СПРАВОЧ

ЛАБОРАТОРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ВЕТЕРИНАРИИ

ВИРУСНЫЕ, РИККЕТСИОЗНЫЕ И ПАРАЗИТАРНЫЕ БОЛЕЗНИ

gost.e-ecolog.ru

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.

Л12

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 $\frac{3805020000-166}{035(01)-87}$ 332—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 84×108$^{1}/_{32}$. 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-Спасская, 18

Владимирская типография Союзполиграфпрома при Государственном комитете СССР по делам издательств, 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 быстрейшей 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.

Оснащение 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 несовпадающие 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.

Временные методические указания по постановке и учету реакции связывания конглютинирующего комплемента (РСКК) для диагностики су-ауру у верблюдов

(Утверждены 28 января 1985 г.)

1. Общие положения.

1.1. Реакция связывания конглютинирующего комплекса (РСКК) основана на конглютинации (склеивании) сенсибилизированных гемолизином эритроцитов под действием конглютинирующего комплекса: комплемента и конглютинина. В качестве последних используется сыворотка крови крупного рогатого скота (конглютинирующая сыворотка).

При наличии в испытуемой сыворотке иммунных комплексов антиген-антитело они реагируют с конглютинирующим комплексом, эритроциты остаются без изменений; при отсутствии иммунных комплексов конглютинирующий комплекс остается свободным и обусловливает конглютинацию эритроцитов.

2. Подготовка компонентов реакции.

2.1. Компоненты реакции.

2.1.1. Испытуемые сыворотки крови верблюдов, свежие или консервированные одним из общепринятых методов.

2.1.2. Лиофилизированная конглютинирующая сыворотка крупного рогатого скота.

2.1.3. Позитивная на су-ауру сыворотка (от больного верблюда), свежая или консервированная.

2.1.4. Негативная сыворотка крови от здорового верблюда, свежая или консервированная.

2.1.5. Гемолитическая сыворотка (гемолизин) биофабричного изготовления.

2.1.6. Эритроциты барана, отмытые физиологическим раствором путем центрифугирования при 2,5—3 тыс. об/мин в течение 10—15 мин до полной прозрачности надосадочной жидкости.

2.1.7. Физиологический (0,85 %-ный) раствор хлорида натрия, pH 7,0—7,2.

2.2. Индикаторную систему готовят путем смешивания равных объемов 2 %-ной взвеси эритроцитов и гемолизина в утроенном титре, выдерживают при комнатной температуре в течение 20—30 мин.

3. Титрование конглютинирующей сыворотки.

3.1. Сухую конглютинирующую сыворотку растворяют в указанном на этикетке объеме физиологического раствора и готовят разведение 1 : 10, для чего к 0,3 мл сыворотки добавляют 2,7 мл физиологического раствора.

3.2. Разведенную конглютинирующую сыворотку разливают в ряд пробирок в объеме от 0 1 мл до 0,5 мл с интервалом по 0,05 мл. Общий объем в каждой пробирке доводят физиологическим раствором до 0,5 мл.

3.3. Во все пробирки добавляют по 0,25 мл негативной сыворотки крови верблюда в разведении 1 : 10, инактивированной в водяной бане при 60 °С в течение 30 мин в день постановки реакции.

3.4. Смесь выдерживают в водяной бане 30 мин при 37 °С, за-

тем добавляют в каждую пробирку по 0,25 мл индикаторной системы и снова выдерживают в водяной бане при 37 °С в течение 1 ч.

3.5. По истечении часа учитывают результаты титрования. За титр принимают наименьшее количество конглютинирующей сыворотки, обусловливающее полную конглютинацию эритроцитов. Рабочее разведение на 1 интервал (0,05 мл) больше.

3.6. Расчет количества конглютинирующей сыворотки для главного опыта делают по формуле

$$X = \frac{AB}{10},$$

где X — количество конглютинирующей сыворотки для главного опыта; A — рабочее разведение конглютинирующей сыворотки; B — количество пробирок в опыте; 10 — основное разведение конглютинирующей сыворотки.

