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 применению комплексной и групповых сальмонеллезных флуоресцирующих сывороток (для прямого метода иммунофлуоресценции)

(Утверждено Главным управлением ветеринарии Минсельхоза СССР 30 декабря 1971 г.)

1. Флуоресцирующие сальмонеллезные О-сыворотки готовятся в сухом виде, представляют собой глобулины иммунных сывороток, меченных флуоресцеинизотиоцианатом.

Сыворотки выпускают в ампулах. По внешнему виду они представляют собой пористую массу желто-оранжевого цвета, легко растворимую в воде.

На этикетке ампулы должно быть указано наименование сыворотки, объем, № серии, рабочее разведение и дата изготовления.

2. Срок годности сывороток — 2 года при условии хранения их в темном месте при температуре 4—10°С. Сыворотки с истекшим сроком годности можно применять, если они сохранили специфичность и вызывают свечение гомологичных сальмонелл не ниже чем на три креста в разведении сыворотки 1 : 2.

3. Комплексная сыворотка предназначена для выявления в патологическом материале и в мясе сальмонелл, входящих в серологические группы B, C_1, C_2, D_1, E_1.

Групповые адсорбированные сыворотки используют для определения принадлежности обнаруженных сальмонелл к одной из указанных групп.

4. Для приготовления рабочего разведения сухую сыворотку в ампуле растворяют с соблюдением стерильности физиологическим раствором pH 7,4 до указанного на этикетке первоначального объема.

Затем содержимое ампулы переносят в стерильную пробирку и хранят под резиновой пробкой при температуре 2—4°С.

5. Растворенную сыворотку дополнительно разводят в нужном объеме до рабочего разведения, указанного на этикетке ампулы.

6. В лаборатории рабочее разведение сыворотки каждой серии проверяют на препаратах, приготовленных из агаровых культур эталонных штаммов гомологичных сальмонелл после 16—20 ч роста. Если свечение сальмонелл будет ниже трех крестов, то рабочее разведение сыворотки соответственно уменьшают или срок окрашивания препаратов увеличивают до 20—25 мин.

ПРИЛОЖЕНИЕ
К НАСТАВЛЕНИЮ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРОВ СЫВОРОТОК САЛЬМОНЕЛЛЕЗНЫХ О-КОМПЛЕКСНЫХ И МОНОРЕЦЕПТОРНЫХ О- Н-АГГЛЮТИНИРУЮЩИХ ДЛЯ ЭКСПРЕСС-ИДЕНТИФИКАЦИИ САЛЬМОНЕЛЛ В РА НА СТЕКЛЕ, УТВЕРЖДЕННОМУ ГУВ МИНСЕЛЬХОЗА СССР 30 ИЮЛЯ 1984 г.

Антигенная формула основных сероваров сальмонелл

Серовары	О-антигены (соматические)	Н-антигены (жгутиковые)	
		I фаза	II фаза
Серогруппа B О-антиген 4			
S. **abortus-equi**	4, 12	—	e, n, x
S. paratyphi B	1, 4, (5), 12	b	1, 2
S. limete	1, 4, 12, 27	b	1, 5
S. canada	4, 12	b	1, 6
S. sofia	1, 4, 12, 27	b	(e, n, x)
S. **abortus-ovis**	4, 12	c	1, 6
S. stanley	1, 4, (5), 12, 27	d	1, 2
S. eppendorf	1, 4, 12, 27	d	1, 5
S. kluetjenfelde	4, 12	d	e, n, x
S. sarajane	4, (5), 12, 27	d	e, n, x
S. saint-paul	1, 4, 5, 12	e, h	1, 2
S. reading	1, 4, (5), 12	e, h	1, 5
S. eko	4, 12	e, h	1, 6
S. chester	1, 4, (5), 12	e, h	e, n, x
S. essen	4, 12	g, m	—
S. california	4, 12	g, m, t	—
S. budapest	1, 4, 12, 27	g, t	—
S. banana	4, (5), 12	m, t	—
S. **typhi-murium**	1, 4, (5), 12	i	1, 2
S. lagos	1, 4, 12	i	1, 5
S. agama	4, 12	i	1, 6
S. fyris	4, 5, 12	l, v	1, 2
S. azteca	4, (5), 12, 27	l, v	1, 5
S. clackamas	4, 12	l, v	1, 6
S. kimuenza	1, 4, 12, 27	l, v	e, n, x
S. **heidelberg**	1, 4, 5, 12	r	1, 2
S. bradford	4, 12, 27	r	1, 5
Серогруппа C_1 О-антиген 7			
S. brazzaville	6, 7	b	1, 2
S. edinburg	6, 7	b	1, 5
S. **cholerae-suis**	6, 7	(c)	1, 5
S. birkenhead	6, 7	c	1, 6
S. kisii	6, 7	d	1, 2
S. isangi	6, 7	d	1, 5
S. kivu	6, 7	d	1, 6

