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.

# ИНФЕКЦИОННЫЙ БРОНХИТ КУР

## Наставление по лабораторной диагностике инфекционного бронхита кур

*(Одобрено 7 мая 1973 г.)*

Лабораторная диагностика инфекционного бронхита кур проводится разными путями.

I. Выделение вируса инфекционного бронхита на развивающихся эмбрионах кур.

II. Постановка биопробы на цыплятах.

III. Постановка реакции нейтрализации вируса на развивающихся эмбрионах кур.

IV. Постановка реакции диффузионной преципитации в агаровом геле.

V. Постановка реакции непрямой гемагглютинации (РНГА).

**I. Выделение вируса инфекционного бронхита на развивающихся эмбрионах кур.**

1. Для лабораторного исследования направляют живых больных цыплят. В лаборатории после их убоя отбирают следующий патологический материал: гортани, трахеи и легкие.

2. Полученный патологический материал растирают с песком в ступке и готовят 10 %-ную суспензию на мясопептонном бульоне (МПБ). Суспензию центрифугируют в течение 15 мин при 1500 об/мин. К надосадочной жидкости добавляют пенициллин и стрептомицин по 1000 ЕД на 1 мл суспензии и оставляют при 4 °С в холодильнике в течение 1—4 ч.

3. После указанной экспозиции суспензией заражают 10—15-девятидневных эмбрионов кур в дозе по 0,2 мл в аллантоисную полость. Зараженные эмбрионы помещают в термостат при температуре 37,5 °С и дважды в день овоскопируют.

4. Погибшие эмбрионы вскрывают в день гибели после охлаждения при 4 °С в течение 2—3 ч, а оставшиеся живыми на 10-й день инкубации охлаждают в холодильнике при температуре 4 °С и также вскрывают. При вскрытии учитывают изменения эмбрионов. Признаками поражения эмбрионов вирусом инфекционного бронхита кур считаются гибель эмбрионов, а также отставание их в росте, «карликовость» и скручивание в шар.

От павших эмбрионов (гибель в первые 24 ч считают неспецифической) и от эмбрионов, отставших в росте, собирают в стерильные пробирки аллантоисную жидкость и после проверки на отсутствие бактериальной загрязненности помещают ее в холодильник при минус 20 °С.

5. Полевые штаммы вируса при первых пассажах на эмбрионах кур могут не вызывать их гибели, а только приводить к незначительному отставанию в росте некоторых эмбрионов. Поэтому следует проводить на эмбрионах кур до 6—10 пассажей, используя для

заражения аллантоисную жидкость от эмбрионов предыдущего пассажа. При наличии вируса инфекционного бронхита с каждым пассажем увеличивается количество павших и отставших в росте эмбрионов.

6. Специфичность вируса инфекционного бронхита кур определяют постановкой реакции нейтрализации на эмбрионах кур со специфическими противобронхитными сыворотками.

**II. Постановка биопробы на цыплятах.**

7. Биопробу проводят на цыплятах 10—25-дневного возраста из благополучного по инфекционному бронхиту птицехозяйства. Десяти цыплятам интратрахеально вводят по 0,3—0,5 мл суспензии, полученной, как указано в п. 2 настоящего наставления. За цыплятами устанавливают ежедневное наблюдение в течение 7 дн., отмечая признаки заболевания.

8. При наличии в исследуемом материале вируса инфекционного бронхита кур у цыплят через 18—48 ч после заражения появляются хрипы при дыхании и чихание, затем наступает угнетение (сонливость).

**III. Постановка реакции нейтрализации вируса инфекционного бронхита кур на развивающихся эмбрионах кур.**

9. Реакцию нейтрализации для диагностики инфекционного бронхита кур применяют: при исследовании сывороток крови больных и переболевших птиц с заведомо известным антигеном. При этом исследуют смесь сывороток не менее чем от 5 птиц; при идентификации выделенного вируса с помощью специфических противобронхитных сывороток.

10. Для постановки реакции нейтрализации требуется следующее: а) испытуемые или гипериммунные сыворотки; б) нормальные куриные и кроличьи сыворотки; в) вирус инфекционного бронхита кур или испытуемый вирус; г) мясопептонный бульон (МПБ); д) антибиотики пенициллин и стрептомицин; е) 9-дневные эмбрионы кур.

11. Всю работу по постановке реакции нейтрализации проводят в стерильном боксе с соблюдением правил асептики (табл. 1).

В штативе расставляют несколько рядов стерильных пробирок, закрытых пробками, причем количество рядов должно соответствовать числу испытуемых и контрольных сывороток, а количество пробирок в ряду — числу разведений вируса.

