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.

Временное наставление по постановке реакции связывания комплемента для диагностики паратуберкулеза крупного рогатого скота и овец с антигеном Сибирского научно-исследовательского ветеринарного института

(Утверждено Главным управлением ветеринарии Минсельхоза СССР 31 мая 1968 г.)

Реакция связывания комплемента (РСК) проводится в водяной бане при температуре 37—38°С в общем объеме 2,5 мл всех компонентов.

Компоненты реакции:

испытуемая сыворотка и сыворотки нормальная и позитивная для титрования комплемента в бактериолитической системе, инактивированные в день постановки реакции при температуре 61—62°С в течение 30 мин;

паратуберкулезный антиген — спиртовой (метиловый) экстракт бактерий паратуберкулеза;

гемолизин в рабочем титре;

комплемент — сыворотка крови морской свинки (свежая, сухая или консервированная);

2,5%-ная взвесь эритроцитов барана (овцы) на физиологическом растворе (1 : 40 от осадка);

физиологический раствор (0,85%-ный х. ч. NaCl в дистиллированной воде).

Титрование компонентов реакции. Перед постановкой главного опыта проводят титрование: а) гемолизина; б) комплемента в гемолитической системе и в) комплемента в бактериолитической системе.

Титрование гемолизина. Для титрования гемолизина вначале готовят основное его разведение 1 : 100, из которого готовят последующие 1 : 500, 1 : 800, 1 : 1000, 1 : 1200 и т. д. до предельного титра, указанного на этикетке.

Примечание. Так как гемолизин консервирован глицерином в равных частях, то для получения основного разведения 1 : 100 берут 0,2 мл гемолизина и 9,8 мл физиологического раствора.

При приготовлении разведения гемолизина пользуются следующей схемой.

Основного разведения гемолизина 1:100, мл	Физиологического раствора, мл	Получаемое разведение
0,1	0,4	1:500
0,1	0,7	1:800
0,1	0,9	1:1000
0,1	1,1	1:1200
0,1	1,4	1:1500
0,1	1,7	1:1800
0,1	1,9	1:2000
0,1	2,1	1:2200
0,1	2,3	1:2400
0,1	2,5	1:2600
0,1	2,7	1:2800
0,1	2,9	1:3000

В реакцию входят: гемолизин в соответствующих разведениях, 0,5 мл комплемента в разведении 1 : 20, 0,5 мл 2,5%-ной взвеси эритроцитов барана и 1 мл физиологического раствора (взамен паратуберкулезного антигена и сыворотки). Время течения реакции — 10 мин в водяной бане при температуре 37—38°С.

При титровании гемолизина ставят следующие контроли: 1) контроль гемолизина (гемолизин 1 : 100+2,5%-ная взвесь эритроцитов + +физиологический раствор до объема 2,5 мл при отсутствии комплемента); 2) контроль комплемента (комплемент + эритроциты + физиологический раствор до объема 2,5 мл при отсутствии гемолизина).

Примечание. Сухой комплемент предварительно переводят в жидкое состояние, как указано на этикетке, а затем готовят разведение 1 : 20 физиологическим раствором.

3) контроль физраствора (эритроциты + физиологический раствор до объема 2,5 мл при отсутствии гемолизина и комплемента). Во всех контрольных пробирках гемолиз эритроцитов должен отсутствовать.

Титрование гемолизина приведено в схеме 1.

Титром гемолизина считается наименьшее количество (наибольшее разведение) его, потребное для полного гемолиза 0,5 мл 2,5%-ной взвеси эритроцитов при комплементе 0,5 мл в разведении 1 : 20 в течение 10 мин в водяной бане при температуре 37—38°С.

Рабочей дозой гемолизина для титрования комплемента, паратуберкулезного антигена, а также для реакции при испытании сывороток животных (в главном опыте) берут удвоенный титр гемолизина, т. е. если титр гемолизина при его подтитровке равен 1 : 2000, то в главном опыте берут разведение его 1 : 1000. Гемолизин в титре ниже чем 1 : 1000 для работы непригоден.

Примечание. Для дальнейшей работы рекомендуется смешивание гемолизина в рабочем титре и 2,5%-ной взвеси эритроцитов барана в одинаковых объемах (гемолитическая система). После смешивания гемолитическую систему ставят в термостат при 37—38°С на 30 мин.

Схема 1

Схема титрования гемолизина

Компоненты, мл	Разведение гемолизина								Контроли		
	1:500	1:800	1:1000	1:1200	1:1500	1:1800	1:2000	1:2200	гемолизина 1·100	комплемента	физиологического раствора
Гемолизин (в разведениях)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	—	—
Физиологический раствор	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,5	1,5	2,0
Комплемент 1:20	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	—	0,5	—
2,5%-ная взвесь эритроцитов	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Водяная баня при 37—38°С 10 мин											
Результаты	Г	Г	Г	Г	Г	Г	Г	НГ	НГ	НГ	НГ

Обозначения. Г—гемолиз; НГ—отсутствие гемолиза.

