



СПРАВОЧНИК

ЛАБОРАТОРНЫЕ
ИССЛЕДОВАНИЯ
В ВЕТЕРИНАРИИ



ВИРУСНЫЕ,
РИККЕТСИОЗНЫЕ
И ПАРАЗИТАРНЫЕ
БОЛЕЗНИ

СПРАВОЧНИК
•
ЛАБОРАТОРНЫЕ
ИССЛЕДОВАНИЯ
В ВЕТЕРИНАРИИ

•
ВИРУСНЫЕ,
РИККЕТСИОЗНЫЕ
И ПАРАЗИТАРНЫЕ
БОЛЕЗНИ

Под редакцией Б. И. АНТОНОВА



МОСКВА АГРОПРОМИЗДАТ 1987

ББК 48.73

Л12

УДК 619:616.98/.99(031)

Составители: *Б. И. Антонов, В. В. Борисова, Л. П. Каменева, Л. И. Ковалерчук, Г. А. Михальский, В. Д. Певнева, Л. И. Прянишникова.*

Лабораторные исследования в ветеринарии: Вирусные, риккетсиозные и паразитарные болезни: Справочник/Под ред. Б. И. Антонова. — М.: Агропромиздат, 1987. — 240 с.: ил.

В книге даны методы лабораторного исследования патологического материала с целью определения возбудителей вирусных, риккетсиозных и паразитарных болезней животных. Они изложены по единой схеме. Методы унифицированы и стандартизированы.

Для ветврачей и фельдшеров, лаборантов ветеринарных лабораторий.

Л 3805020000—166 332—87
035(01)—87

ББК 48.73

ЛАБОРАТОРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ВЕТЕРИНАРИИ:
ВИРУСНЫЕ, РИККЕТСИОЗНЫЕ И ПАРАЗИТАРНЫЕ БОЛЕЗНИ

Справочник

Составители: **Борис Иванович Антонов, Валерия Валентиновна Борисова, Людмила Петровна Каменева и др.**

Зав. редакцией *В. Г. Федотов*. Редактор *В. Н. Сайганиди*. Художественный редактор *Н. А. Никонова*. Технический редактор *Н. А. Зубкова*. Корректор *Н. В. Карпова*

ИБ № 5093

Сдано в набор 02.10.86. Подписано к печати 22.01.87. Т-00912. Формат 84×108¹/₃₂. Бумага тип. № 2. Гарнитура Литературная. Печать высокая. Усл. печ. л. 12,6. Усл. кр.-отг. 12,6. Уч.-изд. л. 18,25. Изд. № 226. Тираж 33 000 экз. Заказ № 668. Цена 1 р. 10 к.

Ордена Трудового Красного Знамени ВО «Агропромиздат», 107807, ГСП, Москва, Б-53, ул. Садовая-Спаская, 18

Владимирская типография Союзполиграфпрома при Государственном комитете СССР по делам издательства, полиграфии и книжной торговли 600000, г. Владимир, Октябрьский проспект, д. 7

© ВО «Агропромиздат», 1987

ПРЕДИСЛОВИЕ



Успешное выполнение намеченной XXVII съездом КПСС широкой программы развития в нашей стране агропромышленного комплекса в немалой степени зависит от хорошей организации ветеринарного обслуживания животноводства, четко налаженной работы ветеринарных диагностических лабораторий. Проводимые в лабораториях исследования позволяют правильно организовать мероприятия по предупреждению инфекционных и инвазионных болезней, а в случаях возникновения заболевания своевременно поставить диагноз и принять целенаправленные меры по его быстрой ликвидации.

В работе ветеринарных лабораторий все большее применение находят современные методы исследований, одновременно идет совершенствование диагностики многих заболеваний, предлагаются новые более чувствительные и достоверные методы, позволяющие полнее и на ранних стадиях выявлять заболевших животных и тем самым способствовать быстрейшему оздоровлению хозяйств.

Специалисты лабораторий постоянно расширяют перечень показателей и болезней, на которые проводятся исследования.

За последнее время утверждено значительное количество инструктивных документов по проведению лабораторных исследований, что позволило более четко организовать работу специалистов, улучшить качество исследований, получать сопоставимые результаты.

