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.

# САЛЬМОНЕЛЛЕЗЫ

## Методические указания по бактериологической диагностике сальмонеллезов животных

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

**1. Общие положения.**

Сальмонеллезом болеют все виды животных, в том числе птица.

Возбудители сальмонеллезов относятся к роду Salmonella семейства Enterobacteriaceae. По культурально-морфологическим свойствам сальмонеллы являются грамотрицательными палочками, хорошо красятся всеми анилиновыми красками, не образуют спор и капсул, обладают, как правило, выраженной подвижностью, за исключением некоторых серологических типов и их вариантов (S. gallinarum и др.), хорошо растут на обычных питательных средах при pH 7,0—7,4, оптимальная температура роста — 37°С.

На пластинчатом агаре сальмонеллы образуют серовато-белые с голубоватым оттенком колонии диаметром 1—3 мм S-, R- и промежуточной О (SR)-формы. Колонии S-формы гладкие, блестящие, куполообразные, с ровными краями. Колонии R-формы матовые, с неровными фестончатыми краями и плоской неровной поверхностью. Культуры в R-форме могут отличаться от культуры в S-форме также по биохимическим и серологическим свойствам.

Сальмонеллы характеризуются в целом следующими ферментативными свойствами: не ферментируют сахарозу, не разлагают адонит, подавляющее большинство не расщепляют салицин и не разлагают лактозу, не образуют индола, не расщепляют мочевину, не дают реакцию Фогеса — Проскауера, дают положительную реакцию с метиловым красным, большинство продуцируют сероводород. Глюкозу быстро ферментируют все типы сальмонелл с образованием газа, однако встречаются штаммы S. typhimurium, S. typhisuis, S. derby, S. abortus-equi, S. thompson, S. dublin, S. anatum, S. gallinarum, разлагающие глюкозу без образования газа. Подавляющее большинство сальмонелл ферментирует маннит.

Антигенная структура бактерий рода Salmonella очень разнообразна. У сальмонелл различают два основных антигенных комплекса: О-ан-

тиген — соматический, термостабильный и Н-антиген — жгутиковый, термолабильный. Последний имеет две фазы: первую и вторую.

В основу классификации сальмонелл положена их антигенная структура, представленная в схеме Кауфмана — Уайта, по которой определяют группу и серотип возбудителя. По данной схеме в настоящее время насчитывают более 1200 серотипов сальмонелл.

Возбудители сальмонеллезов у животных и птиц принадлежат преимущественно к серологическим группам B, $C_1$, $C_2$, $D_1$,$E_1$.

Среди крупного рогатого скота наиболее распространены S. dublin, S. typhimurium и др.

Свиньи являются резервуаром большого числа различных серологических типов сальмонелл, среди которых наиболее распространены S. choleraesuis, S. typhisuis, S. dublin, S. infantis и др.

У овец главным образом обнаруживают S. abortusovis, S. typhimurium, у лошадей — S. abortusequi, у птиц — S. pullorum, S. gallinarum, S. typhimurium, S. anatum, S. london и др., у пушных зверей — S. typhimurium, S. choleraesuis, S. dublin.

У собак и кошек обнаруживают весьма разнообразные типы сальмонелл, но наиболее часто серотипы, встречающиеся у сельскохозяйственных животных.

У животных сальмонеллезы могут проявляться в виде трех основных форм: первичные сальмонеллезы, вторичные и бактерионосительство, которое протекает без видимых клинических признаков.

Первичные сальмонеллезы характеризуются клиническими признаками, свойственными определенному виду животных, и вызываются определенными видами сальмонелл.

Вторичные сальмонеллезы наслаиваются на основное заболевание и осложняют его (чума свиней, пастереллез и др.), при этом характерные для сальмонеллезов клинические признаки обычно слабо выражены или отсутствуют.

Бактерионосители сальмонелл — животные, которые, будучи внешне здоровыми, выделяют бактерии с фекалиями, мочой. Во внутренних органах таких животных возбудителя обнаруживают главным образом в печени (в желчи, слизистой желчного пузыря, в лимфатических узлах печени), в мезентериальных лимфатических узлах, а также в содержимом слепой кишки.

Бактерионосители являются основным резервуаром сальмонеллезной инфекции и представляют особую опасность как источник инфекции не только для молодняка сельскохозяйственных животных, но также и как источник токсикоинфекции для людей при употреблении в пищу продуктов от таких животных.

**2. Материал для исследования.**

Для посмертной диагностики сальмонеллезов в лабораторию направляют свежие трупы мелких животных и птиц, от трупов крупных животных — паренхиматозные органы или части их (печень с желчным пузырем и лимфатическими узлами, селезенку, почку), мезентериальные лимфатические узлы, трубчатую кость; при подозрении на хроническую форму от свиней, кроме того, направляют слепую кишку с содержимым, и от телят — измененные участки легких; в случае аборта — свежий плод.

Материал для исследования следует брать в возможно более ранние сроки после гибели животного (не позднее 12 ч). Не рекомендуется брать материал от животных, подвергавшихся лечению антибиотиками.

Трупы направляют в лабораторию в водонепроницаемой таре. Пробы

органов доставляют в чистой, по возможности стерильной посуде (кишечник отдельно от других органов) в свежем виде; при невозможности быстрой доставки материал консервируют 30%-ным водным раствором глицерина.

Для прижизненной диагностики в лабораторию направляют фекалии, кровь, истечения из матки при абортах, а для серологического исследования по РА — сыворотку крови.

Период бактериемии при сальмонеллезах очень короткий, поэтому кровь для прижизненной диагностики необходимо брать в наиболее ранние сроки заболевания (на 1—4-й день). Кровь берут стерильным шприцем из яремной вены больного животного (теленка) в количестве 5—10 мл. Посев на среды целесообразно проводить сразу же после взятия крови.

