СПРАВОЧНИК

ЛАБОРАТОРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ВЕТЕРИНАРИИ

БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ИНФЕКЦИИ

gost.e-ecolog.ru

СПРАВОЧНИК

•

ЛАБОРАТОРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ВЕТЕРИНАРИИ

•

БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ИНФЕКЦИИ

Под редакцией Б. И. АНТОНОВА

МОСКВА АГРОПРОМИЗДАТ 1986

ББК 48.73
Л 12
УДК 619:616.9—08 (031)

Составители: *Б. И. Антонов, В. В. Борисова, П. М. Волкова, Л. П. Каменева, Л. В. Кошеленко, Г. А. Михальский, В. В. Поповцев, Л. И. Прянишникова, В. Е. Храпова*

Л 12 **Лабораторные** исследования в ветеринарии. Бактериальные инфекции: Справочник/Сост. Б. И. Антонов, В. В. Борисова, П. М. Волкова и др.; Под ред. Б. И. Антонова.— М.: Агропромиздат, 1986.— 352 с.

В книге даны методы лабораторных исследований патологического материала с целью определения возбудителя инфекционной болезни. Они изложены по единой схеме: бактериологические и бактериоскопические исследования, биопроба, идентификация и дифференциация возбудителей. Методы унифицированы и стандартизированы

Для ветврачей и фельдшеров, лаборантов ветеринарных лабораторий.

Л $\frac{3805020000—079}{035\ (01)—86}$ 305—86 ББК 48.73

© ВО «Агропромиздат», 1986

ПРЕДИСЛОВИЕ

В деле выполнения решений партии и правительства по дальнейшему развитию животноводства, а также задач, поставленных Продовольственной программой страны, ветеринарной службе большую помощь оказывают ветеринарные лаборатории.

Ветеринарные лаборатории осуществляют диагностику инфекционных и паразитарных болезней животных, выявляют нарушения обмена веществ в их организме, проводят исследования, направленные на предупреждение отравлений, помогая тем самым специалистам совхозов, колхозов и других хозяйств успешно осуществлять лечебно-профилактические мероприятия. От того, насколько своевременно ставится диагноз, разработаны и рекомендованы профилактические и лечебные меры, зависит успех ликвидации болезней, сохранность поголовья животных и повышение их продуктивности.

Последнее время в лабораториях появилось много приборов и приспособлений, облегчающих труд специалистов и позволяющих проводить исследования на более современном и качественном уровне, с большой достоверностью. В связи с этим многие ранее действовавшие методические указания переработаны.

Кроме того, ежегодно для лабораторной практики предлагаются новые методы диагностики. В отечественной и зарубежной литературе постоянно публикуется большое количество материалов о новых методах исследований, предлагаются различные модификации существующих методик, вводятся дополнительные диагностические тесты.

Ветеринарные лаборатории в своей работе не могут использовать всего многообразия имеющихся в литературе методов исследования или из-за того, что они недостаточно апробированы, или из-за сложности применяемого оборудования. Иногда методы, предлагаемые различными авторами, при определении одних и тех же показателей дают несовпадающие результаты.

В связи с этим в справочник включены методы лабораторных исследований патологического материала, получаемого от больных, убитых или павших сельскохозяйственных животных, апробированные Центральной ветеринарной лабораторией и утвержденные Главным управлением ветеринарии Министерства сельского хозяйства СССР. Книга содержит методические указания по диагностике инфекционных болезней бактериальной этиологии, а также методические указания по применению культур клеток в диагностических исследованиях.

Методики изложены по единой схеме: взятие и пересылка патологического материала, методы его обработки и обогащения; бактериоскопические исследования, включая световую и люминесцентную микроскопию; выделение культур возбудителей инфекционных болезней на питательных средах; заражение лабораторных животных как с целью выделения чистой культуры возбудителя, так и определения степени ее патогенности; гистологические исследования; идентификация и дифференциация возбудителей с использованием различных методов; серологические исследования для определения вида возбудителя.

Приведенные в справочнике методы лабораторных исследований унифицированы и стандартизированы. В широком смысле слова унификация и стандартизация подразумевают применение для различных исследований одних и тех же аппаратов, приборов, инструментов, посуды, реактивов, исключая, конечно, специальные методы исследования; применение стандартных (унифицированных) питательных сред и диагностикумов; разработку методических указаний по единой форме. Все это позволяет лабораторным работникам с меньшей затратой сил и средств, на высоком методическом и техническом уровне, качественно и в срок проводить диагностические исследования. Таким образом, стандартизация методов исследования явится способом наведения строгого порядка в работе ветеринарных лабораторий.

Книга предназначена для ветеринарных врачей, фельдшеров, а также лаборантов ветеринарных диагностических лабораторий.

В справочник не вошли материалы по диагностике туберкулеза, так как они пересматриваются и дополняются, поэтому их публикация будет осуществлена в последующих изданиях.

