

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
ФГБОУ ВО «БРЯНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт ветеринарной медицины и биотехнологии

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ПРОВЕДЕНИЮ
ОБЯЗАТЕЛЬНОГО МИНИМУМА ИССЛЕДОВАНИЙ
В ВЕТЕРИНАРНЫХ ЛАБОРАТОРИЯХ
ПРИ ДИАГНОСТИКЕ БОЛЕЗНЕЙ ЖИВОТНЫХ**

Учебно-методическое пособие

Брянская область,
2020

УДК 619:616 – 076 (07)
ББК 48.7
М 54

Методические указания по проведению обязательного минимума исследований в ветеринарных лабораториях при диагностике болезней животных: учебно-методическое пособие / В. В. Черненко, Г. Н. Бобкова, Л. Н. Гамко, В. П. Иванюк, Д. В. Иванов, Е. В. Крапивина, Е. А. Кривопушкина, И. В. Малявко, Ю. И. Симонов, Л. Н. Симонова, О. В. Хотмирова, Ю. Н. Черненко. - Брянск: Брянский ГАУ, 2020. - 188 с.

Учебно-методическое пособие предназначено для ветеринарных врачей, сотрудников ветеринарных лабораторий, слушателей повышения квалификации, аспирантов, студентов очной и заочной формы обучения по специальности «Ветеринария»

Рецензенты: директор ФГБУ «Брянская межобластная ветеринарная лаборатория», к.б.н., заслуженный ветеринарный врач РФ Сидоров И.И.
заведующий кафедрой нормальной и патологической морфологии и физиологии животных, доцент Минченко В.Н.

Рекомендовано к изданию решением методической комиссии института ветеринарной медицины и биотехнологии Брянского ГАУ от 25.09.2020 г., протокол № 2.

© Брянский ГАУ, 2020
© Коллектив авторов, 2020

Содержание

1. Общие положения	4
2. Отбор материала, направляемого для исследования в ветеринарные лаборатории при диагностике болезней животных	9
3. Специальная часть. Обязательный минимум лабораторных исследований при диагностике болезней животных	47
3.1 Бактериальные инфекции	47
3.2 Вирусные инфекции	66
3.3 Микозы и микотоксикозы	83
3.4 Паразитарные болезни	93
3.5 Болезни рыб	105
3.6 Болезни пчел	42
3.7 Лабораторная диагностика внутренних болезней	122
3.7.1. Болезни сердечно-сосудистой системы	122
3.7.2. Болезни органов дыхания	124
3.7.3. Болезни органов пищеварения	126
3.7.4. Болезни печени и желчного пузыря	131
3.7.5 Лабораторные исследования выпотных жидкостей	135
3.7.6. Болезни органов мочевой системы	141
3.7.7. Болезни обмена веществ	145
3.7.8. Болезни эндокринных органов	154
3.7.9. Болезни системы крови	166
3.7.10. Болезни молочной железы	178
Список литературы	179

...нельзя забывать, что даже при очевидном, на первый взгляд, диагнозе существуют определенные обязательные исследования, данными которых ветеринарный врач должен располагать.

1. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

1. Актуальность методических указаний

Обеспечить эффективную организацию профилактических мероприятий и ликвидацию заболеваний животных можно только при всестороннем изучении процессов происходящих в организме животных при воздействии этиологических факторов, а также при выяснении принципов их взаимодействия с окружающей средой. Всё это возможно только при правильном и своевременном проведении лабораторных исследований биологического материала, которое является важной составляющей комплексной диагностики.

На сегодняшний день методы лабораторной диагностики в ветеринарии довольно многочисленны, и продолжают расширяться. Применяют их главным образом для подтверждения диагноза или его уточнения, установления причины болезни, для характеристики формы, тяжести течения и определения прогноза болезни, для выбора этиологической и патогенетической терапии, для оценки и контроля результатов лечения, а также для обнаружения патологии при скрининговых исследованиях.

Благодаря новейшему высокотехнологичному оборудованию и реактивам, лабораторная диагностика способна обеспечить выполнение как распространенных, так и самых редких анализов, и получить качественные и максимально информативные данные о процессах, происходящих в организме в самые короткие сроки.

Настоящие методические указания определяют методы и сроки исследования биологических жидкостей, патологического материала, проб кормов, воды и других материалов, являющиеся обязательным минимумом для ветеринарных лабораторий и диагностических отделов при диагностике болезней животных (включая птиц, пушных зверей, рыб и пчел).

Приведенные в указаниях показатели, касающиеся набора сред, применяемых при бактериологических исследованиях, равно как и видов, и количества заражаемых подопытных животных, являются минимальными. Сроки исследований (сообщения их результатов и заключений) считаются предельными для каждой болезни.

Исследование патологического материала в ветеринарных лабораториях выполняют в порядке его поступления. Материал на острозаразные болез-

ни (сибирская язва, эмфизематозный карбункул, чума и рожа свиней и т.д.), а также мясо животных исследуют вне очереди. Немедленной обработке подвергают также материал, время пригодности которого для исследования ограничено (материал для бактериологического исследования на лептоспироз, вибриоз, трихомоноз, диплококковую септицемию и т.п.).

В целях равномерной загрузки ветеринарных лабораторий массовые исследования на сап, бруцеллез и другие болезни лаборатории проводят по согласованному и утвержденному календарному плану.

Весь поступающий в ветеринарные лаборатории материал регистрируют в соответствующих журналах (формы журналов и порядок их заполнения приведены в "Инструкции по ветеринарному учету и ветеринарной отчетности").

О результатах исследования лаборатории обязаны сообщать заказчикам, приславшим материал, в установленные сроки согласно утвержденным форм ответа лаборатории.

В случае установления особо опасной инфекционной болезни в поступившем материале для исследований, лаборатория обязана одновременно сообщить об этом главному ветеринарному врачу района (города) по местонахождению владельца животного или объекта.

Ответ лаборатории о результатах исследования должен быть подробным и понятным. В ответе указывают причины заболевания или смерти животного и рекомендуемые меры борьбы с установленной болезнью, а в необходимых случаях дают указания о присылке материала для дополнительного исследования.

При проведении бактериологических и биологических исследований материала специалист лаборатории обязан использовать минимум питательных сред для его посева, требующихся для получения культуры, и минимум подопытных животных, подлежащих заражению материалом (или культурой), приведенным в настоящих Указаниях по соответствующим болезням. В необходимых случаях проводят дополнительные посевы и заражают дополнительное количество подопытных животных.

Лабораторные анализы выполняются практически у всех больных животных и значительно чаще, чем другие дополнительные методы обследования.

Наиболее распространенной услугой лабораторной диагностики в ветеринарии является анализ крови, который помогает определить изменения в общем состоянии животного и функциональные характеристики большинства органов и систем. Исследование сыворотки крови предоставляет возможность диагностировать некоторые опасные инфекционные заболевания животных, в том числе опасных и для человека.

Общий клинический анализ крови позволяет диагностировать большинство заболеваний крови (анемии, лейкозы и др.), а также оценить динамику воспалительного процесса, эффективность проводимого лечения, вовремя обнаружить развивающиеся побочные эффекты от применяемых препаратов.

Клинический анализ крови проводят на гематологических анализаторах (автоматические счетчики, основанные на кондуктометрическом методе) или

ручным способом (камера Горяева) с целью подсчета клеток крови (лейкоциты, эритроциты, тромбоциты), а также оценки их размеров, структуры и цитохимических характеристик клеток, концентрации гемоглобина. Помимо количественных характеристик, общий анализ крови дает оценку и качественному составу клеток при помощи исследования мазка периферической крови при тысячекратном увеличении под микроскопом. Основная задача микроскопии мазка крови – это подсчет лейкоцитарной формулы, т.е. разделение лейкоцитов на виды (нейтрофилы, эозинофилы, базофилы, моноциты, лимфоциты), оценка их степени зрелости и состояния клеток. Помимо лейкограммы, оценивается и состояние эритроцитов (размеры, форма, наличие ядерных форм, насыщенность гемоглобином, наличие различных включений, в т.ч. паразитарного происхождения и пр.), а также качество тромбоцитов.

Для оценки регенераторной способности костного мозга при анемии проводят анализ на ретикулоциты. Процент ретикулоцитов оценивается при помощи микроскопии мазка, окрашенного специальным красителем.

Биохимический анализ крови отражает функциональное состояние различных органов и систем организма животного. При биохимическом анализе крови исследуются ферменты (АСТ, АЛТ, щелочная фосфатаза, липаза, амилаза и др.), белки, небелковые азотистые компоненты (мочевина, креатинин), пигменты (билирубин), показатели углеводного (глюкоза, фруктозамин), липидного (триглицериды, холестерин) и водно-солевого обменов (натрий, калий, хлор, кальций, магний, фосфор и др.).

Для выполнения биохимического анализа используются специальные автоматические биохимические анализаторы, принцип работы которых основан на различных методах исследования, главным образом оптических (спектрофотометрия, флюорометрия и др.) Также широко применяют электрофорез (для определения белков), различные виды хроматографии, ионоспецифическую потенциометрию (для исследования уровня электролитов), иммуноферментный анализ и др.

Определение концентрации гормонов в крови является важнейшим способом оценки состояния эндокринных функций организма. С помощью иммуноферментного анализа (ИФА) в сыворотке крови определяется уровень гормонов щитовидной железы (тироксин, трийодтиронин), половых гормонов (тестостерон, прогестерон, эстрадиол, ЛГ, ФСГ), кортикостероидных гормонов (кортизол) и др.

В ряде случаев определение гормонов проводят в условиях специфических нагрузок на организм животного, что позволяет оценить резервные возможности той или иной железы внутренней секреции или сохранность механизмов обратной связи. Например, для оценки функции коры надпочечников используют тест на стимуляцию АКТГ (адренокортикотропным гормоном), применимый для диагностики недостаточности коры надпочечников (гипоадренокортицизма) и гиперадренокортицизма, основанный на измерении концентрации кортизола в сыворотке крови до и после введения синтетического аналога АКТГ (синактена), стимулирующего надпочечники.

В других случаях концентрацию определяемого гормона, сопоставляют с содержанием его физиологического регулятора (например, тироксина (Т4) и тиреотропного гормона (ТТГ)), что способствует дифференциальной диагностике близких патологических состояний (например, первичного и вторичного гипотиреоза).

Помимо исследований крови, среди лабораторных методов в ветеринарии часто выполняется анализ мочи. Общий клинический анализ мочи позволяет оценить функцию почек и других внутренних органов, а также выявить воспалительный процесс в мочевых путях.

Исследование мочи состоит из физико-химического анализа, с помощью которого определяют цвет, прозрачность, относительную плотность, белок, глюкозу и кетоновые тела, и микроскопического исследования, позволяющего обнаружить эритроциты и лейкоциты, эпителиальные клетки, цилиндры, слизь, кристаллы и некоторые патологические микроорганизмы. Определение концентрации мочи (удельный вес, или относительная плотность мочи) проводится рефрактометрическим методом на специальном приборе.

Общий клинический анализ кала, или копрограмма позволяет оценить работу желудочно-кишечного тракта, выявить наличие воспалительных процессов, яиц гельминтов или простейших.

При помощи физико-химических методов определяют цвет, форму, запах, консистенцию, кислотность кала, наличие примесей (слизь, шерсть, членики гельминтов и пр.), а также наличие крови, билирубина, стеркобилина, крахмала, нейтрального жира и др. При микроскопическом исследовании определяют переваримость корма, наличие клеточных элементов (лейкоциты, эритроциты, эпителиальные клетки) и паразитов (яйца и личинки гельминтов, различные формы простейших).

Помимо копрограммы, яйца гельминтов и простейших в кале можно обнаружить при помощи такого метода, как овогельминтоскопия, в основе которого лежит принцип флотации и микроскопия.

Для обнаружения эктопаразитов (саркоптоз, нотоэдроз, хейлетиеллез, демодекоз, отодектоз и др.) и дерматофитов проводится исследование соскобов с кожи при помощи световой микроскопии. Этот метод достаточно информативен и выполняется очень быстро.

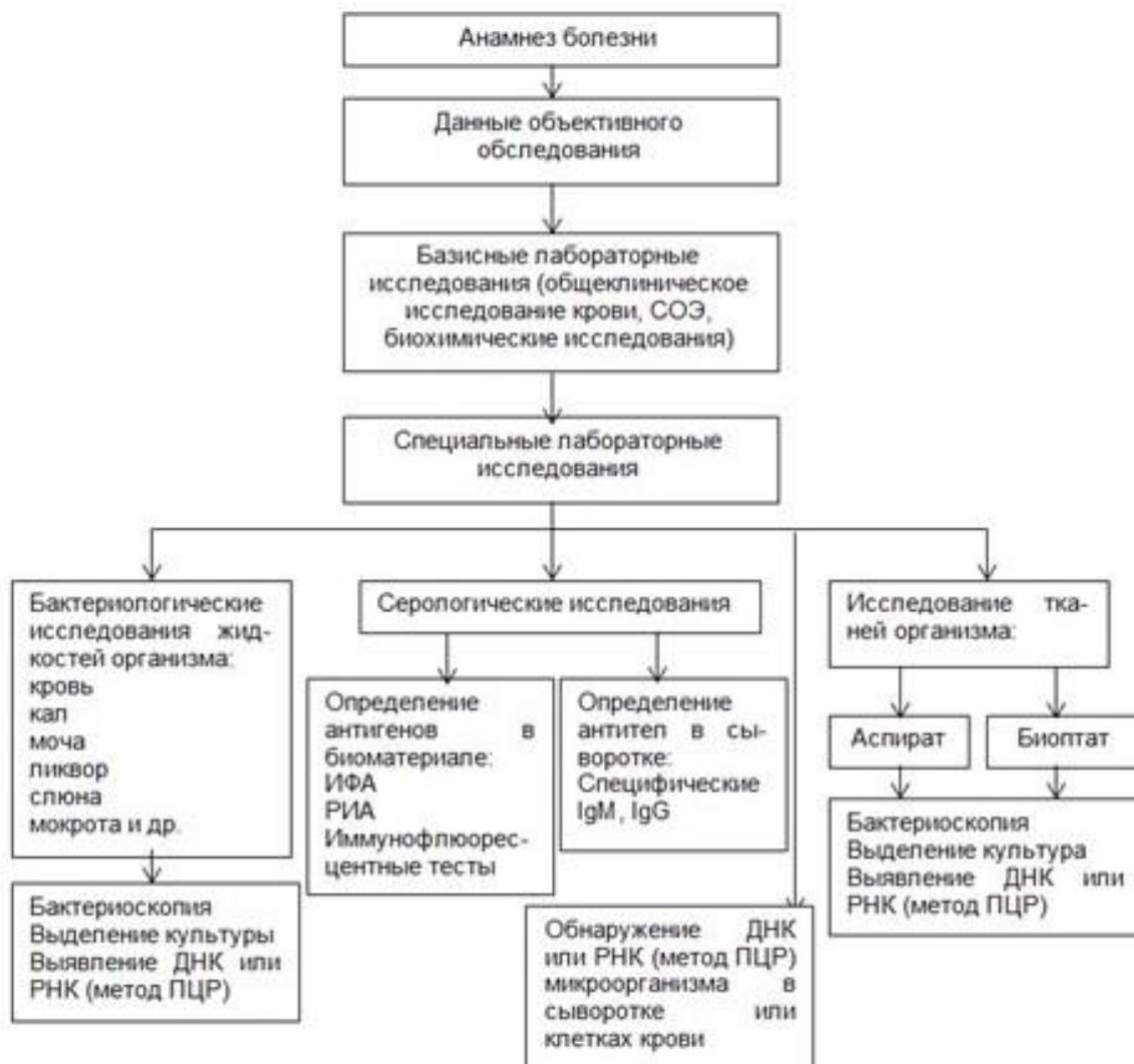
Для видового определения дерматофитов (микроспория, трихофития) и выявления животных-носителей (без клинического проявления заболевания) необходимо сделать посев на специальные среды.

Для диагностики инфекционных заболеваний часто используют иммунологические методы исследования, основанные на образовании специфических иммунных комплексов из антигенов и антител. Используя специфические реакции, часто определяют наличие и титры антител, позволяя оценить устойчивость организма к различным инфекционным заболеваниям и прогнозировать развитие этих заболеваний, а также оценить эффективность вакцинации.

Диагностика инфекционных заболеваний почти всегда предусматривает использование комплекса лабораторных методов.

В настоящее время широкое применение в ветеринарии получили такие

иммунологические методы как, иммуноферментный анализ (ИФА) и иммунохроматография (ИХ), позволяющие обнаружить антитела к определенным вирусам (например, к вирусу иммунодефицита кошек) в сыворотке крови, или антигены (такие как, парвовирус, вирус чумы плотоядных, вирус лейкемии кошек) в исследуемом образце.



Несмотря на многообразие методов лабораторной диагностики инфекционных заболеваний, самым современным и точным является полимеразная цепная реакция (ПЦР) в реальном времени. ПЦР очень чувствительна в определении возбудителей таких инфекций, как хламидиоз, микоплазмоз, калицивироз, инфекционный ринотрахеит, аденовироз, короновиральный энтерит, инфекционный перитонит кошек, вирусная лейкемия кошек, вирусный иммунодефицит кошек, парвовирусный энтерит, панлейкопения, чума плотоядных и др.

Метод ПЦР в реальном времени (PCR- real time) основан на принципе естественной репликации нуклеиновых кислот, который позволяет добиться значительного увеличения малых концентраций определённых фрагментов ДНК в биологической пробе. Процесс ПЦР состоит из серии циклически повторяющихся реакций: денатурации ДНК, отжига зондов и синтеза ДНК (элонгации). Отсутствие стадии электрофореза позволяет минимизировать

риск контаминации продуктами ПЦР и, таким образом, резко уменьшить число ложноположительных результатов, т.к. регистрация результатов проводится непосредственно в процессе полимеразной цепной реакции.

Бактериоскопические методы лабораторной диагностики проводят с целью исследования мазков-отпечатков с кожи, содержимого наружного слухового прохода, пустул и прочих образцов на наличие бактерий, грибов, паразитов и клеточного состава при помощи микроскопии. Это достаточно простой и быстрый способ лабораторной диагностики дерматологических заболеваний, но более точным методом остается бактериологический посев.

Бактериологический посев – это лабораторное исследование, направленное на выявление и идентификацию микроорганизмов, вызывающих заболевание, с определением их чувствительности к антибиотикам, для назначения правильного лечения или определения эффективности проведенного лечения.

Бактериологический посев чаще всего проводят при подозрении на инфекционно-воспалительные процессы в тканях и органах, которые в норме не содержат бактерий, поэтому важным условием для исследования является правильный забор исследуемого биологического материала, исключающий контаминацию образца.

Лабораторная диагностика в ветеринарии обладает широким спектром востребованных методов, обеспечивающих получение важной дополнительной информации, которая позволяет врачу точно поставить диагноз и назначить лечение.

2. Правовые и организационные основы по проведению обязательного минимума исследований в ветеринарных лабораториях при диагностике болезней животных

2.1. Закон РФ "О ветеринарии" от 14 мая 1993 г. N 4979-1 (с изменениями на 27 декабря 2019 года) Документ с изменениями, внесенными:

Федеральным законом от 30 декабря 2001 года N 196-ФЗ (Российская газета, N 256, 31.12.2001);

Федеральным законом от 29 июня 2004 года N 58-ФЗ (Российская газета, N 138, 01.07.2004);

Федеральным законом от 22 августа 2004 года N 122-ФЗ (Российская газета, N 188, 31.08.2004) (о порядке вступления в силу см. статью 155 Федерального закона от 22 августа 2004 года N 122-ФЗ);

Федеральным законом от 9 мая 2005 года N 45-ФЗ (Российская газета, N 100, 13.05.2005);

Федеральным законом от 31 декабря 2005 года N 199-ФЗ (Российская газета, N 297, 31.12.2005) (о порядке вступления в силу см. статью 35 Федерального закона от 31 декабря 2005 года N 199-ФЗ).

Федеральным законом от 18 декабря 2006 года N 232-ФЗ (Парламентская газета, N 214-215, 21.12.2006) (о порядке вступления в силу см. статью 38 Федерального закона от 18 декабря 2006 года N 232-ФЗ);

Федеральным законом от 30 декабря 2006 года N 266-ФЗ (Российская газета, N 297, 31.12.2006) (о порядке вступления в силу см. статью 13 Федерального закона от 30 декабря 2006 года N 266-ФЗ);

Федеральным законом от 21 июля 2007 года N 191-ФЗ (Российская газета, N 159, 25.07.2007);

Федеральным законом от 12 июня 2008 года N 88-ФЗ (Парламентская газета, N 39-40, 19.06.2008);

Федеральным законом от 30 декабря 2008 года N 309-ФЗ (Российская газета, N 267, 31.12.2008) (о порядке вступления в силу см. статью 49 Федерального закона от 30 декабря 2008 года N 309-ФЗ);

Федеральным законом от 30 декабря 2008 года N 313-ФЗ (Российская газета, N 267, 31.12.2008) (о порядке вступления в силу см. статью 21 Федерального закона от 30 декабря 2008 года N 313-ФЗ);

Федеральным законом от 10 декабря 2010 года N 356-ФЗ (Российская газета, N 283, 15.12.2010) (вступил в силу с 1 января 2011 года);

Федеральным законом от 28 декабря 2010 года N 394-ФЗ (Российская газета, N 296, 30.12.2010);

Федеральным законом от 18 июля 2011 года N 242-ФЗ (Российская газета, N 160, 25.07.2011) (о порядке вступления в силу см. статью 71 Федерального закона от 18 июля 2011 года N 242-ФЗ);

Федеральным законом от 13 июля 2015 года N 213-ФЗ (Официальный интернет-портал правовой информации www.pravo.gov.ru, 13.07.2015, N 0001201507130019) (о порядке вступления в силу см. статью 27 Федерального закона от 13 июля 2015 года N 213-ФЗ);

Федеральным законом от 13 июля 2015 года N 233-ФЗ (Официальный интернет-портал правовой информации www.pravo.gov.ru, 13.07.2015, N 0001201507130077);

Федеральным законом от 13 июля 2015 года N 243-ФЗ (Официальный интернет-портал правовой информации www.pravo.gov.ru, 13.07.2015, N 0001201507130017);

Федеральным законом от 3 июля 2016 года N 227-ФЗ (Официальный интернет-портал правовой информации www.pravo.gov.ru, 03.07.2016, N 0001201607030004) (о порядке вступления в силу см. статью 45 Федерального закона от 3 июля 2016 года N 227-ФЗ);

Федеральным законом от 23 апреля 2018 года N 101-ФЗ (Официальный интернет-портал правовой информации www.pravo.gov.ru, 23.04.2018, N 0001201804230039);

Федеральным законом от 27 декабря 2018 года N 524-ФЗ (Официальный интернет-портал правовой информации www.pravo.gov.ru, 28.12.2018, N 0001201812280001);

Федеральным законом от 2 августа 2019 года N 297-ФЗ (Официальный интернет-портал правовой информации www.pravo.gov.ru, 02.08.2019, N 0001201908020069);

Федеральным законом от 27 декабря 2019 года N 447-ФЗ (Официаль-

ный интернет-портал правовой информации www.pravo.gov.ru, 28.12.2019, N 0001201912280006) (вступил в силу с 1 января 2020 года).

2.2. Правовое регулирование договора возмездного оказания ветеринарных услуг. Дата принятия: 8 августа 2006 Правоотношения по оказанию ветеринарных услуг регулируются нормами гл. 39 Гражданского кодекса РФ «Возмездное оказание услуг» и Правилами оказания платных ветеринарных услуг, утв. постановлением Правительства РФ от 6 августа 1998 г. N 898 *(2). Также к отношениям, возникающим из договора возмездного оказания ветеринарных услуг, применяются нормы Закона РФ от 14 мая 1993 г. N 4979-1 «О ветеринарии» *(3) — нормативного правового акта публичного права, который содержит положения, связанные с государственным ветеринарным надзором.

2.3. Правила оказания платных ветеринарных услуг. от 6 августа 1998 г. N 898 (В редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 16.04.2001 г. N 295; от 25.09.2003 г. N 596; от 14.12.2006 г. N 767; от 27.12.2014 г. N 1577)

3. Кадровое обеспечение ветеринарных лабораторий

Ветеринарные лаборатории должны располагать необходимыми ресурсами персонала: возглавляться лицом, обладающим ответственностью за исполнение обязанностей и компетентностью для обеспечения выполнения предоставляемых лабораторией услуг, руководство лабораторией должно гарантировать компетентность сотрудников лаборатории, выполняющих преаналитические и аналитические процедуры, оценку качества результатов и приемлемость выдаваемой лабораторной информации. В штате лаборатории должны работать ветеринарные специалисты со средним и высшим образованием, а при необходимости и специалист с биологической квалификацией. В лаборатории должен быть установлен порядок проведения исследований на независимость и компетентность. Для подтверждения исследований на качество и компетентность, в ветеринарной лаборатории должны быть данные о персонале лаборатории: состав, базовая профессиональная подготовка, квалификация, сведения о прохождении различных форм обучения, данные по аттестации каждого сотрудника.

4. Требования к материально-техническому оснащению ветеринарных лабораторий

Ветеринарная лаборатория должна быть оснащена в соответствии с видами проводимых исследований и установленными стандартами. Современное лабораторное оборудование должно способствовать обеспечению полной или частичной автоматизации процессов, простоту и удобство эксплуатации приборов, их совместимость с компьютерными системами, экономичный расход реагентов. Полностью автоматизированный процесс гарантирует высокую точность исследований за короткие сроки. При оснащении ветеринар-

ных лабораторий оборудованием, используются приборы ветеринарного и медицинского назначения. В целях обеспечения эффективности и безопасности проведения исследований, допускается применение приборов, сред и расходных материалов отечественного и зарубежного производства после проведения в установленном порядке их государственной регистрации. При выборе технических средств в конкретной лаборатории, рекомендуется учитывать следующие критерии:

- объемы исследований;
- профиль ветеринарных исследований;
- перечень запрашиваемых исследований;
- производительность;
- возможность реализации внутрилабораторного и внешнего контроля качества;
- организацию технического обслуживания;
- организацию обучения персонала, выполняющего исследования;
- уровень профессиональной подготовки персонала.