Для обнаружения сальмонелл пробы фекалий отбирают после дефекации из последней порции. При наличии в фекалиях крови, слизи, гноя, пленок их необходимо включить в пробу. Можно брать фекалии непосредственно из прямой кишки с помощью стерильной стеклянной ректальной трубки (трубки Цимана) или деревянной палочки с ватным или марлевым тампоном на конце. Отобранные пробы помещают в стерильную посуду.

При невозможности посева в течение 3—4 ч фекалии помещают в пробирку с консервирующим раствором. В качестве консерванта применяют глицериновую смесь или буферный раствор фосфорнокислых солей (pH 8,0). В пробирку наливают 5 мл консерванта, количество же помещенных фекалий должно составлять $^1/_3$ объема консерванта (приготовление консервирующих растворов см. в приложении).

Исследование фекалий следует начинать в возможно более ранние сроки. Лишь в исключительных случаях допускается хранение материала не более суток в холодильнике при 2—6°С.

### 3. Ход исследования материала.

**Посмертная диагностика.**

*Первый день исследования.* Посевы на питательные среды делают из крови сердца, печени, желчного пузыря, селезенки, почки, измененных лимфатических узлов и костного мозга; при подозрении на хроническое течение болезни делают дополнительные посевы из легких — от телят, слепой кишки — от свиней, измененных желтков яичника — от кур. Патологический материал засевают на МПБ, чашки Петри с МПА и одной из дифференциальных сред (Эндо, Плоскирева, Левина, висмут-сульфитный агар). При подозрении на хроническое течение сальмонеллеза посевы обязательно проводят и на одну из сред накопления (*селенитовая, Мюллера, Кауфмана, Киллиана*).

Посев на чашки делают кусочком исследуемого органа. Для этого поверхность органа прижигают шпателем, а затем отрезают стерильными ножницами. На каждую чашку берут новую порцию любого посевного материала. На МПБ посев производят пастеровской пипеткой.

Посевы также можно делать из суспензии, для чего кусочки органов тщательно растирают в стерильной ступке (кишечник отдельно от других органов), заливают физиологическим раствором хлорида натрия в соотношении 1 : 4—1 : 5, полученную взвесь отстаивают 20—30 мин и из верхней части надосадочной жидкости делают посевы пастеровской пипеткой.

Засеянные пробирки и чашки помещают в термостат при температуре 37°С на 18—20 ч.

Наряду с высевом на питательные среды проводят микроскопическое исследование методами световой и люминесцентной микроскопии.

Для световой микроскопии мазки готовят из трупного материала и органов абортированных плодов и окрашивают по Граму.

Для исследования методом флуоресцирующих антител готовят мазки-отпечатки из патологического материала и обрабатывают их согласно «Наставлению по лабораторной диагностике рожи свиней, листериоза, вибриоза и сальмонеллезов сельскохозяйственных животных с помощью флуоресцирующих сывороток».

*Второй день исследования.* Через 18—24 ч просматривают посевы на плотных средах в чашках Петри и отбирают подозрительные колонии, а также делают высевы из жидких питательных сред на плотные дифференциальные среды.

Для отбора подозрительных колоний посевы на чашках со средами Эндо, Плоскирева и Левина просматривают невооруженным глазом с помощью лупы в проходящем дневном или искусственном свете; посевы на чашках с висмут-сульфитным агаром просматривают в падающем свете.

Сальмонеллы на среде Эндо растут в виде прозрачных, слегка голубоватых нежных колоний, иногда слегка розоватых. На среде Плоскирева они также бесцветны, но выглядят несколько более плотными и могут быть слегка мутноватыми. На среде Левина они прозрачные, иногда с небольшим фиолетовым оттенком. На висмут-сульфитном агаре почти все сальмонеллы растут в виде черных колоний с характерным металлическим блеском, при этом наблюдается прокрашивание в черный цвет участка среды под колонией. Исключение составляют сальмонеллы из группы С, которые при росте на висмут-сульфитном агаре образуют светлые нежные зеленоватые колонии. Просмотр чашек с висмут-сульфитным агаром проводят через 24 и 48 ч после посева.

Рост на МПБ и МПА некоторых возбудителей сальмонеллезов животных имеет различия.

Возбудители сальмонеллезов телят, свиней и птиц на МПА в первые сутки роста образуют округлые колонии средней величины сероватого цвета с голубым оттенком в тонком слое среды. При длительном хранении культуры колонии становятся мутноватыми, отдельные образуют слизистые валы. МПБ мутнеет, впоследствии на дне пробирки образуется осадок, а на поверхности — часто пленка и пристеночное кольцо.

Возбудитель сальмонеллеза овец в отличие от других сальмонелл растет на питательных средах довольно скудно в виде просвечивающихся мелких колоний с приподнятым центром и радиальной исчерченностью без валика. На МПБ вызывает равномерное помутнение с незначительным осадком без пленки и пристеночного кольца. При добавлении к средам сыворотки крови (5—10%) или глюкозы (0,2%) рост улучшается.

Возбудитель сальмонеллезного аборта кобыл в МПБ образует равномерную муть со слизистым осадком, на МПА — серовато-белые колонии, легко снимающиеся петлей с поверхности агара, также могут образовываться и шероховатые, сухие, врастающие в среду колонии.

