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.

Методические указания по лабораторной диагностике стрептококковой септицемии птиц

(Рекомендованы Главным управлением ветеринарии Минсельхоза СССР 11 октября 1973 г.)

1. Лабораторная диагностика стрептококковой септицемии птиц основана на выделении чистой культуры возбудителя болезни Str. zooepidemicus из крови и органов птицы.

2. Материалом для исследования служат свежие трупы или больная птица.

3. Из крови сердца, печени, селезенки, почек и фибринозного экссудата брюшной полости павших или убитых птиц делают мазки, окрашивают по Романовскому — Гимзе и просматривают под микроскопом. В положительных случаях обнаруживают кокки, расположенные попарно или в виде цепочек различной длины, иногда окруженные капсулой. При обнаружении в мазках из патматериала диплококковых

форм проводят дифференциацию от пастерелл и септического диплококка.

4. Бактериологическое исследование проводят путем посевов из крови сердца, печени, селезенки, почек, костного мозга и фибринозного экссудата брюшной полости на 0,5%-ный глюкозный или сывороточный МПА и МПБ или чашки Петри с 5%-ным кровяным агаром.

На твердых средах возбудитель стрептококковой септицемии растет в виде мелких полупрозрачных колоний; на кровяном агаре вокруг колоний образуется ярко выраженная зона гемолиза (β-гемолиз).

На МПБ чаще наблюдается придонный рост в виде хлопчатого осадка, бульон остается прозрачным (R-форма). Некоторые штаммы могут вызывать незначительное помутнение бульона с образованием слизистого или слизисто-хлопчатого осадка (S-форма). В мазках, приготовленных из осадка бульонных культур, обнаруживают длинные (R-форма) или короткие цепочки грамположительных кокков (S-форма).

5. Для идентификации возбудителя стрептококковой септицемии полученные характерные колонии пересевают на среды Гисса с лактозой, маннитом, сорбитом, трегалозой и инулином, молоко с 0,02% метиленовой сини, МПБ с 40% бычьей желчи, кровяной агар с 5% дефибринированной крови лошади и простой МПБ (pH 7,4).

Учет ведут после 48 ч инкубации в термостате при 37°С.

6. Основные дифференциальные признаки стрептококков, встречающихся у птиц, следующие.

Виды стрептококков	Бета-гемолиз на кровяном агаре	Молоко с метиленовой синью	Рост на МПБ	Рост на МПБ с 40% желчи	Среды с углеводами				
					лактоза	маннит	сорбит	трегалоза	инулин
Str. zooepidemicus	+	—	Чаще придонный	—	+	—	+	—	—
Энтерококки	±	СО	Диффузный	+	+	+	+	+	—
Прочие стрептококки, редко встречающиеся у птиц	+	—	Диффузный, редко придонный	—	±	±	—	—	—
Диплококки	±	СО	Слабо диффузный	±	+	±	—	нд	+

Обозначения. СО—свернулось и обесцветилось; (+)—наличие роста, гемолиза или ферментации с образованием кислоты без газа; (±)—свойство непостоянное; (—)—отсутствие роста, ферментации, молоко не изменяется; нд—нет данных.

7. Патогенность выделенной культуры определяют биопробой. При выделении Str. zooepidemicus из паренхиматозных органов и крови постановка биопробы не обязательна. При выделении возбудителя только из отдельных органов его патогенность проверяют биопробой.

8. Для определения патогенности используют только свежевыделенные культуры. Биопробу проводят на двух белых мышах массой

20—25 г путем заражения внутрибрюшинно 18-часовой бульонной культурой в дозе 0,2 мл. В положительных случаях гибель белых мышей от сепсиса наблюдается через 24—96 ч. Максимальный срок наблюдения — 5 сут.

9. Обнаружение энтерококков в трупах птиц имеет относительное диагностическое значение и только при условии постоянного их выделения из пораженных органов. Эти случаи указывают на развитие секундарной энтерококковой инфекции, осложнившей другие заболевания. Только у эмбрионов и молодняка младших возрастов энтерококки могут вызвать сепсис как первичное заболевание.

10. Срок бактериологического исследования без постановки биопробы — 11 сут.

Приложение

Рецепты некоторых дифференциальных сред

1. *Кровяной агар.* К 100 мл расплавленного и охлажденного до 45°С (не выше) стерильного 2%-ного мясо-пептонного агара прибавляют 5 мл стерильной дефибринированной крови лошади. Содержимое колбы (флакона) быстро смешивают и разливают в стерильные чашки Петри. Слой агара должен быть равномерно окрашен в алый цвет (но не бурый).

2. *Молоко с 0,02% метиленовой сини.* Свежее молоко предварительно кипятят и освобождают от сливок. Затем фильтруют через толстый слой ваты и подщелачивают 10%-ным раствором углекислого натрия до pH 7,2. К 100 мл такого молока добавляют 2 мл 1%-ного водного раствора метиленового голубого, разливают по 5 мл в стерильные пробирки и стерилизуют текучим паром 3 дня подряд по 20—30 мин. Среда после остывания должна иметь интенсивно-голубой цвет.

3. *40%-ный желчный бульон.* К 60 мл мясо-пептонного бульона или бульона, приготовленного на перевare Хоттингера, добавляют 40 мл профильтрованной бычьей желчи. Полученную среду стерилизуют в автоклаве при 120°С в течение 20—30 мин, дают отстояться и стерильно разливают в пробирки по 5 мл. Среду, разлитую по пробиркам, проверяют на стерильность.

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