Наставление по диагностике респираторного микоплазмоза птиц

(Утверждено Главным управлением ветеринарии Минсельхоза СССР 28 декабря 1969 г.)

Респираторный микоплазмоз птиц — болезнь кур и индеек, вызываемая микроорганизмом из группы плевропневмониеподобных (ППЛО) — Mycoplasma gallisepticum, протекающая часто в ассоциации с другими бактериальными и вирусными болезнями (колисептицемия, гемофилез, пастереллез, инфекционный ларинготрахеит, инфекционный бронхит, псевдочума, оспа).

Клиническими признаками являются: ринит, синусит, ларингит, кашель, затрудненное дыхание, хрипы, понижение аппетита. Кроме того, у молодняка — отставание в росте и развитии, а у взрослых — потеря в весе и снижение яйценоскости. У взрослой птицы заболевание микоплазмозом может протекать бессимптомно.

Эпизоотической особенностью болезни является медленное ее распространение в стаде, хроническое течение, повышенная смертность

эмбрионов в последние дни инкубации (18—21-й день) и цыплят в первые дни жизни. Лабораторные животные (кролики, морские свинки и белые мыши) к заболеванию невосприимчивы. С целью диагностики респираторного микоплазмоза проводят патологоанатомическое вскрытие, бактериологическое, биологическое и в сомнительных случаях гистологическое исследование.

1. При патологоанатомическом вскрытии — в начальной стадии отмечается катаральное воспаление слизистой оболочки носовой полости, подглазничных синусов, гортани и трахеи со скоплением в них серозно-слизистого экссудата. В дальнейшем обнаруживают катарально-фибринозное воспаление слизистых оболочек верхних дыхательных путей и помутнение стенок воздухоносных мешков; последние теряют прозрачность, утолщены и покрыты с внутренней поверхности желтовато-белыми, слизеподобной консистенции пленками, а иногда бледно-желтоватыми хлопьями фибрина. В выраженных случаях полость одного или нескольких воздухоносных мешков заполнена фибринозно-казеозными массами. В воздухоносных мешках, кроме того, нередко можно обнаружить мутноватую тягучую жидкость. Часто устанавливают катаральную или крупозно-некротизирующую пневмонию. Указанные патологоанатомические изменения не всегда полностью выражены и могут наблюдаться в различных сочетаниях.

2. Для бактериологического исследования от свежих трупов или убитых больных птиц используют соскобы со слизистых оболочек гортани, трахеи, головной мозг, а также стенки воздухоносных мешков, кусочки легких. При отсутствии патологоанатомических изменений у взрослой птицы исследованию подвергают желточный мешок, легкие, трахею эмбрионов последних дней инкубации и 1—2-суточных цыплят.

При необходимости пересылки патологического материала его подвергают замораживанию при минус 5—10°С в течение часа. Перевозка производится в термосе со льдом.

Из патматериала готовят суспензию на МПБ (1 : 10), которую обезвреживают от банальной микрофлоры добавлением раствора уксуснокислого таллия (1 г на 400 мл дистиллированной воды) в количестве 0,2—0,3 мл и пенициллина 5—10 тыс. ЕД на 1 мл суспензии. Смесь выдерживают при комнатной температуре в течение 40 мин, после чего производят посев.

Суспензию из патологического материала можно также освободить от посторонних бактерий фильтрацией через крупнопористые фильтры (Дроботько, мембранные № 3—4) или центрифугированием при 3,5—4 тыс. об/мин в течение 30—40 мин. Затем фильтрат или надосадочную жидкость обрабатывают пенициллином (3000—5000 ЕД на 1 мл жидкости). Посев подготовленного материала проводят на одну из питательных сред: Эдварда, Хоттингера, Мартена или из куриного мяса. Одновременно с помощью пастеровской пипетки проводят посевы из головного мозга без обработки материала ацетатом таллия и пенициллином.

Приготовление питательных сред.

А. *Среда Эдварда.* Основную жидкую среду готовят из отвара сердца крупного рогатого скота (в соотношении 1 : 2) с добавлением к нему 1% пептона. Полученный бульон готовят с pH 8,2 и выдерживают в термостате (37°С) в течение 10—12 ч с целью осаждения избытка фосфатов. Основа среды должна храниться при температуре не выше 4°С не более 3 мес со дня изготовления. Перед посевом к ней добав-

ляют 20% стерильной инактивированной сыворотки крови лошади или крупного рогатого скота и 10% экстракта хлебопекарских или пивных дрожжей.

Дрожжевой экстракт готовят путем добавления к 50 г сухих пивных дрожжей или к 100 г хлебопекарских 200—250 мл дистиллированной воды с последующим кипячением (30—40 мин) до прекращения пенообразования. Стерилизацию экстракта проводят фильтрованием через фильтр Зейтца. Дрожжевой экстракт пригоден к употреблению в течение двух-трех недель при условии хранения в холодильнике (при 2—4°С).

Кроме жидкой среды, для культивирования микоплазм применяют плотный или полужидкий агар Эдварда. Для получения плотной среды к бульону добавляют 2%, а для полужидкой — 0,3% агар-агара.