Продолжение

Серовары	О-антигены (соматические)	Н-антигены (жгутиковые)	
		I фаза	II фаза
S. amersfoort	6, 7	d	e, n, x
S. larochelle	6, 7	e, h	1, 2
S. lomita	6, 7	e, h	1, 5
S. norwich	6, 7	e, h	1, 6
S. othmarschen	6, 7	g, m, (t)	—
S. riggil	6, 7	g, t	—
S. oranienburg	6, 7	m, t	—
S. augustenborg	6, 7	i	1, 2
S. oritamerin	6, 7	i	1, 5
S. garoli	6, 7	i	1, 6
S. concord	6, 7	l, v	1, 2
S. irumu	6, 7	l, v	1, 5
S. mkamba	6, 7	l, v	1, 6
S. bonn	6, 7	l, v	e, n, x
S. virchow	6, 7	r	1, 2
S. infantis	6, 7	r	1, 5
S. nigeria	6, 7	r	1, 6
Серогруппа C_2 О-антиген 8			
S. nagoya	6, 8	b	1, 5
S. stourbridge	6, 8	b	1, 6
S. gatuni	6, 8	b	e, n, x
S. wingrove	6, 8	c	1, 2
S. utah	6, 8	c	1, 5
S. bronx	6, 8	c	1, 6
S. belem	6, 8	c	e, n, x
S. muenchen	6, 8	d	1, 2
S. manhattan	6, 8	d	1, 5
S. sterrenbos	6, 8	d	e, n, x
S. newport	6, 8	e, h	1, 2
S. kottbus	6, 8	e, h	1, 5
S. bassa	6, 8	m, t	—
S. baragwanath	6, 8	m, t	1, 5
S. germiston	6, 8	m, i	e, n, x
S. lindenburg	6, 8	i	1, 2
S. takoradi	6, 8	i	1, 5
S. warnow	6, 8	i	1, 6
S. bonariensis	6, 8	i	e, n, x
S. litchfield	6, 8	l, v	1, 2
S. loanda	6, 8	l, v	1, 5
S. bovis-morbificans	6, 8	r	1, 5
Серогруппа C_3 О-антиген 8			
S. djelfa	8	b	1, 2
S. korbol	8, 20	b	1, 5