Оснащение лабораторий современным оборудованием позволяет внедрять в работу более точные инструментальные методы.

В своей работе ветеринарные лаборатории не могут использовать всего многообразия предлагаемых методов исследования из-за того, что они или недостаточно апробированы, или из-за сложности используемого оборудования. Имеют место случаи, когда предлагаемые различными авторами методы при определении одних и тех же показателей дают несовпадающие результаты. Поэтому в настоящий справочник включены методы лабораторных исследований патологического материала, полученного от больных, убитых или павших сельскохозяйственных животных, апробированные Центральной ветеринарной лабораторией и утвержденные в разные годы бывшим Министерством сельского хозяйства СССР.

Книга содержит методические указания по диагностике вирусных, риккетсиозных, хламидиозных болезней, а также методические указания по лабораторной диагностике паразитарных болезней животных и пчел.

Методики излагаются по единой схеме: взятие и пересылка патологического материала, методы его обработки, микроскопические исследования, включая световую и люминесцентную микроскопию, выделение возбудителей на куриных эмбрионах и культурах клеток, заражение лабораторных животных, гистологические исследования, идентификация и дифференциация возбудителей с использованием различных методов, определение биологической активности вакцин и исследования на напряженность иммунитета.

Методы лабораторных исследований, представленные в справочнике, унифицированы и стандартизированы, что создает возможность для стандартизации аппаратов, приборов, инструментов, посуды, реактивов, биопрепаратов и другого специального имущества, определения объема подготовки специалистов и степень оснащения ветеринарных диагностических лабораторий. Таким образом, стандартизация методов исследования является способом наведения строгого порядка в ветеринарной лабораторной работе.

Методика постановки РСК для диагностики анаплазмоза крупного и мелкого рогатого скота

(Утверждена 29 сентября 1971 г.)

Реакция связывания комплемента (РСК) позволяет выявлять больных анаплазмозом животных в начальной стадии заболевания, а также в период паразитоносительства.

Компоненты реакции.

1. Антигены из *Anaplasma marginale* при исследовании сыворотки от крупного рогатого скота и из *Anaplasma ovis* при исследовании сыворотки овец используют в рабочем титре.

Антигены готовят во Всесоюзном институте экспериментальной ветеринарии.

2. Испытуемые и контрольные (анаплазменная и нормальная) сыворотки в разведении 1:5 инактивируют при 58—60 °С 30 мин в день постановки реакции.

3. Комплемент — сыворотка крови морской свинки (свежая или высушенная).

4. Эритроциты барана, трижды отмытые физиологическим раствором путем центрифугирования при 2,5—3 тыс. об/мин в течение 10 мин. Из осадка отмытых эритроцитов готовят 2 %-ную взвесь в физиологическом растворе.

5. Гемолитическая сыворотка — сыворотка кролика, иммунизированного эритроцитами барана. Для реакции используют тройной титр гемолизина. Например, если титр гемолизина 1:15 000, то применяют разведение 1:500.

Перед работой 2 %-ную взвесь эритроцитов и гемолитическую сыворотку, разведенную по тройному титру, смешивают в равных объемах (гемолитическая система) и смесь выдерживают 30 мин при температуре 37 °С для сенсibilизации эритроцитов.

Реакцию ставят в объеме 0,5 мл, т. е. каждый компонент берут по 0,1 мл.

Схема титрования комплемента.

Нативный комплемент для титрования разводят 1:30 (0,1—ком-

племента +2,9 физиологического раствора). Сухой комплемент разводят 1 : 20 (0,1 комплемента +1,9 физиологического раствора).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Комплемент разв. 1 : 30 (1 : 20)	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09	0,1
Физраствор	0,29	0,28	0,27	0,26	0,25	0,24	0,23	0,22	0,21	—
Гемолитическая система	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2

Водяная баня 37 °С 30 мин

Результат ++++ +++ ++ — — — — — — —

Титр комплемента — это наименьшее количество разведенного комплемента (1 : 30 или 1 : 20), дающего полный гемолиз.

Например. Титр комплемента в разведении 1 : 20 равен 0,04. В реакцию берут 2 единицы, т. е. 0,08.