Б. *Среда Хоттингера. Приготовление основного перевара Хоттингера из сырого мясного фарша.* На 1 кг говяжьего или конского фарша добавляют 1,5 л дистиллированной воды и 7—8 г двууглекислой соды, с тем чтобы pH смеси был 7,8—8,0. После этого на каждый кг фарша добавляют 150—170 г мелкоизмельченной и очищенной от жира поджелудочной железы или 18—20 г панкреатина и на каждый литр смеси — 10 мл х. ч. хлороформа.

В бутыли смесь разливают на 2/3 их объема, закрывают резиновой пробкой и тщательно перемешивают. Затем, открыв пробку, выпускают образовавшиеся пары хлороформа и бутыль снова закрывают. Бутыль помещают в термостат при 40—42°С на 7—8 сут.

В процессе ферментативного переваривания в первые 12 ч бутыли взбалтывают каждый час с открыванием пробки. В последующие сутки взбалтывание производят через 2—3 ч. Через 7—8 сут мясной фарш переваривается, причем в нижней части бутыли образуется осадок, над которым при правильном переваривании верхний слой жидкости имеет соломенно-желтый цвет. Перевар подкисляют х. ч. соляной кислотой до pH 5,0—5,5 для прекращения процесса переваривания.

Химические показатели готового перевара Хоттингера должны быть следующими: общего азота 1200—1400 мг%, аминного азота 750—950 мг%, триптофана 200—300 мг%.

Приготовление основного перевара Хоттингера из вареного мясного фарша. Мясо крупного рогатого скота или лошади (средней упитанности) нарезают мелкими кусочками и опускают на 15—20 мин в кипящую воду из расчета 34,2 кг мяса на 54,4 л дистиллированной воды. После переваривания мясо отделяют от отвара и пропускают через мясорубку. Фарш смешивают с мясным отваром и к смеси прибавляют 10,8 кг очищенной от оболочек и жира поджелудочной железы или на 1 л перевариваемой массы 16—18 г панкреатина. К смеси прибавляют 600 г двууглекислой соды и разливают в 20-литровые баллоны на 2/3 объема. Затем в каждый баллон прибавляют 15—20 мл х. ч. хлороформа на каждый литр перевариваемой массы.

Бутыли плотно закрывают резиновой пробкой и помещают в термостат на 48 ч при температуре 41°С, взбалтывая их 2—3 раза в сутки (при взбалтывании каждый раз необходимо открывать пробку). Через 48 ч в результате переваривания в бутылях образуется прозрачная жидкость желтого цвета с мелким красноватым осадком на дне, которую подкисляют х. ч. соляной кислотой до pH 5,0—5,5 для прекращения переваривания. Перевар можно хранить без стерилизации.

Готовый перевар должен иметь следующие показатели: общего

азота 900—1000 мг%, аминного азота 600—750 мг%, триптофана 200—300 мг%.

Приготовление бульона из переваров Хоттингера, полученных из сырого и вареного мясного фарша. Для приготовления бульона используют основной перевар Хоттингера без осадка, который разводят в 3—4 частях горячей дистиллированной воды из расчета содержания аминного азота 185—200 мг%. Смесь подогревают до кипения, после чего в нее прибавляют 0,3% поваренной соли, 0,5% пептона, 0,5% двузамещенного фосфорнокислого натрия и кипятят в течение 15 мин. После этого 4%-ным раствором едкого натра устанавливают pH среды 8,0—8,2. Затем смесь вновь доводят до кипения, отстаивают 30 мин, фильтруют через плотный ватно-марлевый фильтр.

К охлажденному до 40—50°С бульону добавляют 20% стерильной сыворотки лошади или свиньи (предварительно инактивированной при 56°С в течение 30 мин) и 0,5% глюкозы. Готовую жидкую среду стерилизуют фильтрацией через стерилизующие фильтры и в течение 48 ч выдерживают в термостате для проверки на стерильность.

Для приготовления плотной питательной среды к жидкой (до прибавления сыворотки и других компонентов) добавляют 2% агар-агара. Агаровую основу стерилизуют в автоклаве при 127°С 60 мин. После стерилизации к плотной среде, предварительно охлажденной до 50—60°С, прибавляют 20% стерильной сыворотки крови лошади или свиньи и 0,5% глюкозы (20 мл стерильного 25%-ного раствора на 1 л среды). Питательную среду (до застывания) стерильно разливают в пробирки по 4—5 мл и скашивают.