Продолжение

Серовары	О-антигены (соматические)	Н-антигены (жгутиковые)	
		I фаза	II фаза
S. konstanz	8	b	e, n, x
S. virginia	8	d	1, 2
S. yovokome	8	d	1, 5
S. bardo	8	e, h	1, 2
S. ferruch	8	e, h	1, 5
S. reubeuss	8, 20	g, m, t	—
S. yokoe	8	m, t	—
S. pakistan	8	l, v	1, 2
S. amherstiana	8	l, v	1, 6
S. hindmarsh	8, 20	r	1, 5
Серогруппа C_4 О-антиген 7,14			
S. lockleaze	6, 7, 14	b	e, n, x
S. hissar	6, 7, 14	c	1, 2
S. omderman	6, 7, 14	d	e, n, x
S. hielallae	6, 7, 14	m, t	—
Серогруппа D_1 О-антиген 9			
S. gallinarum-pullorum	1, 9, 12	—	—
S. onarimon	1, 9, 12	b	1, 2
S. frintrop	1, 9, 12.	b	1, 5
S. mjimwema	1, 9, 12	b	e, n, x
S. goeteborg	9, 12	c	1, 5
S. ipeko	9, 12	c	1, 6
S. ndolo	1, 9, 12	d	1, 5
S. tarshyne	9, 12	d	1, 6
S. rhodesiense	9, 12	d	e, n, x
S. bournemouth	9, 12	e, h	1, 2
S. eastbourne	1, 9, 12	e, h	1, 5
S. hamburg	1, 9, 12	g, m, t	—
S. dublin	1, 9, 12 (vi)	g, p	—
S. pensacola	1, 9, 12	m, t	—
S. seremban	9, 12	i	1, 5
S. mendoza	9, 12	l, v	1, 2
S. panama	1, 9, 12	l, v	1, 5
S. jamaica	9, 12	r	1, 5
Серогруппа D_2 О-антиген 9,46			
S. zadar	9, 46	b	1, 6
S. worb	9, 46	b	e, n, x
S. lundby	9, 46	b	e, n, x
S. bergedorf	9, 46	e, h	1, 2
S. sangalkam	9, 46	m, t	—
S. india	9, 46	l, v	1, 5
S. toronto	9, 46	l, v	e, n, x
S. geraldton	9, 46	l, v	1, 6

Продолжение

Серовары	О-антигены (соматические)	Н-антигены (жгутиковые)	
		I фаза	II фаза
	Серогруппа E_1 О-антиген 10		
S. kalina	3, 10	b	1, 2
S. butantan	3, 10	b	1, 5
S. allerton	3, 10	b	1, 6
S. benfica	3, 10	b	e, n, x
S. gbadago	3, 10	c	1, 5
S. stormont	3, 10	d	1, 2
S. shangani	3, 10	d	1, 5
S. lekke	3, 10	d	1, 6
S. souza	3, 10	d	e, n, x
S. vejle	3, 10	e, h	1, 2
S. muenster	3, 10	e, h	1, 5
S. anatum	3, 10	e, h	1, 6
S. newlands	3, 10	e, h	e, n, x
S. suberu	3, 10	g, m	—
S. islington	3, 10	g, t	—
S. southbank	3, 10	m, t	—
S. stikland	3, 10	m, t	e, n, x
S. amounderness	3, 10	*i*	1, 5
S. nohanga	3, 10	l, v	1, 2
S. sinstorf	3, 10	l, v	1, 5
S. london	3, 10	l, v	1, 6
S. ughelli	3, 10	r	1, 5
S. dumfries	3, 10	r, i	1, 6
	Серогруппа E_2 О-антиген 15		
S. rosenthal	3, 15	b	1, 5
S. pankow	3, 15	d	1, 5
S. eschersheim	3, 15	d	e, n, x
S. goerlitz	3, 15	e, h	1, 2
S. new-haw	3, 15	e, h	1, 5
S. newington	3, 15	e, h	1, 6
S. nancy	3, 15	l, v	1, 2
S. portsmouth	3, 15	l, v	1, 6
	Серогруппа E_3 О-антиген 15,34		
S. arkansas	3, 15, 34	e, h	1, 5
S. minneapolis	3, 15, 34	e, h	1, 6
	Серогруппа E_4 О-антиген 19		
S. gnesta	1, 3, 19	b	1, 5
S. visby	1, 3, 19	b	1, 6
S. ahmadi	1, 3, 19	d	1, 5
S. vilvoorde	1, 3, 19	e, h	1, 5

