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.

БРАДЗОТ ОВЕЦ

Методические указания по лабораторной диагностике брадзота овец

(Утверждены Главным управлением ветеринарии Минсельхоза СССР 27 апреля 1984 г.)

1. Общие положения.

1.1. Брадзот — быстро протекающая инфекционная болезнь овец, сопровождающаяся образованием отечных инфильтратов в подкожной клетчатке, геморрагическим воспалением слизистой оболочки сычуга и двенадцатиперстной кишки, а также усиленным образованием газов в пищеварительном тракте, особенно в желудке.

1.2. Брадзот имеет полимикробную этиологию. Возбудителями являются анаэробные микроорганизмы Cl. septicum, Cl. oedematiens (тип В, реже тип А), Cl. sordellii. Последние два по культурально-морфологическим свойствам не отличаются.

1.3. Диагноз на брадзот ставят на основании клинических, эпизоотологических, патологоанатомических данных и результатов лабораторных исследований.

1.4. Для исследования в лабораторию направляют паренхиматозные органы (при наличии в печени некротических очагов направляют участки печени с такими очагами), измененные участки стенки сычуга, отечную ткань, трубчатую кость, часть двенадцатиперстной кишки, перевязанную с двух сторон, экссудат грудной и брюшной полостей, инфильтрат подкожной клетчатки.

Таблица 2

Биологические свойства возбудителей злокачественного отека

Название возбудителя	Восприимчивые лабораторные животные	Сроки гибели морских свинок, ч	Патологоанатомическая картина у морских свинок, зараженных возбудителями злокачественного отека
Cl. septicum	Морские свинки, кролики, белые мыши	14—28	Кожа легко отделяется от мышц. Мышцы и подкожная клетчатка светло-красного или розового цвета, в подкожной клетчатке большое количество пузырьков газа. Кишечник вздут, наполнен разжиженными массами, содержащими пузырьки газа, сосуды инъецированы. В грудной полости и сердечной сорочке обнаруживают значительное количество транссудата
Cl. oedematiens	Морские свинки, кролики, белые мыши	12—36	На месте инъекции наблюдается желатинозный, студенистый отек от желтоватого до слабо-розового цвета. Мышцы бледные
Cl. sordellii	Морские свинки, кролики, белые мыши	12—30	На месте инъекции наблюдается желатинозный, студенистый отек от желтоватого до слабо-розового цвета. Мышцы бледные
Cl. perfringens типы A и D	Морские свинки, кролики, белые мыши	36—48	Кожа на месте инъекции часто отслаивается от мускулатуры, образуя мешок. Мышцы имеют вид вареного мяса, серовато-грязного цвета (более выражено при заражении типом А). Кишечник вздут, сосуды инъецированы
Cl. perfringens типы B и C	Морские свинки, кролики, белые мыши	36—48	Кожа на месте инъекции легко отделяется, но не отслаивается. Мускулатура сухая, красного цвета различных оттенков. Кишечник

Продолжение

Название возбудителя	Восприимчивые лабораторные животные	Сроки гибели морских свинок, ч	Патологоанатомическая картина у морских свинок, зараженных возбудителями злокачественного отека
			вздут, геморрагически воспален, иногда образуются язвы (тип В)
Cl. histolyticum	Морские свинки, кролики, белые мыши	18—48	При подкожном заражении большей частью наблюдают выздоровление морских свинок. При заражении в мышцу бедра кожа красно-фиолетовая, напряжена, иногда лопается. Мышцы теряют свою структуру, расплавляются и превращаются в кашицеобразную массу с примесью сгустков крови. Мягкие ткани отделяются от костей и сосудов. Газ не образуется, гнилостного распада нет

Материал берут только от свежих трупов, так как у овец после гибели происходит быстрое размножение анаэробных микроорганизмов в кишечнике и проникновение их в органы и ткани.

Результаты исследования материалов от несвежих трупов не учитывают.

1.5. Исследование на брадзот включает микроскопию мазков из патологического материала, посевы на питательные среды и заражение лабораторных животных.

Одновременно проводят исследования с целью исключения инфекционной энтеротоксемии.

2. Микроскопическое исследование.

2.1. Из доставленного материала делают мазки и окрашивают их по Граму или Муромцеву.

2.2. При микроскопии мазков отмечают форму микробов, их расположение, наличие вегетативных форм и спор (споры окраску не воспринимают). При наличии в материале Cl. septicum в мазках обнаруживают грамположительные одиночно расположенные палочки с закругленными концами, в мазках-отпечатках с серозных оболочек — длинные нити. Cl. oedematiens и Cl. sordellii представляют собой очень крупные грамположительные палочки с закругленными концами, расположенные одиночно, попарно, иногда короткими (3—4 членика) цепочками.

Споры у возбудителей брадзота овальные, расположены центрально или субтерминально,

3. **Бактериологическое исследование.**

3.1. Высевы делают из паренхиматозных органов, отечной ткани подкожной клетчатки и подслизистой сычуга и экссудата полостей в среду Китта — Тароцци, МПБ и на МПА. Среду Китта — Тароцци предварительно регенерируют — прогревают в кипящей водяной бане в течение 15—30 мин, после чего быстро охлаждают до 45—50°С.