Титрование комплемента в гемолитической системе. Титрование комплемента проводят, как указано в схеме 2. Комплемент исследуют в следующих дозах: 0,1; 0,13; 0,16; 0,19; 0,22; 0,25; 0,28 и т. д. с интервалом по 0,03 до 0,4 разведения комплемента 1 : 20. В каждую пробирку до недостающего количества объема 0,5 мл доливают физраствор (1-я пробирка 0,4 мл физраствора, 2-я — 0,37 мл и т. д.).

Титром комплемента в гемолитической системе считается наименьшее его количество, потребное для полного гемолиза 0,5 мл 2,5%-ной взвеси эритроцитов в течение 10 мин в водяной бане при температуре 37—38°С.

Титрование комплемента в бактериолитической системе. Титрование комплемента в бактериолитической системе проводят с сыворотками того вида животных (крупного рогатого скота или овец), которые исследуют в главном опыте.

Для титрования берут две сыворотки — нормальную от здорового животного и позитивную. Обычно позитивные сыворотки используют консервированные 5%-ным карболовым физиологическим раствором (1 мл раствора + 9 мл сыворотки), а нормальные сыворотки подбирают по возможности одинаковой давности с испытуемыми. Обе сыворотки разводят физраствором 1 : 5 и 1 : 10, разливают по пробиркам (2—3 мл каждой сыворотки отдельно и инактивируют при 61—62°С 30 мин. После чего сыворотку в разведении 1 : 10 и все остальные ингредиенты разливают по пробиркам, как указано в схеме 3).

Нормальную и позитивную сыворотки в разведении 1 : 5 и 1 : 10 используют для контроля в главном опыте.

Дозу комплемента (из основного разведения 1 : 20) берут на два интервала ниже против титра его в гемолитической системе, т. е. если титр комплемента в гемолитической системе 0,22, то титрование комплемента в бактериолитической системе начинают с 0,16; 0,19; 0,22 и т. д.

С каждым разведением комплемента ставят контроль сыворотки без антигена.

После разлива по пробиркам нормальной и позитивной сывороток, паратуберкулезного антигена в рабочем титре (см. примечание по разведению антигена), комплемента в соответствующих дозах разведения 1 : 20 (0,16, 0,19 и т. д.) и недостающего количества (до 0,5 мл) физиологического раствора пробирки помещают для связывания на 20 мин в водяную баню при 37—38°С. Затем в пробирки добавляют гемолитическую систему по 1 мл и ставят в водяную баню на 20 мин при температуре 37—38°С.

Титром комплемента в бактериолитической системе будет такое его минимальное количество, которое необходимо для полного гемолиза взвеси эритроцитов в течение 20 мин при 37—38°С в пробирках с нормальной сывороткой, с антигеном и без него, с паратуберкулезной сывороткой без антигена, при одновременной задержке гемолиза в пробирках с паратуберкулезной сывороткой и специфическим антигеном.

После установления титра комплемента в бактериолитической системе проводят расчет комплемента для главного опыта одним из следующих способов:

с п о с о б 1-й — предположим, что в бактериолитической системе титр комплемента в разведении 1 : 20 равен 0,31. Следовательно, в каждой пробирке содержится комплемента 0,0155 (0,31 : 20=0,0155).

Если необходимо провести исследование 100 пробирок сыворотки, то чистого комплемента потребуется 1,55 мл (0,0155×100=1,55) и 48,45 мл физиологического раствора;

с п о с о б 2-й — по формуле АБ : В, где А — означает титр комп-

Схема 2

Схема титрования комплемента в гемолитической системе

Компоненты, мл	Номера пробирок										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Комплемент (1:20)	0,1	0,13	0,16	0,19	0,22	0,25	0,28	0,31	0,34	0,37	0,40
Недостающее количество физраствора	0,4	0,37	0,34	0,31	0,28	0,25	0,22	0,19	0,16	0,13	0,1
Физраствор вместо антигена и сыворотки	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Гемсистема:											
1) гемолизин в рабочем титре	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
2) взвесь эритроцитов барана 1:40	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