5. Санитарно-противоэпидемический режим в ветеринарных лабораториях

Ветеринарные лаборатории должны размещаться в изолированных непроходных отсеках зданий. Помещение для забора материала располагают за пределами блока помещений для исследований. Размещение и состав помещений микробиологической лаборатории (отделения) определяется с учетом требований санитарных правил по безопасности работы с микроорганизмами 3-4 групп патогенности (опасности) и возбудителей паразитарных болезней. Доставка материала в лаборатории из сторонних организаций осуществляется через самостоятельный вход. Перчатки необходимо надевать во всех случаях, когда возможен контакт с кровью или другими биологическими субстратами, потенциально или явно контаминированными микроорганизмами, слизистыми оболочками, поврежденной кожей.

Санитарный режим в ветеринарных лабораториях документируется и обязателен для исполнения.

6. Задачи ветеринарной лаборатории

Основными задачами лабораторной диагностики являются:

- проведение ветеринарных лабораторных исследований в соответствии с профилем согласно заявленной номенклатуре исследований при аккредитации и в соответствии с лицензией;
- внедрение прогрессивных форм работы, новых методов исследований, имеющих высокую аналитическую точность и диагностическую надежность;
- повышение качества лабораторных исследований путем систематического проведения внутрилабораторного контроля качества лабораторных исследований и участия в программах внешней оценки качества;

- оказание консультативной помощи ветеринарным врачам в выборе наиболее диагностически информативных лабораторных тестов и трактовке результатов исследований;

- обеспечение персонала, занимающегося сбором биологического материала, детальными инструкциями о правилах взятия, хранения и транспортировки биоматериала, обеспечивающими стабильность образцов и надежность результатов. Ответственность за точное соблюдение этих правил заказчики услуги;

- повышение квалификации персонала лаборатории;

- проведение мероприятий по охране труда персонала, соблюдение техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима в лаборатории;

- ведение учетно-отчетной документации в соответствии с утвержденными формами.

7. Действия на этапах лабораторного исследования

7.1. Преаналитический этап лабораторного анализа

Проблема обеспечения надлежащего качества лабораторного исследования в настоящее время все больше затрагивает преаналитический этап. На этом этапе в подготовке материала для исследования участвуют как лабораторный, так и нелабораторный персонал. Только совместными грамотными и скоординированными действиями специалистов лабораторий, ветеринарных врачей-клиницистов, заказчиков исследований, не ветеринарного персонала (водителей, регистраторов) возможно обеспечение правильных и достоверных лабораторных анализов. Лабораторный персонал выполняет необходимые аналитические процедуры, оценивает достоверность результатов исследований, а клинический ветеринарный персонал или заказчик осуществляет назначение лабораторных тестов, подготовку пациентов к их проведению, взятие образцов биоматериалов, окончательную интерпретацию результатов и принятие на их основе решений. Основа обеспечения качества на преаналитическом этапе – разработка и четкое соблюдение инструкции по качеству проведения этой стадии лабораторного исследования, а также максимальная стандартизация всех основных моментов.

7.2. Назначение анализа ветеринарным врачом-клиницистом

Подготовка пациента к исследованиям – одна из важных составляющих внелабораторной части преаналитического этапа. Ветеринарный врач должен объяснить владельцу пациента необходимость лабораторных исследований и информировать его о том, как нужно подготовиться к исследованиям. Внелабораторная часть преаналитического этапа начинается с назначения лечащим ветеринарным врачом, конкретному пациенту, некоторой группы анализов (компонент или характеристика образца, подлежащие измерению), входящих в лабораторное исследование. Именно ветеринарный врач формирует заявку

с необходимым ему перечнем анализов, определяет условия подготовки пациента (например, натощак, время взятия или сбора биоматериала), исследуемый материал (кровь, моча, кал, сперма, пробы патологического материала, корма и др.).

Факторы преаналитического этапа, способные влиять на результаты лабораторных исследований.

К числу факторов, вносящих наиболее грубые изменения, часто являющихся основанием для выбраковки пробы и отказа от выполнения исследования, относят: гемолиз, липемию, наличие сгустков и неправильный выбор консерванта, не по правилам собранный материал для исследования или, не своевременная доставка проб, или не соблюдение правил транспортировки проб, что может внести нежелательные влияния на результаты исследования. Однако не во всех случаях удастся своевременно выявить эти ошибки. Большая часть допускаемых ошибок зачастую не выявляется вовсе или выявляется лишь случайно. Таковыми являются:

- нарушение подготовки пациента к взятию проб на анализ;
- нарушение правил отбора пробы;
- нарушение соотношения кровь/консервант;
- неверная идентификация пробы;
- нарушение правил хранения и транспортировки;
- поздняя доставка проб материалов.

На этапе доставки пробы в лабораторию решающее значение имеют оперативность, правильный температурный режим и бережное отношение к материалу. Кроме того, окрашенные компоненты крови могут распадаться под действием прямых солнечных лучей, пептидные и белковые гормоны могут подвергаться протеолизу, газы крови – диффузии.

Все эти факторы находятся в ведении ветеринарных врачей клиник или заказчиков исследований и практически не контролируются сотрудниками ветеринарной лаборатории.

2. ОТБОР МАТЕРИАЛА, НАПРАВЛЯЕМОГО ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ В ВЕТЕРИНАРНЫЕ ЛАБОРАТОРИИ ПРИ ДИАГНОСТИКЕ БОЛЕЗНЕЙ ЖИВОТНЫХ

Общие правила отбора биологического материала

При отборе любого биологического материала следует соблюдать ряд общих требований:

1) при отборе биологического материала необходимо придерживаться требований охраны труда, производственной санитарии, правил личной гигиены;

2) любой биологический материал должен рассматриваться как потенциально инфицированный, в связи с чем его отбор следует проводить в спецодежде и одноразовых перчатках;

3) биологический материал отбирается в чистые и сухие, при необходимости проведения микробиологических и вирусологических исследований, в стерильные ёмкости, которые сразу после отбора проб плотно закрывают и при необходимости печатают;

4) жидкий биологический материал (в пробирках, флаконах, колбах и т.д.) транспортируют в вертикальном положении;

5) одноразовые оборудование и материалы, использовавшиеся для отбора биологического материала, обеззараживают в растворах дезинфектантов, допущенных к использованию в установленном порядке, и утилизируют;

6) оборудование и материалы, предназначенные для многократного использования (иглы, пробирки, предметные стёкла, резиновые пробки, стеклянные палочки и т.д.) для обеззараживания помещаются в ёмкости с дезрастворами, допущенных к использованию в установленном порядке, моются в проточной воде, сушатся в сушильном шкафу. Иглы перед повторным использованием стерилизуются кипячением;

7) прижизненное взятие биологического материала от животных производят до проведения лечебных процедур;

8) на доставляемый в лабораторию биологический материал составляется опись и сопроводительная ведомость, в которой приводится информация о предполагаемом или установленном диагнозе, проводимых лечебных мероприятиях.

Во всех случаях взятия и пересылки материала специалист обязан руководствоваться изложенными ниже правилами, а также соответствующими инструкциями по борьбе с болезнями животных.

Отбор, транспортировка и хранение крови, получение стабилизированной (цельной) крови, сыворотки и плазмы

Кровь отражает происходящие в организме нарушения, что проявляется изменением её морфологического состава и физико-химических свойств. Поэтому в клинической ветеринарной медицине широко используют гематологические анализы, основанные на изучении морфологических и биохимических свойств крови.

Методы взятия и получаемое количество крови зависят от того, с какой целью осуществляют её отбор. Отбор крови производят утром, до кормления животных.

Для общего клинического анализа (определение скорости оседания эритроцитов, концентрации гемоглобина, числа эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов, расчёт цветового показателя и среднего содержания гемоглобина в эритроците, выведение лейкограммы) или изготовления мазка при диагностике кровепаразитарных заболеваний и выведении лейкограммы требуется небольшое количество крови (от нескольких капель до 1 мл).

Небольшие количества крови получают у животных из кровеносных сосудов наружной и внутренней поверхности уха. У пушных зверей, собак и кошек небольшие количества крови получают из лапки (пальца), у кур и индюков - из гребня или серёжек, у гусей и уток - из сосудов ступни, у мышей - из хвоста.

Большое количество крови у животных обычно берут при необходимости биохимического исследования (таблица 1).

При получении крови шерсть или щетину на месте прокола тщательно выстригают или выбривают, перо - выщипывают. Кожу протирают спиртово-эфирной смесью (смесь этанола и этилового эфира в соотношении 1:1) для развития местной гиперемии. Дезинфицировать место укола можно и 70%-ным этиловым спиртом. Для прокола кожи и сосуда при получении небольших количеств крови используют иглы Франка, перо Дженнера, скарификатор и другие инструменты. При их отсутствии используют острые короткие инъекционные иглы, лезвия для бритвы, ножницы и т.п. Используемые инструменты должны быть стерильными. Повторное их использование допускается только после дезинфекции.

Таблица 1 Место взятия крови для биохимического исследования (прижизненного)

Вид животного	Место взятия крови
Крупный рогатый скот	Ярёмная вена, молочная вена (у дойных коров), хвостовая вена
Лошадь	Ярёмная вена
Верблюд	Ярёмная вена
Свинья	Сосуды уха, сосуды хвоста, краниальная полая вена, венозный орбитальный синус
Собака	Вена сафена, подкожная вена предплечья
Кошка	Вена сафена, подкожная вена предплечья
Пушные звери (песцы, лисы)	Плантарная вена
Кролик	Ушная вена, подкожная вена предплечья, вена сафена, сердце
Морская свинка	Сердце
Птица (куриные, гуси, утки, индюки)	Кожная локтевая вена, плечевая артерия (внутренняя поверхность крыла), сердце
Попугай	Палец тазовых конечностей
Рыбы	Хвостовая артерия

Для получения крови в больших количествах используют стерильные кровопускательные иглы различных конструкций. Кровь набирают либо непосредственно в пробирку, либо в одноразовые шприцы.

В настоящее время широко используют закрытые системы взятия крови (вакуумные пробирки, шприцы-контейнеры), исключающие контакт крови с внешней средой. При использовании вакуумной пробирки также снижается агрегация тромбоцитов и образование сгустков. При этом одной иглой кровь от животного можно взять в несколько пробирок.

Взятие крови осуществляют в утренние часы, до кормления или через 3-4 часа после кормления животных в сухие чистые пробирки. Во избежание гемолиза перед взятием крови пробирки нагревают до температуры тела (в руке, термостате, тёплой воде и т.д.), кровь набирают по стенке пробирки, после взятия не допускают резкого охлаждения или замораживания. Отбор крови проводят максимально быстро (до 3 минут на взятие), не допуская длительного стаза при пережатии вен или выдавливания крови из сосудов.

В зависимости от предполагаемого исследования получают стабилизированную (иногда её называют цельной) и дефибринированную кровь, плазму, сыворотку.

Для общего клинического анализа крови используется цельная кровь, а чтобы избежать свертывания – к ней добавляют антикоагулянты. В этих целях используют 20 %-ный водный раствор цитрата натрия или оксалата натрия из расчета 0,3 – 0,5 мл на 10 мл крови; 1 %-ный водный раствор гепарина – одна капля на 5 мл крови, 10 %-ный ЭДТА или трилон Б (этилендиаминтетрауксусная кислота) 2 – 3 капли на 10 мл крови.

Вакуумные пробирки, содержащие в качестве антикоагулянта цитрат натрия имеют синюю крышку, ЭДТА – фиолетовую.

Чаще используют ЭДТА, но его применение искажает некоторые биохимические показатели (снижает содержание кальция, ферментов и т.д.).

Кровь, стабилизированную цитратом натрия, можно хранить не более суток. Гепарин используют только для немедленного проведения анализа, так как в дальнейшем он быстро вызывает гемолиз форменных элементов крови.

Чтобы кровь хорошо перемешивалась с антикоагулянтом в пробирке, её закрывают пробкой и несколько раз легко переворачивают не взбалтывая.

В плохо перемешанной пробе образуются микросгустки, ведущие к искажению результатов тестов, а также к поломкам лабораторных анализаторов вследствие закупорки пробозабирающих зондов. Пробу нельзя трясти, ее надо плавно перемешать. При слишком энергичном перемешивании возможны пенообразование и гемолиз, что может негативно сказаться на результатах лабораторных исследований.

При взятии крови в вакуумные пробирки необходимо строго следить за количеством взятой крови. Пробирки должны заполняться не полностью, а строго до указанной отметки. Неправильное соотношение кровь/реагент в пробе ведет к ошибочным результатам анализа.

Стабилизированную кровь хранят в холодильнике при температуре

+4°C. Для подсчета форменных элементов кровь пригодна в течение 72 часов, для приготовления мазков - не более 24 часов.

Для большинства биохимических тестов применяется плазма или сыворотка крови (в зависимости от количества тестов - 2-5 мл).

Для получения сыворотки кровь собирают в пробирки без антикоагулянта (вакуумные пробирки с красной крышкой), выдерживают несколько часов при комнатной температуре или помещают в термостат при температуре +37°C, на 0,5 – 1 час. Свернувшуюся кровь отделяют от стенки пробирки стеклянной палочкой. Сыворотку сливают, при необходимости центрифугируют 20 минут при 2000 – 3000 об/мин.

Для получения плазмы, кровь с антикоагулянтом центрифугируют 20 – 30 минут при 2000 – 3000 об/мин. Плазма крови отличается от сыворотки наличием фибриногена.

Для лабораторных исследований пригодна сыворотка без следов гемолиза. При невозможности быстрого исследования стабилизированную кровь допустимо хранить в холодильнике в плотно закрытых пробирках до 24 часов, сыворотку крови для биохимических исследований - в зависимости от определяемых показателей (Приложение 2). Не допускается хранение сыворотки крови на свету (помещается в светонепроницаемый пакет или контейнер) и повторного замораживания сыворотки крови.

Мутные, проросшие, гемолизированные сыворотки исследованию не подлежат.

На каждой пробе крови или сыворотки указывают ее номер или кличку животного, или фамилию владельца животного.

Пробы направляют с сопроводительной в двух экземплярах.

Пробирки с кровью и сыворотками плотно закрывают стерильными пробками и устанавливают для пересылки в строго перпендикулярном положении.

Зимой сыворотки упаковывают и пересылают так, чтобы они не замерзли.

Отбор, хранение и транспортировка проб мочи

Для сбора мочи важным фактором является качество посуды. Способы получения проб мочи. Для клинического анализа мочу берут утром, до кормления, в чистый сосуд. Для исследования обычно используют однократную порцию. Для научных исследований мочу собирают в течение определенного времени (6, 12 ч и т.д.), чаще в течение суток. Мочу получают при естественном акте мочеиспускания или посредством катетеризации мочевого пузыря, у мелких животных - при проколе мочевого пузыря. Во всех случаях предварительно проводят туалет головки полового члена или преддверия влагалища, промывая их мыльным раствором и тщательно вытирая полотенцем или марлей.

Моча, полученная методом катетеризации, может содержать примеси элементов крови, попадающих в нее в результате травмирования катетером слизистой оболочки уретры. Чтобы получить мочу, выделяемую животным в

течение суток, применяют мочеприемник. Конструкция мочеприемника зависит от вида и пола животного. Мочу доставляют в лабораторию с направлением, в котором указывают данные о животном, клинические признаки болезни и адрес владельца.

У крупного рогатого скота, лошадей мочу получают при естественном мочеиспускании. У коров мочеиспускание можно вызвать рефлекторно — поглаживая участок кожи ниже вульвы; у быков — приложив на 30—40 с к отверстию препуция ватный тампон, смоченный теплой водой. У лошадей мочеиспускание вызывают, создав слабый шум, например, пересыпают овес. В случае необходимости мочу можно получить путем массажа мочевого пузыря через стенку прямой кишки или при катетеризации мочевого пузыря.

У мелкого рогатого скота получить мочу при естественном мочеиспускании не удастся, так как при приближении человека у этих животных выделение мочи прекращается. Получить пробу мочи у этих животных можно, если создать временное апноэ, для чего на 15—20 с ладонью закрывают носовые отверстия. Животное начинает беспокоиться, после чего наступает мочеиспускание.

У свиней получают мочу при естественном мочеиспускании. Удобнее и легче это сделать утром после ночного отдыха. В случае необходимости получить мочу у свиней (у крупных животных) можно путем массажа мочевого пузыря через прямую кишку или при катетеризации мочевого пузыря.

У собак мочу получают во время утренней прогулки, при естественном мочеиспускании или путем катетеризации мочевого пузыря. У кошек мочу получают при естественном испускании, путем катетеризации мочевого пузыря или сдавливая мочевой пузырь через брюшную стенку. Если у животных необходимо получить суточное количество мочи, то применяют мочеприемники, которые сконструированы с учетом вида и пола животного. После получения мочу вместе с направлением доставляют в лабораторию для исследований.

Хранение мочи. Чтобы получить достоверные результаты, мочу необходимо исследовать в первые 1,5 ч после ее взятия. Если такой возможности нет, пробу мочи можно на непродолжительный срок поместить в холодильник при температуре 4 °С. Для более длительного хранения мочу консервируют с использованием различных химических веществ. Чаще применяют тимол (1 г на 1 л мочи), но при этом следует учитывать, что тимол может помешать определению белка с использованием азотной кислоты. В качестве консерванта мочи может быть использован 40%-й раствор формальдегида (две капли на 25 мл мочи). Однако нужно помнить, что формальдегид препятствует проведению химических исследований мочи.

При длительном нахождении доставленной мочи в помещении происходит разрушение клеточных элементов, восстановление уробилиногенов в уробилины, приводящее к получению ложно отрицательных результатов, контаминация бактериями, грибами, жизнедеятельность которых приводит к образованию аммиака, ощелачиванию мочи и увеличению значения рН, а при глюкозурии — снижению содержания глюкозы.

Отбор, хранение и транспортировка мазков и смывов из полости носа и ротоглотки

Отбор мазков и смывов осуществляется для проведения бактериологического и вирусологического исследований, оценки чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам.

Мазки получают сухими стерильными ватными тампонами, которые вводят в полость носа или ротоглотку на максимально возможную глубину, проводят ими по слизистой оболочке. Тампоны помещают в сухие чистые стерильные пробирки, которые плотно закрывают.

Для получения смывов в носовые полости и ротоглотку при помощи зонда или одноразового шприца вводят 0,5-1,0 мл (или большее количество (в зависимости от размеров животного) тёплого стерильного изотонического раствора натрия хлорида. Перед получением смывов из ротоглотки проводят её очистку питьевой водой или ватным тампоном. Промывную жидкость аспирируют шприцом или получают самотёком в стерильную сухую и чистую пробирку. Последнюю плотно закрывают.

При получении мазков и смывов из носа и ротоглотки применяются седативные препараты, обеспечивается надёжная фиксация животных, строго соблюдаются правила охраны труда.

Материал отправляется в лабораторию сразу после взятия в термосе со льдом или контейнере с охлаждающими элементами. Допускается хранение при температуре 2-8°C в течение 6 часов.

Отбор, хранение и транспортировка выпотных жидкостей из грудной и брюшной полостей

Выпотные жидкости из грудной и брюшной полостей (экссудат и транссудат) исследуют с целью диагностики и дифференциальной диагностики плеврита, хило-, гемо- и гидроторакса (содержимое грудной полости), асцита и перитонита (содержимое брюшной полости). Выпоты исследуются также для оценки чувствительности микроорганизмов к назначаемым антибактериальным препаратам.

Выпоты из грудной и брюшной полостей получают посредством их проколов, которые проводят с соблюдением правил асептики и антисептики и аспирации содержимого через шприц в чистую, сухую и при необходимости стерильную посуду. Если получено большое количество выпота (более 1 л), в лабораторию доставляется часть выпота, но обязательно последняя порция, так как она наиболее богата клеточными элементами. При получении выпота в количестве до 1 л, отправляется весь полученный объём.

Для предотвращения свертывания выпота, что приводит к обеднению клеточными элементами, используются антикоагулянты (цитрат натрия, ЭДТА). Не допускается использование в качестве антикоагулянта гепарина, так как это приводит к изменению морфологии и деструкции клеточных элементов.

Материал отправляется в лабораторию сразу после взятия в термосе со льдом или контейнере с охлаждающими элементами.

Отбор, хранение и транспортировка содержимого рубца и желудка

Содержимое рубца отбирают с целью диагностики и дифференциальной диагностики болезней преджелудков, желудка - для диагностики гастритов и выявления его различных форм.

Рубцовое содержимое получают посредством зондирования резиновыми или полихлорвиниловыми шлангами длиной 200-250 см и наружным диаметром 20-40 мм или при руменоцентезе, проводимом краниальной коленного сустава. При зондировании рубцовое содержимое аспирируют при помощи шприца Жане (у телят, коз, овец), насосом Камовского или другими устройствами, при руменоцентезе - в шприцы различного объёма. При проведении руменоцентеза строго соблюдаются правила асептики и антисептики.

Содержимое желудка получают посредством зондирования натошак или после дачи пробных раздражителей (в зависимости от показаний).

Рубцовое и желудочное содержимое помещают в ёмкости различного объёма, которые плотно закрывают и помещают в термос со льдом или контейнеры с охлаждающими элементами, в которых осуществляют транспортировку в лабораторию.

При комнатной температуре (20-22 °С) содержимое рубца хранят не более 9 ч, а в холодильнике - не более 24 часов.

Для предупреждения лизиса простейших и бактерий допускается консервирование рубцового содержимого 10%-ным раствором формалина (5-6 капель на 20 мл содержимого рубца).

Для определения летучих жирных кислот, лактата, аминокислот, биогенных аминов, ионов хлора, натрия, калия и других рубцовое содержимое можно хранить в замороженном состоянии до 6 месяцев. Аммиак определяется только в свежем содержимом.

Отбор проб и условия доставки фекалий в лабораторию

Исследование фекалий позволяет диагностировать болезни органов пищеварительной системы, выявить нарушения обмена веществ в организме, ферментативную недостаточность, нарушения моторной, секреторной, всасывательной и других функций органов пищеварения, печени и поджелудочной железы, определить возникшие осложнения, дифференцировать сходные заболевания, судить о тяжести болезни, о функциональном состоянии органов, следить за эффективностью лечения, прогнозировать заболевание. Особенно большое значение исследование фекалий имеет для диагностики заболеваний печени, поджелудочной железы и функционального состояния различных отделов пищеварительной трубки. А также проведения гельминтокопроскопии имеет первостепенное значение в постановке диагноза при инвазионных болезнях человека и животных.

Чаще всего при лабораторной диагностике гельминтозов исследуют

фекалии, так как яйца и личинки наиболее распространенных гельминтов выделяются во внешнюю среду именно с ними.

Пробы фекалий массой 10 г берут в резиновой перчатке из прямой кишки или из только что выделившихся при испражнении фекалий. В последнем случае снимают верхнюю часть экскрементов, не соприкасавшуюся с полом или почвой. Всякий раз после взятия порции фекалий руку необходимо мыть теплой водой для того, чтобы не занести яйца или личинки гельминтов из фекалий инвазированного животного в пробу фекалий свободного от гельминтов животного.

От крупного рогатого скота, лошадей, собак фекалии берут индивидуально, в соответствии с кличкой или номером животных. Для исследования овец, оленей, свиней, кроликов и пушных зверей практически не всегда удается индивидуальное взятие проб. В таких случаях надо строго регистрировать взятый материал в упаковке и описи сопроводительного документа в соответствии с группой (отарой) животных или станком и клеткой, в которых содержатся животные.

Обследуют 10% поголовья животных хозяйства, фермы, отары. Пробы помета от птиц для исследования берут от 5% поголовья.

Доставлять пробы фекалий следует в стеклянных банках, целлофановых мешочках, в плотной оберточной или пергаментной бумаге и в прочих упаковках с обязательной описью проб в сопроводительном документе.

Доставляют пробы в лабораторию в день их взятия.

Отбор, хранение и транспортировка молозива и молока

Молозиво и молоко отбирают для оценки физико-химических свойств, а также определения микробного состава и определения чувствительности микроорганизмов, вызывающих воспаление в молочной железе, к антибактериальным препаратам.

Для оценки физико-химических свойств молозиво (молоко) получают из «здоровых» долей вымени. С целью проведения микробиологических исследований и оценки чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам отбор ведётся из поражённых долей вымени.

Для исследований отбирают молоко утреннего удоя, молозиво - из первого или последующих удоев (в зависимости от направлений исследований). Сразу после взятия материал помещают в ёмкость необходимого объёма и доставляют в лабораторию в термосе со льдом или термоконтейнере с охлаждающими элементами.

Отбор ликвора

Отбор ликвора (спинномозговой жидкости) проводится с целью диагностики и дифференциальной диагностики органических (воспалительных и невоспалительных) и функциональных болезней нервной системы. В спинномозговой жидкости в условиях лаборатории оценивается морфологический и биохимический состав.

Отбор ликвора у животных проводится посредством люмбальной и субокципитальной пункций, при проведении которых соблюдаются правила асептики и антисептики, применяется общее или местное обезболивание. Для получения ликвора используются иглы Виера, Синёва, инъекционные иглы длиной не менее 6 см.

Не допускается отсасывание спинномозговой жидкости при помощи шприцов, поскольку при этом в ликворе появляется кровь. Для исследования используют ликвор, полученный при самопроизвольном вытекании. Первые 2-3 капли ликвора для исследований не используют и удаляют, так как к ним может примешиваться кровь из прокалываемых тканей.

Ликвор отбирают в пластиковые пробирки (лейкоциты могут прилипать к стеклу, что искажает результаты исследований). Отбор образца для морфологического исследования проводят в пробирку с антикоагулянтом (ЭДТА), для биохимического - в пробирку без антикоагулянта.

Ликвор исследуется в течение 30-60 минут после получения. Для биохимических исследований отбирают 5-15 мл ликвора (у собак не более 4 мл, кошек - не более 1 мл). Для изучения морфологического состава ликвора достаточно 0,5 мл.