Одновременно высев можно делать и на глюкозо-кровяной агар Цейсслера в чашках Петри.

3.2. Засеянные пробирки помещают в термостат при 37—38°С на 24—48 ч. Чашки с посевами инкубируют в анаэробных условиях 24—48 ч.

3.3. Для создания анаэробных условий наиболее приемлем физический метод. Чашки, не переворачивая (дном вниз), помещают в микроанаэростат или эксикатор, из которого удаляют воздух при помощи вакуум-насоса.

Из других методов можно применять химический с использованием безводного гипосульфита натрия ($Na_2S_2O_4$) и бикарбоната натрия (Na_2CO_3).

3.4. Посевы просматривают через 20—24 ч, при этом обращают внимание на интенсивность и равномерность помутнения жидких сред, наличие и степень газообразования.

При отсутствии роста посевы инкубируют еще сутки.

Рост Cl. septicum характеризуется интенсивным равномерным помутнением среды и обильным газообразованием.

Cl. oedematiens вызывает нежное помутнение среды, часто более интенсивное внизу, и слабое газообразование; уже через 20—24 ч бульон просветляется, и на дно выпадает хлопьевидный осадок. Cl. sordellii дает аналогичный рост, но просветление среды наступает медленнее и осадок слизистый.

В мазках из культур обнаруживают споровые и бесспоровые палочки, как и в мазках из исходного материала.

3.5. При отсутствии роста на агаре Цейсслера и в тех случаях, когда высевы из материала на плотную среду не делали, проводят дробный пересев со среды Китта — Тароцци на 3—4 чашки с агаром Цейсслера.

Посевы на плотной среде просматривают с помощью лупы или под малым увеличением микроскопа, обращая внимание на характер колоний, наличие гемолиза и изменение цвета среды.

Cl. septicum образует нежный вуалеобразный налет с микроскопически изрезанными краями и нежными отростками, колонии окружены зоной гемолиза (III форма колоний по Цейсслеру).

Колонии Cl. oedematiens и Cl. sordellii корневидные, складчатые, с выпуклым и более темным центром, шероховатые, края изрезаны. Гемолиз сильный, прозрачный, но может отсутствовать (II форма колоний по Цейсслеру).

4. **Биологическое исследование.**

4.1. Одновременно с посевами на питательные среды заражают морских свинок. Для этого кусочки пораженных тканей и другой патологический материал измельчают, тщательно растирают в стерильной ступке с песком и готовят равномерную взвесь, добавляя небольшое количество МПБ.

Полученную взвесь вводят подкожно в области брюшных мышц двум морским свинкам массой 350—400 г в дозе 0,5—1,0 мл.

4.2. При наличии в исследуемом материале возбудителей брадзота

овец морские свинки погибают через 16—48 ч (в зависимости от вида возбудителя).

При вскрытии у павших морских свинок обнаруживают следующие патологоанатомические изменения.

У морских свинок, зараженных Cl. septicum, кожа легко отделяется от мускулатуры, на месте введения материала мышца влажная, светло-красного цвета, в подкожной клетчатке значительное количество пузырьков газа, кишечник вздут, в грудной полости и сердечной сорочке большое количество транссудата.

При заражении Cl. oedematiens у павших морских свинок на месте введения наблюдают студенистый отек соединительной ткани и прилегающей мускулатуры, цвет отека от желтоватого до бледно-розового, мышцы бледные, паренхиматозные органы чаще без видимых изменений. Септицемия наступает не во всех случаях, поэтому в посевах из сердца возбудитель выделяется не всегда. Cl. sordellii вызывает у морских свинок аналогичную патологоанатомическую картину.

4.3. Из трупа морской свинки делают посевы из места введения материала, крови сердца и печени в среду Китта — Тароцци, МПБ и на МПА, мазки-отпечатки из тех же органов, а также с диафрагмальной поверхности печени. При наличии Cl. septicum в мазках с поверхности печени обнаруживают длинные нити.

4.4. При необходимости проверки вирулентности выделенных культур суточную культуру, выращенную на среде Китта — Тароцци, вводят подкожно в области брюшных мышц двум морским свинкам в дозе 0,5—1,0 мл.

4.5. Наблюдение за зараженными животными ведут в течение 8 сут.

5. Диагноз на брадзот считается установленным в случае:

выделения из патологического материала культуры со свойствами, характерными для одного из возбудителей данного заболевания, и гибели хотя бы одной морской свинки из двух, зараженных исходным материалом или полученной культурой, с типичной для данного возбудителя патологоанатомической картиной и выделением из ее органов культуры возбудителя;

гибели хотя бы одной морской свинки из двух, зараженных исходным материалом, при наличии у нее типичной для данного возбудителя патологоанатомической картины и выделения из нее культуры возбудителя, если даже в посевах из исходного материала культуры возбудителя не выделено.

6. Срок исследования — до 8 сут.

gost.e-ecolog.ru