обработка результатов

2.2.3.1. У домашней птицы обнаружение единичных ооцист (0—100 ооцист на 1 г кала) свидетельствует о наличии кокцидий в окружающей среде и течении субклинического заболевания.

Наличие 101—1000 ооцист в 1 г кала свидетельствует:

для Eimeria tenella и Eimeria necatux — о заражении средней степени;

для Eimeria maxima — о сильном заражении;

для E. acervulina — о слабом заражении.

Наличие свыше 1000 ооцист в 1 г кала — признак сильного заражения.

У крупного рогатого скота и овец наличие до 1000 ооцист в 1 г кала (для E. bovis и E. zuetnii) свидетельствует о слабой инфек-

ции, до 5000 — об инфекции средней тяжести, свыше 5000 — о сильной инфекции.

Для определения вида Eimeria используют существующие определители.

У кроликов наличие до 10000 ооцист на 1 г кала служит признаком слабой инфекции, до 100000 — сильной инфекции, свыше 100000 — очень сильной инфекции.

2.3. **Метод исследования павших животных**

Сущность метода заключается в выявлении и определении с помощью микроскопа различных стадий кокцидий в пробах, взятых при паталогоанатомическом вскрытии животных. У животных исследуют желудочно-кишечный тракт, при этом учитывают наличие в крови паталогоанатомических изменений, локализацию, а также размер, форму, цвет, структуру стадий развития.

2.3.1. Аппаратура и реактивы

2.3.1.1. Для проведения исследования применяют:

ножницы по ГОСТ 21239—77;

пинцеты по ГОСТ 21241—77;

чашки лабораторные стеклянные по ГОСТ 10973—75;

пипетки пастеровские;

натрий хлористый по ГОСТ 4233—77;

воду дистиллированную по ГОСТ 6709—72.

2.3.2. Проведение исследования

2.3.2.1. Паталогически измененные части кишок кладут в чашки Петри или другую посуду и разрезают в продольном направлении. Несколько капель содержимого кишки разбавляют на предметном стекле физиологическим раствором, накрывают покровным стеклом и рассматривают под микроскопом. Можно также соскабливать краем предметного стекла слизистую оболочку пораженной кишки. Соскоб разбавляют физиологическим раствором и рассматривают под микроскопом для установления наличия мерозоитов, шизонтов или гамет кокцидий.

У павших кроликов исследуют беловатые очаги в печени и содержимое желчного пузыря на наличие ооцист кокцидий Eimeria. Очаги разрезают и с помощью пастеровской пипетки наносят их содержимое на предметное стекло. Накрыв препарат покровным стеклом, рассматривают его под микроскопом. Аналогичным образом поступают и с поражениями почек гусей.

2.3.3. Обработка результатов

2.3.3.1. В случае установления единичных стадий развития кокцидий заболевание кокцидиозом рассматривается как вторичная инфекция, которая не играет главную роль в падеже животных. При установлении разных стадий развития патогенных видов кокцидий в большом количестве и исключении других инфекционных заболеваний кокцидиоз считают причиной падежа животных.

2.4. **Метод исследования подстилки на наличие ооцист кокцидий**

Сущность метода заключается в подсчете количества ооцист в 1 г подстилки и определении по данным подсчета тяжести клинического течения кокцидиоза и резистентности кокцидий к используемому антикокцидиозному препарату.

2.4.1. Аппаратура, материалы и реактивы

2.4.1.1. Для проведения исследования применяют аппаратуру, материалы и реактивы, указанные в п. 2.1.1, и дополнительно:

счетную камеру Горяева или Мак-Мастера;

гомогенизатор электрический.