При обнаружении роста типичных или подозрительных колоний их исследование начинают с изучения морфологии в мазке, окрашенном по Граму. Все отобранные культуры пересевают на цветной ряд, состоящий из полужидких или жидких с поплавками сред Гисса с глюкозой, лактозой, сахарозой, маннитом, а также на МПБ или 1%-ную пептонную воду для определения образования индола и сероводорода. С этой целью под пробку в пробирку с бульоном или пептонной водой помещают две ин-

дикаторные бумажки. При наличии индола соответствующая бумажка краснеет, при выделении сероводорода — другая бумажка чернеет (приготовление индикаторных бумажек см. в приложении). Определение индола можно проводить и с помощью реакции Эрлиха. Для этого к 5 мл бульонной культуры приливают 2 мл эфира, встряхивают и дают отстояться. Затем под слой эфира пастеровской пипеткой подслаивают 0,5—1 мл реактива (парадиметиламидобензальдегида — 1,0 г, спирта 96°-ного — 100 мл, соляной кислоты х. ч.— 20 мл). Образование красного кольца на границе эфира и бульона указывает на наличие индола.

Подвижность сальмонелл определяют при посеве культуры уколом в полужидкий агар (0,2% агар-агара) или при посеве в полужидкие среды Гисса. Неподвижные микробы растут только по ходу укола, подвижные дают диффузный рост и помутнение всей среды.

Одновременно необходимо проводить реакцию агглютинации с монорецепторными сальмонеллезными сыворотками.

В случае выявления типичных серологических свойств дают предварительный ответ на сальмонеллез.

*Третий день исследования.* Проводят идентификацию выделенных культур по биохимическим свойствам на цветном ряду, изучение антигенной структуры в реакции агглютинации на стекле с монорецепторными сальмонеллезными сыворотками, просмотр чашек Петри с посевами из жидких питательных сред.

Если на цветном ряду обнаружены бактерии, не ферментирующие лактозу и сахарозу, ферментирующие глюкозу, не образующие индола, то такую культуру подвергают испытанию в реакции агглютинации на стекле с сальмонеллезными агглютинирующими поливалентными О-сыворотками групп B, $C_1$, $C_2$ $D_1$, $E_1$, а в случае необходимости и других (редких) групп.

Реакцию агглютинации ставят следующим образом: на обезжиренное предметное стекло наносят каплю сыворотки, затем петлей вносят 20-часовую агаровую культуру и тщательно растирают ее. О-агглютинация наступает немедленно, и агглютинат имеет вид плотных, с трудом разбивающихся комочков и зернышек.

При получении положительной реакции с одной из поливалентных О-сывороток ставят реакцию агглютинации раздельно с каждой из О-сывороток, входящих в поливалентную, для определения, к какой из групп по схеме Кауфмана — Уайта принадлежит культура.

После установления О-группы такую культуру испытывают с монорецепторными Н-сыворотками, сначала первой фазы, а затем — второй. При этом Н-сыворотки применяют в порядке, соответствующем распространению типов сальмонелл в данной местности. Н-агглютинация наступает быстро, и агглютинат имеет вид крупных, рыхлых, легко разбивающихся хлопьев.

Для агглютинации с О-сыворотками культуру следует брать с верхней части скошенного агара, для агглютинации с Н-сыворотками — с нижней части агара, где расположены наиболее подвижные особи.

В лаборатории нельзя готовить смеси из отдельных монорецепторных О- и Н-сывороток, так как они не подлежат разведению.

Если выделенная культура обладает типичными морфологическими, культуральными и биохимическими свойствами и дает четкие результаты в реакции агглютинации с определенными монорецепторными сыворотками, дают ответ о выделении сальмонелл установленного серологического типа (характеристику биохимических и серологических свойств сальмонелл см. в приложении 3).

Если в первичных посевах на твердых питательных средах роста

характерных колоний не получено, то при просмотре чашек с посевами из жидких питательных сред проводят отбор подозрительных колоний и исследуют в указанном выше порядке.

Если характерных и подозрительных колоний нет ни в чашках с прямыми посевами, ни в чашках с высевом из жидких питательных сред, дают ответ об отрицательном результате исследования.

*Четвертый день исследования.* Проводят учет ферментативной активности культур, пересеянных накануне на цветной ряд, и серологическое исследование их.

**Прижизненная диагностика.**

1. Исследование фекалий.

*Первый день исследования* (посев материала на питательные среды). Фекалии засевают в чашки Петри с плотными дифференциальными средами (Эндо, Плоскирева, Левина, висмут-сульфитный агар).

Так как не все серологические типы сальмонелл одинаково хорошо растут на упомянутых средах, посев следует проводить на две чашки с двумя различными средами. На каждую чашку следует брать новую порцию посевного материала в таком количестве, чтобы получить изолированный рост колоний.

Если фекалии доставлены в консерванте, то капли взвеси наносят пастеровской пипеткой на поверхность дифференциальных питательных сред у края чашки, тщательно растирают стеклянным шпателем на небольшой площади, а затем, отгрвав шпатель от питательной среды, не прожигая его, делают посев на остальной поверхности среды.

Фекалии, доставленные без консерванта, суспендируют в физиологическом растворе в соотношении 1 : 10, отстаивают в течение 20—30 мин и сеют из верхнего слоя надосадочной жидкости, как указано выше.

Учитывая, что такие элективные среды, как среда Плоскирева и висмут-сульфитный агар, подавляют рост кишечных сапрофитов, целесообразно увеличить количество посевного материала на этих средах в 2—3 раза по сравнению со средами Эндо и Левина.

Необходимым условием для получения изолированных колоний является отсутствие конденсата на поверхности питательной среды, что достигается разливом среды, охлажденной до температуры 50°С, и ее подсушиванием. Готовить среду лучше накануне.

Одновременно проводят посев фекалий в среды обогащения (селенитовая, Кауфмана или Мюллера), при этом соблюдают соотношение посевного материала к среде 1 : 5.

Засеянные чашки и пробирки помещают в термостат при температуре 37°С на 18—20 ч.

Учитывая возможность неудачи первичного посева (отсутствие роста или сплошной рост), материал хранят в холодильнике, пока не будут просмотрены чашки с посевами.