Водяная баня при 37—38°С 10 мин

Схема 3

Схема титрования комплемента в бактериолитической системе

Компоненты, мл	Первый ряд пробирок							Второй ряд пробирок						
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
Количество сыворотки разведения 1:10	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Антиген в титре 1:100	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	Нет	Нет	Нет	Нет	Нет	Нет	Нет
Количество комплемента	0,16	0,19	0,22	0,25	0,28	0,31	0,34	0,16	0,19	0,22	0,25	0,28	0,31	0,34
Недостающее количество физиологического раствора	0,34	0,31	0,28	0,25	0,22	0,19	0,16	0,34	0,31	0,28	0,25	0,22	0,19	0,16
	Водяная баня при 37—38°С 20 мин													
Гемсистема (гемолизин в рабочем титре 0,5 мл + +0,5 мл 2,5%-ной взвеси эритроцитов)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
	Водяная баня при 37—38°С 20 мин													

лемента, Б — общее количество пробирок, находящихся в опыте, и В — разведение комплемента 1 : 20, т. е. (0,31×100) : 20=1,55 мл.

Титрование паратуберкулезного антигена. Титрование антигена проводят по квадратной схеме с использованием позитивной (средней активности — титр не выше 1 : 30) и нормальной сывороток. Позитивная сыворотка высылается Сибирским НИВИ одновременно с антигеном.

Для постановки опыта паратуберкулезную сыворотку разводят 1 : 5, 1 : 10, 1 : 20 и нормальную, взятую от здоровых животных,— 1 : 10. Сыворотки инактивируют при температуре 61—62°С 30 мин, после чего разливают в пробирки по 0,5 мл. Паратуберкулезный антиген разводят физиологическим раствором 1 : 10. При этом соблюдают следующие правила: на дно пробирки наливают 1 мл антигена и к нему по каплям (по стенке пробирки) добавляют при помешивании 9 мл физиологического раствора; образовавшуюся мутноватую жидкость смешивают пипеткой и оставляют для созревания на 20—30 мин. Из полученного основного разведения антигена 1 : 10 готовят последующие 1 : 20, 1 : 40, 1 : 60 и т. д. (схема 4).

Схема 4

Номер пробирки	Требуется		Получаемое разведение антигена
	основного разведения антигена 1:10, мл	физраствора, мл	
1	2	2	1:20
2	1	3	1:40
3	1	5	1:60
4	0,5	3,5	1:80
5	0,5	4,5	1:100
6	0,5	5,5	1:120
7	0,5	6,5	1:140
8	0,5	7,5	1:160
9	0,5	8,5	1:180
10	0,5	9,5	1:200
11	0,5	10,5	1:220

В каждую пробирку с паратуберкулезной (1 : 5, 1 : 10, 1 : 20) и нормальной (1 : 10) сыворотками добавляют по 0,5 мл соответствующего разведения антигена (1 : 20, 1 : 40, 1 : 60 и т. д.). Комплемент, гемолизин и эритроциты берут в рабочих титрах (схема 5).

В качестве контроля на самозадерживающие свойства берут антиген по 0,5 мл во всех разведениях без сывороток. Полный гемолиз эритроцитов со всеми разведениями антигена без сыворотки и с нормальной сывороткой указывает на отсутствие самозадерживающих свойств антигена. Контроли ставят с нормальной и позитивной сыворотками в разведении 1 : 5 и 1 : 10 с вытитрованным ранее антигеном и без него. Контроли комплемента, гемолизина, эритроцитов ставят в рабочей дозе.

Учет реакции проводят на следующий день после постановки. Показания реакции во всех пробирках оценивают по гемолитической шкале в процентах гемолиза. Примерный результат титрования паратуберкулезного антигена представлен в схеме 6.

Рабочим титром антигена считается удвоенное количество его,

Схема 5

Схема титрования паратуберкулезного антигена

Компоненты, мл	Разведение антигена											Сыворотка без антигена
	1:20	1:40	1:60	1:80	1:100	1:120	1:140	1:160	1:180	1:200	1:220	
Антиген паратуберкулезный	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	—
Одно разведение сыворотки	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5+0,5 физраствора
Комплемент в рабочем титре	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Водяная баня при 37—38°С 20 мин												
Гемолизин в рабочем титре	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Взвесь эритроцитов в разведении 1:40	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Водяная баня при 37—38°С 20 мин												

Схема 6

Результат титрования паратуберкулезного антигена

Разведение антигена	Разведение позитивной сыворотки					
	1:20	1:40	1:60	1:80	1:100	1:120
1:5	0	0	0	0	0	0
1:10	0	0	0	0	0	0
1:20	20	10	10	0	0	0
Нормальная сыворотка 1:10 с антигеном	100	100	100	100	100	100
Антиген без сыворотки	100	100	100	100	100	100

Продолжение

Разведение антигена	Разведение позитивной сыворотки					Сыворотка без антигена
	1:140	1:160	1:180	1:200	1:220	
1:5	0	0	0	0	0	100
1:10	0	0	0	0	10	100
1:20	0	0	0	0	20	100
Нормальная сыворотка 1:10 с антигеном	100	100	100	100	100	—
Антиген без сыворотки	100	100	100	100	100	—

Обозначения. 0—полная задержка гемолиза; цифры соответствуют проценту гемолиза эритроцитов. В приведенной схеме предельный титр антигена 1:200, рабочий 1:100.