В. *Среда Мартена из свиных желудков.*

Для приготовления гидролизата из свиных желудков фарш желудков, очищенных от жира, разбавляют водопроводной водой в соотношении 300 г фарша на 1 л воды. На каждый литр смеси добавляют 100 мл х. ч. соляной кислоты (уд.вес 1,174—1,188). Переваривание производят в бутылях. Смесью фарша и воды заполняют $^2/_3$ объема сосуда. Бутыли помещают в термостат при 50°С на 24 ч. В процессе переваривания бутыли взбалтывают каждый час. Через 24 ч фарш переваривается, причем в нижней части бутыли образуется осадок, над которым при правильном переваривании верхний слой жидкости имеет светло-соломенный цвет. Готовый гидролизат стерилизуют текучим паром в течение 60 мин. В профильтрованной пробе гидролизата определяют содержание общего и аминного азота.

Готовый препарат должен содержать 650—800 мг% общего азота и 140—175 мг% аминного азота.

Гидролизат отстаивают 7 дн., отделяют от осадка, фильтруют через ватно-марлевый фильтр и приступают к изготовлению бульона.

К гидролизату прибавляют 10% дистиллированной воды (на выкипание), подогревают до 80°С и нейтрализуют 20%-ным раствором едкого натра, доводя pH до 8,0—8,2. Затем бульон кипятят в течение 1 ч, отстаивают 30 мин, фильтруют через плотный ватно-марлевый фильтр.

Изготовление плотной и жидкой питательных сред из бульона производят аналогично среде Хоттингера.

Г. *Приготовление сред из куриного мяса.* Жидкую среду готовят из мяса (без жира и кожи) с использованием печени и сердца от этих же тушек кур. Мясо пропускают через мясорубку. Кровь от убитой птицы собирают отдельно в сосуд и замораживают. К 500 г фарша добавляют 1000 мл дистиллированной воды и помещают на ночь в холодильник, после чего кипятят 30 мин на водяной бане или обрабатывают текучим паром. Мясо отжимают через марлю, а мясную воду отфильтровывают через

вату. К мясной воде добавляют 0,5% поваренной соли, около 10% едкого натра до pH 7,8 и 5% куриной крови из замороженного сгустка (сгусток оттаивают и измельчают ножом). Бульон вторично варят 30 мин на водяной бане или текучим паром в автоклаве, фильтруют до полной прозрачности через фильтровальную бумагу, проверяют pH (7,8), разливают во флаконы и дробно стерилизуют. Перед употреблением к бульону добавляют 20% инактивированной в течение 30 мин при 56°С сыворотки крови лошади или крупного рогатого скота или свиней, разливают в стерильные пробирки и выдерживают не менее суток в термостате (проверка на стерильность).

Дробную стерилизацию бульона после добавления сыворотки можно заменить фильтрованием через фильтр Зейтца (СФ).

Плотная питательная среда. Агаровую среду готовят 2%-ной концентрации из куриного бульона и стерилизуют автоклавированием 25 мин при 0,5 атм. Перед употреблением среду расплавляют, охлаждают до 50—60°С и добавляют 20% сыворотки крови, после чего разливают в пробирки или чашки Петри. Сыворотку стерилизуют фильтрованием через фильтр Зейтца (СФ).

Рост возбудителя микоплазмоза на жидких и полужидких средах характеризуется едва заметной опалесценцией или нежным помутнением. Часто при наличии роста возбудителя жидкая среда остается прозрачной. На плотных средах микоплазма образует мелкие круглые бесцветные колонии с гладкой или пуговчатой поверхностью, хорошо различимые при малом увеличении микроскопа.

Для стимулирования роста микоплазм производят не менее 5 слепых пассажей на указанных средах с промежутками между посевами в 5 дн. Посевы помещают в термостат (37—38°С).

Для поддержания культур микоплазм используют полужидкие питательные среды.

Приготовление и окраска мазков из культур микоплазм. Для приготовления мазков 3—5-суточную культуру микоплазм на жидкой питательной среде центрифугируют 30 мин при 3—6 тыс. об/мин, надосадочную жидкость сливают, а осадок для освобождения от балластных веществ 2—3 раза отмывают физиологическим раствором при 30-минутном центрифугировании с указанным числом оборотов. Из осадка готовят мазки, фиксируют метиловым спиртом (20 мин) и окрашивают методом Романовского — Гимзы 4—7 ч.

В мазках микоплазмы представляют собой множественные мельчайшие полиморфные коккобактерии фиолетового или голубоватого цвета, беспорядочно расположенные по всему полю зрения.

Постановка реакции гемагглютинации с культурами микоплазм. Патогенные культуры микоплазм дают положительную реакцию гемагглютинации (РГА). Для постановки РГА проводят ряд двукратновозрастающих (от 1 : 2 до 1 : 64) разведений на физиологическом растворе 3—5-суточной культуры микоплазм на жидкой среде. К полученным разведениям добавляют равный объем 1%-ной взвеси отмытых (по общепринятой методике) эритроцитов кур. Пробирки встряхивают и оставляют при комнатной температуре на 45—60 мин для учета результатов реакции.

При постановке РГА ставят два контроля: контроль среды (0,5 мл жидкой среды и 0,5 мл 1%-ной взвеси эритроцитов) и контроль эритроцитов (0,5 мл 1%-ной взвеси и 0,5 мл физиологического раствора поваренной соли). В контролях РГА должна быть отрицательной.