*Второй день исследования.* Через 18—24 ч просматривают посевы на чашках Петри и отбирают подозрительные колонии, а также делают высев из сред обогащения на чашки Петри с плотными дифференциальными средами.

При обнаружении на чашках роста типичных колоний изучают 2—3 колонии, а при наличии подозрительных колоний изучают 3—5 колоний с каждой чашки. Изучаемые колонии снимают и пересевают в пробирки на трехуглеводную среду с мочевиной (рецепт среды см. в приложении) или короткий цветной ряд (среды Гисса с глюкозой, лактозой, сахарозой, маннитом) и МПА. На трехуглеводную среду с мочевиной посев делают сначала штрихом по скошенной поверхности, а затем уколом в глубину столбика.

Одновременно может быть проведена предварительная реакция агглютинации с сальмонеллезными агглютинирующими сыворотками.

*Третий день исследования.* Изучают выделенные культуры по биохимическим свойствам, просматривают чашки Петри с посевами из сред обогащения и отбирают подозрительные колонии, которые пересевают на трехуглеводную среду с мочевиной.

Если характерных и подозрительных колоний нет в чашках с прямыми посевами, а также в чашках с высевом из сред обогащения, дают ответ об отрицательном результате исследования.

Изучение выделенных культур начинают с учета их ферментативной активности на трехуглеводной среде с мочевиной (предварительно следует убедиться в чистоте культуры).

На этой среде при ферментации глюкозы изменяется цвет среды в столбике, при ферментации лактозы и сахарозы — в скошенной части агара. Если при ферментации сахаров, помимо кислоты, образуется газ — в среде появляются пузырьки. При расщеплении мочевины изменяется цвет всей среды.

Если культуры, засеянные на трехуглеводную среду с мочевиной, сбраживают лактозу, сахарозу, глюкозу с образованием газа (столбик и косяк — синие при применении среды с реактивом ВР), они принадлежат к разновидностям кишечной палочки. Если культура расщепляет мочевину (среда оранжевого цвета), она относится к роду протея.

Культуры, не расщепляющие лактозу, сахарозу и мочевину, но ферментирующие глюкозу (столбик зеленовато-голубоватого цвета, косяк — розовый), подозрительны на сальмонеллы. Такие культуры пересевают на цветной ряд, а для определения сероводорода и индола — на МПБ или 1%-ную пептонную воду.

*Четвертый день исследования.* Проводят учет ферментативной активности культур, пересеянных с трехуглеводной среды с мочевиной, и серологическое исследование их. Таким образом, на четвертый день заканчивают исследование культур, выделенных из первичного посева.

В тех случаях, когда сальмонелл из первичных посевов не выделено, проводят идентификацию культур, высеянных накануне на трехуглеводную среду с мочевиной, по ферментации лактозы, сахарозы, глюкозы и мочевины. При подозрении на наличие сальмонелл делают пересев на цветной ряд, а также МПБ или 1%-ную пептонную воду для определения сероводорода и индола.

*Пятый день исследования.* Проводят учет биохимических и серологических свойств культур, пересеянных накануне с трехуглеводной среды с мочевиной.

2. Исследование крови.

*Первый день исследования.* Кровь засевают в 6—7 пробирок или 2—3 флакона МПБ с 10—20% бычьей желчи в соотношении посевного материала к среде 1 : 10. При отсутствии желчи кровь может быть засеяна в обычный МПБ.

Посев крови следует проводить сразу же после взятия. Для посева также можно использовать сгустки крови (после измельчения).

Засеянные пробирки или флаконы помещают в термостат при температуре 37°С на 18—24 ч.

*Второй день исследования.* Через 18—24 ч делают высев из бульона с желчью или обычного МПБ на чашки Петри с плотными дифференциальными средами. Засеянные жидкие среды продолжают инкубировать.

*Третий день исследования.* Просматривают посевы на дифференциальных средах и отбирают подозрительные колонии, дальнейшее изучение которых проводят, как описано выше.

При отсутствии роста подозрительных колоний делают повторный высев из жидких сред на 2-, 5- и 7-е сут.

*Дополнительные исследования.* В случае выделения культур сальмонелл с отклонениями от типичных свойств для их окончательной идентификации проводят дополнительные исследования.

Эти отклонения могут быть следующими:

а) культура дает четкую реакцию агглютинации с О- и Н-сыворотками, но нетипична по ферментативным свойствам;

б) культура типична по ферментативным свойствам, но не агглютинирует или слабо реагирует с О- и Н-сальмонеллезными сыворотками.

В первом случае прежде всего необходимо убедиться в чистоте культуры, для чего проводят рассев ее на чашки Петри с МПА и одной из дифференциальных сред, затем отбирают 5—6 наиболее типичных колоний и изучают их биохимические свойства и серологическую характеристику.

Во втором случае необходимо проверить, не является ли культура одной из разновидностей бактерий из рода эшерихий с замедленной ферментативной активностью. Для этого проводят посев культуры в среды Гисса с лактозой и сахарозой, которые инкубируют в термостате при 37°С до 21 сут с ежедневным учетом результатов. Для более быстрого выявления ферментативной активности культур рекомендуется засевать их в среды Гисса с 4% лактозы и с 4% сахарозы. Необходимо также проверить отношение таких культур к салицину (сальмонеллы не ферментируют салицин). Следует иметь в виду, что S. typhisuis не ферментирует маннит.

В случае, когда культура типична по своим ферментативным свойствам, но не дает четкой агглютинации, рекомендуются повторные пассажи культуры (4—5) на 10%-ный желчный бульон и скошенный агар, после чего проводят рассев на чашку Петри с МПА с последующим отбором типичных колоний.