12. Перед постановкой реакции все сыворотки инактивируют в течение 30 мин в водяной бане при 58 °С, после чего к ним добавляют пенициллин и стрептомицин по 1000 ЕД на 1 мл. Затем стерильными градуированными пипетками разливают сыворотки в дозе по 0,5 мл в каждую пробирку.

Готовят разведения вируса от 1 : 10 до 1 : 1 000 000 на МПБ и после того, как испытуемые и контрольные сыворотки разлиты по пробиркам, добавляют к ним по 0,5 мл соответствующего разведения вируса.

13. Смесь встряхивают и оставляют в холодильнике при температуре 4 °С на 1 ч.

14. После этого смесь инокулируют в аллантоисную полость 9-дневных эмбрионов кур в дозе по 0,2 мл. Каждой смесью заражают по 4 эмбриона. Смесь вируса с нормальной сывороткой инокулируют в последнюю очередь, а до этого хранят в холодильнике.

15. Зараженные эмбрионы инкубируют при 37,5 °С, дважды в

**1. Постановка реакции нейтрализации вируса инфекционного бронхита кур***

| Ряд | Номер пробирки | Сыворотка | Объем сыворотки, мл | Разведение вируса | Объем разведения вируса, мл |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1 | Нормальная | 0,5 | $10^{-1}$ | 0,5 |
| | 2 | | 0,5 | $10^{-2}$ | 0,5 |
| | 3 | | 0,5 | $10^{-3}$ | 0,5 |
| | 4 | | 0,5 | $10^{-4}$ | 0,5 |
| | 5 | | 0,5 | $10^{-5}$ | 0,5 |
| | 6 | | 0,5 | $10^{-6}$ | 0,5 |
| 2 | 1 | Испытуемая | 0,5 | $10^{-1}$ | 0,5 |
| | 2 | | 0,5 | $10^{-2}$ | 0,5 |
| | 3 | | 0,5 | $10^{-3}$ | 0,5 |
| | 4 | | 0,5 | $10^{-4}$ | 0,5 |
| | 5 | | 0,5 | $10^{-5}$ | 0,5 |
| | 6 | | 0,5 | $10^{-6}$ | 0,5 |

* По этой же схеме ставят реакцию нейтрализации и при идентификации выделенного вируса, используя специфические сыворотки.

день овоскопируют и павших вскрывают. Гибель в течение 24 ч после заражения считают неспецифичной. На 10-й день инкубации оставшиеся живые эмбрионы вскрывают и регистрируют поражения.

16. Реакция нейтрализации считается положительной, если нет гибели эмбрионов и при вскрытии живых эмбрионов не будет обнаружено изменений, характерных для поражения вирусом инфекционного бронхита, т. е. размножение вируса будет подавлено антителами.

17. Учет реакции нейтрализации на эмбрионах кур проводят по следующей схеме (табл. 2).

**2. Учет реакции нейтрализации**

| Сыворотка | Разведение вируса | Число эмбрионов на разведение | Пало эмбрионов | Титр вируса в присутствии сыворотки | Индекс нейтрализации |
|---|---|---|---|---|---|
| Нормальная | $10^{-1}$ | 4 | 4 | $\lg ЭИД_{50}$ 3,55 в 0,1 мл | — |
| | $10^{-2}$ | 4 | 3 | | |
| | $10^{-3}$ | 4 | 3 | | |
| | $10^{-4}$ | 4 | 2 | | |
| | $10^{-5}$ | 4 | 0 | | |
| | $10^{-6}$ | 4 | 0 | | |
| Испытуемая | $10^{-1}$ | 4 | 2 | $\lg ЭИД_{50}$ 1,0 в 0,1 мл | 3548 |
| | $10^{-2}$ | 4 | 0 | | |
| | $10^{-3}$ | 4 | 0 | | |
| | $10^{-4}$ | 4 | 0 | | |
| | $10^{-5}$ | 4 | 0 | | |
| | $10^{-6}$ | 4 | 0 | | |

Результаты реакции нейтрализации на эмбрионах кур выражают индексом нейтрализации.

Титр вируса инфекционного бронхита — это доза вируса, которая вызывает специфические поражения и смерть у 50 % зараженных эмбрионов кур ($ИД_{50}$). Индекс нейтрализации — разность логарифмических показателей титров вируса в присутствии нормальной и испытуемой сывороток. Обычно он выражается в виде антилогарифма.

18. Следует считать индексы нейтрализации от 1 до 9 отрицательными, от 10 до 49 — сомнительными, а от 50 и выше — положительными.

19. Расчет индекса нейтрализации проводится по методу Рида и Менча.