Отбор, хранение и транспортировка материала для проведения ПЦР

Материал для исследования методом ПЦР отбирают для выявления нуклеиновых кислот микроорганизмов и их идентификации, а также выявления генетически-модифицированных объектов.

Пробы отбирают стерильными одноразовыми инструментами в стерильные одноразовые флаконы, пробирки, контейнеры и другие ёмкости.

При использовании для транспортировки транспортных сред, используются пробирки с транспортной средой, поставляемой фирмой-производителем тест-системы. Ёмкости, в которые отбирается биологический материал, после отбора проб плотно закрывать, не касаясь их внутренней поверхности и внутренней поверхности крышек. Для транспортировки материала используется контейнер с охлаждающими элементами или термос со льдом. Замороженный клинический материал транспортируется в специальном контейнере с сухим льдом.

Пищевые продукты и сырьё, направляемые для исследований на наличие ГМО, транспортируются при температуре хранения, рекомендованной для данных продуктов. При транспортировке должен соблюдаться срок годности продуктов.

Кровь для исследований получают от животных натощак или не менее, чем через 3 часа после кормления. Для стабилизации (при необходимости) используется антикоагулянт ЭДТА (трилон Б). Целесообразно использовать вакуумные пробирки с сиреневой (фиолетовой) крышкой.

Для ПЦР-анализа мочи используется её утренняя порция, которая получается в количестве 20-30 мл в сухой стерильный флакон.

Фекалии собирают сухой одноразовой лопаточкой (прикреплена к крышке флакона, в который собирают материал).

От партии сырья или сыпучих продуктов пробы отбирают в полиэтиленовый пакет с застёжкой молнией (размер 10x15 см), который помещают в одноразовый плотный полиэтиленовый пакет (размером 20x30 см), печатают и отправляют на анализ, от партии продуктов плотной консистенции помещают в одноразовый плотный полиэтиленовый пакет с застёжкой молнией (размером 10x15 см), который также печатают и отправляют на анализ. Жидкие продукты отбирают в чистые ёмкости из стекла и пластика с герметично закрывающимися крышками (объём не более 50 мл), которые печатают и отправляют на анализ.

В лаборатории проводится необходимая предобработка материала.

Информация об особенностях транспортировки и сроках хранения представлена в таблице 2:

Таблица 2 Транспортировка и хранение материалов для ПЦР

Наименование материала	Температура хранения	Сроки хранения	Специальные требования
Стабилизированная кровь	+20-25°C	6 часов - количественное определение нуклеиновых кислот 12 часов - качественное определение нуклеиновых кислот	Не допускается замораживание
	+2-8°C	Не более 24 часов	
Плазма и сыворотка крови	+2-8°C	Не более 5 суток	Не допускаются многократные размораживания и замораживания сыворотки и плазмы
	-16-20°C	Не более 1 года	
Моча*	+20-25°C	Не более 6 часов	Допускается однократное замораживание- размораживание мочи
	+2-8°C	Не более 24 часов	
Фекалии	+20-25°C	Не более 6 часов	
	+2-8°C	Не более 72 часов	
	-16-20°C	Более 3 суток	
Мазки и смывы из носа и носоглотки	+20-25°C	Не более 6 часов	Допускается однократное замораживание- размораживание материала
	+2-8°C	Не более 72 часов	
	-16-20°C	Более 3 суток	

* - предварительно обработанные образцы хранятся при температуре -16-20 °С до 7 дней, при температуре -70°C - длительное время

Получение материала из половых органов самок

Минимальная схема обследования самок должна включать бактериоскопическое исследование мазков. При необходимости, дополнительно отбирают пробы для культурального исследования и ПЦР.

Материал для анализа получают до проведения мануального влагалищного исследования. Зеркало и подъемник вводят во влагалище и с помощью стерильной салфетки убирают избыток выделений и слизи. Материал собирают с заднего свода или с патологически измененных участков влагалища двумя стерильными тампонами. Первый тампон помещают в стерильную пробирку и как можно быстрее доставляют в лабораторию для проведения бактериологического исследования. Вторым тампон используют для приготовления мазка. Мазок наносят на 2 предметных стекла. Если одновременно планируется исследование материала из цервикального канала или уретры все 2-3 мазка можно сделать на одном стекле (в лабораторию в этом случае доставляют 2 стекла, на каждом из которых находятся мазки из всех обследуемых биотопов). Мазки маркируют, высушивают на воздухе и, поместив в чашки Петри или специальные транспортные контейнеры, доставляют в лабораторию.

Материал должен быть доставлен в лабораторию в течение 2 ч. Допускается увеличение сроков транспортировки до 48 ч при хранении материала при температуре 4-8 °С.

При исследовании на трихомонады для сбора материала используют сухой стерильный тампон. Сразу после взятия материала его суспендируют в пробирке (флаконе) с транспортной средой для трихомонад (раствором Рингера). Материал должен быть доставлен в лабораторию как можно быстрее, его охлаждение не допускается.

Получение материала из половых органов самцов

Смыв из препуция делают путем вливания в препуциальный мешок 100 - 150 мл стерильного физиологического раствора через сифон, с массажем заднего свода препуция. Смывы собираются в стерильную посуду и закрываются крышкой. Порядок дальнейших действий зависит от выбранного метода исследований. Материал должен быть доставлен в лабораторию как можно быстрее, его охлаждение не допускается.

Особенности взятия спермы у самцов разных видов для исследования.

Получение спермы от самцов должно быть безвредным для здоровья животного, не причинять ему болевых ощущений и не травмировать половые органы, он должен имитировать условия, близкие к естественному спариванию, что способствует активному проявлению самцами безусловных половых рефлексов, предотвращать загрязнение спермы банальной микрофлорой, а также предохранять от заражения инфекционными болезнями.

Получают сперму после проявления производителем обнимательного рефлекса. Почти все быки проявляют этот рефлекс по отношению не только

к самкам, но и к кастратам и другим производителям.

Многие бараны прыгают не только на овец, но и на других баранов и валухов. У жеребцов берут сперму только на кобылу. Чтобы кобыла стояла спокойно. На нее надевают случную шлею. У хряков сперму получают только при помощи чучела. Ввиду длительности садки брать сперму у хряка на свинью весьма затруднительно.

Отбор материала для исследования кожи и волос

Исследование комплексное, поэтому для исследования нужно предоставить пробы нескольких типов.

- Первый тип: - глубокий соскоб с пораженных участков кожи (1-2 предметных стекла): соскоб с кожи получается повторяющимися до первых капель крови движениями лезвия скальпеля параллельно поверхности кожной складки, зажатой между большим и указательным пальцами; полученный материал бережно переносится на предметное стекло, зажимается сверху другим предметным стеклом и скрепляется со стороны коротких краев скотчем или самоклеющейся бумагой. Для исследования не нужно добавлять на соскоб масло, вязкие жидкости препятствуют дальнейшей обработке препаратов и затрудняют диагностику. Внимание! с участков кожи с тонким слоем подкожной клетчатки глубокие соскобы брать нельзя во избежания травмирования животного, в этом случае достаточно собрать лишь фрагменты поверхностного ороговевшего эпителия либо выбрать другие, более плотные участки.

- Второй тип (при подозрении на наличие дерматофитов): - образец шерсти, полученный методом выщипывания (нельзя срезать ножницами!) в бумажном конверте соизмеримого размера или пробирке типа Эппендорфа: при подозрении на дерматофитию (лишай) шерсть собирается по периферии пораженных участков кожи, количество материала - пучок толщиной не менее спички.

- Третий тип (на дрожжевые грибы): можно прикладывать предметное стекло непосредственно на участки кожи и делать отпечатки, если поверхность пораженного участка достаточно влажная, иначе: с труднодоступных участков поверхности кожи с помощью клейкой стороны скотча. После взятия скотч закрепляется на предметное стекло.

- Хранение: - соскобы, мазки подлежат хранению при комнатной температуре, в лабораторию препараты необходимо доставить в день взятия или на следующий день - образцы сухой шерсти можно хранить продолжительное время при комнатной температуре в бумажном конверте - препараты нельзя замораживать!

Факторы, снижающие качество диагностики:

- недостаточное количество биоматериала (1-2 волоска, единичные эпителиальные клетки в препарате);

- большое количество присланной шерсти бездумно выщипанной со всевозможных мест: (в отведенное для просмотра препарата время врач-

лаборант не сможет просмотреть тщательно весь материал и может пропустить действительно пораженные волосы)

- присутствие вазелинового масла в большинстве случаев затрудняет диагностику;

- болячки с ран, в качестве единственного материала на исследования не информативны, так как их структура непрозрачна при микроскопии;

- соскобы только с одного пораженного участка, если есть подозрение на наличие чесоточных клещей;

- слишком поверхностные соскобы, если есть подозрение на демодекоз (так как он живет в волосяных фолликулах);

- соскобы, доставленные в пробирках и бумажных конвертах (при наличии чесоточных клещей);

- соскобы, доставленные в лабораторию в виде двух предметных стекол с прокладкой из спичек (биологический материал может пропасть при транспортировке).

Взятие и пересылка патологического материала для бактериологического и вирусологического исследований

Патологический материал необходимо брать стерильными инструментами в стерильную посуду. Поверхность органа (ткани), от которого берут патологический материал, на месте разреза следует обжечь над пламенем или прижечь нагретой металлической пластиной.

Патологический материал должен быть взят как можно раньше после смерти животного, особенно в теплое время года, т.к. сразу же после заболевания (или в первые же 1-2 дня) барьерная роль кишечника значительно ослабевает, что наряду с повышенной проницаемостью сосудов способствует диссимиляции кишечной флоры. Кроме того, по мере углубления инфекционного процесса количество вируса может снижаться в результате одновременного воздействия защитных сил организма.

Следует учитывать, что при многих вирусных инфекциях наблюдается феномен посмертной аутостерилизации, в результате чего вирус может быть вообще не обнаружен или его количество окажется очень незначительным.

Вторая причина необходимости экстренного взятия материала – избежать посмертных изменений в тканях, иначе они могут оказаться непригодными для бактериологических и вирусологических исследований.

Для вирусологических исследований желательно направлять пробы от животных в трех стадиях болезни:

1. от больных с выраженной клиникой с указанием температуры, частоты пульса и дыхания (кровь, кость, лимфатические узлы и пораженные органы);

2. от убитых в агонии (кровь, кость, лимфатические узлы и пораженные органы);

3. от выздоравливающих животных кровь.

Взятые пробы следует как можно быстрее поместить в условия обеспе-

чивающие замедление процессов разложения материала. Такие условия обеспечивают низкие температуры.

Если патологический материал не возможно доставить в лабораторию в течение ближайших 24-30 часов, его посылают только в консервированном виде. Патологический материал (органы или их части) консервируют 30-50% раствором химически чистого глицерина на физиологическом растворе. Физиологический раствор предварительно стерилизуют при 120 °С в течение 30 минут.

Материал можно консервировать также в стерильном вазелиновом масле. Материал заливают консервирующей жидкостью в количестве 4-5 раз, превышающем его объем. Консервированные образцы желательно хранить в холодильнике.

Небольшие трупы (поросят, мелких животных) можно посылать целиком во влагонепроницаемой таре.

Трубчатые кости посылают на исследование в целом виде, очищенными от мышц и сухожилий. Кости завертывают в марлю или полотно, смоченные дезинфицирующей жидкостью и пересылают в сейф –пакетах или в стерильных полиэтиленовых пакетах.

Кишечник пред посылкой для бактериологического и вирусологического исследований освобождают от фекальных масс, а концы кишечника перевязывают. На исследование посылают части кишечника с наиболее характерными патологическими изменениями.

Кишечник помещают с 30%-ным водным раствором глицерина или насыщенным водным раствором поваренной соли. Объем консервирующей жидкости должен превышать объем взятого материала в 4-5 раз.

Кал для исследования направляют в стерильных стаканах, пробирках, банках, которые закрывают пергаментной бумагой, пробками или в контейнерах.

Кал от трупов животных можно послать в отрезке не вскрытого кишечника, завязанного с обоих концов, он должен быть доставлен в лабораторию не позднее 24ч после его взятия.

Для исследования **участков кожи** берут наиболее пораженные ее кусочки размером 10*10 см и посылают в стерильной, герметически закупоренной посуде.

При взятии содержимого **гигром (бурс)** в области поражения выстригают шерсть, кожный покров дезинфицируют 70%-ным спиртом и обрабатывают 5%-ной настойкой йода. Затем стерильным шприцем с иглой большого диаметра делают пункцию, отсасывают содержимое гигромы и переносят его в стерильную пробирку с резиновой пробкой.

7.5. Взятие и пересылка патологического материала при отдельных инфекционных болезнях

1. Сибирская язва. При подозрении на сибирскую язву вскрывать трупы запрещается. Для исследования от трупа животного берут кровь из надреза уха, периферических сосудов или отрезают и отсылают в лабораторию ухо.

Если подозрение на сибирскую язву появилось в процессе вскрытия трупа, вскрытие тотчас же приостанавливают и для исследования посылают ухо, как указано ниже.

Подозрение на заболевание сибирской язвой свиней обычно возникает при наличии опухоли в области шеи. Если подозрение возникло во время вскрытия трупа свиньи, то дальнейшее вскрытие прекращают, а для бактериологического исследования берут участки отечной соединительной ткани, заглочные лимфатические узлы.

Место надреза предварительно тщательно дезинфицируют и после взятия крови прижигают огнем или раскаленным металлическим предметом. Кровь наносят на стекло толстым слоем и высушивают на воздухе без дополнительной фиксации.

Ухо отрезают с той стороны, на которой лежит труп. Предварительно его туго перевязывают шпагатом у основания в двух местах и отрезают между перевязками. Не снимая шпагата, отрезанное ухо завертывают в чистую тряпочку или марлю, пропитанную 3%-ным раствором карболовой кислоты, а затем обертывают целлофаном, полиэтиленовой пленкой или пергаментной бумагой и помещают в герметически закрытую посуду. Место отреза уха на трупе прижигают огнем.

Для исследования на сибирскую язву кожевенного сырья реакцией преципитации посылают кусочки кожи величиной 5 см в порядке, предусмотренном "Указаниями по ветеринарно-санитарной обработке заготавливаемого кожевенного и мехового сырья".

2. Эмфизематозный карбункул и злокачественный отек. Для бактериологического исследования посылают в запаянных пипетках экссудат из воспаленного крепитирующего отека, а также препараты-отпечатки на предметных стеклах из пораженных частей мышц больных животных.

От трупов животных посылают кусочки печени, селезенки, почек и пораженных мышц в растворе глицерина (см. пункт 4) или же пересыпанные солью.

3 Бродячий овец. Для бактериологического исследования посылают кусочки печени, селезенки, мышц, подкожной клетчатки (если имеются отеки), содержимое тонких кишок, кусочки пораженных частей тонкого кишечника, сычуга и трубчатую кость.

Материал для бактериологического исследования берут только от свежих трупов.

4. Инфекционная энтеротоксемия овец. Для бактериологического и биологического исследований направляют содержимое тонкого отдела кишечника, перитонеальную жидкость, мезентериальные лимфатические узлы, паренхиматозные органы.

Материал для исследования следует брать сразу после гибели животного.

От больных животных для исследования на наличие токсина направляют фекалии (150-200 г).

5. Анаэробная дизентерия ягнят. Для бактериологического и биоло-

гического исследований посылают свежий труп ягненка или свежие неконсервированные пораженные части кишечника с содержимым, кровь из сердца и паренхиматозные органы.

6. Некробактериозы (некротические поражения конечностей, слизистой полости рта, внутренних органов). Для бактериологического и биологического исследований посылают омертвевший участок ткани, тщательно обмытый кипяченой теплой водой и высушенный ватным тампоном. Пораженную ткань соскабливают стерильной острой ложечкой вплоть до неизмененных слоев ткани, захватывая несколько и последние.

Из пораженных органов и тканей вырезают некротические участки вместе с прилегающей здоровой тканью.

7. Столбняк. Для бактериологического исследования из мест глубоких ранений берут кусочки ткани и раневой секрет.

8. Ботулизм. Для бактериологического и биологического исследований в лабораторию направляют содержимое желудка в объеме 100-200 мл и части паренхиматозных органов, а также пробы подозрительных кормов (силос, зерно, отруби, мясные и рыбные отходы и т.п.). Корма отбирают по несколько проб из разных мест. Вес пробы не менее 100 г.

Патологический материал доставляют в термосе со льдом. Консервировать пробы нельзя.

Пробы кормов доставляют в светонепроницаемой таре, предохраняя от высыхания.

9. Туберкулез. При подозрении на туберкулез легких для бактериологического исследования берут мокроту из трахеи путем введения в нее стерильного ватного тампона на проволоке через трахеотубус.

При подозрении на туберкулез вымени для исследования берут молоко. При этом руки должны быть тщательно вымыты, продезинфицированы спиртом.

После предварительного обмывания и дезинфекции вымени 70%-ным спиртом первые порции молока (из подозрительной четверти вымени) сдаивают, а затем берут порции молока в начале, в середине и в конце дойки общим количеством 150-250 мл. Бутылку закрывают стерильной пробкой или стерильным ватным тампоном.

Для бактериологического исследования на туберкулез от убитых или павших животных посылают кусочки измененных органов и тканей со свежими, еще неинкапсулированными и необызвествленными поражениями. Взятый материал консервируют в 30%-ном стерильном водном растворе глицерина.

Трупы павших или убитых птиц для исследования на туберкулез направляют целиком.

Для гистологического исследования посылают кусочки пораженных органов и лимфатических узлов, фиксированные в 10%-ном растворе нейтрального формалина.

10. Паратуберкулез. Для прижизненной бактериологической диагностики паратуберкулезного энтерита берут кал от больных животных и извлекают из него обрывки слизистой оболочки, кусочки с кровью или комочки

слизи. Отобранный материал помещают в стерильные пробирки или банки, закрытые корковыми, резиновыми или притертыми пробками. С той же целью у подозрительных по заболеванию (поносящих) животных берут соскобы со слизистой оболочки прямой кишки. Материал пересылают в лабораторию в пробирках.

Для посмертной бактериологической диагностики от трупа павшего или убитого животного в лабораторию направляют кусочки пораженного кишечника и измененные брыжеечные лимфатические узлы.

Для гистологического исследования другую часть того же материала консервируют в 10%-ном растворе нейтрального формалина (см. пункт 14).

Для серологической диагностики в лабораторию направляют кровь или сыворотку крови.

11. Бруцеллез. Для бактериологического исследования в лабораторию посылают: абортiroванный плод целиком с плодовыми оболочками или в исключительных случаях желудок плода с содержимым, перевязанный со стороны пищевода и двенадцатиперстной кишки, паренхиматозные органы плода и плодовые оболочки. В крайнем случае на исследование можно послать слизь и другие выделения из матки абортiroвавшего животного.

Кроме того, в лабораторию направляют содержимое гигром (бурситов), абсцессов, влагалищную слизь, молоко.

От убитых с диагностической целью животных направляют паренхиматозные и половые органы, вымя, мочевого пузыря, а также паховые, надвымянные, парааортальные, гипогастральные, подвздошные, аксиллярные, предлопаточные, заглочные, подчелюстные и мезентериальные лимфатические узлы. Если узлы парные, то направляют правый и левый.

Для серологического исследования в лабораторию посылают кровь или сыворотку крови, а также молоко в количестве 5-7 мл.

12. Инфекционный эпидидимит. Для бактериологического исследования направляют: от баранов - гноеподобное содержимое секвестров придатков, при вскрытии - измененные участки семенников; от овец - выделения из половых органов (в первые дни после аборта), при вскрытии - содержимое полости матки, измененные некротические участки рогов матки, яичники, глубокие тазовые лимфатические узлы и абортiroванные плоды.

Для серологического исследования направляют в лабораторию кровь или сыворотку крови.

13. Вибриоз. Для бактериологического исследования в лабораторию направляют:

а) от коров, нетелей и овцематок: абортiroванный плод (целиком с плодовыми оболочками или от крупных плодов - голову, желудок, печень, селезенку, легкие), плаценту (или часть ее), а также стерильно взятую слизь шейки матки;

б) от быков и баранов: препуциальную слизь, сперму и секрет придаточных половых желез, взятые с соблюдением стерильности;

в) от животных, убитых с диагностической целью, - влагалище, матку, лимфатические узлы тазовой полости.

Для исследования по РА берут цервиковагинальную слизь неоднократно перегуливающих коров и телок, не имеющих выделений из влагалища (гноя, крови и т.д.).

Материал для исследования на вибриоз берут в соответствии с "Временной инструкцией о мероприятиях по диагностике, профилактике и ликвидации вибриоза крупного рогатого скота и овец" от 5 марта 1971 г.

Патологический материал доставляют в лабораторию в закрытой таре со льдом.

При отправке абортированных плодов следует иметь в виду, что они пригодны для исследования лишь в первые 10-12 часов после аборта. При необходимости плоды замораживают и отправляют не позже чем через двое суток после аборта.

Пробы спермы, секрета, препуциальной и влагалищной слизи, полученные от животных, транспортируют в термосе со льдом и доставляют в лабораторию в течение 6 часов после взятия.

14. Сеп. Для серологического исследования методом реакции связывания комплемента в лабораторию посылают сыворотку крови или цельную кровь подозрительного по заболеванию сапом животного.

Для гистологического исследования от павших и убитых животных посылают пораженные участки (узелки) кожи, легких и других паренхиматозных органов и лимфатические узлы, законсервированные в 10%-ном растворе нейтрального формалина.

15. Лептоспироз. Для бактериологического исследования в лабораторию направляют цитрированную кровь, ликвор, мочу, кусочки свежих неконсервированных органов (печени, почки и др.).

Для гистологического исследования на наличие лептоспир от павших животных берут кусочки печени, почек, лимфатических узлов и мышц сердца.

При подозрении на заболевание животных лептоспирозом посылают мазки периферической крови от больных и павших животных для исследования с целью исключения пироплазмоза.

При необходимости серологического исследования посылают кровь или сыворотку ее в пробирках.

16. Роза свиней. Для бактериологического и биологического исследований лучше послать свежий труп с целью исключения чумы, пастереллеза, паратифа и других болезней. При невозможности переслать весь труп для бактериологического исследования направляют:

- а) трубчатую кость и пораженные суставы, очищенные от мышц;
- б) кусочки пораженной кожи, селезенку, почку и сердце.

17. Листерия. Для бактериологического и биологического исследований посылают: свежие трупы поросят (не позднее 24 часов после их смерти) или паренхиматозные органы и голову; от трупов лошадей, крупного рогатого скота и овец - головной мозг и части всех паренхиматозных органов.

Для серологического исследования направляют кровь или сыворотку в пробирках, а при наличии маститов - молоко из пораженных долей вымени.

В случае аборт в лабораторию направляют абортированный плод.

18. Пастереллез (геморрагическая септицемия) крупного рогатого скота, овец, свиней, кроликов, птиц. Для бактериологического исследования посылают:

а) от больных животных - кровь, стерильно взятую из вены в пробирку;
б) от трупов - кровь из сердца (в запаянных пипетках), части паренхиматозных органов и трубчатую кость;

в) целые трупы птиц, кроликов и других мелких животных.

19. Псевдотуберкулез овец. Для бактериологического исследования в лабораторию направляют пораженные внутренние органы и увеличенные в объеме лимфатические узлы.

20. Туляремия. Для бактериологического исследования направляют кусочки селезенки, увеличенные лимфатические узлы, законсервированные в растворе глицерина или в смеси стерильного вазелинового масла (25 мл) с парафином (2,5 мл).

Трупы мелких животных направляют в лабораторию целиком.

21. Сальмонеллезы. Для бактериологического исследования в лабораторию направляют свежие трупы мелких животных или паренхиматозные органы (печень с желчным пузырем и лимфатическими узлами, селезенку, почку), мезентериальные лимфатические узлы, трубчатую кость, а в случае аборта - плод с плодовыми оболочками и околоплодной жидкостью.

В целях выявления бактерионосителей направляют фекалии для бактериологического исследования и кровь или сыворотку крови для серологического исследования по РА.

Не рекомендуется брать материал в период применения антибиотиков.

Для обнаружения сальмонелл отбор проб кала следует делать после дефекации из последней порции испражнений. При наличии в фекалиях крови, слизи, гноя, пленок их необходимо включить в пробу.

Если невозможно быстро доставить фекалии в лабораторию, их помещают в пробирку с консервирующим раствором. В качестве консерванта лучше всего применять глицериновую смесь или буферный раствор фосфорнокислых солей (рН 8,0). Количество помещенных фекалий должно составлять 1/3 объема консерванта.

22. Колибактериоз. Для посмертной диагностики в лабораторию направляют свежий труп или патологический материал (сердце, паренхиматозные органы, трубчатую кость, голову и мезентериальные лимфатические узлы).

Для прижизненной бактериологической диагностики направляют фекальные массы от больных животных, взятые из прямой кишки в стерильные пробирки.

23. Эшерихиоз птиц. Для исследования в лабораторию направляют больных птиц.

24. Диплококковая септицемия. Для бактериологического исследова-

ния направляют свежий труп или патологический материал: кровь из сердца (в запаянных пипетках), селезенку, печень, лимфатические узлы, пораженный сустав, трубчатую кость, головной мозг.

При заболевании коров, овец, свиней метритами направляют в стерильных пробирках ватные тампоны с истечением из половых органов, при маститах - молоко из пораженных долей вымени.

Зимой материал можно посылать замороженным. Необходимо иметь в виду, что в материале, сохраняемом в теплом месте (при 16-20°), диплококки лизируются в течение 24-30 часов.

25. Мыт. Материалом для исследования служит гной из невскрывшихся абсцессов лимфатических узлов. Гной берут стерильно при помощи шприца после обработки места прокола. В лабораторию гной доставляют в стерильной пробирке в неконсервированном виде. Если абсцессы уже вскрылись, то гной берут из носового истечения и вскрывшихся абсцессов ватным тампоном, увлажненным 25%-ным водным раствором глицерина.

В случае гибели лошадей направляют голову, кровь из сердца, кусочки селезенки, легких и других пораженных органов.

26. Респираторный микоплазмоз птиц. В лабораторию направляют 5-6 свежих трупов или больных птиц, или 5-6 погибших эмбрионов.