Если культура не агглютинируется О- и Н-сыворотками, ее следует испытать в отношении к сальмонеллезному О-фагу согласно инструкции по его применению (см. приложение). Чувствительность культуры к бактериофагу указывает на принадлежность ее к роду Salmonella.

При серологической идентификации сальмонелл иногда возникает трудность в определении жгутикового антигена или одной из его фаз, что может быть связано с угнетением или утратой Н-антигена (потери подвижности) либо с преобладанием в популяции какой-либо одной фазы. При этом следует помнить, что для некоторых сальмонелл характерно отсутствие подвижности (S. pullorum, S. gallinarum) или первой фазы (S. choleraesuis var. kunzendorf, S. typhimurium var. binus).

Для выявления специфической фазы жгутикового Н-антигена можно использовать феномен роения в чашках Петри по Свену — Гарду. Для чего исследуемую культуру в виде бляшки засевают в центр чашки с 0,8—1%-ным питательным агаром (см. приложение). К остуженному до 50°С агару (перед тем как заливают чашку) добавляют 2—3 капли агглютинирующей Н-сыворотки той фазы жгутикового антигена, которая была выявлена у данной культуры и которую желательно подавить. Через 24 ч инкубации при 37°С бактерии с искомой фазой Н-антигена оказываются на периферии макроколонии.

Если подозрительная на сальмонеллы культура имеющимися монорецепторными сыворотками не типируется, ее необходимо направить в вышестоящую лабораторию.

Следует отметить, что в идентификации культур, подозрительных на принадлежность к сальмонеллам, наиболее важное значение имеет под-

робное изучение биохимических свойств (ферментация дульцита, арабинозы, рамнозы, раффинозы, салицина, адонита, инозита; расщепление мочевины, рост на бульоне Штерна, реакция Фогеса — Проскауэра и с метиловым красным). Использование в целях идентификации культур только метода агглютинации подозрительных колоний на стекле прямо с чашки первичного посева или даже со среды Ресселя может явиться источником серьезных диагностических ошибок, так как ряд бактерий других родов семейства Enterobacteriaceae (например, родов Escherichia и др.) могут иметь общие антигены с сальмонеллами.

В необходимых случаях проводят биологическое исследование. Наиболее восприимчивыми лабораторными животными являются белые мыши (массой 15—18 г). Культуру вводят подкожно белым мышам в дозе 0,2—0,3 мл при концентрации 50—100 млн. микробных тел в 1 мл. Животные гибнут в сроки от 3 до 10 сут.

Диагноз на сальмонеллез основывается на эпизоотологических, клинических, патологоанатомических данных, а также результатах бактериологических и серологических исследований.

## Приложение 1

### Рецепты рекомендуемых консервирующих смесей, питательных сред и индикаторов

**1. Консервирующие смеси.**

*Глицериновая смесь.* К 1 л физиологического раствора добавляют 0,5 л х. ч. нейтрального глицерина и устанавливают pH 8,0, добавляя 20% раствора фосфорнокислого натрия ($Na_2HPO_4$).

Смесь стерилизуют в течение 15 мин при температуре 112°С. После стерилизации pH должен быть равен 7,6—7,8.

*Фосфатная буферная смесь.* На 1 л дистиллированной воды добавляют фосфорнокислого однозамещенного калия ($KH_2PO_4$) 0,45 г и фосфорнокислого двузамещенного (выветренного) натрия ($Na_2HPO_4$) 5,34 г. Смесь разливают и стерилизуют в автоклаве при 1 атм в течение 30 мин.

**2. Среды обогащения.**

*Селенитовая среда.* Состав среды (г): натрий кислый селенистокислый (без примеси теллура) ($NaHSeO_3$)—4, пептон — 5, натрий фосфорнокислый двузамещенный безводный ($Na_2HPO_4$) — 7, натрий фосфорнокислый однозамещенный ($NaH_2PO_4$)—3, лактоза (химически чистая) — 4, дистиллированная вода — 1000.

Приготовление среды. Среду готовят из двух основных растворов. Сначала экспериментально определяют точную пропорцию $Na_2HPO_4$ и $NaH_2PO_4$, которая с используемыми образцами пептона и кислого селенистокислого натрия давала бы pH не выше 7,0, что регулируется изменением соотношения фосфатов. Такую предварительную подтитровку необходимо делать всякий раз, когда меняется серия любого из входящих в среду основных ингредиентов (пептон, кислый селенистокислый натрий, фосфаты). Когда такое соотношение установлено, к приготовленному раствору фосфатов добавляют пептон и лактозу.

Разливают во флаконы по 50 мл и стерилизуют текучим паром в течение 2 дн. по 30 мин или при температуре 112°С в течение 30 мин.

Отдельно на стерильной дистиллированной воде готовят 10%-ный раствор кислого селенистокислого натрия. Перед началом работы на каждый флакон с 50 мл основного раствора добавляют 2 мл раствора кислого селенистокислого натрия. Приготовленную среду разливают в сте-

рильные пробирки по 5—7 мл и закрывают плотно пригнанными пробками. Стерилизация готовой среды не допускается.

Основной раствор среды может храниться в холодильнике в течение 1—2 мес. Раствор кислого селенистокислого натрия готовят ex temporе.

При использовании селенитовой среды для исследования мочи и молока среду следует готовить с удвоенным количеством входящих в нее ингредиентов, и исследуемый материал засевают в соотношении к среде 1 : 1.

Примечание. При использовании фосфатов с кристаллизационной водой количество их соответственно должно быть изменено.

*Среда Мюллера.* В стерильные флаконы отвешивают по 4,5 г мела, стерилизуют сухим жаром. Наливают в каждый флакон по 90 мл бульона и стерилизуют при 1 атм в течение 30 мин. В каждый флакон в асептических условиях ex temporе добавляют по 2 мл раствора Люголя и 10 мл раствора гипосульфита (серноватистокислого натрия — $Na_2S_2O_3$).