3. **Биологическую пробу** для определения патогенности выделенных культур микоплазм проводят путем заражения куриных или индюши-

ных эмбрионов 9-дневного возраста в хориоаллантоисную полость. Доза культуры на жидкой питательной среде — 0,2 мл. Используют не менее 15 эмбрионов, 10 из которых заражают, 5 оставляют для контроля. Яйца инкубируют при температуре 38—40°С и ежедневно овоскопируют.

При вскрытии эмбрионов, погибших через 48 ч и позднее (павших через 24 ч — не исследуют), обнаруживают диспропорцию в развитии зародыша, артриты, резко выраженные отеки и кровоизлияния на коже головы, теле, лапках, застойных и дегенеративные изменения в паренхиматозных органах, отек и кровоизлияния в околоплодных оболочках, аэросакулиты и пневмонию. Наличие возбудителя устанавливают посевами на специальные питательные среды.

Биопроба считается положительной при условии гибели не менее 50% зараженных эмбрионов при выживании контрольных.

4. **Для гистологического исследования** от трупов или убитых больных птиц и павших эмбрионов берут стенки подглазничных синусов, носовой полости, воздухоносных мешков, гортань, трахею, кусочки легких и паренхиматозных органов.

Патологический материал фиксируют 10%-ным раствором формалина. Кусочки органов после фиксации (в течение 24—48 ч) заливают в целлоидин или парафин. Срезы окрашивают гематоксилин-эозином. При необходимости используют дополнительные методы окраски (на соединительную ткань — пикрофуксином, на жир — суданом III и др.). Также используют метод ускоренной целлоидиновой проводки.

Гистологический диагноз на респираторный микоплазмоз ставят на основании следующего комплекса изменений, обнаруживаемых в различных отделах органов дыхания исследуемых птиц:

а) пролиферации респираторного эпителия слизистых оболочек верхних дыхательных путей и бронхов, развивающейся на фоне катарального, реже фибринозного воспаления с преобладанием в инфильтрате лимфоидных и плазматических клеток; образования и гиперплазии фолликулов, трубчатого удлинения слизистых желез, а также образования выростов слизистой оболочки, напоминающих папилломы;

б) катаральной или крупозной пневмонии с очаговыми некрозами, окруженными гигантскими клетками; образования и гиперплазии лимфатических фолликулов, реже с гигантоклеточными гранулемами и инкапсулированными секвестрами;

в) катарально-фибринозного аэроваскулита, протекающего в части случаев с некротизацией внутренней части сильно измененной и утолщенной стенки, а также с формированием в толще ее очагов некроза, редко гигантоклеточных гранулем и инкапсулированных секвестров.

В случае ассоциированных инфекций, где одним из возбудителей является M. gallisepticum, а другим один из вирусов (инфекционного бронхита, инфекционного ларинготрахеита, псевдочумы, оспы), кроме патологии, характерной для респираторного микоплазмоза, обнаруживают также изменения, свойственные вирусным инфекциям.

5. При установлении **диагноза на респираторный микоплазмоз птиц** необходимо дифференцировать колисептицемию, гемофилез, хронический пастереллез, аспергиллез, инфекционный ларинготрахеит, инфекционный бронхит, оспу, авитаминоз А.

Лабораторная дифференциальная диагностика бактериальных болезней проводится согласно существующим наставлениям.

Для исключения вирусных инфекций проводят заражение 9—10-дневных куриных эмбрионов суспензией исходного патматериала,

обработанного антибиотиками или профильтрованного по общепринятой методике. Суспензию в дозе 0,2 мл инокулируют 10 эмбрионам в хорионаллантоисную полость и 10 эмбрионам на хорионаллантоисную оболочку. Зараженные куриные эмбрионы инкубируют в термостате и по мере их гибели проводят бактериологическое исследование, серологические реакции (гемагглютинации, задержки гемагглютинации, нейтрализации), а также ставят биопробу на птице.

Инфекционный ларинготрахеит. Вирус ИЛТ на 4—5-й день культивирования в куриных эмбрионах образует поражения на хорионаллантоисной оболочке. Иногда требуется провести 2—3 пассажа на эмбрионах. Некоторые штаммы вируса обладают гемагглютинирующими свойствами.

Цыплята в возрасте 2—4 мес, зараженные суспензией из пораженной хорионаллантоисной оболочки путем нанесения материала на скарифицированную слизистую трахеи, заболевают через 2—12 дн. Кожно-фолликулярная реакция — отрицательная.

У павших и убитых цыплят обнаруживают казеозные пробки и сгустки крови в гортани, трахее, резкую десквамацию эпителия слизистой оболочки этих органов и бронхов, своеобразные гигантские клетки, образованные из эпителиальных, с наличием патогномоничных ацидофильных внутриядерных включений (через 2—4 дня после заражения).