Расчет количества чистого комплемента, необходимого для постановки главного опыта, делают по формуле

$$X = \frac{a + b}{c},$$

где а — рабочая доза комплемента, b — количество пробирок, занятых в реакции, с — разведение комплемента, х — количество чистого комплемента.

В примере

$$\frac{0,08 \cdot 100}{20} = 0,4.$$

Так как общий объем разведенного комплемента, необходимого для 100 пробирок, равен 100 · 0,1 (доза каждой пробирки) = 10 мл, то к 0,4 чистого комплемента следует добавить 9,6 мл физиологического раствора.

Основная реакция. Для контроля в реакцию берут 2—3 заведомо положительные и 2—3 отрицательные сыворотки. Берут два ряда пробирок: первый ряд — опытный, второй — контрольный (без антигена).

1. Каждую сыворотку в разведении 1 : 5 наливают по 0,1 мл в опытную и контрольную пробирки.

2. Антиген в рабочем титре по 0,1 мл наливают только в пробирки опытного ряда. В контрольные — вместо антигена наливают по 0,1 мл физиологического раствора.

3. Комплемент в рабочем разведении наливают по 0,1 мл во все пробирки опытного и контрольного ряда.

Одновременно ставят контроли гемолизина (гемолитическая система + физиологический раствор), эритроцитов (эритроциты + физиологический раствор), антигена (антиген + комплемент + физиологический раствор).

Пробирки встряхивают для смешивания ингредиентов и выдерживают в водяной бане при температуре 37 °С 1 ч. После этого во все пробирки опытного и контрольного ряда, а также в пробирки

контроля добавляют по 0,2 мл гемолитической системы, встряхивают и ставят в водяную баню или термостат при 37 °С на 20 мин.

Результаты реакции учитывают через 24 ч.

Учитывают прежде всего контроли: в контролях сыворотки (2-й ряд) и в заведомо отрицательных сыворотках — гемолиз должен быть во всех пробирках; заведомо положительные сыворотки должны дать задержку гемолиза; в контролях гемолизина и эритроцитов — отсутствие гемолиза; в контроле антигена должен быть гемолиз.

Степень задержки гемолиза эритроцитов отмечают крестами и оценивают:

(++++) гемолиз отсутствует — реакция положительная;

(+++) 25 % гемолиза — реакция положительная;

(++) 50 % гемолиза — реакция положительная;

(+) 75 % гемолиза — реакция сомнительная;

(—) 100 % гемолиза — реакция отрицательная.

Хотя при анаплазмозе любой титр антител является диагностическим, положительные сыворотки необходимо титровать до предельного титра в связи с тем, что он указывает на стадию переболевания или анаплазмоносительства (соответственно до 1 : 1280 и до 1 : 40). Для титрации готовят серийное разведение сыворотки в физиологическом растворе от 1 : 5 до 1 : 1280.

В отдельных случаях, когда необходимо установить благополучие по анаплазмозу овец овцеводческого хозяйства и нет возможности поставить РСК с анаплазмозным антигеном, с целью обострения паразитоза проводят спленэктомию 1—2 овец, подозрительных по заболеванию или анаплазмоносительству.

Наблюдения ведут в течение 25—30 дн., а исследования крови на наличие анаплазм проводят 2—3 раза в неделю.

В случае необходимости в ветлаборатории ставят биопробу на восприимчивых животных (крупный рогатый скот или овцы соответственно). Для постановки биопробы берут 50—100 мл дефибринированной или цитрированной, или гепаринированной крови от животного, подозрительного в анаплазмоносительстве, и вводят реципиенту внутримышечно или подкожно, а затем ведут клинические наблюдения в течение 30 дн., исследуя мазки крови 2—3 раза в неделю. Диагноз считается установленным, если будут обнаружены анаплазмы в мазках крови.

