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.

# Временные рекомендации Центральной ветеринарной лаборатории по приготовлению и применению плотной среды ВИЭВ для изоляции кампилобактерий

*(Одобрены Главным управлением ветеринарии Минсельхоза СССР 20 февраля 1984 г.)*

**1. Общие положения.**

1.1. Плотная среда ВИЭВ (сердечно-мозговая кровяная сафранино-новобиоциновая среда) предложена Белгородским отделом ВИЭВ для выделения культур кампилобактерий из патологического материала и смешанных культур.

1.2. Среда может быть использована при условии культивирования в вакуум-термостате при строгом соблюдении рекомендуемого газового состава, отклонение от которого ведет к резкому снижению выделения культур.

1.3. Плотную среду ВИЭВ применяют наряду со средами, предусмотренными п. 32 «Временной инструкции о мероприятиях по диагностике, профилактике и ликвидации кампилобактериозов крупного рогатого скота и овец», утвержденной Главным управлением ветеринарии МСХ СССР 5 марта 1971 г. с дополнениями от 6 марта 1979 г.

**2. Приготовление компонентов среды.**

2.1. Приготовление экстракта из мышц сердца. Сердце крупного рогатого скота освобождают от жира, пленок, клапанов и пропускают через мясорубку. К 1 кг фарша добавляют 2 л водопроводной воды и настаивают в течение 18—24 ч, затем кипятят в течение 1 ч. После кипячения доливают дистиллированной водой до первоначального объема, фильтруют через бумажный фильтр, разливают по колбам и стерилизуют при 1 атм 30—40 мин.

2.2. Приготовление отвара из мозга крупного рогатого скота. Свежий мозг крупного рогатого скота освобождают от оболочек, пленок и измельчают на мясорубке. К 1 кг фарша добавляют 1 л водопроводной воды, настаивают в течение 18—24 ч, затем кипятят в течение 1 ч. После кипячения доливают дистиллированной водой до первоначального объема, фильтруют через 2 слоя марли, разливают по колбам и стерилизуют при 1 атм в течение 30—40 мин.

2.3. В отдельных темных флаконах готовят на дистиллированной воде 0,5%-ный раствор сафранина Т и 0,2%-ный раствор новобиоцина. Растворы годны для применения в течение 1 мес при условии хранения в холодильнике при 4—6°С.

**3. Приготовление среды.**

3.1. Смешивают 745 мл сердечного и 245 мл мозгового отвара. К полученной смеси добавляют 10 г пептона, 5 г поваренной соли, 20 г агар-агара, 1 г цистеина, по 5 мл приготовленных растворов сафранина Т (25 мкг/мл) и новобиоцина (10 мкг/мл).

3.2. Среду разливают во флаконы и стерилизуют при 0,8 атм в течение 25 мин. После автоклавирования pH среды 6,8—7,0.

3.3. В таком состоянии среду хранят при комнатной температуре в течение 2 нед.

3.4. Перед употреблением среду расплавляют, охлаждают до 45—50°С, добавляют в нее 10% дефибринированной крови барана или крупного рогатого скота и разливают в чашки Петри по 20 мл,

**4. Ход исследования.**

4.1. На поверхность среды в чашке Петри проводят посев 3—4 капель патологического материала (препуциальная слизь, сперма быков-производителей, шеечно-влагалищная слизь коров, материал от абортированных плодов), который тщательно растирают шпателем. Затем этим же шпателем проводят посев во второй чашке.

4.2. Плотную среду ВИЭВ можно использовать для очистки культур кампилобактерий от посторонней микрофлоры. Для этого 2—3 капли смешанной культуры разводят физиологическим раствором 1 : 10. На поверхность среды в чашке Петри вносят 1—2 капли суспензии, тщательно растирают шпателем и этим же шпателем засевают вторую чашку. Дальнейший ход исследования, как и при выделении кампилобактерий из патологического материала.

4.3. Посевы инкубируют в вакуум-термостате с газовым составом 5% кислорода, 10% углекислого газа, 85% азота при температуре 37 — 38°С. Создание такой атмосферы осуществляют следующим образом. Из вакуум-термостата со шкалой манометра от 0 до —1 кг/см² вакуумным насосом откачивают воздух до отметки —0,75 кг/см². Затем в термостат впускают из баллона углекислый газ до отметки манометра —0,65 кг/см², остаток объема термостата заполняют азотом из баллона. При наличии манометра с другой шкалой при помощи реометра-индикатора необходимо определить, какому объему каждого газа соответствует одно деление манометра. Реометр-индикатор имеется на снабжении Союзглавзооветснабпрома.

4.4. Инкубирование посевов проводят в течение 5—6 сут при 37—38°С. Как правило, рост кампилобактерий наблюдают через 2—3 сут.

4.5. Рост на поверхности агара отмечается в виде сплошного, нежного, гладкого, блестящего налета сероватого цвета или довольно крупных (до 2 мм диаметром), круглых, гладких, полупрозрачных, маслянистых, нежных, изолированных колоний с серовато-розовым оттенком.

4.6. Из каждой чашки Петри с ростом кампилобактерий изолированные колонии отвивают на среду СЖН или ПЖА для получения чистой культуры и последующей идентификации.

# 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