**IV. Постановка реакции диффузионной преципитации в агаровом геле.**

20. Реакцию диффузионной преципитации применяют для ретроспективной диагностики инфекционного бронхита, для обнаружения вируса с заведомо известными антисыворотками, а также для дифференциальной диагностики респираторных инфекций, используя при этом гипериммунные преципитирующие сыворотки (куриные).

21. Для постановки реакции преципитации в агаровом геле требуется следующее: а) испытуемые сыворотки; б) преципитирующие сыворотки; в) нормальные сыворотки (куриные); г) вируссодержащие антигены; д) нормальные антигены; е) агаровые пластинки.

22. Преципитирующие сыворотки получают путем гипериммунизации кур вирусом инфекционного бронхита. В качестве вируссодержащего антигена служат хорионаллантоисные оболочки эмбрионов кур, зараженных вирусом инфекционного бронхита. Нормальные сыворотки получают от здоровой, не болевшей инфекционным бронхитом птицы, а нормальные антигены — от незараженных эмбрионов кур.

23. Агаровую среду готовят по следующей прописи: к 985 мл дистиллированной воды добавляют 15 г отечественного агара и 78,8 г хлорида натрия. Смесь автоклавируют в течение 20 мин и фильтруют через вату, после чего устанавливают с помощью 1 н. NaOH, pH 7,0. Агар разливают во флаконы, стерилизуют текучим паром в аппарате Коха и хранят при 4 °С.

24. Флаконы с агаром, не снимая пробки, разогревают в водяной бане и тотчас же разливают в стерильные обезжиренные плоскодонные чашки Петри. Высота агарового слоя — 0,5 см.

25. После того как агар застынет перед постановкой реакции, в нем делают с помощью трубочек или штампов лунки округлой формы в виде звеньев, состоящих из шести лунок по периферии и одной центральной в каждом звене. Диаметр лунок — 0,6 см, расстояние между краями лунок одного звена должно быть 0,4—0,5 см. Агаровые пыжи извлекают иглой. После извлечения пыжей дно каждой лунки заливают каплей расплавленного агара для предупреждения подтекания ингредиентов под агар.

26. В центральную лунку вносят вируссодержащий антиген, а в периферийные — испытуемые сыворотки. Для контроля вируссодержащий антиген проверяют в реакции преципитации с заведомо положительными и отрицательными сыворотками. Кроме того, параллельно в этой же чашке в другом звене лунок ставят контрольную реакцию с испытуемыми сыворотками и нормальным антигеном.

27. После заливки антигена и сывороток чашки накрывают крышками и оставляют при комнатной температуре на 24—48 ч. Специфические линии преципитации появляются между лунками с антигеном и с сыворотками через 24—48 ч, а иногда — к 72-му ч.

28. Учет и оценку реакции диффузионной преципитации проводят по степени выраженности преципитационных полос, а именно: отсутствие полос — отрицательная реакция (—), едва видимые полосы (+), слабовыраженные полосы (++), отчетливо видимые полосы (+++) и резко выраженные полосы (++++), при этом положительной реакцией считают с оценкой на (+++) и (++++).

29. При идентификации вируса в среднюю лунку помещают исследуемый антиген, а в периферические лунки — гипериммунные преципитирующие сыворотки. Параллельно ставят контроль: испытуемый антиген + нормальная сыворотка.

Оценку реакции проводят по тем же критериям.

**V. Постановка реакции непрямой гемагглютинации (РНГА).**

30. Реакцию непрямой гемагглютинации применяют для ретроспективной диагностики инфекционного бронхита кур, и для ее постановки требуется следующее: а) плексигласовые доски с лунками для РГА; б) 0,9 %-ный раствор хлористого натрия; в) буферные солевые растворы с pH 6,4 и 7,2; г) нормальная сыворотка кролика; д) формалин, содержащий не менее 37 % формальдегида; е) водорастворимый танин; ж) эритроциты барана; з) гипериммунная куриная сыворотка к вирусу инфекционного бронхита; и) нормальная куриная сыворотка; к) вирус инфекционного бронхита.

31. Вирус инфекционного бронхита получают на 8—10-дневных куриных эмбрионах. С этой целью берут известный штамм вируса инфекционного бронхита (типа Массачусетс или Коннектикут) и вводят в аллантоисную полость развивающихся куриных эмбрионов в дозе 0,2 мл. Зараженные эмбрионы помещают в термостат при 37,5 °С и инкубируют в течение 2—3 дн. После этого их помещают в холодильник при 4 °С на 12 ч для охлаждения. Охлажденные эмбрионы вскрывают и от них собирают экстра-эмбриональную жидкость, которую проверяют на стерильность и хранят в замороженном состоянии в течение месяца.