Для приготовления среды Мюллера используют бульон из перевара Хоттингера, содержащий 130—150 мг% аминного азота. Очень важное значение имеет pH среды. В связи с тем что некоторые сорта мела вызывают довольно значительные изменения pH бульона после автоклавирования, следует обязательно проверить реакцию каждой новой партии среды после стерилизации для установления pH 7,2—7,4.

С этой целью достаточно провести проверку в одном из флаконов и определить необходимый для подтитровки данного количества среды объем кислоты (или щелочи).

Раствор Люголя: 100 мл дистиллированной воды, 20 г йодистого калия и 25 г йода.

Раствор гипосульфита: в измерительный цилиндр насыпают 50 г серноватистокислого натрия и добавляют дистиллированной воды до 100 мл, переливают в бутыль, стерилизуют текучим паром.

*Среда Кауфмана.* К 500 мл стерильной среды Мюллера добавляют 25 мл стерильной бычьей желчи и 5 мл 0,1%-ного водного раствора бриллиантового зеленого. Разливают в стерильные пробирки с соблюдением правил асептики. Стерилизовать не нужно.

*Среда Киллиана.* К 100 мл стерильного МПБ (pH 6,7—6,9, не выше 7,3) прибавляют 1 мл 0,1%-ного водного раствора бриллиантового зеленого и разливают по пробиркам.

*Желчный бульон.* К 800 мл МПБ добавляют 200 мл нативной желчи крупного рогатого скота, разливают, стерилизуют текучим паром 2 раза по 30 мин, pH готового бульона 7,5—7,6.

**3. Дифференциальные питательные среды.**

*Среды Плоскирева, Эндо, Левина, висмут-сульфит-агар,* а также *среды с индикатором ВР и сахарами* (глюкозой, лактозой, сахарозой или маннитом) выпускаются сухими, и их готовят по прописи, указанной на этикетке.

*Трехуглеводная среда с мочевиной.* Сухого препарата с лактозой и индикатором ВР берут 45 г, глюкозы х. ч.— 1,1, сахарозы х. ч.— 10, мочевины — 10 г, воды дистиллированной — 1 л. Смесь растворяют при нагревании до кипения и разливают в стерильные пробирки по 5—6 мл. Стерилизуют при 0,5 атм в течение 20 мин (загружать в горячий автоклав). Среду скашивают так, чтобы остался небольшой столбик (не менее 3 см высотой).

**4. Дополнительные питательные среды.**

*Среда с повышенным содержанием лактозы.* Состав среды: воды дистиллированной — 100 мл, пептона — 0,5%, хлористого натрия — 0,5, реактива Андрадэ — 1, лактозы — 4%.

Смесь растворяют, разливают в пробирки и стерилизуют при 0,5 атм в течение 20 мин или текучим паром 3 дня подряд по 20 мин.

Среду с повышенным содержанием сахарозы готовят аналогично.

*Среда для посева по Свену — Гарду:* бульона мясо-пептонного или перевара Хоттингера — 100 мл, агар-агара — 0,5—0,8%.

Отмытый и отжатый агар-агар добавляют в бульон, кипятят до расплавления агар-агара, проверяют pH (7,2—7,4). Фильтруют через бумажный фильтр, разливают в стерильные большие пробирки по 20 мл. Стерилизуют при 1 атм в течение 30 мин.

*Среда Штерна* (глицерин-фуксин-бульон). К 100 мл МПБ (pH 7,2—7,4) добавляют 5—6 капель насыщенного спиртового раствора основного фуксина, 2 мл свежеприготовленного 10%-ного водного раствора невыветрившего сульфита натрия и 1 мл глицерина. Бульон разливают в пробирки и дробно стерилизуют. Среда имеет золотисто-желтый цвет, ее хранят в темноте не более 10—12 дн.

*Среда Биттера с рамнозой.* В 1 л дистиллированной воды растворяют 0,5 г трехосновного лимоннокислого натрия, 5 г хлористого натрия, 0,05 г пептона и 5 г рамнозы (изодульцит). Жидкость кипятят, фильтруют, разливают в пробирки и дробно стерилизуют текучим паром 3 дня подряд по 30 мин.

Засевают среды с помощью пастеровской пипетки одной каплей смыва (физиологическим раствором) суточной агаровой культуры. При добавлении к суточной культуре бактерий на среде Биттера с рамнозой 2 капель 0,5%-ного спиртового раствора метилрота она немедленно приобретает окраску: красную — при максимально возможной кислотности, розовую или оранжевую — при меньшей кислотности, желтую — при pH, близкой к 7.

Среду Биттера с арабинозой готовят аналогично с добавлением соответствующего сахара.

**5. Приготовление индикаторных бумажек.**

*На индол.* Смешивают парадиметиламидобензальдегид (3—5 г), этиловый спирт 96° ный (50 мл), фосфорную кислоту (очищенную концентрированную) (10 мл).

Затем дают раствориться порошку. Полученной тепловатой жидкостью смачивают полоски фильтровальной бумаги, высушивают и нарезают узкими полосками.

Цвет бумажки — желтый. При наличии индола цвет бумажки меняется от сиренево-розового до интенсивно малинового. Появление других цветов на индикаторной бумаге не учитывают.

*На сероводород.* Лист фильтровальной бумаги смачивают в следующем растворе: дистиллированной воды — 100 мл, уксуснокислого свинца — 20 мл, двууглекислой соды — 1 г.

Бумагу высушивают, нарезают полосками. После обработки бумага остается белой, при наличии сероводорода — чернеет.