27. Инфекционная плевропневмония коз. Для серологического исследования по РСК направляют сыворотку крови. Для биологического исследования - пораженные участки легких или экссудат.

28. Маститы. Для прижизненного бактериологического исследования направляют в стерильной посуде три порции молока, которое берут из пораженной доли вымени (первую в начале, вторую - в середине, третью - в конце доения), не менее 2 мл в каждой порции, а при наличии абсцессов - гной из них (путем пункции) и гнойные выделения из пораженных частей вымени.

Для посмертного исследования посылают пораженные части: лимфатические узлы вымени, легких; гной, взятый из абсцессов в кишечнике, печени; суставах, грудной полости и т.д.

29. Инфекционная агалактия. Для бактериологического исследования направляют молоко, выделения из пораженного глаза, жидкость из суставов и отеков. От трупов, павших или вынужденно убитых животных берут паренхиматозные органы и лимфатические узлы.

30. Бешенство. Для исследования направляют в лабораторию с нарочным: свежий труп или голову собаки (кошки, лисицы, песца, овцы, теленка и др.), от крупных животных - голову или головной мозг - свежий (для серологического исследования неконсервированный) или консервированный в 30-50%-ном растворе глицерина.

31. Ящур. Для исследования с целью определения типа (или варианта) возбудителя посылают патологический материал (стенки ящурных афт) от 2-3 больных в количестве не менее 5 г. Афты берут свежие, созревшие, непрорвавшиеся, плотной консистенции, не издающие гнилостного запаха (см. "Указание по сбору, консервировке и пересылке ящурного вируса для определения его типа" от 27 августа 1968 г.).

32. Болезнь Ауески. Для биологического исследования посылают: голову, головной мозг или же часть его (продолговатый мозг), кусочки селезенки, печени, легкого в стерильном чистом глицерине или в насыщенном растворе поваренной соли.

33. Ку-лихорадка. Для исследования по РСК направляют: пораженные легкие, селезенку, плаценту в глицерине (см. пункт 5), а также кровь и секреты животных.

34. Оспа. Для исследования направляют: снятые оспенные поражения, а от трупов - части пораженной кожи, оспенную лимфу, полученную из оспенных поражений кожи.

35. Инфекционная анемия лошадей. Для гистологического исследования направляют кусочки печени, селезенки, легких, почек, сердца (предсердий и желудочков) размером 2 см, Правила взятия патологического материала, крови, кормов и пересылки их для лабораторного исследования 2 см, заключенных в пластмассовую, стеклянную или глиняную посуду; для гематологического исследования - стабилизированную оксалатом или цитратом натрия кровь и мазки крови (для выведения лейкограммы).

36. Инфекционный энцефаломиелит лошадей. Для гистологического исследования направляют отдельные участки головного мозга (амониева рога, мозжечка, четыреххолмия, продолговатого мозга), кусочки печени, селезенки, почек, стенки предсердия и желудочка сердца.

Материалы берут от свежих трупов и посылают в стеклянной или глиняной посуде (не металлической).

37. Грипп лошадей. Направляют легкие, трахею, бронхиальный экссудат, смывы из носовой полости больных животных для постановки биопробы и выделения вируса в культуре клеток с помощью реакции гемадсорбции.

38. Африканская чума однокопытных. Для исследования с целью исключения возбудителей бактериальных инфекций направляют: кусочки паренхиматозных органов, а также кровь (на РСК), молоко, мочу и тканевые жидкости (экссудат) от больных и подозрительных по заболеванию животных.

39. Чума крупного рогатого скота. Для исследования по реакции диффузионной преципитации направляют: предлопаточные и мезентериальные лимфатические узлы, селезенку, печень павших или убитых животных, а для исследования по РСК - кровь от больных и подозрительных по заболеванию животных.

40. Контагиозный пустуллезный стоматит овец (контагиозная эктима). Для биологического исследования направляют: везикулы, корки, струпья, некротические участки кожи, слизистых оболочек, паренхиматозных органов в глицерине (см. пункт 5) и содержимое везикул.

41. Вирусный (энзоотический) аборт овец и коз. Для биологического исследования направляют: пораженные участки плаценты, паренхиматозные органы abortированных плодов и выделения из половых органов, а для серологического исследования кровь или сыворотку крови от больных животных.

42. Чума свиней. Для исследования с целью исключения возбудителей

вирусных инфекций направляют: трупы поросят, паренхиматозные органы, мезентериальные, подчелюстные, бронхиальные лимфатические узлы, трубчатые кости, толстый отдел кишечника, а также от больных животных для гематологического исследования мазки крови или стабилизированную кровь.

43. Африканская чума свиней. Для исследования с целью исключения, возбудителей вирусных инфекций направляют: селезенку, лимфатические узлы от павших или убитых животных. От больных животных - стабилизированную кровь (для исследования по реакции гемадсорбции).

44. Инфекционный энцефаломиелит свиней (болезнь Тешена). Для исследования направляют: трупы поросят, головной и спинной мозг, паренхиматозные органы в 30%-ном растворе глицерина на физиологическом растворе - для биологического исследования и в спирт-ацетоне (поровну) - для гистологического.

45. Вирусная пневмония свиней. Направляют пораженные участки легких, регионарные лимфатические узлы для биопробы и такой же материал, зафиксированный в формалине, для гистологических исследований.

46. Болезни птиц (псевдочума, оспа-дифтерит, нейролимфоматоз, спирохетоз, лейкоз). Для исследования направляют свежие трупы птиц. При спирохетозе - от больных и подозрительных по заболеванию направляют тонкие, нефиксированные мазки крови.

47. Орнитоз птиц. Для исследования направляют: трупы птиц, паренхиматозные органы, экскременты и содержимое кишечника. Для серологического исследования - кровь или сыворотку.

Отбор проб мозга при прионных инфекциях (губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота, скрепи овец и коз, трансмиссивная энцефалопатия норок)

При выполнении работ по отделению, упаковке и транспортировке головы необходимо исключить травмирование рук и попадание брызг крови на кожу и в глаза. Чтобы избежать этого, надевают халат, прорезиненный фартук, анатомические перчатки из плотной резины, резиновые сапоги, водонепроницаемый капюшон и защитную маску из оргстекла, закрывающую лицо от брызг крови.

Голову отделяют от шей по атлanto-затылочному сочленению. С дорсальной части головы крупного рогатого скота удаляют кожу. Далее зажимают голову в тиски, осторожно, чтобы не повредить мозг, распиливают лобную кость с помощью анатомической пилы. Затем проводят надрезы лобной кости с каждой стороны от точек, находящихся на оси глазных ям, продлевая их каудально до наружных слуховых проходов. Продлевая эти разрезы каудально до большого затылочного отверстия также осторожно, чтобы исключить повреждение мозга. Делают сагитальный разрез посередине лобной и затылочной костей до большого затылочного отверстия. Затем разделяют и

удаляют распиленные левую и правую части черепной коробки. Рассекают и снимают твердую мозговую оболочку. Повернуть голову, чтобы под действием силы тяжести мозг отделился от основания черепа. Продолжить работу, продвигаясь от каудального надреза вперед; для перерезания нервов вентральной стороны черепа использовать скальпель.

Извлечь мозг целиком и поместить его в ударопрочную герметичную емкость с фиксирующим раствором, при этом объем раствора должен быть в 10 раз больше объема мозга.

По окончании работ инструменты, которыми проводили отделение и распил головы, укладывают в стерилизатор с 2%-ным раствором гипохлорида натрия не менее чем на 1 час (инструменты должны быть погружены в раствор полностью). Сапоги, фартук, капюшон, маску и перчатки обрабатываю 2%-ным раствором гипохлорида натрия (протереть раствором, оставить на 1 час, затем тщательно смыть водой), халаты обрабатываю автоклавированием при 134-138°C в течение 20-30 мин. Горючие отходы сжигают.

Упаковка и пересылка патологического материала

Трупы мелких животных, части трупов животных и отдельные органы в свежем (нефиксированном) виде отправляют для исследования в лабораторию только с нарочным.

Посылаемый материал должен быть тщательно упакован, чтобы предупредить возможность рассеивания инфекции в пути.

Упаковка должна быть трехслойной:

1. емкость, содержащая пробу, должна быть водонепроницаемой, а в случае использования подвижных буферных растворов - герметичной;
2. внутренняя упаковка должна быть водонепроницаемой с достаточным количеством поглощающего материала на случай утечки для впитывания всей жидкости, содержащейся в пробе (вата, бумага);
3. наружная упаковка предназначена для защиты внутренней т воды (герметичный термоконтейнер).

При перевозке наиболее надежным способом консервирования вирусосодержащих проб является их замораживание. При транспортировке проб на дальние расстояния следует использовать сухой лед. В качестве емкости для материала и льда используют пластмассовые контейнеры, легкие по массе, с хорошей теплоизоляцией, небьющиеся и прочные.

Следует избегать колебаний температуры, особенно резких ее перепадов, а также повторных замораживаний и оттаиваний. Температура является определяющим фактором, влияющим на выживаемость вируса во время перевозки. Титр вируса снижается очень быстро, если температура среды, в которой его транспортируют, поднимается выше 20°C. У большинства вирусов это снижение происходит настолько быстро, что превращает последующее выделение вируса в пустую трату времени.

Если замораживание невозможно, то следует использовать один из следующих консервирующих растворов.

Кроме правильно выбранного материала, взятого в подходящие сроки и пересланного с соблюдением необходимых условий, лаборатория нуждается в определенной информации, касающейся больного или диагностических проб. Вместе с пробами направлять подобное описание динамики заболевания животного (время появления, быстрота охвата, процент заболеваемости, наличие летальных исходов или тяжелых осложнений, период переболевания, клиническая картина, протокол вскрытия, чем лечили, прививали).

На взятый материал составляют сопроводительный документ.

Если при вскрытии посылки в лаборатории обнаруживается несоответствие сопроводительному документу или порча патологического материала, то обязательно составляют акт, копию которого отправляют ветеринарному врачу, направлявшему материал в лабораторию.

Взятие и пересылка материала для исследования на паразитарные заболевания

Гельминтозы

Для копрологического исследования **на гельминтозы** – пробы фекалий от крупного, мелкого рогатого скота и свиней (10 г) берут рукой в резиновой перчатке из прямой кишки от 10%-ного поголовья ферм, но не менее 30 проб от возрастной группы или от каждой дойной коровы. Пробы доставляют в лабораторию в целлофановых мешочках или пергаментной бумаге на краю которых ставят номер пробы, с сопроводительным документом, в котором указывают хозяйство (комплекс), отделение, цех, вид и количество животных в них, на какой гельминтоз исследовать и дату взятия проб. При направлении на исследования проб от коров номера (клички) на упаковке в описи должны соответствовать. От трупов в лабораторию направляют содержимое тонкого кишечника.

От лошадей пробы фекалий берут от 5%-ного поголовья табуна, но не менее 27 проб.

Для прижизненной диагностики **гельминтозов плотоядных** в лабораторию направляют пробы свежих фекалий массой около 5г отдельно от каждого животного, для посмертной - труп животного. Материал упаковывают во влагонепроницаемую тару и доставляют в лабораторию фекалии не позднее 24 часов после взятия, труп – не позднее 5 часов после гибели.

Для исследования **на эхинококкоз, альвеококкоз** в лабораторию направляют:

- от промежуточных хозяев (павших или убитых) – пораженные органы (печень, легкие, другие внутренние органы и ткани);
- от дефинитивных хозяев - пробы фекалий или тощую кишку с содержимым от павших или убитых животных;

Отобранный патологический материал упаковывают во влагонепроницаемую тару и доставляют в лабораторию в день отбора в течение 4-6 часов.

Для исследования **на телезиоз** в лабораторию направляют содержимое конъюнктивального мешка, полученное после промывания из спринцовки 3%-ным раствором борной кислоты или физиологическим раствором. Отобранные пробы выливают в пробирки, закрывают резиновыми пробками и доставляют в лабораторию в день взятия.

Для исследования **на акантоцефалезы** в лабораторию направляют свежие фекалии (пробы берут от 10% поголовья свиней или от 5% поголовья птиц), содержимое кишечника от трупов свиней, трупы птиц целиком.

Пироплазмидозы и анаплазмозы

В лабораторию для подтверждения диагноза на пироплазмоз, тейлериоз, франсаиеллез, бабезиоз, нутталлиоз, анаплазмозы направляют:

- от подозреваемых в заболевании или больных животных – тонкие мазки крови из периферических сосудов уха, хвоста или венчика, на тейлериоз дополнительно мазки из пунктатов лимфатических узлов;

- от павших или убитых – часть печени, легких, селезенки, почки, сердца, головного мозга и лимфатические узлы.

Мазки крови берут в период развития симптомов болезни, при повышенной температуре, до применения специфического лечения. перед отбором материала у животного шерсть на месте взятия крови выстригают, кожу тщательно протирают в начале ватным тампоном, смоченным в 70%-ном растворе спирта, а затем сухим. Стерильной иглой делают прокол вены ушной раковины или ножницами надрезают край верхушки уха или хвоста.

К свободно выступившей капле крови легко прикасаются поверхностью сухого обезжиренного предметного стекла. Затем стекло быстро поворачивают вверх каплей и удерживают пальцами левой руки в горизонтальном положении. Шлифованным краем другого предметного стекла или покровного стекла прикасаются к капле крови. Как только кровь равномерно распределится по ребру этого стекла, его быстро проводят по поверхности стекла справа налево под углом 45°. ширина мазка должна быть уже предметного стекла. Для каждого нового мазка берут свежую каплю крови. От каждого животного готовят два мазка. Готовые мазки крови высушивают на воздухе. В холодное время года мазки делают в теплом помещении или на стеклах, подогретых на крышке стерилизатора. Правильно приготовленные мазки крови должны быть тонкие, равномерные, достаточной длины и заканчиваются за 0,5-1,0 см от края стекла.

При взятии пунктата из лимфатического узла животное хорошо фиксируют, на месте пункции выстригают шерсть, кожу протирают ватным тампоном, смоченным в растворе спирта или настойке йода. левой рукой оттягивают лимфатический узел и удерживают большим и указательными пальцами левой руки. Затем вглубь узла вводят стерильную иглу, надевают на нее шприц и поршнем отсасывают лимфу. После шприц отсоединяют, иглу извлекают, а содержимое шприца выдавливают поршнем на предметное стекло, делая тонкие мазки, которые высушивают на воздухе.

На высушенных мазках крови и пунктата острым предметом или простым карандашом пишут номер, вид животного и дату приготовления мазка.

Материал от павших или убитых животных отбирают до наступления трупного окоченения.

Мазки упаковывают в чистую бумагу и доставляют в лабораторию в день отбора.

Для исследования животных **на чесотку** (накожную, зудневую и кожеедную) в лабораторию для микроскопического исследования доставляют соскобы с кожи. Для обнаружения накожных и зудней берут соскобы со свежих, неуплотнившихся очагов поражения (не менее чем с 2-3 мест на границе между пораженной и здоровой кожей, а для обнаружения кожеедов – в центре поражения). Перед взятием соскобов вокруг очага поражения выстригают шерсть.

Для исследования на зудневую чесотку берут глубокие соскобы до появления сукровицы. Взятый материал помещают в баночку, плотно закрывают крышкой и этикетируют с указанием наименования хозяйства, фермы, отары, номера животного, даты взятия материала.

Для исследования **на демодекоз** в лабораторию направляют:

- содержимое 3-5 узелков диаметром от 1 до 18мм, при отсутствии узелков – соскобы с кожи;

- от консервированных кож крупного рогатого скота, овец, коз и свиней – соскобы с пятен, расположенных в области головы, шей, плеча, лопаток, боков, спины.

Перед отбором материала у крупного рогатого скота, овец, коз, свиней и собак выстригают волосяной покров вокруг узелков, дезинфицируют кожу 0,5%-ным раствором карболовой кислоты и делают кровопускательной иглой прокол узелка на глубину 1-3мм. Пальцами захватывают узелок так, чтобы ранка была в центре, выдавливают сметанообразное содержимое, вытаскивают иглу и мандреном выталкивают содержимое из полости иглы в стеклянный флакон с 0,5 см³ вазелинового, растительного масла или физиологического раствора и закрывают пробкой.

Дерматомикозы

От животных **больных дерматомикозами (стригуций лишай, парша)**, патологический материал берут с периферических очагов поражения, не подвергшихся медикаментозному лечению. Корочки с остатками волос, волосы выдергивают пинцетом из пораженных участков (по возможности менее загрязненных) и помещают в стеклянную баночку с крышкой. Образцы снабжают этикеткой с указанием области, района, хозяйства, возраста и степени поражения животного, а также даты взятия материала и доставляют для исследования в лабораторию.

Протозоозы

В лабораторию для исследования **на эймериозы** направляют:

- от 20-30 подозреваемых в заболевании животных из прямой кишки пробы фекалий до 5г;
- от павших или вынужденно убитых – отрезки пораженных тонких и толстых кишок, перевязанные с обоих концов;
- от пушных зверей, кроликов и птиц – групповые пробы фекалий или трупы целиком.

Отобранный патологический материал и пробы фекалий упаковывают во влагонепроницаемую тару и доставляют в лабораторию в день отбора, а трупы – не позднее 4-6 часов после гибели.

Для исследования **на трипанозомоз (случную болезнь лошадей)** в лабораторию направляют:

- соскобы со слизистой оболочки влагалища, мочеиспускательного канала, взятые уретральной ложкой;
- выпот из надрезов отеков и бляшек собранный шприцем в стерильные пробирки;
- для реакции связывания комплимента сыворотку крови нативную или консервированную одним из общепринятых методов.

Патологический материал доставляют в термосе со льдом и исследуют не позднее 6 часов, а сыворотку крови – не позднее 2 дней после взятия.

Для микроскопического исследования на месте (в хозяйстве) делают раздавленные капли их эксудатов и соскобов.

Для микроскопического исследования **Су-ауру (трипанозомоз) лошадей, собак** готовят мазки и толстые капли крови из уха. Для установления диагноза необходимо материал брать повторно. В лабораторию направляют (или исследуют на месте) сыворотку крови или цельную кровь для исследования методом постановки формолреакции. От трупа берут кусочки селезенки, печени, почек, костного мозга и лимфатических узлов, делают мазки и посылают в лабораторию. Мазки готовят не позже чем через 6-12 часов после смерти животного.

Для исследования животных **на чесотку** (накожную, зудневую и кожеедную) в лабораторию для микроскопического исследования доставляют соскобы с кожи. Для обнаружения накожных и зудней берут соскобы со свежих, неуплотнившихся очагов поражения (не менее чем с 2-3 мест на границе между пораженной и здоровой кожей, а для обнаружения кожеедов – в центре поражения). Перед взятием соскобов вокруг очага поражения выстригают шерсть.

Для исследования на зудневую чесотку берут глубокие соскобы до появления сукровицы. Взятый материал помещают в баночку, плотно закрывают крышкой и этикетируют с указанием наименования хозяйства, фермы, отары, номера животного, даты взятия материала.

Для исследования **на демодекоз** в лабораторию направляют:

- содержимое 3-5 узелков диаметром от 1 до 18мм, при отсутствии узелков – соскобы с кожи;

- от консервированных кож крупного рогатого скота, овец, коз и свиней – соскобы с пятен, расположенных в области головы, шеи, плеча, лопаток, боков, спины.

Перед отбором материала у крупного рогатого скота, овец, коз, свиней и собак выстригают волосяной покров вокруг узелков, дезинфицируют кожу 0,5%-ным раствором карболовой кислоты и делают кровопускательной иглой прокол узелка на глубину 1-3мм. Пальцами захватывают узелок так, чтобы ранка была в центре, выдавливают сметанообразное содержимое, вытаскивают иглу и мандреном выталкивают содержимое из полости иглы в стеклянный флакон с 0,5 см³ вазелинового, растительного масла или физиологического раствора и закрывают пробкой.

Отбор материала от трупов павших и больных животных при подозрении на отравление

При подозрении на отравление животных в лабораторию направляют материал от трупов павших животных для химических исследований.

Одновременно с целью определения источника отравления посылают все корма (по 1кг каждого вида корма), которые скармливали животному, с указанием периода скармливания каждого вида корма. Кроме этого, обязательно посылают остатки кормов из кормушки.

Для химических исследований в лабораторию посылают в отдельной таре следующий материал:

1. часть пищевода и пораженную часть желудка с содержимым (в количестве 0,5кг), а от крупного и мелкого рогатого скота – часть пищевода или сычуга и содержимое из разных мест сычуга, рубца (по 0,5кг).

Желудок и его содержимое берут в следующем порядке.

При вскрытии трупа после осмотра внутренних органов перевязывают лигатурами пищевод и двенадцатиперстную кишку вблизи стенки желудка (в двух местах по две перевязки) и перерезают между перевязками. Желудок извлекают и кладут в чистую стеклянную посуду (от крупных животных на чистое место), затем вскрывают его по передней стенке.

Содержимое желудка предварительно (не выбирая из желудка) перемешивают, после чего осторожно, чтобы не загрязнить, берут часть его. Для перемешивания нельзя использовать металлические предметы;

2. отрезок тонкого отдела кишечника (длиной до 0,5м) из наиболее пораженной части вместе с содержимым (до 0,5кг);

3. отрезок толстого отдела кишечника (длиной до 40см) из наиболее пораженной части вместе с содержимым (до 0,5кг);

4. часть печени (0,5-1кг) с желчным пузырем (от крупных живот-

ных), а от мелких животных печень целиком;

5. одну почку;
6. мочу в количестве 0,5л;
7. скелетную мускулатуру в количестве 0,5кг;

Кроме того, в зависимости от особенностей предполагаемого отравления дополнительно посылают:

- при подозрении на отравление метгемоглобинообразующими ядами (нитритами, нитратами с их редукцией в нитриты, бертолетовой солью, красной кровяной солью и др.) – сгустки крови 10мл;

- при подозрении на отравление через кожу (in vivo) – часть кожи, клетчатки и мышцы из места предполагаемого введения яда;

- при подозрении на отравление газами – наиболее полнокровную часть легкого (в количестве 0,5кг), трахею, часть сердца, 200мл крови, часть селезенки и головного мозга. От мелких животных (в том числе и птиц) берут органы целиком.

При вскрытии отрытого из земли трупа животного надо взять: сохранившиеся внутренние органы в количестве до 1кг, скелетную мускулатуру в количестве 1кг, землю под трупом 0,5кг из двух-трех мест.

Для гистологического исследования посылают небольшие кусочки, размером 1*3*5см, следующих органов: печени, почек (обязательно с наличием коркового и мозгового слоев), сердца, легкого, селезенки, языка, пищевода, желудка, тонкого и толстого отдела кишечника, скелетной мускулатуры, лимфоузлов, головного мозга (половину мозга в стерильной банке).

Кусочки должны быть взяты из различных участков органов на границе пораженной и непораженной части ткани и тотчас же помещены в 10%-ный раствор формалина из расчета на 1 часть патологического материала 15 частей раствора формалина.

При подозрении на отравление веществами, употребляемыми для борьбы с сельскохозяйственными вредителями, минеральными удобрениями, зооцидами посылают пробу их в количестве от 100 до 1000г. В случае отсутствия этих веществ на момент отправки в лабораторию необходимо в сопроводительных документах узнать их название.

От больных животных при подозрении на отравление посылают:

- рвотные массы, желательно первые порции;
- мочу – все количество, которое удалось получить;
- кал в количестве 0,5 кг;
- содержимое желудка, полученное через пищеводный зонд;
- корма и вещества, которые могли явиться причиной отравления.

При подозрении отравления нитратами, нитритами, дополнительно посылают слюну, носовую слизь (сколько получается отобрать), цельную кровь (со стабилизатором) 10мл.

При подозрении, что отравление наступило вследствие поедания ядо-

витых растений, берут для ботанического анализа пробы растений в следующем порядке: деревянную рамку с внутренним размером 1 м² накладывают на травостой луга или пастбища в местах выпаса скота, все оказавшиеся внутри рамки растения срезают под корень. Если травостой однотипный, пробу с 1 га луга или пастбища берут в 3-5 местах, а если травостой разнотипный, количество проб увеличивают с целью большего охвата различных растений и посылают среднюю пробу.

Если пробу трав, взятых для исследования, можно доставить в лабораторию в течение нескольких часов, то траву посылают в сыром виде. При длительной пересылке пробы сушат и доставляют в сухом виде. Пересылают пробы трав в коробках, но не в полиэтиленовых пакетах.

Пробы должны быть взяты ветеринарным специалистом или зоотехником.

Материал, взятый для химических исследований, нельзя обмывать и держать вместе с металлическими предметами, его отправляют в чистом, не консервированном виде.

Упаковывают материал в чистые, широкогорлые стеклянные банки, плотно закрывающиеся стеклянными притертыми пробками, а при отсутствии их – чистыми, не бывшими в употреблении полиэтиленовыми крышками или чистой воценой бумагой.

Поверх крышки банку обертывают чистой бумагой, обвязывают тонким шпагатом (или толстой крепкой ниткой), концы которого приклеивают этикеткой с печатью организации подписью специалиста, отобравшего материал. На каждую банку наклеивают еще этикетку, на которой записывают, какие органы, и в каком количестве (по весу) помещены в банку, вид и кличку животного, дату падежа и вскрытия трупа животного, указывают, какое подозревается отравление и кому принадлежит животное.

Взятый материал должен быть отправлен в лабораторию немедленно с нарочным. При подозрении на отравление нитратами, нитритами, синильной кислотой патологический материал необходимо доставить в течение 2 часов после смерти животного.

Отбор и транспортировка рыб для бактериологического, вирусологического, паразитологического и химико-токсикологического исследования

Больных или подозрительных по заболеванию инфекционными и инвазионными болезнями рыб доставляют в лабораторию **в живом виде**.

Для исследования отбирают 10-20 рыб с явно выраженными клиническими признаками болезни, согласно МУ по паразитологическому исследованию рыб № 044-3 от 31.01.90 г.