Инфекционный бронхит. Вирус инфекционного бронхита при культивировании на куриных эмбрионах вызывает их гибель на 3—5-й день или отставание в росте — карликовость; не обладает гемагглютинирующими свойствами. Для выделения вируса необходимо проведение 5—8 слепых пассажей на куриных эмбрионах.

Интратрахеальное заражение цыплят 30—45-дневного возраста вируссодержащей эмбриональной жидкостью вызывает через 18—36 ч заболевание, проявляющееся насморком, хрипами, кашлем.

Патоморфологические изменения характеризуются отеком собственно слизистой оболочки трахеи и бронхов и мононуклеарно-клеточной инфильтрацией, протекающей без нарушения целостности эпителиального пласта.

Оспа птиц. Вирус оспы птиц при заражении куриных эмбрионов вызывает через 5—6 дн. узелковые поражения хорионаллантоиса.

При втирании вируссодержащего материала (суспензия тканей из мест поражения от больной птицы или измененной хорионаллантоисной оболочки) в перьевые фолликулы голени невакцинированных против оспы кур возникает оспенный фолликулит.

В гистосрезах слизистой оболочки ротовой полости, глотки, гортани, при дифтеритическом поражении последних обнаруживают патогномоничные суданофильные внутрипротоплазматические включения (тельца Боллингера), импрегнирующиеся серебром по методике Морозова в модификации Апатенко.

Авитаминоз А. Характеризуется изменениями эпителия слизистой пищевода, гортани и трахеи, а также отсутствием инфекционности материала при постановке биопробы.

Эпизоотические, клинические и патоморфологические данные, а также положительный результат бактериологического исследования и биологической пробы являются основанием для установления диагноза на респираторный микоплазмоз.

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

Агар глюкозо-кровяной 227
— дрожжевой 27
— картофельный 82
— кровяной 230
— молочно-солевой 228
— мясо-пептонный печеночно-глюкозо - глицериновый (МППГГА) 82
— печеночно-аминопептидный 85
— печеночно-глюкозо-глицериновый (ПГГА) 82
— плотный печеночно-сывороточный 85
— полужидкий печеночно-сывороточный 85
— полужидкий с дефибринированной кровью 248
— сывороточно-декстрозный 85
— шоколадный 239

Бульон глюкозо-сывороточный 227
— дрожжевой 27
— мясо-пептонный печеночный (МППБ) 82
— печеночно-глюкозо-глицериновый 82
— с желчью 10%-ный 186, 227
— 40%-ный 230

Вода мясная 82
— печеночная 82
Выбор питательных сред 271

Гель агаровый 1%-ный 31

Дезагрегация ткани 314

Жидкость Карнуа 309

Индикатор для определения анаэробных условий 39

Консервирующая смесь глицериновая 185
— — фосфатная буферная 185

Лизис желчью 225

Метод выявления капсулообразования 13, 14
— определения вирулентности сибиреязвенных культур 14
— флуоресцирующих антител (МФА) 180
Молоко с метиленовым синим 228
— с 0,02%-ным метиленовым синим 230

Обнаружение индола 217
Окраска мазков гематоксилин-эозином 309
— — по Козловскому 81
— — по методу Гинса 239
— — по Романовскому — Гимзе 309
— — по Стампу 81
— — по Фельгену 309
— — по Шуляку — Шину 82
Определение гемолитической активности 8
— концентрации углекислого газа 85

Получение и подготовка эритроцитов барана для постановки РСК и РДСК 86
Приготовление индикаторных бумажек 187

Раствор антибиотиков 272
— веронал-мединаловый буферный 329
— версена 282
— гидролизата лактоальбумина 0,5%-ный 283
— гидролизата мышечных белков 0,3%-ный 282
— глицерина 216
— двууглекислого натрия 282
— двухромовокислого калия 279
— полиэтиленгликоля 326
— Тироде 281
— трипсина 283
— уксусной кислоты 282

— физиологический хлорида натрия с добавлением ионов магния и кальция (для постановки РСК и РДСК) 86
— Хенкса 281
— хлорида натрия фенолезированные для РА 86
Реактив биуретовый 328
— йодистый калий 328
Реакция диффузной преципитации в геле 333
— с метилротом 218
— нейтрализации с целью выявления антител к вирусу инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи 332
— непрямой гемагглютинации (РПГА) 332
— преципитации 8
— связывания комплемента (РСК) 334
— торможения гемагглютинации (РТГА) 332
— Фогеса — Проскауэра 218
— Эрлиха 181
— метиленового синего 226