Продолжение

Серовары	О-антигены (соматические)	Н-антигены (жгутиковые)	
		I фаза	II фаза
S. kouka	1, 3, 19	g, m	—
S. cannstatt	1, 3, 19	m, t	—
S. stratford	1, 3, 19	i	1, 2
S. machaga	1, 3, 19	i	e, n, x
S. ngor	1, 3, 19	l, v	1, 5
Серогруппа F О-антиген 11			
S. leeuwarden	11	b	1, 5
S. srinagar	11	b	e, n, x
S. chandans	11	d	e, n, x
S. chingola	11	e, h	1, 2
S. adamstua	11	e, h	1, 6
S. lincoln	11	m, t	e, n, x
S. aberdeen	11	i	1, 2
S. brijbhumi	11	i	1, 5
S. heerlen	11	i	1, 6
S. veneziana	11	i	e, n, x
S. stendal	11	l, v	1, 2
S. maracaibo	11	l, v	1, 5
S. fann	11	l, v	e, n, x
S. senegal	11	r	1, 5
S. rubislaw	11	r	e, n, x
Серогруппа I О-антиген 16			
S. hull	16	b	1, 2
S. wa	16	b	1, 5
S. glasgow	16	b	1, 6
S. hvittingfoss	16	b	e, n, x
S. vancouver	16	c	1, 5
S. shamba	16	c	e, n, x
S. oldenburg	16	d	1, 2
S. barranquilla	16	d	e, n, x
S. malakal	16	e, h	1, 2
S. saboya	16	e, h	1, 5
S. adeoyo	16	g, m	—
S. merseyside	16	g, t	(1, 5)
S. amina	16	i	1, 5
S. shanghai	16	l, v	1, 6
S. salford	16	l, v	e, n, x
Серогруппа J О-антиген 17			
S. kirkee	17	b	1, 2
S. victoriaborg	17	c	1, 6
S. berlin	17	d	1, 5

Продолжение

Серовары	О-антигены (соматические)	Н-антигены (жгутиковые)	
		I фаза	II фаза
S. morotai	17	l, v	1, 2
S. michigan	17	l, v	1, 5
S. carmel	17	l, v	e, n, x
Серогруппа K О-антиген 18			
S. groenekan	18	d	1, 5
S. langenhorn	18	m, t	—
Серогруппа L О-антиген 21			
S. ghana	21	b	1, 6
S. minnesota	21	b	e, n, x
S. rhone	21	c	e, n, x
S. spartel	21	d	1, 5
S. magwa	21	d	e, n, x
S. good	21	f, g	e, n, x
S. diorbel	21	i	1, 2
Серогруппа M О-антиген 28			
S. moero	28	b	1, 5
S. ashanti	28	b	1, 6
S. hermannswerder	28	c	1, 5
S. eberswalde	28	c	1, 6
S. dresden	28	c	e, n, x
S. amoutive	28	d	1, 5
S. hatfield	28	d	1, 6
S. mocamedes	28	d	e, n, x
S. vinohrady	28	m, t	—
S. doorn	28	i	1, 2
S. cotham	28	i	1, 5
S. volkmarsdorf	28	i	1, 6
S. leoben	28	l, v	1, 5
S. vitkin	28	l, v	e, n, x
S. chicago	28	r	1, 5
S. bassadji	28	r	1, 6
S. kibusi	28	r	e, n, x
Серогруппа N О-антиген 30			
S. louga	30	b	1, 2
S. aschersleben	30	b	1, 5
S. urbana	30	b	e, n, x
S. messina	30	d	1, 5
S. godesberg	30	g, m	—
S. landau	30	i	1, 2
S. morehead	30	i	1, 5

Продолжение

Серовары	О-антигены (соматические)	Н-антигены (жгутиковые)	
		I фаза	II фаза
S. ligeo	30	l, v	1, 2
S. donna	30	l, v	1, 5
S. gege	30	r	1, 5
Серогруппа O О-антиген 35			
S. tehad	35	b	—
S. yolo	35	c	—
S. agodi	35	g, t	—
S. monscaui	35	m, t	—
Серогруппа P О-антиген 38			
S. sheffield	38	c	1, 5
S. kidderminster	38	c	1, 6
S. thiaroye	38	e, h	1, 2
S. kasenyi	38	e, h	1, 5
S. foulpointe	38	g, t	—
S. mgulani	38	i	1, 2
S. lansing	38	i	1, 5
S. alger	38	l, v	1, 2
S. kimberley	38	l, v	1, 5
S. roan	38	l, v	e, n, x
S. lindi	38	r	1, 5
S. emmastad	38	r	1, 6
Серогруппа Q О-антиген 39			
S. wandsworth	39	b	1, 2
S. logone	39	d	1, 5
S. mara	39	e, h	1, 5
S. hofit	39	i	1, 5
S. kokomlemle	39	l, v	e, n, x
Серогруппа R О-антиген 40			
S. riogrande	40	b	1, 5
b. johannesburg	1, 40	b	e, n, x
S. driffield	1, 40	d	1, 5
S. tilene	1, 40	e, h	1, 2
S. millesi	1, 40	l, v	1, 2
Серогруппа S О-антиген 41			
Salmonella	41	b	(1, 5)
S. egusi	41	d	(1, 5)
S. lethe	41	g, t	—