Например. Титр конглютинирующей сыворотки — 0,15; рабочее разведение равно 0,2.

Расчет на главный опыт (100 пробирок):

$$X = \frac{0{,}2 \cdot 100}{10} = 2.$$

Количество разведенной конглютинирующей сыворотки для реакции равно 25 мл (0,25·100), следовательно, к 2 мл растворенной конглютинирующей сыворотки добавляют 23 мл физиологического раствора.

4. Главный опыт.

4.1. Испытуемые сыворотки крови верблюда исследуют в разведении 1 : 10, для чего к 0,1 мл испытуемой сыворотки добавляют 0,9 мл физиологического раствора и берут для опыта 0,25 мл.

4.2. Разведенные сыворотки инактивируют в водяной бане при 60 °С в течение 30 мин.

4.3. После инактивации в каждую пробирку добавляют по 0,25 мл конглютинирующей сыворотки в рабочем разведении и выдерживают в водяной бане 30 мин при 37 °С.

4.4. Добавляют по 0,25 мл индикаторной системы и выдерживают 1 ч в водяной бане при 37 °С.

5. Контроли главного опыта:

с позитивной на су-ауру сывороткой в разведениях от 1 : 10 до разведения на 2 интервала выше ее предельного титра;

с негативной сывороткой в разведении 1 : 10;

смесь физиологического раствора, конглютинирующей сыворотки в рабочем разведении и индикаторной системы по 0,25 мл.

В контроле с позитивной сывороткой должна быть задержка конглютинации до предельного титра, а в остальных двух — полная конглютинация эритроцитов.

6. Учет и оценка реакции.

6.1. Реакцию учитывают после 1 ч выдержки при комнатной температуре и оценивают по степени конглютинации эритроцитов:

полная задержка конглютинации (положительная реакция) — эритроциты оседают на дно пробирки в виде пуговки, при встряхивании образуется равномерная взвесь;

частичная конглютинация (сомнительная реакция) — эритроциты оседают в виде пуговки, образуя слабый зонтик, при встряхивании образуются хлопья на фоне свободных эритроцитов;

полная конглютинация (отрицательная реакция) — эритроциты оседают в виде зонтика. При встряхивании образуются крупные хлопья на прозрачном фоне.

6.2. Больными су-ауру считают животных, сыворотка крови которых показывает положительную реакцию. Животные с сомнительной реакцией подлежат повторному исследованию через 2—3 нед. При получении вторично сомнительных результатов животных считают больными су-ауру.

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 (гемсистема) 56, 105
Жидкость Барбагалло 170, 188
— Руге 127

Иммуноасцитическая жидкость (ИАЖ) 13

Йодный реактив Мелена 79

Комплемент 16, 24, 105

Метод гельминтоскопии 164, 176
— биопсии 176
— биохимический 179, 187
— Вишняускаса 160
— Гнединой 175
— Ковоана 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
— иммуноэлектроосмиофореза (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
— — конглютинирующего 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 — Тароцци 83, 92
— пептонно-агаровая 211
— Петровского 211
— поддерживающая 87, 92
— ростовая 92
— Сабуро 134

Тельца Бабеша — 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

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 норок (плазмоцитоз) 147
Наставление по применению набора антигена и контрольных сывороток в реакции иммуноэлектроосмофореза для серологической диагностики алеутской болезни норок . 147
Наставление по прижизненной диагностике алеутской болезни норок 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

ПАРАЗИТАРНЫЕ 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 (макроканторинхоз 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

Эритрозооноз 194
Методические указания по лабораторным исследованиям на эритрозооноз овец 194
Трипанозомозы 198
Методические указания по лабораторным исследованиям на случную 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 токсоплазмоносительства 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 безноитиоз 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

gost.e-ecolog.ru