Среда Биттера с рамнозой 187
— водно-сывороточная 145
— дифференциальная висмут-сульфат-агар 186
— — Левина 186
— — Плоскирева 186
— — трехуглеводная с мочевиной 186
— — Эндо 186
— для обнаружения сероводорода 216
— для определения способности бактерий расщеплять мочевину 218
— для посева по Свену — Гарду 187
— Дюбуа — Смита 90
— Заксе 243
— Игла 282, 324
— из гидролизата мышцы сердца крупного рогатого скота 252
— из куриного мяса 260
— Кларка 218
— Клиглера 217
— комбинированная Олькеницкого 216
— Мартена 251, 260
— плотная ВИЭВ для изоляции кампилобактерий 125, 126
— сафранино-железо-новобиоциновая 123, 124
— Симмонса 216
— с лактозой 252
— с повышенным содержанием лактозы 187
— с теллуритом калия 228
— триптический перевар бычьего сердца 337
— Ферворта — Вольфа в модификации С. И. Тарасова 146
— Флетчера 146
— 6,5%-ного хлорида натрия 228
— Хоттингера 259
— Эдварда 258
— энтерококковая дифференциально-диагностическая 228
Среды индикаторные с амидочерным 168
— — с конгоротом 168
— — с лакмусом 167
— — с метилротом 167
— — с нейтральротом и метиленовой синью 167
— — обогащения Кауфмана 186
— — Киллиана 186
— — Мюллера 186
— — селенитовая 185
— плотные питательные 252

Тест «жемчужного ожерелья» 6,7
Фаготипирование 17—28
Экстракт дрожжевой 252
Эритрит-агар 85

СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие 3
Методы диагностики бактериальных инфекций 5
Сибирская язва 5
Методические указания по лабораторной диагностике сибирской язвы 5
Методические указания по обнаружению возбудителя сибирской язвы в сырье животного происхождения и объектах внешней среды 9
Временное наставление по применению сибиреязвенного бактериофага «К» ВИЭВ для определения возбудителя сибирской язвы 17
Временное наставление по применению сибиреязвенного фага «Гамма-МВА» для определения возбудителя сибирской язвы 28
Временные методические указания по постановке реакции диск-преципитации при диагностике сибирской язвы и идентификации ее возбудителя 29
Наставление по исследованию кожевенного и мехового сырья на сибирскую язву реакцией преципитации 31
Эмфизематозный карбункул 37
Методические указания по лабораторной диагностике эмфизематозного карбункула 37
Злокачественный отек 40
Методические указания по лабораторным исследованиям на злокачественный отек животных 40
Брадзот овец 44
Методические указания по лабораторной диагностике брадзота овец 44
Инфекционная энтеротоксемия животных и анаэробная дизентерия ягнят 48
Методические указания по лабораторной диагностике инфекционной энтеротоксемии животных и анаэробной дизентерии ягнят 48
Столбняк 52
Методические указания по лабораторной диагностике столбняка 52
Ботулизм 53
Методические указания по лабораторной диагностике ботулизма 53
Некробактериоз 56
Методические указания по лабораторной диагностике некробактериоза 56
Копытная гниль овец и коз 58
Приложение к «Инструкции по профилактике и ликвидации копытной гнили овец и коз» 58

Временные методические указания по обнаружению возбудителя копытной гнили в патологическом материале от больных овец с помощью непрямого метода иммунофлуоресценции 59
Бруцеллез 60
Наставление по диагностике бруцеллеза животных . . . 60
Паратуберкулез 89
Наставление по диагностике паратуберкулезного энтерита (паратуберкулеза) крупного рогатого скота 89
Методика обнаружения в патологическом материале возбудителей туберкулеза и паратуберкулеза методом люминесцентной микроскопии 92
Временное наставление по постановке реакции связывания комплемента для диагностики паратуберкулеза крупного рогатого скота и овец с антигеном Сибирского научно-исследовательского ветеринарного института 94
Сап 104
Методические указания по лабораторной диагностике сапа 104
Кампилобактериоз (вибриоз) 112
Извлечение из временной инструкции по диагностике, профилактике и ликвидации вибриоза крупного рогатого скота и овец 112
Наставление по применению вибриозных агглютинирующих моноспецифических сывороток 116
Наставление по применению кампилобактериозных (вибриозных) люминесцирующих сывороток при лабораторной диагностике кампилобактериоза (вибриоза) животных 120
Рекомендации Центральной ветеринарной лаборатории по приготовлению и применению сафранино-жел зо-новобиоциновой среды (СЖН) при лабораторной диагностике вибриоза 123
Временные рекомендации Центральной ветеринарной лаборатории по приготовлению и применению плотной среды ВИЭВ для изоляции кампилобактерий 125
Наставление по применению кампилобактериозного (вибриозного) антигена для реакции агглютинации с вагинальной слизью (РАВС) 126
Лептоспироз 128
Методические указания по лабораторной диагностике лептоспироза животных 128
Методические указания по применению групповых агглютинирующих лептоспирозных сывороток 146
Методические указания по применению флуоресцирующего глобулина для диагностики лептоспироза 148
Листериоз 151
Наставление по лабораторной диагностике листериоза животных 151
Методические указания по применению набора лиофилизированных бактериофагов для идентификации возбудителя листериоза 169
Рожа свиней 170
Методические указания по лабораторным исследованиям на рожу свиней 170
Наставление по применению сухих рожистых люминесцирующих сывороток (для прямого метода иммунофлуоресценции) 173

