СПРАВОЧНИК

•

ЛАБОРАТОРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ВЕТЕРИНАРИИ

•

ВИРУСНЫЕ, РИККЕТСИОЗНЫЕ И ПАРАЗИТАРНЫЕ БОЛЕЗНИ

Под редакцией Б. И. АНТОНОВА

МОСКВА АГРОПРОМИЗДАТ 1987

gost.e-ecolog.ru

ИНФЕКЦИОННАЯ АНЕМИЯ

Временные методические указания по лабораторной диагностике инфекционной анемии лошадей

(Утверждены 25 марта 1983 г.)

1. Общие положения.

1.1. Инфекционная анемия лошадей — вирусная болезнь однокопытных животных, характеризующаяся рецидивирующей лихорадкой, анемией, а также бессимптомным вирусоносительством.

1.2. Лабораторный диагноз на инфекционную анемию устанавливают на основании результатов серологических (РДП), гематологических и патоморфологических исследований.

В сомнительных случаях для проверки особо ценных лошадей ставят биологическую пробу. При исследовании сывороток лошадей-продуцентов ставят групповую биопробу.

2. Взятие материала.

2.1. Для исследования в ветеринарную лабораторию доставляют: сыворотку крови лошадей (5—6 мл) для серологического исследования; кровь (10—12 мл), стабилизированную 20 %-ным раствором лимоннокислого натрия, для гематологического исследования (кровь берут до поения и кормления животного); кусочки печени, селезенки, почек, сердца, легких и лимфатических узлов, взятых от павших или убитых с диагностической целью животных для гистологического исследования.

2.2. Сыворотку крови или дефибринированную кровь от подозрительных по заболеванию инфекционной анемией лошадей для постановки биологической пробы берут, как указано в п. 6.

3. Серологическое исследование.

3.1. Серологический метод диагностики инфекционной анемии основан на обнаружении антител к вирусу этой болезни в сыворотке крови подозрительных по заболеванию лошадей путем постановки реакции диффузионной преципитации (РДП).

3.2. Исследование проводят в соответствии с «Методикой постановки реакции диффузионной преципитации (РДП) для серологической диагностики инфекционной анемии лошадей», рекомендованной Главным управлением ветеринарии Минсельхоза СССР 5 мая 1977 г.

3.3. Следует иметь в виду, что при остром течении болезни и коротком инкубационном периоде даже при наличии клинических симптомов, характерных для инфекционной анемии, у исследуемого животного могут быть получены отрицательные результаты серологического исследования (антитела в диагностическом титре накапливаются через 2—6 нед после заражения). В связи с этим в таких случаях исследуют кровь повторно через 10—15 дн.

Необходимо также учитывать, что в случаях длительных ремиссий у хронически больных лошадей или латентного течения болезни положительная РДП может быть и при отсутствии клинических признаков и гематологических показателей.

4. Гематологические исследования.

4,1. Гематологические исследования включают определение количества эритроцитов в 1 мм³ крови, количества гемоглобина и скорости оседания эритроцитов (СОЭ).

4.2. Количество эритроцитов подсчитывают в камере Горяева. В пробирку с 4 мл 3 %-ного раствора хлористого натрия вносят 0,02 мл крови. Форменные элементы считают в 80 маленьких или 5 больших квадратах, полученный результат умножают на 10 000. Подсчет эритроцитов можно провести и в электронном счетчике.

4.3. Гемоглобин определяют по общепринятому методу гемометром Сали и полученный результат выражают в г%.

4.4. Для определения СОЭ в эритросидиометр до отметки «0» наливают стабилизированную кровь и каждые 15 мин учитывают в течение часа, а затем через 24 ч отмечают уровень оседания эритроцитов. Для больных лошадей характерна повышенная СОЭ, особенно в первые 15 мин (60—70 делений). СОЭ определяют при комнатной температуре.

4.5. Сравнительные показатели крови здоровых и больных лошадей следующие:

Вид исследований	Показатели крови здоровых лошадей при нормальной упитанности	Показатели крови лошадей, больных инфекционной анемией
Эритроциты, млн/мм³	От 5 до 9	4,5 и ниже
Гемоглобин, г%	7,6	5,0 и ниже
СОЭ (делений за 1 ч)	45—60	66 и более

4.6. Следует иметь в виду, что в начале заболевания при первом подъеме температуры резкие отклонения от нормы количества эритроцитов и процента гемоглобина, как правило, отсутствуют. У хронически больных инфекционной анемией животных эти показатели восстанавливаются до нормы, а СОЭ остается повышенной.

4.7. У лошадей с повышенной температурой тела следует исключить наличие нутталий, пироплазм.

5. Методика гистологического исследования.

5.1. Для гистологического исследования готовят срезы и окрашивают их гематоксилин-эозином общепринятым методом.

Срезы для исследования на гемосидерин окрашивают по Перлсу. Для этого срезы из чашки с дистиллированной водой переносят в смесь 2 %-ного водного раствора желтой кровяной соли и 1 %-ного водного раствора соляной кислоты (в пропорции на 2 капли первого раствора 1 мл второго). В этой смеси срезы выдерживают до появления синей окраски (15—20 мин), после чего промывают их в течение 10 мин дистиллированной водой, затем докрашивают 10 мин 1 %-ным раствором квасцового кармина. Далее проводят через спирты, карбол-ксилол и заключают в бальзам. Зернышки гемосидерина окрашиваются в голубой или зеленоватый цвет.

При окрашивании срезов следует пользоваться только дистиллированной водой и стеклянными иглами (исключают железосодержащие предметы).