Приложение 2

**Методика испытания культур на чувствительность к О-бактериофагу**

Две капли 4- или 18-часовой бульонной культуры испытуемого штамма (можно использовать взвесь суточной агаровой культуры на физиологическом растворе) наносят тонко оттянутой пастеровской пи-

петкой на хорошо подсушенный МПА (pH 7,2—7,4) в чашке Петри. После подсыхания на одну из капель петлей или пастеровской пипеткой меньшего диаметра наносят О-бактериофаг, а на другую в качестве контроля — каплю бульона.

Фаг наносят неразведенный или в разведении 1 : 5 (в зависимости от указания на этикетке). На одной чашке, таким образом, можно испытать одновременно 8—10 культур. Чашку с нанесенными культурами и О-бактериофагом помещают на 18—20 ч в термостат при 37°С, после чего учитывается результат. Положительный результат реакции при появлении на месте нанесения фага четко очерченной зоны сливного лизиса оценивают на ++++, при наличии отдельных негативных колоний, отчетливо видимых глазом, в зависимости от их количества реакцию оценивают на +++, ++, +.

При отсутствии лизиса в местах нанесения фага будет сплошной рост культуры, как в контроле.

О-фаг может также быть использован для предварительного испытания культуры. Для этого подозрительные колонии, выросшие на чашке с дифференциальной средой (Плоскирева, Эндо, висмут-сульфитным агаром и др.), снимают и пересевают на один из секторов чашки Петри с МПА (pH 7,2—7,4). В центре каждого засеянного сектора тонкой пастеровской пипеткой или петлей наносят каплю О-фага, чашки помещают в термостат и на следующий день проводят учет результатов. На одной чашке одновременно может быть испытано 5—6 колоний.

Культура, лизировавшаяся фагом, является подозрительной на сальмонеллезную и может быть прямо с чашки испытана в реакции агглютинации с поливалентной сальмонеллезной сывороткой. В случае положительного результата реакций агглютинации культуру засевают на скошенный агар и на пестрый ряд для изучения биохимических свойств и антигенной структуры (с помощью сальмонеллезных монорецепторных сывороток), без чего не представляется возможным дать окончательный ответ о принадлежности культуры к определенному серологическому типу рода сальмонелла. Культуры, не чувствительные к О-бактериофагу, подлежат также дальнейшему изучению (биохимическому и серологическому). Большую помощь О-фаг может оказать при изучении атипичных, трудно диагностируемых культур. Атипичные сальмонеллезные культуры в большинстве случаев чувствительны к О-фагу, в то время как культуры, лишь сходные с сальмонеллезными по биохимическим свойствам (например, лактозонегативные E. coli), как правило, не лизируются этим фагом.

Сальмонеллезный О-бактериофаг в качестве экспериментального препарата готовится в отделе эпидемиологии кишечных инфекций Центрального научно-исследовательского института эпидемиологии Министерства здравоохранения СССР (Всесоюзный сальмонеллезный центр).

Приложение 3

Антигенная структура и биохимические свойства некоторых сальмонелл

| Группа | Тип сальмонелл | О-антиген | Н-антиген I | Н-антиген II | Глюкоза: кислота | Глюкоза: газ | Лактоза | Мальтоза | Цитрат | Сахароза | Дульцит | Рамноза | Желатина | Индол | $H_2S$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 |
| A | S. paratyphi A | 1, 2, 12 | a | — | + | + | — | + | — | — | $+^{1-3}$ | $+^{1-2}$ | — | — | d |
| B | S. paratyphi B | 1, 4 (5), 12 | b | 1, 2 | + | ± | — | + | + | — | d | d | — | — | + |
| | S. typhimurium | 1, 4 (5), 12 | i | 1, 2 | + | ± | — | + | d | — | + | d | — | — | + |
| | S. stanley | 1, 4 (5), 12, 27 | d | 1, 2 | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | + |
| | S. heidelberg | 1, 4, (5), 12 | r | 1, 2 | + | + | — | + | + | ∓ | + | + | — | — | + |
| | S. reading | 4, 5, 12 | eh | 1, 5 | + | + | — | + | + | — | + | d | — | — | + |
| | S. derby | 1, 4 (5), 12 | fg | — | + | ± | — | + | + | — | + | + | — | — | + |
| | S. abortusequi | 4, 12 | — | enx | + | ± | — | + | + | — | $+^{1-2}$ | + | — | — | — |
| | S. abortusbovis | 1, 4, 12, 27 | b | enx | + | + | — | + | $+^{1-2}$ | — | + | d | + | — | + |
| | S. abortusovis | 4, 12 | c | 1, 6 | + | + | — | + | d | — | d | x | — | — | x |
| | S. brandenburg | 1, 4, 12 | lv | $enz_{15}$ | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | + |
| | S. kisangani | 1, 4 (5), 12 | a | 1, 2 | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | + |
| | S. abony | 1, 4 (5), 12 | b | enx | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | + |
| | S. altendorf | 4, 12, 27 | c | 1, 7 | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | + |
| | S. sainpaul | 1, 4 (5), 12 | eh | 1, 2 | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | + |
| | S. stanleyville | 1, 4 (5), 12 | $z_4z_{23}$ | (1, 2) | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | + |
| C | S. paratyphi C | 6, 7 (vi) | c | 1, 5 | + | + | — | + | + | — | + | $+^{1-3}$ | — | — | + |
| | S. choleraesuis | 6, 7 | c | 1, 5 | + | + | — | + | + | — | x | + | — | — | + |
| | var. america | | | | | | | | | | | | | | |
| | S. choleraesuis | 6, 7 | — | 1, 5 | + | + | — | + | + | — | x | + | — | — | — |
| | var. kunzendorf | | | | | | | | | | | | | | |
| | S. typhisuis | 6, 7 | c | 1, 5 | + | — | — | — | + | — | x | $+^{1-3}$ | — | — | — |