Продолжение

Серовары	О-антигены (соматические)	Н-антигены (жгутиковые)	
		I фаза	II фаза
	Серогруппа T О-антиген 42		
S. chinovum	42	b	1, 5
S. waral	1, 42	m, t	—
	Серогруппа U О-антиген 43		
S. veddel	43	g, t	—
S. mbao	43	i	1, 2
	Серогруппа V О-антиген 44		
S. madigar	44	c	1, 5
S. bobo	44	d	1, 5
S. vleuten	44	f, g	—
S. muguga	44	m, t	—
	Серогруппа W О-антиген 45		
S. riverside	45	b	1, 5
S. deversoir	45	c	e, n, x
S. dugbe	45	d	1, 6
S. karachi	45	d	e, n, x
S. apapa	45	m, t	—
	Серогруппа X О-антиген 47		
S. saka	47	b	—
S. phoenix	47	b	1, 5
S. kodjovi	47	c	—
S. stellingen	47	d	e, n, x
	Серогруппа Y О-антиген 48		
S. fidzroy	48	e, h	1, 5
	Серогруппа Z О-антиген 50		
S. rochdale	50	b	e, n, x
	Серогруппа 52 О-антиген 52		
S. flottbek	52	b	—
S. utrecht	52	d	1, 5
S. butare	52	e, h	1, 6
S. sainte-marie	52	g, t	—
	Серогруппа 53 О-антиген-53		
Salmonella	53	d	1, 5

Примечания. 1. В скобки взяты антигенные фазы, имеющиеся непостоянно.

2. Подчеркнуты серовары сальмонелл, наиболее часто выделяемые от животных.

Проверять активность и специфичность флуоресцирующих сывороток на старых музейных и диссоциирующих культурах не разрешается.

Рабочие разведения сывороток хранят в холодильнике не более 2 сут.

7. Мазки из типичных для сальмонелл колоний, выращенных на жидких или лучше на плотных средах, делают на тщательно обезжиренных предметных стеклах с расчетом, чтобы в поле зрения микроскопа было около 100 клеток; мазки из патологического материала и мяса должны быть тонкие и ровные. Площадь мазка около 1 $см^2$ обозначают восковым карандашом на обратной стороне стекла. На одном стекле делают не более трех мазков из разных культур или органов.

Мазки фиксируют метиловым спиртом (метанолом) 5 мин или этиловым спиртом (этанолом) 15 мин и высушивают.

8. Перед окрашиванием препараты помещают строго горизонтально на мостики во влажной камере (чашке) для предупреждения высыхания сыворотки. На каждый мазок наносят 2 капли разведенной сыворотки и распределяют ее по всей поверхности мазка. Окрашивание препарата флуоресцирующей сывороткой длится обычно 15 мин при комнатной температуре или в термостате при 37°С. Для лучшего окрашивания чашки с препаратами через 7—8 мин надо слегка покачать.

Промывают препараты физиологическим раствором pH 7,4 в течение 5 мин, заменяя за это время раствор 4—5 раз. Промывать можно в кювете в двух сменах раствора по 10 мин в каждой. При этом в кювету заливают каждый раз не менее 20 мл раствора на каждое стекло с препаратами. Отмытые препараты ополаскивают дистиллированной водой и подсушивают.