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

- Агар мясо-пептонный 83, 92
Альбумин бычий 63, 64
Аппарат Киппа 35, 39
- Бульон мясо-пептонный 92
— триптозно-фосфатный 113
- Гемолизин 105
Гемолитическая система (гем-система) 56, 105
Жидкость Барбагалло 170, 188
— Руге 127
- Иммуноасцитическая жидкость (ИАЖ) 13
- Иодный реактив Мелена 79
- Комплемент 16, 24, 105
- Метод гельминтоскопии 164, 176
— биопсии 176
— биохимический 179, 187
— Вишняускаса 160
— Гнединой 175
— Квоана 175
— комбинированный 177
— микроагглютинации с помощью аппарата Такачи 85, 105
— раздавленной капли 198, 204, 210, 213, 215, 226
— световой микроскопии (трихинеллоскопии) 179
— седиментации с целлофановыми пленками 160
— Шербовича 185
— Фюллеборна 183
- Методика Бермана 171, 183
— Кивако 176
— комбинированная в модификации Котельникова и Хренова 173
- Методика культивирования личинок стронгилят и лавроскопии 168
— седиментации с центрифугированием по Котельникову, Корчагину и Хренову 172
— упрощенная модификация методики Бермана 171
— флотации 160, 164, 166, 176
- Окраска гистопрепаратов по Ленцу 11
— — — Туревичу 11
— мазков по Борману — Гайнуллиной 7
— — — Бурри 227
— — — Лейшману 225, 228
— — — Михину 6
— — — Морозову 127
— — — Муромцеву 6
— — — Нохту 70
— — — Паппенгейму 70
— — — Пашену 127
— — — Романовскому 191, 199, 211, 215, 216, 225, 228
— — — Романовскому — Гимзе 21
— — — Селлерсу 6
— — — Стемпу 21
— — — Щуренковой 191
- Перевиваемая линия почки свиньи (СПЭВ) 92
Первично-трипсинизированная культура клеток почки свиньи (ПЭС) 41, 92
— — эмбриона коров (ПЭК) 58
— — тестикулов бычка (ТБ) 58
- Раствор азотнокислого натрия 185
— азотнокислого свинца 159, 160, 173
— азотнокислого серебра 127
— Альсевера 96
- Раствор аммиачной селитры 164, 166, 173, 176
— борной кислоты 184
— буферный борантный 157
— веронал-мединаловый 12, 13, 149
— гексаметафосфата 56, 61
— гипосульфита натрия 185
— забуференного глицерина 181
— забуференный физиологический (ЗФР) 82
— лимоннокислого натрия 97
— мертиолята 40, 98, 156
— сернокислого цинка 160, 171, 172
— соляной кислоты 179

- уксусной кислоты 177
- фосфатно-буферный 9, 66, 96
- Хенкс 53, 81
- хлорида цинка 177
- электролита 68
- Эрла 100

Реакция гемагглютинации (РГА) 36, 60

- гемадсорбции (РГАд) 42, 59
- диффузионной преципитации (РДП) 55, 61, 141, 155
- длительного связывания комплемента (РДСК) 16, 23, 28
- ИАТ 151
- иммунофлуоресценции (ИФ) 54, 79, 80, 91, 111
- иммуноэлектроосмосфореза (РИЭОФ) 147
- кольцепреципитации в капилляре 182
- нейтрализации (РН) 42, 81, 91, 94, 115, 117
- нейтрализации вирусных гемагглютининов (РНВГ) 63
- непрямой гемагглютинации (РНГА) 64, 65, 66, 82, 84
- непрямой иммунофлуоресценции 180
- подавления иммунофлуоресценции 54, 91
- радиальной иммунодиффузии (РРИД) 71, 76, 78
- связывания комплемента (РСК) 23, 24, 56, 57, 192, 199, 219