*Продолжение*

| Группа | Тип сальмонелл | О-антиген | Н-антиген | | Глюкоза | | Лактоза | Маннит | Ксилоза | Сахароза | Дульцит | Рамноза | Желатина | Индол | $H_2S$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | I | II | кислота | газ | | | | | | | | | |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 |
| | S. thompson | 6, 7 | k | 1, 5 | + | ± | — | + | + | — | + | + | — | ∓ | + |
| | S. virchow | 6, 7 | r | 1, 2 | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | + |
| | S. oranienburg | 6, 7 | *mt* | — | + | + | — | + | + | ∓ | + | + | — | — | + |
| | S. potsdam | 6, 7 | lv | $enz_{15}$ | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | + |
| | S. tennessee | 6, 7 | $z_{29}$ | — | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | + |
| | S. bareilly | 6, 7 | y | 1, 5 | + | + | — | + | + | — | + | + | — | ∓ | + |
| | S. newport | 6, 8 | eh | 1, 2 | + | + | — | + | + | — | + | + | — | ∓ | + |
| | S. bovis-morbificans | 6, 8 | r | 1, 5 | + | + | — | + | + | — | + | $+^{1-2}$ | — | — | + |
| | S. muenchen | 6, 8 | d | 1, 2 | + | + | — | + | + | ∓ | + | + | — | ∓ | + |
| | S. kentucky | 8, 20 | i | $z_6$ | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | + |
| D | S. typhi | 9, 12 (vi) | d | — | + | — | — | + | d | — | x | — | — | — | d |
| | S. enteritidis | 1, 9, 12 | gm | — | + | + | — | + | + | — | d | + | — | ∓ | + |
| | S. dublin | 1, 9, 12 (vi) | gp | — | + | ± | — | + | d | — | d | d | — | — | + |
| | S. rostok | 1, 9, 12 | gpu | — | + | + | — | + | + | — | + | — | — | — | + |
| | S. moscow | 9, 12 | gq | — | + | + | — | + | + | — | $+^{3-4}$ | $+^{1-2}$ | — | — | + |
| | S. sendai | 1, 9, 12 | a | 1, 5 | + | — | — | + | x | — | x | x | — | — | d |
| | S. eastbourne | 1, 9, 12 | eh | 1, 5 | + | ± | — | + | + | — | + | + | — | ∓ | + |
| | S. panama | 1, 9, 12 | lv | 1, 5 | + | + | — | + | + | — | | + | — | + | + |
| | S. gallinarum | 1, 9, 12 | | — | + | — | — | + | $+^{2-7}$ | — | $+^{1-5}$ | $+^{1-7}$ | — | — | d |
| | S. pullorum | 1, 9, 12 | | — | + | + | — | + | $+^{1-2}$ | — | — | + | — | — | + |
| E | S. senftenberg | 1, 3, 19 | g (s) t | — | + | ± | — | + | + | ∓ | + | + | — | — | d |
| | S. london | 3, 10 | lv | 1, 6 | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | + |
| | S. anatum | 3, 10 | eh | 1, 6 | + | ± | — | + | + | ∓ | + | + | — | — | + |
| | S. meleagridis | 3, 10 | eh | lv | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | + |

*Продолжение*

| Группа | Тип сальмонелл | О-антиген | Н-антиген | | Глюкоза | | Лактоза | Маннит | Ксилоза | Сахароза | Дульцит | Рамноза | Желатина | Индол | $H_2S$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | I | II | кислота | газ | | | | | | | | | |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 |
| | S. veltevreden | 3, 10 | r | $z_6$ | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | + |
| | S. give | 3, 10 | lv | 1, 7 | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | + |
| | S. amager | 3, 10 | y | 1, 2 | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | + |
| | S. muenster | 3, 10 | eh | 1, 5 | + | + | — | + | + | ∓ | + | + | — | — | + |
| | S. newington | 3, 15 | eh | 1, 6 | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | + |
| | S. selandia | 3, 15 | eh | 1, 7 | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | + |
| | S. illinois | 3, 15, 34 | $z_{31}$ | 1, 5 | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | + |
| Другие | S. aberdeen | 11 | i | 1, 2 | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | + |
| группы | S. worthington | 1, 13, 23 | z | lv | + | + | — | + | + | — | x | + | — | — | + |
| | S. poona | 13, 22 | z | 1, 6 | + | + | — | + | + | ∓ | + | + | — | — | + |
| | S. onderstepoort | 1, 6, 14, (25) | eh | 1, 5 | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | + |
| | S. hvittingfoss | 16 | b | enx | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | + |
| | S. kirkee | 17 | b | 1, 2 | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | + |
| | S. minnesota | 21 | b | enx | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | + |
| | S. inverness | 38 | k | 1, 6 | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | + |
| | S. shampaign | 39 | k | 1, 5 | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | + |
| | S. riogrande | 40 | b | 1, 5 | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | + |
| | S. millesi | 1, 40 | lv | 1, 2 | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | + |

Обозначения: (+) — положительный результат через 1 день; ($+^{1-3}$) — положительный результат через 1—3 дня; (—) — отрицательный результат; (±) — положительный, но встречаются отдельные штаммы, дающие отрицательный результат; (∓) — отрицательный, но встречаются отдельные штаммы, дающие положительный результат; (x) — поздний положительный или отрицательный результат; (d) — различные биохимические типы.

# 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-медицаловый 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 фенолизированные для РА 86
Реактив бируретовый 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
— трипгический 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-желтзо-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 (КРА) 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 84×108 1/32. Бумага тип. № 3. Гарнитура литературная. Печать высокая. Усл. печ. л. 18,18. 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