Рыб перевозят в чистых емкостях предназначенных для перевозки живой рыбы, заполненных на $\frac{3}{4}$ объема водой из того же водоема, откуда взята рыба, или из артезианской скважины. Рыба, доставленная в лабораторию в

бумаге, марле и др. упаковочных материалах, для исследования не пригодна. Летом при длительной транспортировке воду с рыбой постепенно охлаждают до температуры 12-15°C, добавляя кусочки льда. Чтобы не вызвать температурного шока и простудных явлений, нельзя пересаживать рыбу в воду, имеющую температуру ниже, чем в водоеме (на 7°C и более).

При отсутствии возможности доставить живую рыбу, у крупных рыб берут кусочки пораженных органов и тканей, помещают их в стерильную стеклянную посуду, заливают стерильным 40%-ным водным раствором глицерина, закрывают пробкой, заливают парафином и направляют с нарочным в лабораторию. Жидкий патологический материал (кровь, экссудат и др.) доставляют в лабораторию в запаянных стерильных пастеровских пипетках.

Летом патологический материал пригоден для **бактериологического исследования** в течение 2 часов после его взятия.

Для исследования **на инвазионные заболевания** рыбу доставляют в живом или свежеуснувшем виде.

Для химико-токсикологических исследований в лабораторию доставляют живых или недавно погибших рыб, не менее 5 экземпляров каждого вида. Одновременно направляют рыб того же вида из благополучного водоема для контрольных исследований. Если доставить живых или свежеуснувших рыб невозможно, а также в теплое время года, рыб охлаждают на льду, промораживают.

Отбор и транспортировка патологического материала, при диагностике заболеваний пчел

В лабораторию направляют:

а) при болезнях пчелиного расплода - образцы сотов (соты) размером не менее 10X15 см с больными или погибшими личинками и куколками;

б) при болезнях взрослых летных пчел - по 50 живых пчел или трупов свежего подмора от каждой больной пчелиной семьи (не менее 3-5 проб);

в) при гибели пчелиных семей - не менее 50 трупов пчел из верхнего слоя подмора, а также образцы сотов; с медом и пергой от каждой погибшей семьи;

г) при подозрении на отравление пчел - 400 - 500 г подмора пчел, сотовую рамку с пергой и 100 г сотового меда;

д) для обнаружения пади - кормовой мед перед сборкой гнезд на зимовку по 80 г от каждой семьи;

е) паразитов, насекомых и других членистоногих вредителей пчел.

Перед отправкой патологический материал упаковывают: образцы сотов, сотовые рамки - в деревянный ящик соответствующего размера (без обвертывания бумагой), отделяя их друг от друга, а также от боков, дна и крышки деревянными планками; живых или мертвых пчел - в картонную (спичечную) коробку, отдельно от каждой пчелиной семьи с указанием на верхней крышке порядкового номера улья; подмор пчел для исследования на отравление - в чистый мешочек (полиэтиленовый, бумажный, матерчатый),

помещенный в картонную коробку с надписью на ней номера семьи, мед - в чистую сухую стеклянную посуду с плотно закрываемой пробкой; паразитов (насекомых) пчел и расплода с жесткими покровами укладывают рядами на вату, помещенную в твердую коробку, сверху покрывают белой бумагой, слоем ваты и закрывают крышкой, насекомых с мягкими покровами (личинки, куколки) - во флаконы с 10%-ным раствором формалина, или 70%-ным спиртом, или флаконы с медом.

К патологическому материалу прилагают сопроводительный документ где указывают название организации или фамилия, имя и отчество владельца пчел, почтовый адрес, дата взятия патологического материала, время возникновения болезни или гибели пчелиной семьи, количество заболевших (погибших) семей, а также месторасположение мертвых пчел, матки, количество оставшегося меда, перги в гнезде, их расположение в сотах и другие признаки болезни.

3. СПЕЦИАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.

ОБЯЗАТЕЛЬНЫЙ МИНИМУМ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ПРИ ДИАГНОСТИКЕ БОЛЕЗНЕЙ ЖИВОТНЫХ

3.1. Бактериальные инфекции

1. Сибирская язва

Для лабораторного исследования на сибирскую язву направляют ухо павшего животного или селезенку убитого животного.

Проводят микроскопию мазков из патологического материала, часть красят по Граму и обязательно на капсулы по Михину и Ольту. Обнаружение типичных по морфологии капсульных палочек является важным критерием диагностики сибирской язвы.

Традиционные бактериологические исследования проводят путем посева материала посева материала на основные питательные среды МПА, МПБ, селективную дифференциально-диагностическую среду с 0,01% натрия фенолфталеинфосфата. Выделенную культуру идентифицируют по морфологическим и культуральным свойствам, чувствительности к пенициллину (тест «жемчужного ожерелья») с подтверждением вирулентности возбудителя биопробой. Срок бактериологического исследования - 1-3 дня.

Постановка биопробы проводится путем подкожного заражения двух белых мышей или двух морских свинок суспензией из исходного материала в дозе соответственно по 0,1-0,2 и по 0,5-1 мл. Гибель в течение 3 суток, из погибших выделяют чистую культуру. Срок наблюдения до 10 дней.

Реакция Асколи, используют диагностическую преципитирующую сыворотку и экстракт шкуры, шерсти – фильтрат после 15-минутного кипячения. Применяют реакцию преципитации для обнаружения сибирезвенных антигенов при исследовании кожевенного и мехового сырья, загнившего патологического материала.

Основными методами выявления сибирской язвы являются метод флуоресцирующих антител (МФА) и полимеразной цепной реакции (ПЦР).

2. Эмфизематозный карбункул, эмкар

В лабораторию направляют кусочки пораженных мышц печени, селезенки, отечный экссудат и кровь. Здесь проводят микроскопию мазков из исходного материала, окрашенных по Граму, посева на питательные среды и заражение лабораторных животных.

Бактериологическое исследование. Проводят посев на клостридиальный бульон, затем на глюкозно-кровяной агар, идентифицируют по морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам, выделенные культуры вызывают отеки и гибель морских свинок в течение 24-46 часов.

Биопробу проводят не менее чем на 2 морских свинках, заражая их 10%-ной суспензией из патологического материала подкожно. Гибель через 24-48 ч с признаками заболевания.

Срок лабораторного исследования до 8 дней.

3. Злокачественный отек (газовая гангрена)

Материал для бактериологического исследования служат содержимое отека, кусочки пораженных мышц, паренхиматозные органы, а от трупов овец, кроме того, часть сычуга и тонкого кишечника. В условиях лаборатории проводят микроскопию мазков, исследуют культуральные свойства, заражают лабораторных животных.

Культивирование проводят на среде Китта-Тароцци, МПБ, МПА, глюкозо-кровяном агаре в чашках. Посевы инкубируют в анаэробных условиях 16-48 ч, после чего изучают рост в среде Китта-Тароцци и на глюкозо-кровяном агаре. Устанавливают морфологические особенности и подвижность бактерий из культур в среде Китта-Тароцци.

Биопробу осуществляют на морских свинках, которых заражают суспензией материала подкожно 0,5 – 1 мл, гибель через 16-48 часов с признаками заболевания, от погибших можно выделить возбудителей.

Срок исследования до 8 дней.

4. Браздот

Лабораторная диагностика браздота овец основана на выделении и идентификации культур возбудителей (*Cl. septicum*, *Cl. perfringens* *Cl. Novyi*, *Cl. oedematiens*, *Cl. Sordellii*).

В лабораторию направляют кровь из сердца, экссудаты из грудной и брюшной полостей, слизистую оболочку сычуга, тонкого отдела кишечника, некротические очаги в печени. Здесь проводят микроскопию мазков, получение чистой культуры и ее идентификацию, заражение лабораторных животных. В мазках-отпечатках из органов и с диафрагмальной поверхности печени видны длинные нити возбудителя болезни.

Биопроба осуществляется на белых мышках, морских свинках, путем подкожно заражения суспензией из материала, гибель в течение 5 суток, из крови выделяют культуры, идентифицируют по морфологическим, культуральным свойствам.

Срок исследования до 8 дней.

5. Инфекционная энтеротоксемия овец

Диагноз на инфекционную энтеротоксемию ставят на основании эпизоотологических, клинических, патологоанатомических данных и результатов лабораторного исследования патологического материала.

В лабораторию направляют измененные отрезки тонкого кишечника с содержимым, пораженные участки сычуга, печень с желчным пузырем, сердце, селезенку, почку, лимфоузлы, трубчатую кость, экссудат из брюшной полости.

Лабораторная диагностика базируется на обнаружении токсина в содержимом тонкого отдела кишечника, выделении чистой культуры возбудителя и ее типизация.

Для обнаружения токсина в содержимом тонкого отдела кишечника вводят внутривенно или внутрибрюшинно фильтрат содержимого двум белым мышам (0,5 мл) или внутривенно одному кролику в дозе 1 мл. Тип токсина определяют в РН на белых мышах с антитоксическими сыворотками против *Cl.perfringens* типов А, В, С, D и Е.

Культуральные свойства проводят путем посевов из содержимого кишечника и паренхиматозных органов на среду Китт-Тароцци, МПА и МПБ. Культуру идентифицируют по морфологическим и культуральным свойствам. При микроскопировании мазков со слизистой кишечника, окрашенных по Грамму обнаруживают большое количество крупных грамположительных палочек иногда расположенных группами.

Выделение культуры со свойствами, характерными для данного возбудителя и установление его типа в реакции нейтрализации с типоспецифическими сыворотками дает основание подтвердить диагноз на энтеротоксемию.

Разработана иммуноферментная тест-система для диагностики анаэробной энтеротоксемии животных и иммунологического мониторинга вакцинированного поголовья.

Срок исследования до 8 дней.

6. Анаэробная дизентерия

Диагноз на анаэробную дизентерию основан на анализе эпизоотологических, клинических данных, патологоанатомических изменений и результатов лабораторного исследования.

В лабораторию посылают участки пораженного кишечника, кровь из сердца и кусочки паренхиматозных органов. Лабораторная диагностика аналогична, как и при исследовании инфекционной энтеротоксемии овец и акцентируется на обнаружении токсина в содержимом тонкого отдела кишечника, выделении чистой культуры возбудителя и ее типизация.

Срок исследования до 8 дней.

7. Некробактериоз

В лабораторию направляют кусочки пораженных органов и тканей с прилегающей здоровой тканью, целые трупы мелких животных, в том числе птиц.

Лабораторная диагностика включает: бактериоскопия мазков-отпечатков из пораженных тканей; бактериологическое исследование - выделение культуры возбудителя и его идентификацию; биопробу - заражение патматериалом или выделенной культурой белых мышей или кроликов.

Бактериоскопия. Мазки окрашивают синью Леффлера или по методу Муромцева, Романовского-Гимзе, Грамму, где обнаруживают зернисто окрашенные нити или длинные, тонкие, грамотрицательные палочки.

Бактериологическое исследование. Материал сеют в клостридиальный

бульон, потом на глюкозо-кровяной агар, инкубируют трое суток, идентифицируют по морфологическим и культуральным свойствам.

Одновременно проводят биологическое исследование. Кролика заражают путем введения подкожно 10 % взвесью материала или выделенной культурой в латеральную поверхность уха. Через 2-4 дня воспаление с некрозом, через 10 дней – гибель кролика. Можно заразить белых мышей подкожно. На 8-е сутки воспаление с некрозом, отвалится хвост. Через 14-18 дней мыши погибнут. После гибели лабораторных животных, их вскрывают и из пораженных внутренних органов производят посевы на питательные среды, готовят мазки-отпечатки из пораженного очага.

Срок исследования до 15 дней.

Для ускоренной индикации возбудителя в патологическом материале и при исследовании крови применяют МФА. Для окрашивания используют конъюгаты из моносывороток групп А, В, С, Д и др.

Полимеразная цепная реакция - наиболее чувствительный и специфичный метод выявления фрагментов генома возбудителя в биологическом материале. Данный метод позволяет сократить сроки диагностических исследований в 8–10 раз в сравнении с бактериологическими методами.

8. Столбняк

В лабораторию от больного животного для исследования направляют раневую секрет, фрагменты тканей из глубоких слоев мест поражения; по-смертно — ткани из мест поражения, кусочки печени, селезенку, кровь.

Мазки из патологического материала (раневой экссудат) окрашивают по Граму. Наличие в препаратах грамположительных палочек с круглыми терминальными спорами дает основание подозревать столбняк.

Для выделения токсина проводят биопробу на белых мышках или морских свинках, заражая их взвесью патматериала подкожно или внутримышечно. Доза для белых мышей составляет 0,5-1 мл, морских свинок - 3-5 мл, гибель с клиникой заболевания.

Для выделения возбудителя применяют бактериологическое исследование, делают посевы на клостридиальный бульон, пересевают на кровяной, глюкозный агар, выделенную культуру идентифицируют по морфологическим, культуральным свойствам, вирулентность подтверждают биопробой.

Срок исследования до 14 дней.

9. Ботулизм

Диагноз ставят на основании бактериологического и биологического исследований.

Материал исследуют одновременно на обнаружение ботулинических токсинов и выделение возбудителя.

Для обнаружения токсина его экстрагируют из материала физиологи-

ческим раствором, делят на две части, одну из которых прогревают в водяной бане 30 минут. Каждым фильтратом (кипяченым и некипяченым) заражают в дозе 0,5-0,8 мл внутрибрюшинно двух белых мышей или по одной морской свинке в дозе 3-5 мл. Тип токсина определяют в реакции нейтрализации с типоспецифическими сыворотками.

Для обнаружения возбудителя ботулизма проводят посев на среду Китт-Тароцци в два флакона из каждого материала. Один флакон сразу после посева прогревают при 80° 20 минут.

Культуры идентифицируют по характеру роста на глюкозо-кровяном агаре и токсинообразованию. Наличие токсина и его тип определяют в культуре 4-8-дневного роста, как и при исследовании материала.

Срок исследования до 10 дней.

10. Туберкулез животных

При диагностике туберкулеза у животных используют эпизоотологический, клинический, патологоанатомический, гистологический, бактериологический, аллергический и молекулярно-генетический (полимеразная цепная реакция - ПЦР) методы исследования, а в необходимых случаях биологическими методами.

Основным методом прижизненной диагностики является аллергический (туберкулинизация) метод.

Лабораторные исследования проводят микроскопическим, бактериологическим, гистологическим и микроскопию мазков из материала проводят световым (окраска по Циль-Нильсену) или люминесцентными методами.

При бактериологическом (культуральном) исследовании, материал измельчают, обрабатывают 3-5% серной кислоты, отмывают, делают посевы на элективные питательные среды, выращенную культуру идентифицируют по культуральным, морфологическим, вирулентным свойствам или в ПЦР.

Идентификацию возбудителей по вирулентным свойствам предложил Р. Кох.

Определение вида возбудителя туберкулеза с помощью биопробы

Вид возбудителя	Вирулентность для лабораторных животных		
	морские свинки	кролики	куры молодки
<i>M. tuberculosis.</i>	Генерализованный туберкулез	Единичные очаги в легких	Живы
<i>M. bovis</i>	Генерализованный туберкулез	Генерализованный туберкулез	Живы
<i>M. avium</i>	Живы, абсцесс в месте введения	Туберкулезный сепсис	Генерализованный туберкулез

Для посевов применяют среды Петраньяни или Гельберга (по 5-6 пробирок) и МПА (одна пробирка).

Культуры дифференцируют от кислотоустойчивых сапрофитов и атипичных микобактерий по культуральным свойствам; при необходимости определяют патогенность для лабораторных животных, каталазную, формиазную активность и лекарственную устойчивость.

Биологический метод применяют для диагностических целей и определения типа возбудителя.

Обязательное биологическое исследование проводят:

а) при исследовании материала от убитых, реагировавших на туберкулин животных из ранее благополучных хозяйств в случаях отсутствия специфических патологоанатомических туберкулезных изменений (на 2 морских свинках или 2 кроликах, в зависимости от какого вида животного исследуют материал);

б) для определения типа возбудителя во вновь выявленных неблагополучных хозяйствах (на 2 морских свинках и 2 кроликах).

Морских свинок заражают подкожно в области паха, кроликов - внутривенно суспензией патматериала из расчета 1 г исследуемого материала, культурой - в дозе 1 мг бактериальной массы. Срок наблюдения 3 месяца.

При гистологическом исследовании срезы окрашивают гематоксилин-эозином.

Лабораторный диагноз устанавливают на основании результатов бактериологического, биологического и гистологического исследований.

Срок бактериологического и биологического исследований до 3 месяцев.

Срок гистологического исследования до 5 дней

11. Туберкулез птиц

Материал исследуют патологоанатомическим, микроскопическим и в необходимых случаях бактериологическим методами.

Диагноз на туберкулез ставят при наличии характерных патологоанатомических изменений и обнаружении кислотоустойчивых микобактерий в мазках из органов, окрашенных по Циль-Нильсену.

При обнаружении микобактерий в мазках из материала от птиц, в органах которых отмечены патологические изменения, диагноз на туберкулез считают установленным и дальнейшие исследования не проводят. В случае отрицательных результатов микроскопии мазков проводят культуральное исследование материала.

Срок микроскопического исследования до 2 дней.

Срок бактериологического исследования до 1 месяца.

12. Паратуберкулез

Для диагностики паратуберкулеза у крупного рогатого скота применяют клинический, аллергический, серологический, бактериологический и гистологический методы исследований.

Для прижизненного бактериоскопического исследования готовят по 4-6 мазков из комочков слизи и обрывков слизистой оболочки кишечника, обнаруживаемых в фекалиях животных, подозреваемых в заболевании. От убитых или павших животных готовят по 4-6 мазков из участков кишечника или мезентериальных лимфоузлов, имеющих изменения, сходные с паратуберкулезными.

Мазки подсушивают на воздухе, фиксируют над пламенем горелки и окрашивают по методу Циля-Нильсеиа. Микобактерии паратуберкулеза в мазках представляют собой мелкие тонкие палочки красного цвета, располагающиеся кучками, частоколами по три и более.

Микроскопическое исследование проводят световым (с окраской мазков по Циль-Нильсену) или люминесцентным методами.

Срезы для гистологического исследования готовят из кусочков кишечника и брыжеечных лимфоузлов и окрашивают гематоксилин-эозином.

Серологическую диагностику проводят с помощью РСК (положительный титр 1:10) с экстрактом возбудителя и сыворотками крови обследуемых.

Окончательный диагноз ставят на основании результатов микроскопических, гистологических и серологических исследований с учетом клинических, аллергических и эпизоотологических данных.

Срок микроскопического исследования до 3 дней.

Срок гистологического исследования до 5 дней.

Срок серологического исследования до 3 дней.

13. Бруцеллез

Диагноз на бруцеллез у животных ставят на основании результатов бактериологического, серологического, молекулярно-генетического и аллергического исследований с учетом эпизоотологических данных и клинических признаков болезни, руководствуясь при этом санитарными и ветеринарными правилами по профилактике и борьбе с заразными болезнями, общими для человека и животных.

Диагностику проводят путем серологического исследования сывороток крови животных (РА, РСК и РДСК). В установленных инструкцией случаях применяют кольцевую реакцию с молоком.

При наличии животных с подозрительными на бруцеллез клиническими признаками проводят микроскопическое, бактериологическое и в необходимых случаях биологическое исследование.

Для культивирования бруцелл используют мясо-пептонный печеночный бульон (МППБ), печеночный глюкозо-глицериновый бульон (ПГГБ), мясо-пептонный печеночно-глюкозо-глицериновый агар (МППГА), печеночный глюкозо-глицериновый агар (ПГА), картофельный агар, эритрит-агар, сывороточно-декстрозный агар, печеночно-сывороточный агар и печеночно-аминопептидный агар и другие питательные среды, предназначенные для этой цели.

Мазки из патологического материала окрашивают по Граму и одним из специальных методов (по Козловскому, Шуляку-Шину и др.).

Посевы из плодов (содержимого желудка, грудной и брюшной полостей, печени и селезенки) делают на печеночно-глюкозо-глицериновый бульон и агар (2-3 пробирки) или сывороточно-глюкозный, или картофельный агар (рН сред 6,8-7,0), или сухой питательный агар Д с добавлением глицерина и глюкозы. Одновременно для исключения других инфекционных болезней делают посевы на МПА, МПБ, ПЖА и среду Петровского. При исследовании других материалов высевают на плотные среды в чашках (3-4).

Выделенные культуры бруцелл идентифицируют на основании тинкториальных, морфологических и культуральных признаков, а также по РА с позитивной сывороткой на стекле.

В биопробе участвуют не менее 2-х животных. Биологические исследования проводят на морских свинках (не менее двух животных), предварительно проверенных на бруцеллез по РА. Суспензию из материала вводят подкожно в дозе 1 мл. Через 15, 25, 40 дней сыворотку крови зараженных животных исследуют по РА в разведении 1:10-1:80.

При исследовании материала от животных, убитых с диагностической целью, проведение биопробы обязательно.

Сроки отправки ответов:

при серологических исследованиях до 4 дней;

при бактериологических исследованиях до 1 месяца;

при биологических исследованиях до 2 месяцев.

14. Инфекционный эпидидимит

Диагноз ставят на основании результатов серологических, аллергических и бактериологических исследований с учетом эпизоотологических данных и клинических признаков болезни.

Диагностика включает лабораторные (бактериологическое и серологическое) исследования материала, а также аллергические и клинические исследования животных в хозяйствах.

Бактериологическая диагностика включает микроскопическое исследование мазков из исходного материала, посев на питательные среды, выделение культур и идентификацию их по тинкториальным, морфологическим, культуральным свойствам, в реакции агглютинации на стекле.

Посевы проводят на 2-3 пробирки (чашки) с плотным печеночно-сывороточным или печеночно-амидопептидным агаром и 2-3 пробирки с полужидким сывороточным или амидопептидным агаром. Полученные первичные культуры подвергают серологической идентификации (по РДСК).

Серологические исследования сывороток крови проводят по РДСК.

Срок бактериологического исследования до 40 дней, серологического - до 6 дней.

15. Кампилобактериоз

Диагноз на кампилобактериоз устанавливают на основании: клинико-эпизоотологических данных, результатов бактериологических исследований (выделения и идентификации возбудителя по культуральным, биохимическим и антигенным – РА, РИФ свойствам, доказательства его патогенности при помощи биопробы на лабораторных животных).

Лабораторное исследование проводят микроскопическим, бактериологическим и серологическим методами.

Задачей первого этапа бактериологического исследования является *выделение чистой культуры кампилобактеров*. С этой целью возможны 2 варианта посева исследуемого материала:

- 1 - посев на селективные питательные среды;
- 2 - посев с использованием ядерных фильтров.

Схема бактериологической диагностики кампилобактерий



Первый вариант предусматривает посев испражнений непосредственно на питательные среды (кровяной эритрит агар, угольный эритрит агар, кампилобакагар) с использованием добавок: аэротолерантных (железа II сульфата, натрия пирувата, натрия метабисульфита в концентрации 0,025% каждой из солей и селективных (смеси антибиотиков для подавления сопутствующей микрофлоры). Перед посевом фекальные пробы суспензируют в изотоническом растворе NaCl или в 0,1%-й пептонной воде в соотношении 1:10.

Применение метода ядерных фильтров позволяет производить посев материала на неселективные питательные среды. Использование ядерных

фильтров с диаметром пор 0,46 и 0,55 мкм и отказ от внесения в среду селективных добавок способствует: сокращению времени выделения кампилобактерий до 24 ч инкубации; возможности обнаружения разных видов кампилобактерий; росту возбудителя в чистой культуре, что значительно упрощает учет результатов посева; снижению стоимости анализа.

Ядерные фильтры размером 3x3 см, стерилизованные автоклавированием при 121 °С в течение 30 мин, переносятся пинцетом на подсушенную питательную среду. Затем на поверхность фильтров пипеткой наносят 0,1 мл суспензии фекалий в стерильном изотоническом растворе натрия хлорида или консерванте. Через 30 мин экспозиции фильтры удаляют. Допускается повторное использование ядерных фильтров после обеззараживания кипячением в дистиллированной воде в течение 5 мин (без интенсивного кипения воды), промывания в проточной воде, просушивания, визуальной проверки целостности, стерилизации автоклавированием при 121 °С в течение 30 мин

Инкубация всех посевов проводится при температуре 42,5-43,0 °С в микроаэрофильных и капнофильных условиях. Оптимальные условия для культивирования кампилобактеров создает атмосфера, содержащая 5% кислорода, 10% углекислого газа, 85% азота. Длительность инкубации составляет 48 ч с обязательным просмотром посевов через 24 ч.

При исследовании абортированных плодов посевы делают из содержимого сычуга, легкого, печени, головного мозга, измененных участков плаценты и амниотической жидкости в 5 пробирок ПЖА из каждого органа. Сперму, слизь и секрет высевают в 5 пробирок ПЖА (из каждой пробы). Мазки из материала окрашивают фуксином Циля в разведении 1:5 или флуоресцирующими сыворотками.

Дифференциацию патогенных от непатогенных вибрионов проводят при помощи агглютинирующих моноспецифических сывороток, люминесцентной микроскопии, по культуральным (рост на средах с 3,5% хлорида натрия, с 4% желчи) и биохимическим (образование сероводорода и каталазы) свойствам.

Серологические исследования проводят методом постановки РА с влагалищной слизью.

Серологическое исследование у овец проводят с сывороткой крови, ставят РА с кампилобактериозным антигеном, диагностический титр 1:200, у КРС ставят РАВС - РА с вагинальной слизью в разведении 1:1, 1:2, 1:4 1:8 антигеном, разведенным 1:10, положительная реакция +++ или 4 креста.

Срок бактериологического исследования до 10 дней.

Срок серологического исследования до 4 дней.

16. Сап лошадей

Прижизненную диагностику сапа у лошадей проводят на основе учета результатов маллеинизации и клинических признаков. В лаборатории прово-

дят серологическое исследование крови по РСК и гистологическое - патологических материалов.