2.4.2. Проведение исследования

2.4.2.1. Пробу подстилки хорошо перемешивают. Взвешивают 10 г пробы с погрешностью не более 0,02 г и перекладывают в стакан с 100 см^3 воды, ставят в холодильник, выдерживают в течение 12 ч и гомогенизируют 2—3 мин в электрическом гомогенизаторе с частотой вращения 2000 об/мин. Полученную суспензию фильтруют в течение 5 мин. Жидкую часть сливают, к осадку добавляют 10 см^3 флотационного раствора и тщательно перемешивают, встряхивая пробирку. Наполняют счетную камеру или помещают 0,15 см^3 суспензии на предметное стекло, накрывают ее покровным стеклом и выдерживают в течение 2 мин. Число ооцист умножают на коэффициент 67, что представляет собой количество ооцист в 1 г подстилки.

2.4.3. Обработка результатов

2.4.3.1. Определение вида кокцидий проводят согласно соответствующему определителю.

При наличии до 5000 ооцист E. acervulina в 1 г подстилки не придают им никакого клинического значения. Наличие до 5000 ооцист E. tenella или E. necatix в 1 г подстилки свидетельствует о слабом течении кокцидиоза у содержавшихся на этой подстилке цыплят или же о снижении действия используемого кокцидиостатика. Наличие 1000 ооцист E. maxima в 1 г подстилки свидетельствует о клиническом течении кокцидиоза и недостаточной эффективности антикокцидиозного препарата.

2.5. **Метод установления интенсивности инфекции**

2.5.1. Проведение исследования

2.5.1.1. Интенсивность инфекции ооцистами Eimeria или другими формами развития этого рода устанавливают подсчетом их в микроскопическом препарате и делением полученного числа на 3.

2.5.2. Обработка результатов

2.5.2.1. Подсчитанное число ооцист делят на 3. Это число будет равным числу паразитов в 1 г кала. В зависимости от этого для самых патогенных видов Eimeria устанавливают следующие степени интенсивности инфекции:

слабая инфекция (+) 1—10 ооцист на 1 г кала;
средняя инфекция (++)—11—100 ооцист на 1 г кала;
сильная инфекция (+++)—больше 100 ооцист на 1 г кала.

При оценке интенсивности инфекции следует учитывать не только наличие ооцист различных видов Eimeria, но и присутствие других паразитов.

Изменение № 1 ГОСТ 25383—82 Животные сельскохозяйственные. Методы лабораторной диагностики кокцидиоза

Утверждено и введено в действие Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 27.05.87 № 1714

Дата введения 01.01.88

Пункты 2.1.1.1, 2.1.2.1 изложить в новой редакции:

«2.1.1.1. Для проведения исследования применяют:

микроскоп с окулярным микрометром марки МБИ-3 по ГОСТ 8284—78,

весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104—80 с наибольшим пределом взвешивания 200 г;

центрифугу с частотой вращения 5000 мин$^{-1}$;

стаканы стеклянные вместимостью 150—200 см^3 и 1000 см^3 по ГОСТ 25336—82;

чашки стеклянные лабораторные по ГОСТ 25336—82;

стекла предметные по ГОСТ 9284—75 и покровные по ГОСТ 5672—75;

пипетки градуированные исполнений 1, 2, 4, 5, 6, 2-го класса точности вместимостью 50 см^3 по ГОСТ 20292—74;

посуду лабораторную фарфоровую;

воронки стеклянные по ГОСТ 25336—82;

штатив для вробирок;

петли;

марлю медицинскую по ГОСТ 9412—77;

вату гигроскопическую медицинскую по ГОСТ 5556—81;

фильтры беззольные по ГОСТ 12026—76;

натрий хлористый по ГОСТ 4233—77;

воду дистиллированную по ГОСТ 6709—72.

2.1.2.1. Приготовление флотационного раствора

К 1 дм^3 горячей воды добавляют 400 г хлористого натрия, тщательно размешивают, выдерживают 30 мин и фильтруют через вату или складчатый фильтр в чистую склянку. Плотность флотационного раствора должна составлять 1,3 г/см^3».

Пункт 2.1.2.2 исключить.

Пункт 2.1.3.1 изложить в новой редакции: «2.1.3.1. Из пробы выделяют навеску кала массой 3—5 г, помещают навеску в ступку, заливают 15—20 см^3 воды, размешивают до жидкой консистенции и пропеживают через марлю в центрифужные пробирки.