32. Фосфатные буферные растворы готовят на 0,9 %-ном растворе хлористого натрия путем смешивания 0,15 М раствора $NaH_2PO_4$ (безводный, 21,3 г на 1 л) и 0,15 М раствора $Na_2HPO_4$ (23,39 г на 1 л). Растворы смешивают в нижеуказанных количествах (табл. 3).

33. Для получения эритроцитов берут кровь здорового барана, дефибринируют, фильтруют через три слоя марли и центрифугируют. Осадок эритроцитов трижды промывают физиологическим раствором, pH 7,2.

34. Для формалинизации эритроцитов готовят на физиологическом растворе, pH 7,2, 10 %-ную взвесь эритроцитов и 5 %-ный раствор формалина и смешивают их в равных объемах. Смесь выдерживают в течение суток в термостате при 37 °С. При этом необходимо несколько раз встряхивать. Через 24 ч смесь центрифугируют, осадок эритроцитов пятикратно отмывают физиологическим раствором и в виде 10 %-ной взвеси в физрастворе, с добавлением формалина 1 : 1000, хранят при 4 °С в течение 11 мес.

35. Обработку эритроцитов проводят танином, хорошо растворяющимся в воде. С этой целью готовят основное разведение тани-

### 3. Приготовление фосфатных буферных растворов

| Количество 0,15 М р-ра $NaH_2PO_4$, мл | Количество 0,15 М р-ра $Na_2HPO_4$, мл | Концентрация водородных ионов (pH) | Количество 0,15 М р-ра $NaH_2PO_4$, мл | Количество 0,15 М р-ра $Na_2HPO_4$, мл | Концентрация водородных ионов (pH) |
|---|---|---|---|---|---|
| 93,5 | 6,5 | 5,7 | 45,0 | 55,0 | 6,9 |
| 92,0 | 8,0 | 5,8 | 39,0 | 61,0 | 7,0 |
| 90,0 | 10,0 | 5,9 | 33,0 | 67,0 | 7,1 |
| 87,7 | 12,3 | 6,0 | 28,0 | 72,0 | 7,2 |
| 85,0 | 15,0 | 6,1 | 23,0 | 77,0 | 7,3 |
| 81,5 | 18,5 | 6,2 | 19,0 | 81,0 | 7,4 |
| 77,5 | 22,5 | 6,3 | 16,0 | 84,0 | 7,5 |
| 73,5 | 26,5 | 6,4 | 13,0 | 87,0 | 7,6 |
| 68,5 | 31,5 | 6,5 | 10,5 | 90,5 | 7,7 |
| 62,5 | 37,5 | 6,6 | 8,5 | 91,5 | 7,8 |
| 56,5 | 43,5 | 6,7 | 7,0 | 93,0 | 7,9 |
| 51,0 | 49,0 | 6,8 | 5,3 | 94,7 | 8,0 |

Примечание. После смешивания общий объем доводят до 200 мл путем добавления физраствора.

на 1 : 100 на бидистиллированной воде. Основной раствор танина можно хранить при 4 °С в течение 1 мес. Из основного разведения готовят рабочее разведение танина 1 : 20 000 на фосфатном буфере, pH 7,2. Затем к осадку формалинизированных эритроцитов добавляют рабочее разведение танина в соотношении 1 : 10. Смесь выдерживают в водяной бане при 37 °С в течение 15 мин, за этот период ее встряхивают 3—4 раза. Танизированные эритроциты отмывают от избытка танина фосфатным буфером, pH 7,2, и хранят в виде 10 %-ной взвеси в буферном растворе до 1 мес.

36. Формалинизированные и танизированные эритроциты сенсибилизируют вирусом инфекционного бронхита. С этой целью вируссодержащую аллантоисную жидкость оттаивают (размораживают), центрифугируют при 3 тыс. об/мин в течение 15 мин. Надосадочную жидкость смешивают с осадком формалинизированных и танизированных эритроцитов в соотношении 1 : 10 (одна часть осадка эритроцитов и 10 частей вируссодержащей жидкости). Сюда же добавляют 4-кратный объем фосфатного буфера, pH 6,4. Смесь выдерживают в водяной бане при 37 °С в течение 15 мин. За этот период ее встряхивают 3—4 раза.

Сенсибилизированные эритроциты двукратно отмывают физиологическим раствором, содержащим 1 % нормальной кроличьей сыворотки. Сенсибилизированные эритроциты в виде 1,5 %-ной взвеси в физиологическом растворе с 1 %-ной нормальной кроличьей сывороткой хранят при 4 °С в течение 1 мес.

