

СПРАВОЧНИК



ЛАБОРАТОРНЫЕ
ИССЛЕДОВАНИЯ
В ВЕТЕРИНАРИИ



БАКТЕРИАЛЬНЫЕ
ИНФЕКЦИИ

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*

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

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 несопадающие 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 является способом наведения строгого порядка в работе ветеринарных лабораторий.

Книга предназначена для ветеринарных врачей, фельдшеров, а также лаборантов ветеринарных диагностических лабораторий.

В справочник не вошли материалы по диагностике туберкулеза, так как они пересматриваются и дополняются, поэтому их публикация будет осуществлена в последующих изданиях.

**Наставление по применению
кампилобактериозного (вибриозного)
антигена для реакции агглютинации
с вагинальной слизью (РАВС)**

*(Утверждено Главным управлением ветеринарии
Минсельхоза СССР 21 мая 1980 г. взамен
временного наставления от 11 декабря 1957 г.)*

1. Общие положения.

1.1. Кампилобактериозный (вибриозный) антиген представляет собой непрозрачную серовато-белого цвета взвесь убитых формалином кампилобактерий в концентрации 10 млрд. микробных клеток в 1 мл. При отстаивании антигена на дно флакона выпадает осадок, который при встряхивании образует равномерную муть.

1.2. Срок годности кампилобактериозного антигена для реакции агглютинации — 1 год со дня изготовления при условии хранения его в сухом и темном месте при температуре от 4 до 12°C.

2. Применение антигена.

2.1. Кампилобактериозный (вibriозный) антиген применяют в ветеринарных лабораториях для диагностики кампилобактериоза крупного рогатого скота в реакции агглютинации с вагинальной слизью (РАВС).

2.2. Перед употреблением антиген тщательно встряхивают.

2.3. Постановка реакции агглютинации с вагинальной слизью. Для РАВС антиген разводят 3%-ным раствором поваренной соли, содержащим 0,3% формалина в соотношении 1 : 10 (1+9). Тампон с вагинальной слизью помещают в пробирку, содержащую 5 мл стерильного формализованного 3%-ного раствора поваренной соли и выдерживают 12—14 ч при температуре 1—4°C. Затем тампон отжимают пинцетом, а жидкость центрифугируют 30 мин при 2,5—3 тыс. об/мин.

После центрифугирования реакцию ставят с экстрактом вагинальной слизи в 4 разведениях. В первую и вторую пробирку наливают 0,5 мл исходного экстракта слизи, во вторую, третью и четвертую пробирки предварительно наливают по 0,5 мл формализованного 3%-ного раствора поваренной соли. Содержимое второй пробирки перемешивают и 0,5 мл переносят в третью пробирку, из третьей в четвертую, а из последней 0,5 мл удаляют. В каждую пробирку добавляют по 0,5 мл одной-миллиардной взвеси антигена.

2.4. Контроль антигена:

на самоагглютинацию — вносят в пробирку 0,5 мл антигена в рабочем разведении и добавляют в нее 0,5 мл формализованного 3%-ного раствора поваренной соли;

на активность — в каждую пробирку с разведенной агглютинирующей кампилобактериозной сывороткой первого типа (1 : 50, 1 : 100, 1 : 200, 1 : 400) вносят по 0,5 мл антигена в рабочем разведении;

на специфичность — в две пробирки вносят по 0,5 мл нормальной сыворотки в разведении 1 : 100 и 1 : 200 и добавляют по 0,5 мл антигена в рабочем разведении.

Все пробирки хорошо встряхивают и помещают в термостат на 24 ч при 37°C, после чего выдерживают дополнительно 3—6 ч при комнатной температуре и проводят учет реакции.

Вначале учитывают результаты контролей антигена. Отрицательная реакция в первом и третьем контролях при положительной во втором контроле свидетельствует о правильности постановки реакции.

3. Учет реакции.

3.1. Учет результатов РАВС проводят по следующей схеме:

(++++) — полное просветление столбика жидкости и образование рыхлого осадка, разбивающегося при встряхивании на хлопья;

(+++) — наличие слабой опалесценции жидкости с образованием рыхлого осадка, разбивающегося на хлопья при осторожном встряхивании;

(++) — неполное просветление (50%) жидкости и образование небольшого осадка, также разбивающегося на хлопья;

(+) — отсутствие или незначительное просветление жидкости при наличии небольшого осадка, при встряхивании которого заметны отдельные хлопья;

(—) — жидкость мутная, небольшой осадок в центре пробирки при встряхивании разбивается в равномерную муть.

3.2. Оценка реакций:

положительная — реакция хорошо выражена (три-четыре креста) во всех пробирках или только в первой и второй;

сомнительная — агглютинация на два или один крест в первой и во второй пробирках;

отрицательная — отсутствие агглютинации во всех четырех пробирках.

3.3. В случае получения неспецифических реакций и снижения активности антигена прекращают его применение и сообщают об этом биопредприятию-изготовителю и ВГНКИ ветпрепаратов МСХ СССР (г. Москва, 123022, Звенигородское шоссе, 5). Одновременно в адрес института высылают 2 флакона антигена.

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 дефибрированной кровью 248
— сывoroточно-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 Гисса 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
— Тирода 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 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
- непрямо́й 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
- водо-сывороточная 145
- дифференциальная висмут-сульфат-агар 186
- — Левина 186
- — Плоскирева 186
- — трехгелеводная 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-новобициновая 123, 124
- Симмонса 216
- с лактозой 252
- с повышенным содержанием лактозы 187
- с теллури́том 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 амидо-черным 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 сибирезавенного бактериофага «К» ВИЭВ для определения возбудителя сибирской язвы | 17 |
| Временное наставление по применению сибирезавенного 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 кожевального 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 |
| Брадат овец | 44 |
| Методические указания по лабораторной диагностике брады 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 опытной 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 (вibriоз) | | 112 |
| | Извлечение из временной инструкции по диагностике, профилактики и ликвидации вibriоза крупного рогатого скота и овец | 112 |
| | Наставление по применению вibriозных агглютинирующих моноспецифических сывороток | 116 |
| | Наставление по применению кампилобактериозных (вibriозных) люминесцирующих сывороток при лабораторной диагностике кампилобактериоза (вibriоза) животных | 120 |
| | Рекомендации Центральной ветеринарной лаборатории по приготовлению и применению сафранино-жел зо-новобиоциновой среды (СЖН) при лабораторной диагностике вibriоза | 123 |
| | Временные рекомендации Центральной ветеринарной лаборатории по приготовлению и применению плотной среды ВИЭВ для изоляции кампилобактерий | 125 |
| | Наставление по применению кампилобактериозного (вibriозного) 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 |
| Листерииоз | | 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 В, С 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-количесывороток | 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 контактиозного 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 телят | 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. Турманова, 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. 18,48. Усл. кр.-отг. 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.