Пробирки центрифугируют в течение 5 мин с частотой вращения 5000 мин$^{-1}$. Жидкую часть сливают, затем добавляют 10 см^3 флотационного раствора, тщательно перемешивают палочкой и повторно центрифугируют. При помощи петли из каждой пробирки берут по три капли раствора, наносят на предметное стекло и накрывают покровным стеклом. Определяют наличие ооцист под микроскопом. После проведения одного исследования петлю обжигают».

Пункт 2.2.1.1. Исключить слова: «или Мак. Мастера».

Пункты 2.2.2.1, 2.2.3.1 изложить в новой редакции: «2.2.2.1 Взвешивают 5 г кала, взятого из отобранной пробы, и тщательно размешивают в ступке с 45 см^3 воды. Полученную суспензию фильтруют через один слой марли, осадок отбрасывают. 10 см^3 фильтрата помещают в центрифужную пробирку и центрифугируют в течение 5 мин с частотой вращения 5000 мин$^{-1}$. Жидкую часть сливают, к осадку добавляют 10 см^3 флотационного раствора, тщательно перемешивают и еще раз центрифугируют в течение 5 мин с частотой вращения 5000 мин$^{-1}$. Из пробирки снимают при помощи петли поверхностный слой жидкости и в счетной камере Горяева подсчитывают количество ооцист во всех 225 квадратах. Для определения количества ооцист в 1 г кала, подсчитанное в камере Горяева, число ооцист умножают на 1111.

(Продолжение см. стр. 338)

2.2.3.1. У домашней птицы наличие 50000 ооцист на 1 г кала не влияет на зоотехнические показатели цыплят, обнаружение более 100000 ооцист на 1 г кала свидетельствует о заражении средней степени, обнаружение ооцист в количестве более 300000 на 1 г кала — о высокой степени заражения и малой эффективности применяемого препарата.

У крупного рогатого скота и овец наличие до 1000 ооцист в 1 г кала свидетельствует о низкой степени заражения, до 5000 — о средней степени заражения, более 5000 — о высокой степени заражения.

У кроликов наличие до 10000 ооцист на 1 г кала служит признаком низкой степени заражения, до 100000 — высокой степени заражения, более 100000 - - очень высокой степени заражения».

Пункт 2.3. Наименование изложить в новой редакции: «2.3. Метод исследования павших или убитых животных».

Пункт 2.3.1.1. Заменить ссылку: ГОСТ 10973—75 на ГОСТ 25336—82.

Пункт 2.3.2.1. Первый абзац. Заменить слова: «патологически измененные части кишок» на «исследуемые части кишок».

Пункт 2.3.3.1 изложить в новой редакции: «2.3.3.1. Для своевременной диагностики кокцидиоза у домашней птицы подсчет ооцист проводят один раз в 7 дней, начиная в двух-, трехнедельного возраста цыплят. Из каждой группы вскрывают по 4—6 ослабленных птиц. Исследуют соскобы со слизистой и содержимое кишечника в месте перехода двенадцатиперстной кишки в тощую, середины тонкого отдела кишечника и слепых кишок. Несколько капель наносят на предметное стекло, разбавляют водой и накрывают покровным стеклом. Просматривают под микроскопом 20 полей зрения, определяют среднее количество ооцист на одно поле зрения и проводят идентификацию кокцидий вида Eimeria в соответствии с ключом идентификации, представленном на схеме. В зависимости от клинических проявлений, степени и характера изменений отделов кишечника, локализации поражения и стадий развития кокцидий определяют виды ооцист E. tenella, E. necatrix, E. acervulina, E. maxima, E. praecox. (см. схему. *См. с. 339*)».

Раздел 2 дополнить пунктами — 2.3.4, 2.3.4.1:

«2.3.4 *Оценка результатов*

2.3.4.1. Наличие ооцист видов E. acervulina менее 50 и ооцист E. tenella, E. necatrix, E. maxima менее 5 кокцидий в поле зрения - признак низкой степени заражения.