37. Нормальную кроличью сыворотку получают из крови кролика, которую берут из сердца. Сыворотка не должна иметь следов гемолиза эритроцитов. Кроличью сыворотку инактивируют в водяной бане при 56 °С в течение 30 мин и истощают формалинизированными и танизированными эритроцитами. С этой целью к 10 объемам сыворотки добавляют 1 объем осадка эритроцитов, тщательно перемешивают и выдерживают в водяной бане при 37 °С в течение

30 мин, затем центрифугируют при 3 тыс. об/мин в течение 15 мин, сливают и хранят в течение 3 мес.

38. В главный опыт реакции непрямой гемагглютинации берут эритроциты, которые дают равномерную гомогенную взвесь без наличия гемолиза спонтанной агглютинации.

Реакцию ставят на плексигласовых досках. Из испытуемых сывороток готовят последовательно двукратные разведения на физиологическом растворе, содержащем 1 % нормальной кроличьей сыворотки, в объеме 0,2 мл. Для этого в каждую лунку наливают 0,2 мл физиологического раствора с 1 % нормальной кроличьей сыворотки. В первую лунку вносят 0,2 мл испытуемой сыворотки, тщательно перемешивают и 0,2 мл смеси переносят в следующую лунку и т. д. Из последней лунки после тщательного перемешивания 0,2 мл смеси удаляют в дезраствор.

В каждую лунку с соответствующим разведением сыворотки добавляют по 0,2 мл 1,5 %-ной взвеси формалинизированных, танизированных и сенсибилизированных вирусом эритроцитов и тщательно перемешивают.

Реакцию выдерживают при комнатной температуре в течение 3—4 ч.

При постановке реакции включают следующие контроли: а) контроль формалинизированных, танизированных и сенсибилизированных эритроцитов 0,2 мл физиологического раствора, содержащего 1 % нормальной кроличьей сыворотки, плюс 0,2 мл 1,5 %-ной взвеси формалинизированных, танизированных и сенсибилизированных эритроцитов; б) отрицательный контроль — заведомо отрицательная сыворотка плюс 0,2 мл 1,5 %-ной взвеси формалинизированных, танизированных и сенсибилизированных эритроцитов; в) положительный контроль — заведомо положительная сыворотка 0,2 мл плюс 0,2 мл 1,5 %-ной взвеси формалинизированных, танизированных и сенсибилизированных эритроцитов.

39. Реакцию учитывают в том случае, когда контроли 1, 2 — отрицательны, а контроль 3 — положителен.

Учет реакции производят через 3—4 ч после постановки опыта и оценивают по 4-балльной системе (в крестах).

Реакция характеризуется появлением осадка эритроцитов в виде зонтика с ровными или зубчатыми краями и обозначается 4 крестами (++++). Если зонтик покрывает $^2/_3$ дна лунки, ставят 3 креста (+++), если покрывает $^1/_2$ дна лунки, то ставят 2 креста (++).

При агглютинации эритроцитов испытуемыми сыворотками в разведении 1 : 16 и выше (с оценкой не ниже чем на 3 креста) реакцию считают положительной, в разведении 1 : 8 — сомнительной и ниже чем 1 : 8 — отрицательной. Отрицательная реакция характеризуется выпадением эритроцитов в осадок в виде маленькой пуговицы с ровными краями.

40. Все этапы работ по диагностике инфекционного бронхита кур, проводимые в соответствии с разделами I, II, III, IV и V, заносят в специальный журнал.

**Дифференциальный диагноз.** Инфекционный бронхит необходимо дифференцировать от других вирусных заболеваний, протекающих с поражением респираторного тракта (микоплазмоз, инфекционный ларинготрахеит, оспа, ньюкаслская болезнь).

Для выделения микоплазм делают посевы на специальные питательные среды согласно наставлению по лабораторной диагности-

ке микоплазмоза, утвержденному Главветупром Минсельхоза СССР.

Инфекционный ларинготрахеит дифференцируют путем заражения эмбрионов кур на хорионаллантоисную оболочку и постановки реакции нейтрализации согласно наставлению по лабораторной диагностике инфекционного ларинготрахеита, утвержденному Главветупром Минсельхоза СССР.

Оспу дифференцируют путем постановки биопробы на цыплятах.

Для исключения ньюкаслской болезни ставят реакцию гемагглютинации (РГА). Вирус ньюкаслской болезни обладает гемагглютинирующими свойствами. Специфичность РГА подтверждается реакцией гемагглютинации со специфической сывороткой.

# 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