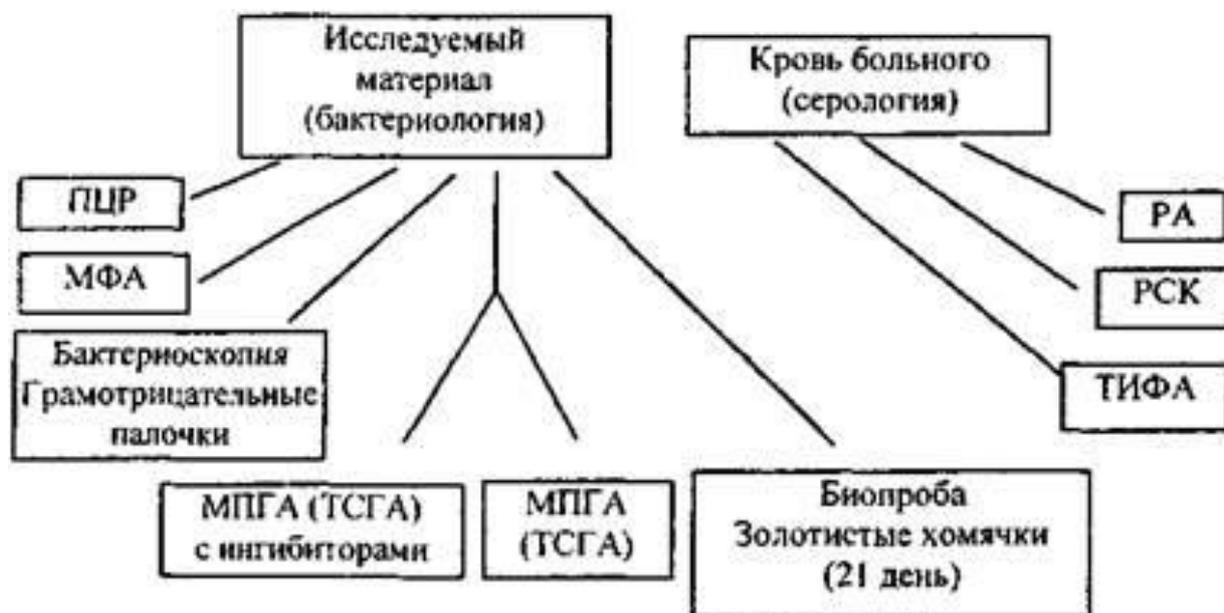
Схема и последовательность бактериологических и иммунологических этапов представлены ниже.

Для выделения возбудителя сапа используют мясопептонный агар и бульон рН 6,8 - 7,0 с 4 % глицерина (МПГА, МПГБ). Можно использовать агар на основе гидролизата казеина, а также питательный агар и триптиказосоевый агар (*Difco*, США).

Для постановки биопробы при диагностике сапа используют золотистых хомячков или морских свинок.

Кусочки органов животных или людей измельчают в физиологическом растворе. Экстракт в объеме 0,5 мл вводят подкожно в область бедра биопробным животным. При исследовании «чистого» материала (подозрительные колонии на МПГА) животных можно заражать внутрибрюшинно. Срок наблюдения за биопробными животными до 21 сут., в типичных случаях падеж и выделение «чистой» культуры происходят в первые 10 сут. после инфицирования.

Для интраперитонеального заражения желательно брать самцов, у которых развивается феномен Штрауса. Этот феномен может быть ориентиром для вскрытия животных. Однако следует иметь ввиду, что наблюдаемый гнойный периорхит не специфичен и может быть вызван другими микроорганизмами.



Этапы идентификации *Burkholderia mallei*

Павших или забитых больных животных вскрывают и исследуют бактериологически для выделения «чистой» культуры. С этой целью из их органов делают высевы на обычные питательные среды и параллельно на среду с ингибиторами.

Срок серологического исследования до 3 дней, гистологического - до 5 дней.

17. Лептоспироз

Диагноз на лептоспироз устанавливают бактериологическим, серологическим и гистологическим методами исследования с учетом эпизоотологических, клинических и патологоанатомических данных.

Исследуют микроскопическим, гистологическим, серологическим и при необходимости бактериологическим и биологическим методами.

Микроскопируют лептоспир живыми в раздавленной капле при увеличении в 200-280 раз с конденсором "темное поле".

Бактериологически исследуют кровь, печень, почки и мочу. Из каждого материала засевают 2-3 пробирки с одной из сывороточных сред (Любашенко, Терских и др.) или с альбуминовой средой.

Культуру идентифицируют по морфологическим свойствам, серотип определяют с помощью лептоспирозных агглютинирующих сывороток.

Биопробу ставят на двух 8-10-дневных крольчатах или двух 3-4-недельных золотистых хомяках, которых заражают суспензией из органов, кровью или мочой внутрибрюшинно в дозе 2,0-2,5 мл крольчатам или 0,5-1 мл хомякам. Животных убивают (одно на 4-й, другое на 12-14-й день) с последующим бактериологическим исследованием.

Для гистологического исследования срезы окрашивают гематоксилин-эозином, а для обнаружения лептоспир - методом импрегнации, серебром по Левадиту.

Серологические исследования проводят по реакции микроагглютинации-лизиса не менее как с семью серотипами лептоспир. Ставят РМА с лептоспирами 5-10 суточного роста 7-ми серогрупп, испытывают сыворотки в разведениях 1:25, 1:50, 1:1250. При взаимодействии с гомологичной сывороткой лептоспиры образуют клубки и замирают, учет в крестах, через 30 мин. Для племпродажи исследуют сыворотку крови свиней в разведении 1:25.

Срок серологического исследования до 4 дней, микроскопического - 1 сутки, гистологического - до 15 дней, бактериологического и биологического - от 20 до 50 дней.

18. Рожа свиней

Диагноз устанавливают на основании эпизоотологических данных, клинических проявлений, патологоанатомических изменений и результатов лабораторных исследований.

В лаборатории рожу свиней диагностируют бактериологическим методом, включающим микроскопию мазков-отпечатков, окрашенных по Граму, выделение чистой культуры, заражение лабораторных животных, дифференциацию изолятов от микробов других видов.

Мазки готовят из крови, селезенки и печени; высушивают на воздухе, фиксируют над пламенем горелки, окрашивают по Граму и микроскопируют. В мазках возбудитель имеет вид коротких, нежных прямых или слегка изогнутых грамположительных палочек размером 0,2-0,3x0,5- 1,5 мкм, располо-

женных поодиночке или попарно, иногда встречаются короткие нити; не имеет капсулы и жгутиков, не образует спор. При хроническом течении в мазках из веррукозных разражений на эндокарде обнаруживают длинные нити, иногда плохо окрашивающиеся по Граму. В таких случаях мазки из патологического материала после фиксации над пламенем горелки или в спирт-формалине (1:20) окрашивают синькой Леффлера или краской Муромцева.

Определение подвижности проводят в висячей или раздавленной капле. Исследуют 20-24 часовую бульонную культуру, выращенную при 37°C. Бактерии рожи свиней неподвижны.

Высевы из органов проводят на МПБ или бульон Хоттингера и МПА (рН 7,4-7,8).

Для выделения возбудителя рожи из патологического материала используют бульон (мясопептонный или Хоттингера), агар (мясопептонный, Хоттингера или питательный, согласно ФС 423377-97, ФС 423520-98), с добавлением к питательным средам 2,5% сыворотки крови лошади, крупного рогатого скота, кролика или овцы. Высев производят пастеровской пипеткой. Пробирки с посевами инкубируют при температуре 36-37°C в течение 20-24 часов, а при отсутствии роста - еще сутки.

Идентификацию культуры проводят на основании культуральных, морфологических, биохимических (пробы на каталазу, сероводород, рост на индикаторных средах) свойств, а также с помощью флуоресцирующих сывороток.

Исследование вирулентности рожистых бактерий проводят на белых мышах, которых заражают суспензией паренхиматозных органов в стерильном физиологическом растворе или выделенной чистой культурой возбудителя (36-часовая бульонная или смыв 24-48-часовой агаровой). Две белые мыши массой 16-18 г заражают подкожно в области спины по ОДОД см³. Гибель животных наступает на 4-7 сутки. При заражении слабовирулентными изолятами, находящимися в R-форме, или суспензией из патологического материала от свиней-хроников, подопытные животные погибают на 5-8 сут или остаются живыми. У зараженных мышей отмечают гнойный конъюнктивит, взъерошенную шерсть, исхудание и понос. Исследуемую культуру признают вирулентной при условии гибели обеих белых мышей в указанные сроки. Из крови сердца, печени и селезенки павших животных делают посевы на МПБ и МПА. Наличие в посевах роста бактерий с типичными морфологическими свойствами свидетельствует о выделении рожистой культуры.

Предварительный ответ дают через сутки, окончательный - до 7 дней.

19. Листерия

Диагноз - листериоз ставят на основании комплекса эпизоотологических или эпидемиологических данных, клинических признаков, патологоанатомических и патологогистологических изменений, а также результатов лабораторного исследования

Исследования проводят микроскопическим, бактериологическим, биологическим и серологическим методами.

Бактериологическая диагностика включает микроскопическое исследование исходного материала, посевы на питательные среды, идентификацию выделенных культур по культурально-биохимическим, тинкториальным и серологическим свойствам, а также постановку биологической пробы на лабораторных животных.

Микроскопическому исследованию подвергают мазки-отпечатки из головного мозга, внутренних органов и тканей. При приготовлении мазков-отпечатков чистым предметным стеклом 3 - 4 раза прикасаются к поверхности среза органа. Мазки готовят непосредственно из патматериала, а также после подрачивания его проб при 37 °С в течение 4 - 6 часов.

Мазки окрашивают по Граму, а также методами флюоресцирующих антител.

Из материала делают обильные множественные посевы на МПБ, МПА или МППБ и МППА с добавлением 1% глюкозы и 2-3% глицерина.

Идентификацию культуры проводят на основании культуральных, морфологических, биохимических (пробы на каталазу, сероводород, рост на индикаторных средах) свойств, по РА на стекле с поливалентной листериозной сывороткой и методом иммунофлуоресценции.

Биологическое исследование проводят на 2 - 3 белых мышах (масса 14 - 16 г). Животных заражают под кожу или внутрибрюшинно суспензией из головного мозга и внутренних органов или культурой в дозе 0,3 - 0,5 мл. При положительной биопробе животные погибают через 2 - 6 суток после заражения. При вскрытии отмечают множественные некротические очажки в печени, селезенке, почках. В отдельных случаях этих поражений может не быть. При наблюдении более 10 дней рекомендуется дополнительно делать посев из головного мозга. Очень чувствительны к подкожному заражению 5 - 6-дневные мыши-сосунки, которые гибнут через 18 - 36 часов.

Для повышения эффективности биопробы белым мышам за 3 - 4 часа до заражения суспензией патматериала или культурой листерий инъецируют внутримышечно кортизон в дозе 5 мг.

К заражению листериями восприимчивы и кролики. Показательно внутривенное заражение кроликов культурой листерий в дозе 0,5 - 1 млрд микробных тел (по стандарту мутности), при этом количество моноцитов в крови зараженных животных увеличивается в несколько раз. Это является дополнительной характеристикой возбудителя болезни.

Из внутренних органов (печень, селезенка, почки, сердце) павших животных делают мазки-отпечатки и высевы на питательные среды.

Срок наблюдения за подопытными животными - 14 суток.

Серологические исследования сыворотки крови проводят по РСК.

Срок бактериологического и биологического исследований до 14 дней, серологического исследования - до 4 дней.

20. Пастереллез

Диагноз ставят на основании лабораторных исследований с учетом эпизоотологических, клинических и патологоанатомических данных.

Материал исследуют микроскопическим, бактериологическим и при необходимости биологическим методами.

Мазки из материала окрашивают краской Муромцева или по Романовскому-Гимза.

Посевы из патологического материала делают в МПБ и на МПА или бульон и агар Хоттингера рН 7,2 - 7,4 с добавлением 10 % нормальной сыворотки крови лошади или 5 - 10 % аминокислоты-2. Идентификацию культуры проводят по культуральным, морфологическим, биохимическим (на средах с глюкозой, лактозой, сахарозой и маннитом) свойствам и определяют патогенность ее для лабораторных животных.

Одновременно с посевами из каждого органа делают мазки-отпечатки, фиксируют 10 - 15 мин смесью равных объемов этилового спирта и эфира, окрашивают по Леффлеру или Романовскому-Гимза и микроскопируют. В мазках из патологического материала пастереллы выглядят овоиды или короткие палочки с закругленными концами и заметной биполярностью, вокруг которых может быть видна прозрачная капсула.

Биологическое исследование проводят на 2 белых мышах, которых заражают подкожно суспензией из материала в дозе 0,2 мл, или 2 голубях (при исследовании материала от птиц) - внутримышечно в дозе 0,3 мл.

Вирулентные штаммы *P. multocida*, относящиеся в основном к сероварианту В и являющиеся возбудителями геморрагической септицемии, вызывают гибель зараженных белых мышей в течении 24 - 72 час; слабовирулентные штаммы серовариантов А и Д, участвующие в развитии пневмоний - через более продолжительный срок (до 7 сут.).

P. haemolytica может вызвать гибель белых мышей только при внутрибрюшинном заражении. Остальные виды пастерелл, как правило, для лабораторных животных непатогенны.

Патогенность культур, выделенных от птиц, проверяют на белых мышах или цыплятах. Суточную бульонную культуру вводят двум белым мышам внутрибрюшинно по 0,2 см³ или двум цыплятам 90 - 120 - дневного возраста внутримышечно по 1,0 см³.

Срок исследования - 5 дней.

21. Туляремия

При проведении лабораторной диагностики используют серологические методы; бактериологический; биологический; иммунофлуоресцентный метод; молекулярно-генетический метод (ПЦР)

I этап исследований:

- приготовление мазков, окраска фиксированных мазков по Грамму,

Романовскому-Гимзе, иммуноглобулинами флюоресцирующими туляреми-ными;

- молекулярно-генетическое исследование (ПЦР) патологического материала с целью обнаружения ДНК возбудителя.

- постановка иммуносерологических реакций для обнаружения антигенов и антител к возбудителю туляремии (РА, МФА, РНГА, РНАт, ИФА и др.)

- заражение биопробных животных (четыре белых мышей и двух морских свинок). Суспензию из патматериала вводят подкожно или внутривентриально в дозе 0,5-1,0 мл.

- посев на плотные питательные среды (кровь, пунктат бубона)

II этап (2-6 ч от начала исследования):

- учет результатов МФА, ИФА, ПЦР;

- учет результатов РА, РПГА и РНАт через 18-24 ч;

III этап (48-72 ч от начала исследования):

- просмотр посевов нативного материала на агаровых пластинках;

- бактериоскопия мазков из подозрительных колоний (окраска по Граму);

- постановка ИХ-теста для экспресс-идентификации туляреми-ного микроба с материалом из подозрительных колоний

- отсев подозрительных колоний туляреми-ного микроба на питательный агар для выделения чистой культуры

IV этап (3-5-е сутки от начала исследования): после накопления чистой культуры постановка тестов для ее идентификации.

Идентификацию выделенной культуры проводят по следующим тестам:

- морфология клетки, характер окраски по Граму и иммуноглобулинами флюоресцирующими туляреми-ными;

- характер роста на питательных средах ГТ-агаре или на свернутой желточной среде Мак-Коя;

- отсутствие роста на простых питательных средах (мясопептонном агаре и/или бульоне);

- агглютинация культур специфической туляреми-ной сывороткой или постановка РЛА с выделенной культурой;

- экспресс-идентификация туляреми-ного микроба с использованием ИХ-теста;

- выявление видоспецифичных ДНК-мишеней методом ПЦР;

- вскрытие павших биопробных животных, посев органов и крови на плотные питательные среды, приготовление и просмотр мазков-отпечатков органов, постановка ПЦР с суспензиями органов.

V этап (5-15-е сутки от начала исследования):

- учет результатов идентификации культур;

- просмотр посевов материала от павших биопробных животных

- вскрытие и исследование забитых биопробных животных

Запрещается давать окончательный (отрицательный или положительный) ответ на основании результатов экспресс- и ускоренной диагностики.

22. Сальмонеллез

Диагноз на сальмонеллез устанавливают на основании комплекса клинических, патологоанатомических, эпизоотологических данных и результатов бактериологических исследований, проводимых в соответствии с действующими методическими указаниями: «Лабораторная диагностика сальмонеллез человека и животных, обнаружение сальмонелл в кормах, продуктах питания и объектах внешней среды»

Микробиологический метод исследования. Исследуемый патологический материал высевают на среды обогащения (неселективные первичные или селективные- магниевая, селенитовая и др.). Затем, пересевают на плотные дифференциально-диагностические среды. По степени подавления роста посторонней микрофлоры среды подразделяют на высокоселективные (висмут-сульфитный агар), среднеселективные (среда Плоскирева, слабощелочной питательный агар) и низкоселективные (среды Эндо, Левина).

Одновременно проводят микроскопическое исследование методом световой микроскопии. Мазки-отпечатки делают из тех же органов и окрашивают по Граму.

Клинический материал высеивают на две-три дифференциально-диагностические среды (комбинируя высоко- и низкоселективные среды) и в пробирки со средой обогащения одновременно.

При идентификации культуры определяют подвижность, биохимические свойства (на средах с глюкозой, лактозой, сахарозой и маннитом; образование сероводорода и индола), изучают их антигенную структуру в реакции агглютинации на стекле с О- и Н-агглютинирующими диагностическими сальмонеллезными сыворотками, а также биовары.

По результатам реакции агглютинации дают ответ, исследование прекращают.

Продолжительность исследования патологического материала животных до 5 дней.

23. Эшерихиоз (колибактериоз)

Диагностика эшерихиоза проводится согласно методическим указаниям по бактериологической диагностике колибактериоза (эшерихиоза) животных, от 27 июля 2000 года.

Диагноз на колибактериоз устанавливают на основании эпизоотологических данных, клинических признаков болезни, патологоанатомических изменений и результатов бактериологического исследования материала от больных, павших или убитых с диагностической целью животных.

Основной метод диагностики – бактериологический. Проводят выделение чистой культуры возбудителя болезни и изучение его морфологических, тинкториальных, культуральных, ферментативных, антигенных, патогенных, а при подозрении на отечную болезнь поросят - еще и гемолитических свойств.

Первичный посев проводят на среду Эндо или Левина, а также на плотную среду с сорбитом (сорбитолом) для обнаружения эшерихий сероваров 0157:H7 и 0157:H-, вызывающих диарею животных с признаками геморрагического гастроэнтерита. Из выросших колоний готовят мазки, окрашивают их по Граму и микроскопируют. При наличии в мазках морфологически характерных для эшерихий клеток бактерий пересевают эти колонии на пластинчатый МПА и среду Минка.

Лактозоположительные колонии подвергают серологической идентификации с помощью реакции агглютинации на стекле с диагностическими поливалентными эшерихиозными сыворотками, а также пересевают на комбинированную среду и скошенный МПА для последующей биохимической и серологической идентификации.

При подозрении или целенаправленном исследовании на отечную болезнь поросят (энтеротоксемию) дополнительно пересевают с агара Эндо несколько колоний на кровяной агар для изучения гемолитических свойств культур.

В качестве комбинированной среды используют среду Клигlera, среду Олькеницкого или другую среду. Среда Олькеницкого предназначена для определения ферментации лактозы, сахарозы, глюкозы и наличия уреазы. Для изучения биохимических свойств используют среду Симмонса, среду с мочевиной, среду с лизином, среды Гиса с адонитом, инозитом, сорбитом, рамнозой, среду Кларка.

Изоляты, отнесенные к виду *Escherichia coli*, исследуют в РА на стекле с агглютинирующими антиадгезивными колизыворотками: вначале с поливалентными, а в случае положительной реакции - с моновалентными сыворотками. При этом культуры, выросшие на пластинчатом МПА, изучают с сыворотками K88, 987P и A20; культуры на среде Минка - с сыворотками K99, F41, F18.

Каждая группа сывороток содержит специфические O- и K-агглютинины против антигенов патогенных эшерихий. Агглютинины получают из сывороток кроликов или баранов, гипериммунизированных корпускулярными антигенами эшерихий.

Культуры эшерихий, не агглютинирующиеся с моновалентными антиадгезивными колизыворотками и колизывороткой серогруппы 0157, подвергают исследованию на патогенность в биопробе на белых мышах (или цыплятах).

Для идентификации *E. coli* по ферментативным свойствам могут быть использованы автоматизированные диагностические полоски, тест-системы API-20E, Enterotube, пластины биохимические, дифференцирующие энтеробактерии и другие системы.

Набор ММТ E24 (мультимикротесты для биохимической идентификации энтеробактерий) позволяет одновременно проводить идентификацию по 24 показателям.

Наборы ЭНТЕРОтест 24 представляют собой планшеты с внесенными реагентами и предназначены для биохимической идентификации энтеробактерий по 24 признакам в течение 24 часов.

В качестве экспресс-диагностики эшерихиозов используют ПЦР для обнаружения генов вирулентности и ИФА для определения типа энтеротоксина.

Срок исследования – до 7 суток.

24. Диплококковая (пневмококковая) инфекция

Лабораторная диагностика диплококковой инфекции включает микроскопию мазков-отпечатков из патологического материала, бактериологическое исследование и при необходимости биологическое исследование.

Микроскопическое исследование. Мазки-отпечатки готовят из патологического материала и окрашивают по Граму и на капсулу по Романовскому-Гимза или Ольту.

Бактериологическое исследование. Посевы из патологического материала делают в МПБ с 1% глюкозы и 15—20% нормальной сыворотки крови лошади, инактивированной при 58°C в течение 30 мин, на МПА — с 1% глюкозы и 10% дефибринированной крови барана или кролика (рН сред 7,6—7,8). Посевы инкубируют при 37—38°C в течение 24—48 ч.

Биологическое исследование проводят на 2 белых мышах, которых заражают внутрибрюшинно свежесодержанной суточной культурой пневмококков или суспензией из патологического материала (селезенка, печень) на физиологическом растворе (1:2) в дозе 0,5 мл. Наблюдение за зараженными животными ведут в течение 6 дней. Мыши чаще погибают через 1 – 2 суток

Идентификацию выделенных культур проводят по морфологическим, культуральным, биохимическим (отношение к сахарам короткого пестрого ряда) свойствам, а также по патогенности для белых мышей.

Срок исследования — до 6 суток.

25. Мыт

Лабораторное исследование включает микроскопию мазков из патологического материала, посевы на питательные среды и при необходимости заражение лабораторных животных.

Микроскопическое исследование. Мазки готовят из содержимого абсцессов лимфатических узлов, носового истечения, паренхиматозных органов, крови и окрашивают по Граму или Романовскому — Гимзе.

Бактериологическое исследование. Посев из исходного материала делают в МПБ и на МПА, обогащенные добавлением 10 % сыворотки крови лошади и 1 % глюкозы (рН 7,4-7,6).

Биологическое исследование. Биопробу проводят в случаях отрицательных результатов микроскопии или обнаружении нехарактерных кокковидных микробов при наличии типичных клинических признаков у больных животных. Заражают двух белых мышей подкожно в область спины гноем или культурой в дозе 0,1 мл, суспензией из органов или истечениями из носовой полости в дозе 0,5 мл. Гибель наступает через 2-7 дней. Наблюдение за зараженными мышами ведут в течение 10 дней.

Сроки исследования: микроскопического — 1 день; бактериологического — 4 дня; биологического — 10 дн.

26. Копытная гниль овец и коз

Диагноз на копытную гниль устанавливают на основании эпизоотологических и клинических данных, результатов микроскопических исследований, а в необходимых случаях - результатов биологической пробы.

Для микроскопической диагностики на предметных стеклах делают мазки-отпечатки из свежепораженных участков основы кожи копытец и из слизи, покрывающей кожу межпальцевых щелей. Мазки окрашивают по Граму, а также фуксином Циля (1:10) в течение 6-8 минут.

Срок микроскопического исследования 1 сутки.

В случае неясных результатов микроскопии ставят биопробу на овцах (ягнятах). Материал для биопробы берут из различных участков копытец и используют для постановки биопробы немедленно

Срок биологического исследования от 4 суток до 3 недель.

27. Респираторный микоплазмоз птиц

Диагностика основана на данных: патологоанатомического вскрытия, бактериологического, биологического и в сомнительных случаях - гистологического исследований.

Посевы делают на жидкие и плотные среды Эдварда, Хоттингера, Мартена или на МПБ и МПА.

Микроскопия мазков из культур микоплазм, окрашенных методом Романовского – Гимзы.

Постановка реакции гемагглютинации (РГА) с культурами микоплазм.

Биологическое исследование проводят путем заражения куриных или индюшиных эмбрионов 9-дневного возраста в аллантоисную полость в дозе 0,2 мл.

Используют не менее 15 эмбрионов, 10 из которых заражают, 5 оставляют для контроля.

Биопроба считается положительной при условии гибели не менее 50 % зараженных эмбрионов при выживании контрольных.

Срок бактериологического исследования до 30 дней, биологического - до 35 дней.

3.2. Вирусные инфекции

1. Бешенство

Лабораторная диагностика бешенства по ГОСТ 26075-13

Отбор проб в соответствии с разделом 6 ГОСТ 26075-2013. Обязательно ла-

бораторное исследование, материал только патологический:

- труп мелких животных, обработать от блох;
- голова крупных животных с 2-мя шейными позвонками.

Материал упаковывают в целлофановые мешки, помещают в ящик, на дно которого кладут влагопоглощающий материал с дезинфектантом (формалин).

В лаборатории череп вскрывают и готовят:

▪ из аммонова рога, мозжечка, коры полушарий, продолговатого мозга готовят не менее трех препаратов (отпечатков или мазков согласно п.7.2.1.1 ГОСТ 26075-2013) из каждого отдела мозга на тщательно обезжиренных предметных стеклах.

У мелких животных готовят мазки из всего мозга.

В лаборатории проводят:

- МФА в соответствии с ГОСТ 26075-2013;
- РИФ с мазками из мозга, для РИФ выпускают флуоресцирующую антирабическую сыворотку, скопления вируса ярко блестят.

● *Микроскопию мазков*, окрашенных по Муромцеву, когда мазки фиксируют в смеси Никитфорова 1-2 часа, подогревают 50-60⁰С -15-20 мин, ополаскивают, погружают в раствор метиленового синего 1:40 на 5-10 мин, затем в 5-10%-ный танин до голубого цвета, промывают, погружают в смесь спирта и ацетона. Скопления вируса – тельца Бабеша-Негри сиреневого цвета, ядра нейронов сини.