Пастереллез 175
Наставление по лабораторной диагностике пастереллеза птиц 175
Сальмонеллезы 177
Методические указания по бактериологической диагностике сальмонеллезов животных 177
Наставление по применению наборов сывороток сальмонеллезных О-комплексных и монорецепторных О- и Н-агглютинирующих для экспресс-идентификации сальмонелл в РА на стекле 192
Наставление по применению комплексной и групповых сальмонеллезных флуоресцирующих сывороток (для прямого метода иммунофлуоресценции) 195
Временная методика серологической диагностики сальмонеллеза овец в реакции непрямой (пассивной) гемагглютинации (РНГА) 205
Наставление по применению серогрупповых антигенов и сывороток B, C_1 и D_1 для диагностики сальмонеллеза в пробирочной реакции агглютинации (РА) 207
Колибактериоз 209
Методические указания по бактериологической диагностике колибактериоза (эшерихиоза) животных 209
Наставление по применению агглютинирующих О-колисывороток 218
Диплококковые заболевания 221
Методические указания по лабораторным исследованиям на пневмококковую (диплококковую) инфекцию животных 221
Стрептококкозы сельскохозяйственных животных 224
Методические указания по лабораторной диагностике стрептококкоза животных 224
Методические указания по лабораторной диагностике стрептококковой септицемии птиц 228
Методические указания по лабораторной диагностике стрептококкового полиартрита ягнят 230
Методические указания по лабораторной диагностике мыта 233
Псевдомоноз 235
Временное наставление по применению набора О-агглютинирующих сывороток для диагностики псевдомоноза 235
Гемофилезы 237
Временные методические указания по лабораторной диагностике гемофилезного полисерозита свиней 237
Временные методические указания по лабораторной диагностике гемофилезной плевропневмонии свиней 240
Методические указания по лабораторной диагностике контагиозного метрита лошадей 243
Микоплазмозы 248
Методические указания по лабораторной диагностике инфекционной агалактии овец и коз 248
Методические указания по лабораторной диагностике инфекционной плевропневмонии коз 253
Наставление по диагностике респираторного микоплазмоза птиц 257
Реакция агглютинации для диагностики респираторного микоплазмоза птиц с цельной кровью (ККРА) и сывороткой крови (СКРА) 264

Наставление по постановке РСК при перипневмонии крупного рогатого скота 265
Дизентерия свиней 268
Методические указания по лабораторным исследованиям на дизентерию свиней, вызываемую трепонемой 268
Методические указания по определению чувствительности к антибиотикам возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных животных 270
Методические указания по применению культур клеток в диагностических исследованиях 279
Методические рекомендации по получению, культивированию и использованию в научных и производственных ветеринарных лабораториях первичных, перевиваемых и диплоидных культур клеток животного происхождения 279
Наставление по применению гидролизата мышечных белков ферментативного сухого (ФГМ-С) для питательных сред тканевых культур 298
Рекомендации по профилактике, диагностике контаминирования культур клеток микроорганизмами и меры по их деконтаминации 299
Методические указания по получению и применению в вирусологической практике перевиваемых линий клеток из лимфоидных органов крупного рогатого скота и почек теленка 314
Методические рекомендации по очистке сыворотки крови крупного рогатого скота, используемой для культивирования клеточных культур 326
Временное наставление по получению, контролю и использованию сыворотки крови животных для культивирования клеток и вирусологических исследований 337
Предметный указатель 347

ЛАБОРАТОРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ВЕТЕРИНАРИИ:
Бактериальные инфекции

Составители: *Борис Иванович Антонов, Валерия Валентиновна Борисова, Галина Михайловна Волкова* и др.

Заведующий редакцией *В. Г. Федотов.* Редактор *В. Н. Сайтаниди.* Художник *А. И. Бершачевская.* Художественный редактор *М. Д. Северина.* Технический редактор *Е. В. Соломович.* Корректоры *Н. Я. Туманова, Т. Н. Бобрикова, М. В. Писарева*

ИБ № 4308

Сдано в набор 13.06.85. Подписано к печати 06.12.85. Т-22156. Формат 84×108¹/₃₂. Бумага тип. № 3. Гарнитура литературная. Печать высокая. Усл. печ. л. 18,48. Усл. кр.-отт. 18,48. Уч.-изд. л. 27,27. Изд. № 360 Тираж 29000 экз. Заказ № 419 . Цена 1 р. 40 к.

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

Набрано в ордена Октябрьской Революции и ордена Трудового Красного Знамени МПО «Первая Образцовая типография имени А. А. Жданова» Союзполиграфпрома при Государственном комитете СССР по делам издательств, полиграфии и книжной торговли: 113054, Москва, Валовая, 28

Отпечатано с матриц во Владимирской типографии Союзполиграфпрома при Государственном комитете СССР по делам издательств, полиграфии и книжной торговли, 600000, г. Владимир, Октябрьский проспект, д. 7.

gost.e-ecolog.ru