При установлении разных стадий развития кокцидий в большом количестве у павших птиц или животных кокцидиоз считают причиной падежа».

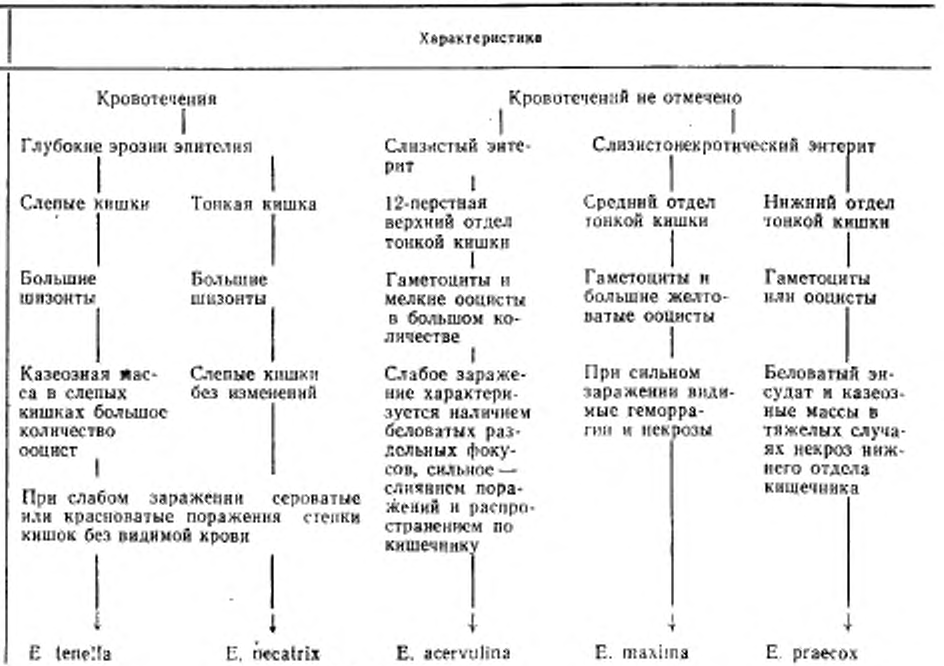
Пункт 2.4.1.1. Исключить слова: «и дополнительно: счетную камеру Горяева или Мак. Мастера; гомогенизатор электрический».

Пункт 2.4.2.1 изложить в новой редакции: «2.4.2.1. Пробу подстилки хорошо перемешивают и взвешивают 100 г. Заливают 1 дм³ воды, выдерживают до набухания содержимого и тщательно размешивают. Полученную суспензию фильтруют через марлю, осадок отбрасывают. Фильтрат тщательно перемешивают и отбирают 100 см³ в центрифужную пробирку. Центрифугируют в течение 5 мин с частотой вращения 5000 мин$^{-1}$. Жидкую часть сливают, к осадку добавляют 50 см³ флотационного раствора, тщательно перемешивают и центрифугируют в течение 5 мин. с частотой вращения 5000 мин$^{-1}$. Из пробирки снимают при помощи петли поверхностный слой и в счетной камере Горяева подсчитывают количество ооцист во всех 225 квадратах. Полученное число ооцист умножают на 5555, и определяют количество ооцист в 1 г подстилки».

Пункты 2.4.3, 2.4.5 исключить.

(Продолжение см. с. 339)

КЛЮЧ И ИДЕНТИФИКАЦИИ ВИДОВ Eimeria ЦЫПЛЯТ



(ИУС № 8 1987 г.)

Редактор *Н. Е. Шестакова*
Технический редактор *А. Г. Каширин*
Корректор *Р. А. Фролова*

Сдано в наб. 24.08.82 Подп. к печ. 24.09.82 0,5 п. л. 0,38 уч.-изд. л. Тир. 16000 Цена 3 коп.

Ордена «Знак Почета» Издательство стандартов, 123557, Москва, Новопресненский пер., 3
ковский печатник», Москва, Лялин пер., 6. Зак. 931

gost.e-ecolog.ru