● *РДП* на предметных стеклах. В центральную лунку вносят пастообразную массу мозга погибшего животного, а в периферические – антирабическую сыворотку, в положительных случаях образуются серые полосы.

● *Биопробу* на мышатах в соответствии с разделом 9 ГОСТ 26075-2013. На 7-10 день парезы, параличи, гибель. У погибших извлекают мозг, готовят мазки для РИФ и окрашивают по Муромцеву, обнаруживают скопления вируса.

- *ИФА* с суспензией мозга.
- *ПЦР* с суспензией мозга.

Срок микроскопического и серологического исследований 1 сутки.

Срок гистологического исследования до 3 дней.

Срок биологического исследования на мышах до 30 дней, на кроликах до 50 дней.

2. Ящур

Лабораторная диагностика ящура по ГОСТ 25384-82

Диагноз ставят по клиническим признакам, и результатам лабораторных исследований (согласно п.20 «Ветеринарных правил осуществления профилактических, диагностических, ограничительных и иных мероприятий, установления и отмены карантина и иных ограничений, направленных на

предотвращение распространения и ликвидацию очагов ящура» от 6 декабря 2018 года N 564 диагноз считается установленным, если выделен вирус и (или) обнаружен антиген вируса или его РНК.

Согласно ВП от 6 декабря 2018 года N 564 необходимо указать, что при установлении диагноза лабораторией, не являющейся региональной референтной лабораторией Всемирной организации по охране здоровья животных (МЭБ) по ящуру (далее - лаборатория МЭБ по ящуру), руководитель лаборатории направляет пробы биологического и (или) патологического материала в лабораторию МЭБ по ящуру в порядке, установленном пунктом 19 настоящих Правил.

Материал:

▪ клинический: содержимое афт, готовят 10%-ную суспензию, сыворотка крови.

В лаборатории проводят:

● *РСК с содержимым афт* для определения анти-генного типа и варианта возбудителя с диагностически-ми ящурными сыворотками.

● *Вирусологическое исследование*. Содержимым афт заражают ВНК-21, обнаруживают вирус по ЦПД (синтиции), идентифицируют в РСК.

● *Биопроба на морских свинках или мышатах сосунах*, проводят, если материала для исследований недостаточно. 10%-ной суспензией заражают лабораторных животных. У морских свинок образуются афты на мякишах лапок, мышата погибают.

● *РДП с сывороткой крови больных, переболевших*.

● *ИФА с сыворотками крови больных, переболевших*.

Срок лабораторного исследования до 3 дней

3. Болезнь Ауески

Лабораторная диагностика болезни Ауески по ГОСТ 25753-83

Для установления диагноза проводят лабораторное исследование. Материал:

▪ патологический (головной мозг, кусочки селезенки, печени, лимфоузлы);

▪ клинический (сыворотка крови больных, переболевших).

В лаборатории проводят:

● Биопробу, когда 10%-ной суспензией головного мозга, органов заражают кролика или котенка подкожно, внутримышечно. Гибель от энцефалита, зуд в месте заражения.

● Вирусологическое исследование, суспензией патологического материала заражают культуру клеток (РК-15, ВНК-21), на 4-5 день ЦПД 6 округлые клетки, симпласты, синтиции. Идентифицируют вирус в РН на культурах клеток.

● РНГА с сывороткой крови больных, подозреваемых. Положительный титр 1:32 и выше.

● ИФА с сывороткой крови обследуемых.

Срок исследования до 6 суток.

4. Оспа животных

Лабораторная диагностика оспы овец и коз по МУ №115-ба от 12.11.85г.

Диагноз ставят по клиническим признакам, результатам вскрытия и результатам лабораторных исследований (согласно п. 18 «Ветеринарных правил осуществления профилактических, диагностических, ограничительных и иных мероприятий, установления и отмены карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию очагов оспы овец и коз» от 23 января 2018 года N 24 диагноз считается установленным, если получен один из следующих результатов:

- выявлены антитела к возбудителю, не связанные с вакцинацией;
- выявлен возбудитель или его генетический материал;
- выявлены специфические тельца-включения (тельца Барреля) в инфицированных тканях;
- клинический (срезанные папулы, везикулы, парные сыворотки);
- патологический (легкие, лимфоузлы).

В лаборатории проводят:

- *вирусоскопию* по Морозову мазков-отпечатков из папул, везикул и патологического материала, обнаруживают скопления вируса (тельца Пашена);
- *биопробу* на ягнятах, когда материал, разведенный физраствором 1:20 – 1:200, втирают в верхнюю губу или вводят внутрикожно в подхвостовую складку, у зараженных возникают клинические признаки заболевания;
- *вирусологическое исследование*, когда 10%-ной суспензией материала заражают первичные культуры клеток, вирусы обнаруживают по ЦПД, идентифицируют в РДП;
- *РДП* с сывороткой крови больных, переболевших.

Срок микроскопического исследования 1 сутки.

Биопроба - до 10 дней в зависимости от вида животных.

5. Оспа птиц

Лабораторная диагностика оспы птиц по МУ от 1985г.

Диагноз ставят по клиническим признакам, результатам вскрытия и лабораторному исследованию, используя материал:

- клинический (соскобы экзантемы, парные сыворотки);
- патологический (слизистую гортани)

В лаборатории проводят:

- *вирусоскопию* мазков отпечатков клинического и патологического материала по Морозову, обнаруживают скопления вируса (тельца Борреля);
- *вирусологическое исследование*, когда 10%-ной суспензией материала заражают КЭ на ХАО или в аллонтаис., гибель КЭ в течение 6 дней, на ХАО очаги некроза, папулы, при микроскопировании обнаруживают скопления вируса;

- *биопроба* на 3-4 месячных цыплятах, 10%-ную суспензию втирают в скарифицированную кожу, на 5-6 день –экзантема, а при микроскопировании мазков-отпечатков - скопление вирусов;

- РДП с сыворотками крови больных, переболевших;
- ИФА с сывороткой крови.

Срок микроскопического исследования до 2 суток, биологического - до 8 дней.

6. Инфекционная анемия лошадей

Лабораторная диагностика инан по Временному МУ МСХ СССР №115-ба от 25.03.1983 г.

Проводят с диагностической целью и планоно. Материал:

- сыворотка и стабилизированная кровь больных;
- кусочки печени, легких, лимфоузлы, почки погибших.

В лаборатории проводят:

- РДП с сывороткой крови и диагностикумом инан, с составе которого антиген, специфическая сыворотка. РДП планоно исследование у лошадей.

- *Гематологическое исследование* проводят у положительно реагирующих в РДП, определяют количество эритроцитов (у больных $\leq 4,5$ млн), гемоглобина ($Hb \leq 50$ г/л), СОЭ (100-170мм/час), процент лимфоцитов (60-75%).

- *Биопроба* на рабочих жеребят, подкожно 100-200 дефибрированной крови подозрительных или 100-200 сыворотки крови, наблюдение 90 дней, появляются клинические признаки б температура, положительная реакция в РДП, положительные гематологические результаты.

- *Гистологическое исследование*, когда в печени, легких, лимфоузлах обнаруживают гемосидерин, гиперплазию селезенки, гломеролонефрит.

Срок гематологического исследования до 2 дней, гистологического - до 5 дней.

7. Грипп лошадей

Лабораторная диагностика гриппа лошадей проводится по временно-му наставлению рекомендованному 15 января 1973 г., б/н.

Материал для исследований:

- носовые смывы от больных лошадей в первые 2...3 дня от начала заболевания;

- материал из носовых полостей берут стерильными тампонами, смоченными физиологическим раствором поваренной соли. Такими тампонами тщательно протирают носовые ходы, после чего опускают тампоны в пробирки.

В лаборатории проводят:

- выделения вируса на развивающихся куриных эмбрионах;
- идентификации вновь выделенного вируса в реакции торможения гемагглютинации с типоспецифическими гриппозными сыворотками;

- установлении специфических антител в парных сыворотках животных. Срок лабораторного исследования до 15 дней.

8. Инфекционный ринотрахеит крупного рогатого скота

Лабораторная диагностика инфекционного ринотрахеита

Инструкция по применению тест-системы для диагностики инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота методом полимеразной цепной реакции в реальном времени. Утв. Россельхознадзором 21.05.2009г.;

Инструкция по применению тест-системы «РИНОКОР» для диагностики инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, г. Москва)

Чтобы точно определить заболевание необходимо лабораторное исследование.

Материал:

- клинический (сыворотка крови больных, носовые выделения);
- патологический (кусочки внутренних органов, трахея, легкие), готовят 10%-ную суспензию.

В лаборатории проводят:

- *Вирусологическое исследование*: заражают МДВК, обнаруживают через 48-96 часов ЦПД (включения в ядрах клеток).
- *РЗГА* с сывороткой крови и *РЗГА* с носовой слизью.
- *ИФА* с сывороткой крови.
- *РНГА* с сывороткой крови и эритроцитарным антигеном.

Срок исследования до 7 дней.

9. Чума свиней

Лабораторная диагностика классической чумы свиней по МУ от 30.12.1996г.

Проводят обязательно, несмотря на то, что диагноз можно поставить по результатам вскрытия, чтобы отличить заболевание от африканской чумы. Материал:

- патологический: лимфоузлы, селезенка, легкие, почка, сгустки крови, готовят 20%-ную суспензию, двукратно замораживают и оттаивают;
- клинический – сыворотка крови.

В лаборатории проводят:

- *РИФ* гистосрезов гистосрезов патологического материала и мазков-отпечатков, обнаруживают специфическое свечение скоплений вируса.
- *РНГА* с антительным диагностикумом и экстрактом патологического материала в титре 1:32 и больше.
- *Вирусологическое исследование*, когда заражают РК-15, ЦПД нет, обнаруживают вирус после 96 часового культивирования с помощью РИФ.

● *Биопроба*. Биологическую пробу ставят в сомнительных случаях путем заражения неиммунных к чуме подсвинков (не менее 5 голов в возрасте 5-6 месяцев) вирусосодержащей суспензией в дозе 2-5 мл подкожно. После заражения возникает заболевание, затем гибель.

- *ИФА с сывороткой крови* – ведущее исследование, чтобы исключить проникновение переболевших-носителей в стадо.

Срок исследования до 3 дней, при проведении биопробы - до 12 дней.

10. Африканская чума свиней

Диагноз ставят на основании результатов лабораторных исследований - согласно п.17 «Ветеринарных правил осуществления профилактических, диагностических, ограничительных и иных мероприятий, установления и отмены карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию очагов африканской чумы свиней» от 31 мая 2016 года № 213 диагноз на АЧС устанавливается по результатам лабораторных исследований проб биологического (патологического) материала и сывороток крови (выявление вируса АЧС или его генетического материала, или антител против возбудителя АЧС).

Лабораторная диагностика африканской чумы

Материал:

- патологический: селезенка, легкие, лимфоузлы, почка, готовят (если ПЦР) 10%-ную суспензию;

- клинический – сыворотка крови, цельная кровь, плазма крови, мазки со слизистой носоглотки, миндалин.

В лаборатории проводят:

- *ИФА с сывороткой крови;*

- *Вирусологическое исследование*, экстрактом патологического материала заражают культуру клеток свинных моноцитов и макрофагов, через 48-72 часа ЦПД, образуются многоядерные гигантские клетки, которые адсорбируют свинье (реакция гемадсорбции), вирус можно идентифицировать в РДП.

- *ПЦР* может быть с любым материалом перечисленным выше (ведущее исследование).

- *ИФА с сывороткой крови.*

Срок исследования до 3 дней.

11. Инфекционный энцефаломиелит свиней (болезнь Тешена)

Лабораторная диагностика болезни Тешена по МУ от 23.03.2002 г.

Материал для исследований только патологический: головной мозг, готовят 10%-ную суспензию.

- *ИФА с суспензией патологического материала.*

- *Вирусологическое исследование*, заражают СПЭВ, вирус обнаруживают по ЦПД (скопление округлых клеток в виде виноградных гроздьев), идентифицируют в РН на культурах клеток, можно в ИФА, или РИФ.

Срок исследования до 30 дней.

12. Псевдочума птиц (ньюкаслская болезнь)

Лабораторная диагностика по ГОСТ 25586-83

Инструкция по применению набора препаратов на основе моноклональных антител для дифференциальной диагностики гриппа птиц и болезни Ньюкасла. Иммуноферментный анализ. Утв. Заместителем руководителя Россельхознадзора 31.10.06г.

Материал:

▪ патологический, трупы вскрывают, берут 2-3 г трахеи, легких, селезенки, костного, головного мозга, измельчают в 2-3 мл физраствора, добавляют антибиотик (гентамицин), центрифугируют, надосадочную жидкость используют;

▪ сыворотка (плазма) крови больных, вакцинированных.

В лаборатории проводят:

● *Вирусологическое исследование*: заражают 9-11-дневных КЭ в аллантоис, погибших вскрывают, ставят РГА с эритроцитами петуха, идентифицируют в РЗГА.

● *РН* с экстрактом патологического материала на КЭ с разными разведениями вируса, определяют индекс нейтрализации, 10 и больше.

● *Биопроба* на 30-дневных цыплятах, когда их заражают экстрактом патологического материала внутримышечно, гибель через 4-6 дней.

● *РЗГА* с сывороткой крови больных, вакцинированных, диагностический титр 1:16 и больше.

Срок серологических исследований до 3 дней.

Биопроба - до 15 дней.

13. Инфекционный ларинготрахеит птиц

Лабораторная диагностика инфекционного ларинготрахеита птиц (ИЛТ) по Временному наставлению по лабораторной диагностике 1994 г

ГОСТ 25582-83 Птица сельскохозяйственная. Методы лабораторной диагностики инфекционного ларинготрахеита;

МУ по выявлению антител к вирусу инфекционного ларинготрахеита птиц в сыворотках крови кур в иммуноферментном анализе. Утв. заместителем руководителя ДВ 09.10.1997 г. Реакция нейтрализации (РН);

Инструкция по применению набора для определения антител к вирусу инфекционного ларинготрахеита птиц иммуноферментным методом при тестировании сывороток в одном разведении. Утв. Заместитель директора по качеству ФГБУ «ВНИИЗЖ» 03.07.2013 г.

Лабораторное исследование необходимо для постановки диагноза. Материал:

▪ патологический: слизистая гортани, трахеи, фибриновые пробки, готовят 10%-ную суспензию;

▪ клинический: плазма или сыворотка крови больных кур.

В лаборатории проводят:

● *Вирусологическое исследование*, заражают КЭ на ХАО, на 6-8 день охлаждают, вскрывают, обнаруживают узелки на ХАО. Из узелков готовят гистосрезы, окрашивают, обнаруживают включения на половину или 2/3 ядра клетки.

● *Биопроба на цыплятах* 30-90-дневного возраста суспензию втирают в клоаку, возникает заболевание.

- *ИФА, РДП, РН на КЭ* с экстрактом суспензии патологического материала.

- *РДП, РЗГА* с плазмой или сывороткой крови больных, в качестве антигена применяют отечественную вакцину из штамма НТ.

Срок серологического исследования до 6 дней, биологического - до 14 дней.

14. Инфекционный бронхит кур

Лабораторная диагностика ИБК (инфекционного бронхита кур) по МУ от 1988г.

ГОСТ 25583-83 Птица сельскохозяйственная. Методы лабораторной диагностики инфекционного бронхита;

Наставление по применению набора для определения антител к вирусу инфекционного бронхита кур иммуноферментным методом при тестировании сывороток в одном разведении. Утв. Заместителем руководителя Департамента ветеринарии 06.06.01г.;

Инструкция по применению набора для выявления антител к вирусам энцефаломиелита птц (ЭП), инфекционного бронхита кур (ИБК), инфекционной бурсальной болезни птиц (ИББ), нькаслской болезни (НБ) и реовируса птиц (РВП) методом иммуноферментного анализа (ИФА). Утв. Заместитель Руководителя Россельхознадзора 22.07.2008г.;

Инструкция к тест-системе для выявления антител к вирусу инфекционного бронхита конкурентным иммуноферментным методом (ELISA) в сыворотке крови и яичном желтке птиц. ID.vet;

МУ по определению антител к вирусу инфекционного бронхита кур в сыворотке крови кур иммуноферментным методом. Утв. заместитель руководителя ДВ 09.10.1997г.

Материал:

- патологический: от погибших цыплят берут трахею, легкие, почки, на санбойне у кур – яйцепроводы, КЭ с признаками карликовости и мумификации, готовят 10%-ную суспензию;

- клинический: сыворотка крови, желтки деформированных яиц, готовят экстракт.

В лаборатории проводят:

- *Вирусологическое исследование*, когда экстрактом суспензии заражают КЭ, после 3-6 пассажа 100%-ная гибель, на вскрытии погибших КЭ карликовость, мумификация, прилипание лапок к голове, ураты.

- *Биопроба* на 10-25-дневных цыплятах, заражают интратрахеально, через 5-18 дней гибель с поражением органов дыхания или поцек (нефрозо-нефрит).

- *РН на КЭ*, чтобы определить серотип возбудителя, необходимо иметь эталонные сыворотки.

- *ИФА с сывороткой крови.*

- *РДП с экстрактом желтков* и эталонными сыворотками против разных серотипов.

Срок исследования до 20 дней.

15. Грипп птиц

Лабораторная диагностика гриппа кур по ГОСТ 25581-91

Проводят обязательно, материал:

- патологический: трахея, селезенка, легкие, головной и костный мозг, готовят 10%-ную суспензию;

- клинический сыворотка (плазма) больных кур.

В лаборатории проводят:

- *Вирусологическое исследование.* Заражают КЭ в аллантоис, амнион, гибель в течение 24-48 часов, обнаруживают вирус в капельной РГА, идентифицируют до субтипа с помощью РЗГА.

- *РЗГА.* Ищут по распространенным субтипам, в первую очередь исключают А-Н5 N1, А-Н5 N2, А-Н 7 N7.

- *ИФА* для выявления специфических у обследованных.

Лабораторная диагностика гриппа уток по ГОСТ 25581-91

Материал для исследований:

- патологический: трахея, легкие, селезенка, головной и костный мозг;
- клинический: сыворотка (плазма) крови больных.

В лаборатории проводят:

- *Вирусологическое исследование.* Заражают УЭ на ХАО, аллантоис – гибель через 48-72 часа, обнаруживают в капельной РГА, идентифицируют до субтипа в РЗГА.

- *Биопроба* на утятах 10-дневных, гибель в течение 5 дней, на вскрытии кровоизлияния, отек легких, мозга.

- *РЗГА и РДП* с сывороткой крови.

Срок исследований в РЗГА при наличии позитивной специфической сыворотки до 1 дня, в РЭК - до 15 дней.

16. Чума плотоядных

Инструкция по применению набора для выявления антигена вируса чумы собак иммуноферментным анализом (ИФА). Утв. заместителем руководителя Федеральной службы по ветеринарному и фитосанитарному надзору 12.08.05г.

Лабораторная диагностика чумы плотоядных (чумы собак, (болезни Каре)

Лабораторное исследование проводят. Чтобы дифференцировать заболевание от бешенства. Материал:

- патологический: головной мозг, готовят 10%-ную суспензию;
- клинический: сыворотка крови.

С экстрактом суспензии мозга проводят:

- *ПЦР.*

- *ИФА.*

- РНГА с антительным диагностикумом.

- *ИФА, РНГА с сывороткой крови.*

- *Вирусологическое исследование* затруднено, заражают первичные культуры клеток почек, легких щенков, или МДВС, Vero, обнаруживают по ППД (синтиции), идентифицируют в ПЦР, ИФА, РНГА.

Срок микроскопического исследования 1 сутки.

17. Лейкоз крупного рогатого скота

МУ по диагностике лейкоза КРС. Утв. Департаментом ветеринарии МСХ № 13-7-2/2130 от 23.08.2000г.;

Инструкция по применению набора для серологической диагностики лейкоза КРС. Утв. заместителем руководителя Россельхознадзора 07.05.2010г, с изменениями от 21.06.2011г.;

Инструкция по применению набора для выявления антител к вирусу лейкоза КРС в сыворотке крови методом

Диагностические исследования на лейкоз проводят: клиническими; патоморфологическими; гистологическими методами, молекулярно-генетическим, серологическим исследованием и биопробой.

● Серологическое исследование включает постановку РИД и ИФА с сывороткой крови обследуемых. Ведущее исследование РИД, цель которого обнаружить специфические Ig, которые появляются через 2-4 недели после заболевания.

● Гематологическое исследование, материал стабилизированная кровь. Определяют количество лейкоцитов в камере Горяева

● ПЦР с сывороткой крови.

● Биопроба, заражают лекоконтратом овец внутрибрюшинно или внутривенно кроликов, через 14-30 дней они реагируют в РИД.

Срок исследования до 3 дней.

18. Контагиозного пустулезный дерматит

Лабораторная диагностика контагиозного пустулезного дерматита по ГОСТ 25723-83

Диагноз ставят по клиническим признакам, результатам вскрытия и лабораторному исследованию, используя материал:

- клинический (соскобы пораженной кожи)
- патологический (соскобы пораженной кожи)

В лаборатории проводят:

● *вирусоскопию* мазков-отпечатков, окрашенных по Морозову или по Романовскому – Гимза, обнаруживают вирусы – овальные тельца;

● *биопробу* на котят, когда суспензию исследуемого материала 1:5, 1:10 втирают в скарифицированную кожу котят, возникает дерматит и гибель;

● *вирусологическое исследование* на культурах клеток L, обнаруживают ЦПД, идентифицируют вирус в РН.

Срок исследования до 3 дней.

19. Миксоматоз кроликов

Лабораторная диагностика миксоматоза кроликов по МУ от 08.05.1988г.

Диагноз ставят по клиническим признакам, результатам вскрытия и лабораторному исследованию, используя патологический материал (свежие трупы кроликов, содержимое опухолей, готовят 10% -ную суспензию).

В лаборатории проводят:

- *ИФА* с экстрактом патологического материала.

- *Биопробу* на белых кроликах или КЭ. Кроликам закапывают суспензию на конъюнктиву или вводят внутривожно, на 3-6 день – заболевание, гибель через 7-16 дней. КЭ заражают на ХАО, гибель через несколько дней, на ХАО папулы или очаги некроза.

- *Гистологическое исследование* патологического материала, готовят гистосрезы, окрашивают и обнаруживают миксомные, злокачественные клетки.

Срок исследования до 20 дней.

20. Ринопневмония лошадей

Лабораторная диагностика ринопневмонии лошадей по МУ от 28.07.80г.

Проводят обязательно при массовой пневмонии жеребят, мертворожденных у кобыл.

Материал:

- мертворожденный, берут кусочки легких, селезенки, тимус, печени, готовят 10%-ную суспензию, с экстрактом ставят РГА с эритроцитами петуха или морской свинки, если результат положительный проводят вирусологическое исследование);

- сыворотка крови, носовая слизь кобыл.

В лаборатории проводят:

- *Вирусологическое исследование.* Заражают культуры клеток (ML, РК-15), вирус обнаруживают по ЦПД: лизис, бляшки. Ставят капельную РГА с культуральной жидкостью, вирус идентифицируют в РЗГА.

- *Серологическое исследование* с сывороткой крови. Ставят РЗГА. Серологическое исследование кобыл на носительство вируса ринопневмонии плановое, а также подлежат исследованию лошади при покупке и транспортировке с территории РФ.

- *ПЦР* с сывороткой крови.

- *РИФ* с носовой слизью.

Срок исследования до 3 дней.

21. Злокачественная катаральная лихорадка

Лабораторная диагностика злокачественной катаральной лихорадки по МУ от 12.11.1985г.

Заболевание регистрируют у северных оленей и у КРС в Африке.

Материал для исследований:

- клинический – сыворотка крови больных, сгусток крови;

- патологический (кусочки селезенки, печени, лимфоузлы, готовят 10%-ную суспензию)

В лаборатории проводят:

- *Биопробу* на морской свинке, котенке, кролике. Заболевание возникает через 3 недели и заканчивается гибелью животного.

- *Вирусологическое исследование*, когда экстрактом сгустка крови, суспензией патологического материала заражают первичные культуры клеток, на 5-9 день ЦПД, включения – «тельца Коудри», синтиции, вирус идентифицируют в РСК, определяя серотип возбудителя.

- РСК с сывороткой крови обследуемых, положительный титр 1:8.
Срок исследования до 03 дней.

22. Болезнь Марека

Лабораторная диагностика болезни Марека по ГОСТ 25586-83

Диагноз ставят по результатам вскрытия:

- у молодняка воспаление бедренного, седалищного нерва, энцефалит;
- у взрослых кур опухоли во внутренних органах: яичниках, яйцепроводах, печени, легких, гиперплазия перьевых фолликул.

Лабораторное исследование проводят, чтобы дифференцировать болезнь Марека от лейкоза. Материал:

- внутренние органы, пораженные опухолями, готовят 10%-ную суспензию;
- сыворотка или плазма крови убойных кур.

В лаборатории проводят:

- *Биопробу* на суточных цыплятах, заражают внутримышечно, через 4-6 недель признаки заболевания: невриты, опухоли во внутренних органах.

- *Биопробу* на КЭ. Заражают 11-12-дневные эмбрионы на ХАО или 5-6-дневные КЭ в желточный мешок. КЭ погибают, обнаруживают на ХАО пузырьки, папулы, у зародыша увеличение селезенки, опухоли в печени.

- *РИФ мазков-отпечатков* из пораженных перьевых фолликул.

- *РДП* с сывороткой убойных кур.

Срок исследования до 30 дней.

23. Парагрипп – 3

Лабораторная диагностика парагриппа – 3 (ПГ-3) по Временному МУ 17.10.1985г.

Материал для исследований:

- патологический: трахея, лезкие, лимфоузлы, готовят мазки-отпечатки, 10%-ную суспензию;

- клинический: сыворотка крови.

В лаборатории проводят:

- *РИФ* с мазками отпечатками, скопления вируса ярко блестят.