— — конглотинирующего комплекса 207

— торможения гемагглютинации (РТГА, или РЗГА) 43, 60

— — гемадсорбции (РТГАд) 42, 60

— — непрямой гемагглютинации (РТНГА) 62, 63, 142

— формалиновая 205, 226

Среда 199, 81, 92

— 0,5 %-ного гидролизата лактальбумина 81, 92, 113

— Игла 97, 100

— Игла (МЕМ) 113

— Китта — Тароцци 83, 92

— пептонно-агаровая 211

— Петровского 211

— поддерживающая 87, 92

— ростовая 92

— Сабуро 134

Тельца Бабеца — Негри 5, 6

Тканевая цитопатическая доза (ТЦД) 64, 103

Термолабильные ингибиторы 35, 95

Термостабильные ингибиторы 35, 95

Цитопатическое действие (ЦПД) 58, 81, 87, 93

Эритроцитарный диагностикум 12, 65

СОДЕРЖАНИЕ



Предисловие	3
МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ВИРУСНЫХ И РИККЕТСИОЗНЫХ ИНФЕКЦИИ	
Болезни, общие для всех видов животных	5
Бешенство	5
Методические указания по лабораторной диагностике бешенства	5
Болезнь Ауески	12
Методические указания по лабораторной диагностике болезни Ауески животных	12
Лихорадка Ку	16
Методические указания по серологической диагностике лихорадки Ку животных	16
Хламидийные инфекции	20
Методические указания по лабораторным исследованиям на хламидийные инфекции сельскохозяйственных животных	20
Болезни лошадей	33
Грипп	33
Временное наставление по лабораторной диагностике гриппа лошадей	33
Ринопневмония	40
Методические указания по лабораторной диагностике ринопневмонии лошадей	40
Инфекционная анемия	44
Временные методические указания по лабораторной диагностике инфекционной анемии лошадей	44
Методика постановки реакции диффузионной преципитации (РДП) для серологической диагностики инфекционной анемии лошадей	48
Болезни крупного и мелкого рогатого скота	51
Респираторно-кишечные инфекции крупного рогатого скота	51
Методические указания по лабораторной диагностике вирусных респираторно-кишечных инфекций крупного рогатого скота	51
Методические указания по серодиагностике инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)	65
Лейкоз крупного рогатого скота	67
Методические указания по диагностике лейкоза крупного рогатого скота	67
	237

Аденоматоз овец и коз	76
Временные методические указания по лабораторной диагностике аденоматоза овец и коз	76
Временная методика постановки реакции по определению гиперпротеинемии у овец и коз	79
Болезни свиней	79
Вирусный (трансмиссивный) гастроэнтерит	79
Методические указания по лабораторной диагностике вирусного (трансмиссивного) гастроэнтерита свиней	79
Временное наставление по применению набора для серодиагностики трансмиссивного гастроэнтерита свиней	84
Энтеровирусный гастроэнтерит	86
Методические указания по лабораторной диагностике энтеровирусного гастроэнтерита свиней	86
Грипп	89
Наставление по применению набора антигенов и сывороток для диагностики гриппа свиней	89
Энзоотический энцефаломиелит (болезнь Тешена)	91
Методические указания по лабораторной диагностике энзоотического энцефаломиелита (болезни Тешена) свиней	91
Парвовирусная болезнь	95
Методические указания по диагностике парвовирусной болезни свиней	95
Болезни птиц	97
Болезнь Марека (нейролимфоматоз птиц)	97
Методические указания по лабораторной диагностике болезни Марека (нейролимфоматоза) птиц	97
Вирусный энтерит гусят	102
Методические указания по лабораторной диагностике вирусного энтерита гусят	102
Лейкоз птиц	104
Временное наставление по лабораторной диагностике лейкоза птиц	104
Оспа птиц	125
Методические указания по лабораторной диагностике оспы птиц	125
Инфекционный ларинготрахеит кур	128
Временное наставление по лабораторной диагностике инфекционного ларинготрахеита кур	128
Временные методические указания по определению биологической активности вирусвакцины из штамма ВНИИБТ против инфекционного ларинготрахеита птиц	132
Инфекционный бронхит кур	138
Наставление по лабораторной диагностике инфекционного бронхита кур	138
Болезни пушных зверей и пчел	145
Миксоматоз кроликов	145
Временные методические указания по лабораторной диагностике миксоматоза кроликов	145
Алеутская болезнь норки (плазмоцитоз)	147
Наставление по применению набора антигена и контрольных сывороток в реакции иммуноэлектроосмосфореза для серологической диагностики алеутской болезни норки	147
Наставление по прижизненной диагностике алеутской болезни норки при помощи йодно-агглютинационного теста	151