После этого на мазок наносят небольшую каплю смеси, состоящей из 9 частей глицерина и одной части 0,2 М фосфатного буфера pH 8,0 и накрывают покровным стеклом. Для иммерсии употребляют нефлуоресцирующее масло или его заменитель, приготовленный из чистого диметилфталата (100 мл) и нафталина сублимированного (1,75 г) или тимола чистого (5 г).

9. Мазки просматривают под люминесцентным микроскопом МЛ-1, МЛ-2, МЛ-3, МЛД или биологическим микроскопом с приставкой ОСЛ-1. Светофильтры: СЗС-14 (СЗС-7), БС-2, ФС-1 (ФС-2), окулярные Т-ТН (Т-2Н) или ЖС-18 (ЖЗС-19) в МЛ-1 и № 2 или № 1 в МЛ-2. Увеличение 5×90, сила тока 4,1 А.

10. Окрашенные флуоресцирующей сывороткой сальмонеллы имеют светящийся периферический контур (ободок). Это характерное свечение контура визуально оценивается в крестах:

(++++) — сияющее зеленовато-желтоватое свечение;

(+++) — яркое желтовато-зеленоватое свечение;

(++) — умеренное желтовато-зеленоватое или беловатое свечение отчетливо заметного контура;

(+) — слабое беловатое свечение различимого контура;

(—) — клетки в виде сероватых теней, контур отсутствует или слабо заметен на отдельных участках периферии клеток (не у всех микробов).

11. Для контрастирования неспецифического свечения тканевых элементов и посторонних бактерий при исследовании патологического материала и мяса может быть применен бычий альбумин, меченный родамином, в смеси с сальмонеллезной флуоресцирующей сывороткой.

Вначале проводят определение рабочего разведения меченого альбумина в соответствии с временным наставлением по его применению.

Рабочую смесь готовят следующим образом: флуоресцирующую

сальмонеллезную сыворотку и меченый альбумин разводят отдельно раствором 0,15 М хлорида натрия (pH 7,2—7,4), на одно разведение меньше рабочего, и смешивают в равных объемах в пробирке.

Окрашивание и подготовку препаратов к микроскопии проводят, как указано в пп. 8, 9.

При правильно выбранном разведении смеси сальмонеллы четко флуоресцируют зеленоватым цветом на оранжево-красном фоне мазка.

Примечание. Бычий альбумин, меченный родамином, готовит Институт эпидемиологии и микробиологии имени Н. Ф. Гамалеи АМН СССР (123098, Москва, ул. Гамалеи, 18).

12. Положительным результатом считается свечение типичных для сальмонелл форм, оцениваемое не ниже чем в два креста, при условии, что в контрольных препаратах, окрашенных рабочим разведением гетерологичной сыворотки, оно оценивается отрицательно.

Собственное бесконтурное свечение некоторых микробов всегда оценивается отрицательно, хотя иногда оно хорошо выражено.

13. Если наблюдается свечение типичных для сальмонелл форм на один крест, а также более яркое свечение атипичных форм, то результат микроскопии считают сомнительным и исследование повторяют. При этом после фиксирования мазков необходимо усреднить реакцию в препарате, для чего на мазок наносят на 10 мин буферную смесь pH 7,4 следующего состава: 1/15 М раствор двузамещенного фосфата натрия — 4 части, 1/15 М раствор однозамещенного фосфата калия (или натрия) — 1 часть и физиологический раствор — 20 частей, раствор через 5 мин меняют, затем препарат ополаскивают дистиллированной водой и подсушивают.

14. Для проведения исследования патологического материала и мяса готовят несколько комплектов отпечатков на стекле. После фиксирования один комплект отпечатков окрашивают комплексной флуоресцирующей сальмонеллезной сывороткой и проводят люминесцентную микроскопию.

Если сальмонеллы будут обнаружены хотя бы в одном из препаратов, устанавливают их принадлежность к той или иной группе. С этой целью окрашивают другие комплекты препаратов, используя раздельно и прежде всего те О-сыворотки, которые соответствуют сальмонеллам, наиболее часто выявляемым у животных данного вида.

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