давшее полную задержку гемолиза с паратуберкулезной сывороткой в разведении 1 : 10, при наличии гемолиза с нормальной сывороткой (1 : 10).

Например, конечный титр антигена 1 : 200, рабочий титр 1 : 100, конечный титр 1 : 300, рабочий титр 1 : 150 и т. д.

Результаты титрования антигена заносят в лабораторную книгу. Раз протитрованный антиген может использоваться в реакции в том же титре в течение 5 лет при условии его хранения в темном месте при температуре 12—14°С.

Постановка главного опыта. Реакцию ставят в объеме 2,5 мл всех предварительно титрованных компонентов. Все испытуемые сыворотки крупного рогатого скота и овец берут в дозах 0,1 (разведение 1 : 5) и 0,05 (разведение 1 : 10) и инактивируют при 61—62°С 30 мин.

Постановку главного опыта проводят по схеме 7.

При постановке главного опыта ставят контроли нормальной и позитивной сывороток в разведении 1 : 5 и 1 : 10 с антигеном, а также без него.

Контроли: комплемента (комплемент 0,5+1,5 мл физраствора + + 0,5 мл 2,5%-ной взвеси эритроцитов баранов), гемсистемы (0,5 мл комплемента + 1,0 мл физраствора + 1 мл гемсистемы) и антигена в рабочей дозе (0,5 мл комплемента + 0,5 мл антигена + 0,5 мл физраство-

Схема 7

Компоненты, мл	Номер пробирки		
	1 – контроль	2	3
Испытуемая сыворотка	0,1	0,1	0,05
Физиологический раствор	0,9	0,4	0,45
Инактивация при 61—62°С 30 мин			
Антиген в рабочем титре 1:100	Без антигена	0,5	0,5
Комплемент в рабочем титре	0,5	0,5	0,5
Водяная баня при 37—38°С 20 мин			
Гемсистема (гемолизин в рабочем титре 0,5 мл и 0,5 мл 2,5%-ной взвеси эритроцитов барана)	1,0	1,0	1,0
Водяная баня при 37—38°С 20 мин			

ра + 1,0 мл гемсистемы). При массовом исследовании допускается постановка реакции в одной пробирке с дозой сыворотки 0,1 мл (разведение 1 : 5). Сыворотки, давшие ту или иную степень задержки гемолиза, проверяют вторично в дозах 0,1 и 0,05 мл с контролем в дозе 0,1 мл.

Диагностической дозой сыворотки, по которой дается результат, является 0,05 мл, доза 0,1 мл является вспомогательно-контрольной.

Оценка результатов реакции. Результат реакции оценивается 2 раза: первый — сразу после водяной бани, второй — на следующий день через 14—16 ч нахождения при комнатной температуре в условиях, исключающих воздействие на них солнечного света, тепла и других факторов. Последняя читка реакции является окончательной.

Результаты реакции отмечают крестами:

(++++); (+++) — положительная реакция;
(++); (+) — сомнительная реакция;
(—) — отрицательная реакция.

Степень задержки, выраженная крестами, соответствует следующим процентам гемолиза эритроцитов:

(++++) — гемолиз эритроцитов от 0 до 10%;
(+++) — » » от 10 до 40%;
(++) — » » от 40 до 70%;
(+) — » » от 70 до 90%;
(—) — » » от 90 до 100%.

Результаты исследования сообщают словами: положительная, сомнительная, отрицательная, с указанием крестов. Данные всех опытов титрования и особенностей реакции вносят в книгу серологических исследований.

Оценку результатов реакции крестами проводят в процентах гемолиза эритроцитов. Для этого из реакции выбирают 5 пробирок с полным гемолизом, жидкость сливают в одну пробирку и из нее готовят разведение с различным процентом гемолиза (от 10 до 90) по следующей схеме.

	Номер пробирки								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Гемолизированная жидкость, мл	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0	1,2	1,4	1,6	1,8
Физраствор, мл	1,8	1,6	1,4	1,2	1,0	0,8	0,6	0,4	0,2
Процент гемолиза	10	20	30	40	50	60	70	80	90

Сыворотки крови от животных, которые дают сомнительную реакцию, подлежат повторному исследованию РСК через 2—3 нед после первого исследования.

Представленные на исследование сыворотки должны быть свежими, не более 3-дневной давности с момента взятия крови. Сыворотки загнившие, проросшие и гемолизированные для исследования непригодны.

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