Трансмиссивная энцефалопатия норок	152
Временные методические указания по лабораторной диагностике трансмиссивной энцефалопатии норок	152
Вирусный энтерит норок	154
Временные методические указания по гистологическому исследованию на вирусный энтерит норок	154
Гепатит песцов, лисиц и собак	155
Временное наставление по постановке реакции диффузионной преципитации (РДП) в агаровом геле для диагностики вирусного гепатита песцов, лисиц и собак	155
Острый паралич пчел и заболевание, вызываемое нитевидным вирусом пчел	157
Методические указания по постановке реакции диффузионной преципитации (РДП) в агаровом геле для диагностики острого паралича пчел и заболевания, вызываемого нитевидным вирусом пчел	157
ПАЗИТАРНЫЕ БОЛЕЗНИ	
Гельминтозы	159
Методические указания по диагностике гельминтозов животных	159
Методические указания по лабораторным исследованиям на гельминтозы плотоядных	176
Трихинеллез	179
Методические указания по лабораторной диагностике трихинеллеза животных	179
Временное наставление по применению реакции непрямой иммунофлуоресценции для прижизненной диагностики трихинеллеза свиней	180
Трихинеллез клеточных пушных зверей и его диагностика	182
Приложение к «Инструкции по профилактике ликвидации трихинеллеза в звероводческих хозяйствах (фермах)»	182
Стронгилоидоз	183
Методические указания по лабораторным исследованиям на стронгилоидоз животных	183
Телязиоз	184
Методические указания по лабораторным исследованиям на телязиоз крупного рогатого скота	184
Акантоцефалезы	185
Методические указания по лабораторным исследованиям на акантоцефалезы животных (макроанторинхоз свиней, полиморфоз, филиколлез водоплавающих птиц)	185
Промежуточные (дополнительные) хозяева	186
Методические указания по лабораторным исследованиям промежуточных (дополнительных) хозяев на личинки гельминтов	186
Протозоозы	190
Пироплазмидозы	190
Извлечение из временной инструкции о мероприятиях по борьбе с пироплазмидозами животных	190
Анаплазмоз крупного и мелкого рогатого скота	191
(Приложение № 1 к «Инструкции по борьбе с анаплазмозом крупного и мелкого рогатого скота»)	191
Методика постановки РСК для диагностики анаплазмоза крупного и мелкого рогатого скота	192
	239

Эперитрозооноз	194
Методические указания по лабораторным исследованиям на эперитрозооноз овец	194
Трипанозомозы	198
Методические указания по лабораторным исследованиям на случайную болезнь лошадей, ослов, мулов	198
Извлечение из инструкции по борьбе с трипанозомозом верблюдов, лошадей, ослов, их гибридов и собак	204
Временные Методические указания по постановке и учету реакции связывания конглютинирующего комплекса (РСКК) для диагностики су-ауру у верблюдов	207
Трихомоноз	209
Методические указания по лабораторной диагностике трихомоноза крупного рогатого скота	209
Балантидиоз	212
Извлечение из временной инструкции о мероприятиях по борьбе с заболеванием свиней балантидиозом	212
Гистомоноз	213
Методические указания по лабораторным исследованиям на гистомоноз (тифлогепатит) птиц	213
Токсоплазмоз	216
Методические указания по лабораторным исследованиям на токсоплазмоз животных	216
Временное наставление по применению токсоплазменного антигена КазНИВИ и ИЗ АН КазССР в реакции связывания комплемента (РСК, РДСК) для серологической диагностики токсоплазмоза и токсоплазмозоносительства у животных	219
Лейшманиоз	224
Методические указания по лабораторным исследованиям на лейшманиоз собак	224
Боррелиоз (спирохетоз) птиц	226
Методические указания по лабораторным исследованиям на боррелиоз (спирохетоз) птиц	226
Безноитиоз крупного рогатого скота	227
Методические указания по лабораторным исследованиям на безоитиоз крупного рогатого скота	227
Акариозы	228
Саркоптоидозы	228
Извлечение из инструкции о мероприятиях по борьбе с саркоптоидозами (чесоткой) овец и коз	228
Извлечение из инструкции о мероприятиях по борьбе с саркоптоидозами (чесоткой) пушных зверей и кроликов	229
Извлечение из инструкции о мероприятиях по предупреждению и ликвидации саркоптоза свиней	230
Извлечение из инструкции по профилактике и ликвидации заболевания северных оленей чесоткой (саркоптозом)	231
Инвазионные болезни пчел	232
Нозематоз	232
Методические указания по лабораторным исследованиям на нозематоз медоносных пчел	232
Предметный указатель	235