6. Постановка биологической пробы.

6.1. Для биологической пробы отбирают двух жеребят в возрасте 6—12 мес (допускается использование более взрослых животных) из хозяйств, благополучных по инфекционным болезням.

Перед постановкой биопробы жеребят подвергают четырехкратным клинико-гематологическим и серологическим исследованиям с интервалом в 7 дн.

6.2. Для заражения жеребят берут стерильно от наиболее подозрительных по заболеванию инфекционной анемией лошадей кровь в количестве по 300—500 мл от каждой, лучше во время подъема температуры.

6.3. Жеребят заражают сывороткой крови или плазмой. При необходимости их фильтруют через фильтр Зейтца, затем фильтрат проверяют на стерильность и безвредность путем высева на питательные среды (МПБ, МПА, МППБ) и инъекции трем белым мышам подкожно в дозе 1 мл.

Если через 3 дня рост микрофлоры на питательных средах отсутствует и белые мыши остаются живыми, сыворотку крови вводят двум жеребятам подкожно или внутривенно в дозе 100—200 мл каждому.

Дефибринированную кровь вводят только подкожно в той же дозе.

6.4. Групповую биопробу проводят путем заражения двух жеребят смесью сыворотки (плазмы) крови 10—15 лошадей-продуцентов. Смесь вводят подкожно в количестве 100—200 мл каждому жеребенку.

6.5. Наблюдения за зараженными животными ведут в течение 90 дн., при этом каждые 10—15 дн. проводят гематологические и серологические исследования.

6.6. Биологическую пробу считают положительной при наличии у зараженных жеребят характерных клинических симптомов заболевания — рецидивирующей лихорадки, слабости, бледности или желтушности слизистых оболочек, исхудания и при получении положительных результатов серологических, гематологических исследований.

6.7. Жеребят, давших сомнительные результаты клинико-гематологических и серологических исследований, подвергают убою и исследуют патологоанатомически и гистологически.

При положительном результате обнаруживают следующие патологоанатомические изменения: серозно-геморрагическую инфильтрацию подкожной и межмышечной клетчатки, гиперемию и отек лимфоузлов, зернистую или жировую дистрофию скелетной мускулатуры, миокарда, почек, множественные кровоизлияния на слизистых, серозных оболочках и под капсулой органов. Селезенка сильно увеличена вследствие кровенаполнения пульпы. Печень застойно гиперемирована, увеличена, с выраженной дольчатостью на разрезе, паренхима имеет мускатный рисунок.

Гистологические изменения соответствуют описанным в приложении.

6.8. Биопробу считают отрицательной при отсутствии у подопытных жеребят симптомов болезни и получении отрицательных результатов серологических и гематологических исследований.

7. Сроки исследований: серологического — 7 дн., гематологического — 2, гистологического — 14, биологического — 90 дн.

Патогистологические изменения при инфекционной анемии

Характер и степень патогистологических изменений зависит от стадии болезни, количества рецидивов, ремиссий и их продолжительности.

При острой форме болезни обнаруживают: в печени — пролифераты эндотелия синусов и купферовских клеток со скоплением в синусах крупных гистиоцитов, содержащих гемосидерин, гистиоцитарно-лимфоидные пролифераты в междольковой соединительной ткани.

Печеночные клетки в состоянии жировой или зернистой дистрофии; в селезенке — пульпа инфарцирована эритроцитами и обеднена лимфоцитами, количество гемосидерина резко снижено или, наоборот, кровенаполнение слабое, а фолликулы гиперплазированы, количество гемосидерина в норме или несколько повышено; в почках и сердце — гиперемия, кровоизлияния, серозный отек интерстиция, слабые пролифераты гистиоцитарных и лимфоидных клеток, жировая или зернистая дистрофия, иногда небольшие отложения гемосидерина в эндотелиальных клетках и гистиоцитах; лимфатические узлы гиперемированы, с кровоизлияниями; в легких — кровоизлияния под плевру.

Хроническая форма болезни характеризуется следующими изменениями: в печени — диффузные пролифераты лимфоидных клеток и в меньшей степени мелких гистиоцитов, содержащих гемосидерин. У животных, павших в период тяжелого обострения, в печени находят скопления крупных гистиоцитов, нагруженных гемосидерином; в селезенке — диффузная гиперплазия и резкое уменьшение количества гемосидерина или его полное исчезновение. Кроме того, у лошадей, павших во время приступа, в селезенке отмечают повышенное кровенаполнение синусов и очаговое инфарцирование пульпы эритроцитами; в почках — продуктивный гломерулонефрит, сосудистые клубочки увеличены и обогащены ядрами. Между канальцами и вокруг сосудов — скопления лимфоидных клеток. У животных, павших во время тяжелого лихорадочного приступа, в полости капсулы сосудистых клубочков находят серозный, а иногда серозно-геморрагический экссудат, гемосидерин находят в клубочках и гистиоцитах; в сердце — очаговый или диффузный интерстициальный миокардит с преимущественным поражением предсердий (особенно левого); в лимфатических узлах — лимфоцитоз и незначительное отложение гемосидерина; в легких — пролифераты лимфоидных клеток, а также гистиоцитов, нагруженных гемосидерином.

В поздних стадиях болезни в почках отмечают цирроз и склероз сосудистых клубочков. В сердце — миофиброз и склероз миокарда и эндокарда.

В период ремиссий изменения претерпевают обратное развитие или могут отсутствовать, за исключением стойких необратимых процессов: лимфоцитоз паренхимы селезенки, хронический гломерулонефрит, склерозы эндо- и миокарда.

gost.e-ecolog.ru