- *Вирусологическое исследование*, которое включает заражением экстрактом патологического материала МДВК, ВНК-21, вирус обнаруживают по ЦПД (синтиции, вакуоли), идентифицируют в РЗГА или в реакции гемадсорбции, когда к зараженным культурам клеток добавляют эритроциты коровы, обнаруживают адсорбцию эритроцитов на инфицированных клетках.

- ПЦР с экстрактом патологического материала.
 - РЗГА с сыворотками крови обследуемых, используют диагностикум и эритроциты морской свинки, диагностический титр 1:16 и больше.
 - РНГА с сывороткой крови.
 - ИФА с сывороткой крови.
- Срок исследования до 3 дней.

24. Респираторно-синтициальная инфекция (РС-инфекция)

Лабораторное исследование проводят обязательно при тяжелой массовой пневмонии у телят.

Материал:

- патологический: трахея, легкие, лимфоузлы, готовят мазки-отпечатки, 10%-ную суспензию;
- клинический: парные сыворотка крови.

В лаборатории проводят:

- РИФ с мазками отпечатками, скопления вируса ярко блестят.
- Вирусологическое исследование, которое включает заражением экстрактом патологического материала Таурус-1, вирус обнаруживают по ЦПД (зернистые, сморщенные клетки, включения, синтиции), идентифицируют в РДП, РСК.

- РДП с экстрактом патологического материала.
 - РДП, РНГА с сыворотками крови обследуемых, диагностический титр в РНГА 1:32 и больше.
- Срок исследования до 3 дней.

25. Трансмиссивный гастроэнтерит свиней

Лабораторная диагностика ТГЭС (трансмиссивный гастроэнтерит свиней) по ГОСТ 25580-83

Материал:

- клинический: экстракты фекалий поросят, сыворотка крови свиноматок;
- патологический: легкие, печень, селезенка в первые дни заболевания, готовят 10%-ную суспензию.

В лаборатории проводят:

- ИФА с экстрактом фекалий – ведущее исследование.
- РНГА с сыворотками крови свиноматок и эритроцитарным диагностикумом ТГЭС, положительный титр 1:32 и больше. Исследование плановое, подлежат 5% поголовья свиноматок в племенных хозяйствах.

- Вирусологическое исследование, заражают ППК-66б, через 2-7 пассажей ЦПД, идентифицируют в РН на культурах клеток.

Срок исследования до 3 дней.

26. Коронавирусная инфекция (диареи) телят

Лабораторная диагностика коронавирусной инфекции (диареи) телят по Временному наставлению по лабораторной диагностике от 19.02.1988г.

Материал:

- клинический: фекалий больных телят, готовят экстракт;
- патологический: кусочки легких, готовят 10%-ную суспензию.

В лаборатории проводят:

- ИФА с экстрактом фекалий.
- Вирусологическое исследование с 10%-ным экстрактом легких, заражают первичные культуры клеток телят, обнаруживают по ЦПД (округлые клетки и синтиции), идентифицируют в РГА с эритроцитами крысы.

Срок исследования до 3 дней.

27. Орнитоз птиц

Инструкция по применению тест-системы «ХЛА-ПСИТ» для выявления возбудителя хламидиоза *Chlamydomphila psittaci* методом ПЦР. Утв. Россельхознадзором 15.05.2009 г.;

Инструкция по применению тест-системы «ХЛА-ПСИТ» для выявления возбудителя хламидиоза *Chlamydomphila psittaci* методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, г. Москва);

Инструкция по применению набора для выявления ДНК *Chlamydomphila psittaci* методом ПЦР в реальном времени в полной комплектации (ООО «Фрактал Био», г. Санкт-Петербург)

Лабораторный диагноз основывается на анализе клинико-эпизоотологических данных и результатов лабораторных исследований - микроскопических (выявление элементарных частиц), серологических (РСК) и биопробы на 6 белых мышах и 8 куриных эмбрионах.

Микроскопируют мазки-отпечатки из органов птиц или из желточного мешка, аллантоисной жидкости, окрашенные по Маккиавелло или по Романовскому-Гимза.

Срок микроскопического исследования 1 сутки, серологического - до 3 дней, биологического - до 15 дней.

28. Инфекционный бурсит (болезнь Гамборо, инфекционная бурсальная болезнь).

С целью первичного обнаружение вируса в препаратах-отпечатках из тканей фабрициевой бursы проводят исследования в реакции иммунофлуоресценции. Предварительный диагноз считают установленным, если во всех препаратах выявлено не менее 2-3 инфицированных клеток со специфическим ярко-зеленым свечением цитоплазмы.

Выделение вируса проводят путем заражения не менее десяти 10-11-дневных развивающихся куриных эмбрионов из хозяйств, благополучных по инфекционным болезням. Гибель эмбрионов наблюдается на 3-7-е сутки после инфицирования. Можно использовать 24-48-часовых культур фибробластов куриных эмбрионов или 21-25-дневных цыплят. Через 34-72 часа после цитопатического воздействия вируса на культуры клеток наблюдается обра-

зование пустот, вакуолизация и округления клеток с дальнейшим образованием клеточных конгломератов.

Идентификацию вируса проводят в РН на куриных эмбрионах, в диффузной преципитации в агаровом геле (РДП), а также в ИФА и ПЦР.

Определение специфических антител в сыворотке крови проводят в РН, РИД и твердофазном варианте ИФА.

29. Катаральная лихорадка овец (блутанг)

Инструкция по применению набора для выявления антител к вирусу блутанга иммуноферментным методом «БЛЮТАНГ-СЕРОТЕСТ». Утв. Заместителя руководителя

Россельхознадзора 21.09.2009г.;

Инструкция к иммуноферментному тесту для специфического выявления антител против вируса болезни Блутанга в сыворотке крови жвачных;

Диагноз ставят на основании клинических, эпизоотологических и патологоанатомических данных и результатов серологических исследований (РСК).

Срок исследования до 3 суток.

30. Чума крупного рогатого скота

МУ по проведению обязательного минимума исследований в ветеринарных лабораториях при диагностике болезней животных. Утв. ГВУ МСХ СССР 24.06.1971г.

Диагноз ставят на основании анализа клинико-эпизоотологических и патологоанатомических данных, а также результатов серологического исследования (РСК) и постановки биопробы на 1-2 телятах.

Срок исследования до 10 дней.

31. Вирусный гепатит утят

Инструкция по применению набора для диагностики вирусного гепатита уток методом иммунофлуоресценции

Лабораторный диагноз основан на анализе результатов постановки биопробы и реакции нейтрализации на куриных эмбрионах. Кроме того, учитывают клинико-эпизоотологические и патологоанатомические данные.

Биопробу ставят на 1-2-суточных утятах (не менее двух), которым вводят материал интраназально, внутримышечно, подкожно в дозе 1-3 мл.

Срок исследования до 7 дней.

32. Алеутская болезнь норок

Инструкция по применению тест-системы АБН для выявления возбудителя алеутской болезни норок методом ПЦР. Утв. Россельхознадзором 30.06.2006г.

Диагноз ставят на основании клинических, эпизоотологических, патологоанатомических данных, постановки ПЦР, йодной пробы и гистологического исследования.

Срок гистологического исследования до 3 дней.

33. Ку-лихорадка

Диагноз основан на результатах микроскопических исследований, постановки РСК и биопробы на морских свинках с учетом клинико-эпизоотологических данных.

Микроскопируют мазки-отпечатки из органов, окрашенных по Романовскому-Гимза.

Для получения чистой культуры риккетсий материал от павших или убитых морских свинок пассируют на куриных эмбрионах (не менее 8).

Срок микроскопического и серологического исследований до 3 дней.

Срок биологического исследования до 30 дней.

34. Инфекционный энцефаломиелит лошадей

Диагноз ставят на основании клинико-эпизоотологических, патолого-анатомических, гематологических, гистологических исследований и постановки биопробы на кроликах (не менее двух). Кроликов заражают интрацеребрально в дозе 0,2 мл.

Срок исследования до 30 дней.

35. Африканская чума однокопытных

Лабораторный диагноз устанавливают серологически (РСК) и постановкой биопробы на белых мышах (не менее двух).

Срок исследования 10-21 день.

36. Контагиозный пустулезный стоматит овец (контагиозная эктима)

Диагноз основан на анализе клинико-эпизоотологических данных, результатов микроскопического исследования и постановки биопробы.

При микроскопии исследуют мазки-отпечатки, приготовленные из свежих очагов поражения и кусочков струпьев, окрашенные по Морозову или Пашену.

При биологическом исследовании заражают двух здоровых ягнят вирусосодержащей суспензией в дозе 0,5 мл; вирус культивируют на куриных эмбрионах.

Срок микроскопического исследования 1 сутки, биологического - до 8 дней.

37. Вирусный (энзоотический) аборт овец и коз

Диагноз устанавливают на основании клинико-эпизоотологических данных и результатов микроскопического исследования мазков-отпечатков с пораженных участков плаценты (окрашенных по Романовскому или Маккиавелло), постановки РСК и биопробы.

При постановке биопробы заражают двух клинически здоровых суягных овцематок (в первые 2-3 месяца суягности).

Срок микроскопического исследования 1 сутки, серологического - до 3 дней, а с биопробой - до 20 дней.

38. Вирусная пневмония свиней

Диагноз основывается на анализе клинико-эпизоотологических данных и результатов лабораторных исследований: гистологического и биопробы не менее чем на двух поросятах.

Срок исследования: гистологического - до 3 дней, биологического - до 30 дней.

39. Инфекционный энтерит гусят

Диагноз основан на анализе клинико-эпизоотологических, патолого-анатомических данных и постановке биопробы на 1-4-суточных гусятах.

Срок биологического исследования до 20 дней.

40. Лейкоз птиц

Диагноз ставят на основании патологоморфологических и гематологических исследований с учетом эпизоотологических данных и клинической картины.

Срок патологоморфологического исследования до 3 дней.

Срок гематологического исследования 1 сутки.

3.3. Микозы и микотоксикозы

Болезнетворные грибы вызывают заболевания у сельскохозяйственных животных, пушных зверей, грызунов, птиц, рыб и человека.

Микозы – группа болезней, вызываемых патогенными микроскопическими грибами, активно паразитирующими в организме млекопитающих.

Микотоксикозы – отравления животных токсинами и метаболитами микроскопических грибов. Количество идентифицированных микотоксинов достигло уже более 300, однако из них только шесть можно определить с достаточно высокой степенью чувствительности методом ИФА: афлатоксин, охратоксин, Т-2 токсин, ДОН (вомитоксин), зеараленон и фумонизин.

Микозы классифицируют:

а) Поверхностные микозы кожи и ее производных (дерматомикозы) – трихофития, микроспория, парша;

б) Глубокие микозы – эпизоотический лимфангит, споротрихоз, североамериканский бластомикоз;

в) Висцеральные микозы – гистоплазмоз, криптококкоз, кокцидиоидомикоз, риноспоридиоз, кандидамикоз, аспергиллез, мукоромикоз, пенициллез.

Основными продуцентами микотоксинов являются грибы рода

Penicillium, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Alternaria*, *Claviceps*. Грибы рода *Penicillium* и *Aspergillus* продуцируют в основном афлатоксины, виды *Fusarium* - трихотеценовые микотоксины, зеараленон, фумонизины, некоторые виды *Helminthosporium* и *Alternaria* образуют фитопатогенные токсины, а грибы из рода *Claviceps* синтезируют эрготоксины. Один и тот же вид гриба может синтезировать различные микотоксины в зависимости от субстрата и условий внешней среды. Лабораторными методами в России выявляют около 14 микотоксинов (Т-2 токсин, зеараленон, афлатоксины В1, В2, G1, G2 и М1, фумонизины В1 и В2, охратоксин А, патулин, стеригматоцистин, роридин А, дезоксиниваленол (ДОН, vomitоксин). Корма – основной источник возникновения заболевания. В силосе и сенаже может накапливаться патулин, в сене и соломе — роридин А, ДОН и др. В комбикормах обнаруживается афлатоксин В1, охратоксин А, стеригматоцистин, Т-2 токсин, ДОН, зеараленон и др., в жмыхах — фумонизин В1, афлатоксин В1, охратоксин А, Т-2 токсин, ДОН и др.

Постановка диагноза на болезни, вызываемые патогенными и токсигенными грибами комплексная, и основывается на эпизоотологических, клинических, патоморфологических данных и результатов лабораторных исследований. Дерматомикозы встречаются в любое время года, но чаще в осенне-зимний период.

Диагностический подход при исследовании микозов

1. Дерматомикозы (дерматофитии) – инфекционные заболевания кожи и её придатков, вызываемые дерматомицетами – плесневыми грибами, паразитирующими на ороговевших субстратах (эпидермис, волосы и ногти).

Дерматомицеты (*Epidermophyton*, *Microsporium* и *Trichophyton* spp.) — наиболее распространенные возбудители поверхностных микозов.

2. Диагноз на дерматомикозы устанавливается на основании клиники заболевания и результатов лабораторного исследования, для чего в практике используют микроскопический, люминесцентный, культуральный, генетический методы диагностики.

3. Материалом для лабораторных исследований служат соскобы кожи, волосы, чешуйки, корочки с пораженных или периферических участков кожи, не подвергавшейся лечению. Полученный патологический материал пересылают в чистой закрытой стеклянной посуде (пробирки, флаконы из-под антибиотиков).

4. В условиях лаборатории волосы и чешуйки переносят на предметное стекло в каплю 10%-ного раствора едкого натра или калия на 15-20 мин. Затем небольшая часть материала препаровальной иглой переносится на предметное стекло в каплю 50%-ного водного раствора глицерина, накрывается покровным стеклом и исследуется сначала при малом (8×), затем при среднем (40×) увеличении.

5. С целью дифференциальной диагностики дерматомикозов широко

применяют люминесцентный метод, используя источники ультрафиолетовых лучей (ртутно-кварцевую стационарную или переносную лампу типа ПРК-4, со светофильтром Вуда).

6. Культивирование путем посева на питательные среды: сусло-агар, среда Сабуро, Чапека.

Сроки исследований: микроскопического – 1 день, микологического – 10...20 дней.

Трихофития (стригуший лишай, трихофитоз) - заразная болезнь, вызываемая грибами рода *Trichophyton*. Основными видами возбудителя трихофитии у крупного рогатого скота, буйволов, зебу, оленей являются *T. verrucosum*, *T. faviforme*; у лошадей – *T. equinum* и *T. mentagrophytes*; у овец и коз – *T. verrucosum*, *T. mentagrophytes*; у свиней – *T. mentagrophytes*; у верблюдов – *T. verrucosum*, *T. sarkisovi*; у собак и кошек – *T. mentagrophytes*; у пушных зверей и кроликов – *T. mentagrophytes*, редко *T. verrucosum*; у лабораторных животных (мыши, крысы, хомяки, морские свинки) – *T. mentagrophytes*; у птиц – *T. gallinae*.

Различают следующие формы трихофитии: поверхностную, глубокую (фолликулярную), стертую (атипичную).

Диагноз на трихофитию ставят на основании эпизоотологических данных, клинических признаков и результатов лабораторного исследования патологического материала. Результаты клинического осмотра показывают: наличие чешуек, зуд, потеря шерсти.

В лабораторию направляют соскобы с пораженных частей тела животного вместе с корочками и чешуйками, пораженные волосы с участков, граничащих со здоровой кожей.

Готовые препараты из патологического микроскопируют под увеличением 40: обнаруживают споры в толще волоса или вокруг него. Грибы рода *Trichophyton* обнаруживают в виде прямых гифов мицелия с перегородками, лежащими параллельными рядами по длине волоса. Споры одноклеточные, круглые, овальные, расположены муфтами или цепочками у основания волоса.

При сомнительных результатах проводят микологическое исследование, когда пораженные волосы, до 10 штук раскладывают на среду Сабуро или Чапека. Через 10 суток вырастают колонии. Идентификацию проводят по морфологическим и культуральным свойствам.

Микроспория - заразная болезнь кожи и волос, клинически характеризующаяся образованием очагов поверхностного воспаления кожи, обламыванием волос и поражением когтей. Подвержены микроспории собаки, кошки, пушные звери, кролики, нутрии, лошади, крысы, мыши и человек.

В качестве патогенов выделяют следующие виды возбудителей микроспории: у кошек и собак – *M. canis* (син. *M. lanosum*); у лошадей – *M. equinum*, редко *M. distortum* и *M. gypseum*; у свиней – *M. canis*; у пушных зверей, кроликов – *M. canis*; у лабораторных животных – *M. canis*; у крупного рогатого скота и овец – *M. canis* и *M. gypseum*.

Лабораторная диагностика включает люминесцентный и микроскопический, микологический приемы. Люминесцентный метод предусматривает просмотр под УФЛ с фильтром Вуда волосающего покрова больных животных или пораженного волос в затемненном помещении, волосы, пораженные спорами возбудителя, ярко блестят.

Микроскопию раздавленной капли волоса в 10%-ном растворе гидроксида натрия под увеличением $\times 40$, обнаруживают мелкие споры, расположенные беспорядочно вокруг и внутри волоса.

Микологическое исследование проводят путем посева на сусло-агар, среду Сабуро, Чапека. Вырастают колонии спустя 10 суток, их идентифицируют по морфологическим, культуральным свойствам.

Фавус или парша (*Tinea favosa*) – хроническое грибковое заболевание. Фавус встречается у птиц и редко у млекопитающих. Основные возбудители фавуса – грибы рода *Achorion*: *A. schoenleinii* – возбудитель фавуса у человека; *A. quinckeanum* – вызывает фавус у крыс и мышей, заражаются кошки, собаки, овцы, лошади, поражается и человек; *A. gallinae* – поражает птиц.

Микроскопия. В культуре гриб рода *Achorion* имеет мицелий многоклеточный септированный, иногда разветвленный. Споры округлые или многогранные, располагаются цепочками или группами. Кроме спор в волосе можно увидеть пузырьки воздуха в виде черных длинных тяжей, а также капельки жира.

Культуральные свойства. Культивируют возбудитель парши на тех же питательных средах, что и возбудителей стригущего лишая. Колонии белые, бархатистые, гладкие, с возрастом становятся складчатыми и растрескиваются. Иногда колонии розовые, красные.

Эпизоотический лимфангит – хронически протекающая болезнь однокопытных. Возбудитель – гриб *Histoplasma farciminosum* (*Cryptococcus farciminosus*).

В лаборатории диагноз на эпизоотический лимфангит ставится на основании положительных результатов микроскопического исследования гнойного экссудата из абсцессов, язв. В сомнительных случаях производится посев гноя на питательные среды. Мазки окрашивают по Грамму, Романовскому-Гимзе, Новикову или Стерку. В неокрашенных мазках из гноя легко обнаруживают гистоплазмы, а при окраске мазков в протоплазме клеток видны гранулы светло-сине-зеленого цвета. В мазках из культуры находят сегментированный, ветвящийся, многоклеточный мицелий.

Для культивирования гистоплазм используют: МПА, МППА с 2 % глюкозы и 2,5 % глицерина; агар Сабуро. Рост через 10-12 дней. На плотных средах колонии вначале мелкие, затем крупные, возвышаются над поверхностью среды. Колонии сухие, складчатые, кремового, позднее коричневого цвета.

Срок исследования: микроскопического - 1 сутки, микологического - до 20 дней.

Кандидамикоз (молочница) – заболевание, вызываемое дрожжевидными грибами рода *Candida* (около 150 видов). Болезнь регистрируется у молодняка птиц, животных и человека с поражением слизистых оболочек ротовой полости, пищевода и зоба.

Возбудители кандидамикоза – грибок *Candida albicans*, реже – другие патогенные виды рода *Candida* (*C. tropicalis*, *C. pseudotropicalis*, *C. krusei*). Они размножаются почкованием, образуют псевдомицелий, бластоспоры и хламидоспоры.

Дрожжевая фаза *Candida* представлена одноклеточными организмами относительно крупных размеров - 1,5x14 мкм округлой или овальной формы. Они сравнительно быстро растут на плотных и жидких питательных средах лучше с добавлением углеводов.

В лаборатории проводят исследования патологического материала от птиц и крупного рогатого скота путем микроскопии окрашенных и неокрашенных препаратов; культивированием на агаре Литмана и глюкозном агаре Сабуро; биопробой, заражением не менее двух мышей или одного кролика.

Сроки исследования: микроскопического - 1 сутки, микологического, гистологического с биопробой - до 10 дней.

Аспергиллез (лат. – *Aspergillo*sis; острый и хронический микоз) – инфекционное заболевание птиц, реже млекопитающих других видов, которое сопровождается поражением органов дыхания. Клинически у всех больных кашель, одышка, у птенцов гибель от асфиксии.

Основным возбудителем аспергиллеза у птиц и млекопитающих является грибок *Aspergillus fumigatus*, реже другие грибы данного рода (*A. flavus*, *A. niger* и *A. nidulans*). В промышленном птицеводстве к аспергиллезу наиболее восприимчив молодняк в возрасте от 10 – 15 дней до 4 месяцев.

По морфологическим свойствам гифы разветвленные, септированные, конидии круглые, конидиеносцы с головками. Растут на среде Чапека, Сабуро в течение 7-10 дней при температуре 22 – 37 °С, образуя пушистые колонии сине - зеленого, бурого, черного, желтого цвета.

В ветеринарную лабораторию направляют свежие трупы птиц, носовой экссудат млекопитающих, кусочки пораженных органов с характерными гранулематозными очагами. Лабораторная диагностика аспергиллеза заключается в проведении микроскопии раздавленной капли материала, обнаруживают споры, конидиеносцы с головками; микологическое исследование, когда пораженные участки легких, раскладывают на среде Чапека или Сабуро. Экссудат сеют на те же среды, через 5-7 дней вырастают колонии, которые идентифицируют по культуральным и морфологическим свойствам.

Срок исследования: микроскопического - 1 день, микологического - до 7 дней.

Диагностический подход при исследовании микотоксикозов

Микотоксикозы – широко распространенная группа заболеваний, возникающие в результате поступления в организм ядов микозного происхождения,

присущая практически всем живым организмам; характеризуются различной симптоматикой и разными способами лечения, нанося огромный ущерб животноводству. Восприимчивы все виды животных, включая птиц и человека.

Микотоксины характеризуются внезапностью и массовостью, после изъятия из рациона токсических кормов выделение новых больных прекращается; вырабатываются грибами только в определенный период жизни; не передаются от животного к животному.

Микотоксины отличаются высокой токсичностью, а многие из них обладают мутагенными, тератогенными, канцерогенными и иммуносупрессивными свойствами.

Грибы, вызывающие микотоксикозы делятся на 2 большие группы:

1. Грибы-паразиты. Поражают живые растения, чаще злаки в период вегетации.

2. Грибы-сапрофиты. Размножаются на мертвых растениях и кормах.

Классификация микотоксикозов на основе органотропных эффектов следующая:

- гепатотоксины (афлатоксины, циклохлортин, стеригматоцистин);
- нефротоксины (охратоксин, цитринин);
- нейротоксины (патулин);
- цитотоксины (токсин Т-2, неосоланиол, ниваленол);
- эстрогенные микотоксины (F-2-токсин);
- другие (алкалоиды спорыньи).

Наиболее изучены следующие виды токсикозов:

1. **Эрготизм.**
2. **Стахиботриотоксикоз.**
3. **Фузариотоксикозы.**
4. **Офлатоксикоз.**
5. **Дендродохиотоксикозы.**
6. **Охратоксикоз.**

По степени распространения наибольшее значение имеют фузариотоксикозы – Т-2 токсин, дезоксиниваленол, зеараленон, афлатоксин, охратоксин.

Диагноз на микотоксикозы ставят на основании изучения условий кормления и содержания животных, микологических и токсикологических исследований кормов, а также с учетом клиники интоксикации.

Эрготизм – отравление животных, птиц и человека алкалоидами спорыньи. Алкалоиды и их производные суживают зрачок и кровеносные сосуды, парализуют двигательные симпатические волокна, другие - вызывают сильное сокращение мышечных элементов матки. Возбудитель *Claviceps purpurea* паразитирует на культурных и дикорастущих злаках.

Выделяют две формы эрготизма: гангренозную и конвульсивную. Конвульсивный эрготизм наблюдается у плотоядных, лошадей и овец и характеризуется поражением центральной нервной системы (возбуждение, угнетение, общий тремор, атаксия, судороги). У свиней отравление сопровождается обильной саливацией, рвотой, перемежающимися эпилептическими припад-

ками, судорогами мышц шеи и конечностей. Гангренозный эрготизм характеризуется у птиц омертвением гребня, языка и клюва; у свиней и крупного рогатого скота поражаются ноги, уши и хвост, наблюдаются аборт; у лошадей отмечается отпадение копыт, хвост и грив.

По течению болезни различают острую и хроническую формы эрготизма. При острой форме отравления - поражение нервной системы и желудочно-кишечного тракта; возможны аборт у беременных животных и летальный исход. При хроническом отравлении развивается сухая гангрена некоторых периферических органов, нарушается пищеварение, отмечается бесплодие.

Диагноз ставят на основании клинических признаков и лабораторных исследований — обнаружения в кормах рожков спорыньи. В лабораторию доставляют образцы сена, зерна и мучнистых кормов. Используют органолептический и люминесцентный анализы, пробу Зимина-Гофмана.

Стахиботриотоксикоз развивается в результате скармливания или использования для подстилки соломы, пораженной токсичным грибом *Stachybotrys alternans*. Микроскопический гриб стахиботрис развивается только на отмерших растительных остатках: соломе, мякине, стерне, слабее на сене. К данному виду токсикоза наиболее восприимчивы лошади, однако болезнь может регистрироваться у крупного рогатого скота, свиней, овец, птицы. Путь инфицирования — алиментарный. Для стахиботриотоксикоза характерны быстрота распространения и массовость поражения.

По морфологическим свойствам отмечаем у гриба септированный многоклеточный мицелий, на концах конидиеносцев заметны стеригмы. На стеригмах образуются легко опадающие клетки — конидии. Большое скопление конидий создает черный цвет. По культуральным свойствам растет на среде Сабуро, Чапека при $t +20-25^{\circ}\text{C}$ 5-7 суток. На соломе, зерне, среде Ван-Итерсона гриб образует черный рыхлый налет; на агаре Чапека — колонии черные с белой прозрачной каемкой по периферии, среда вокруг колоний окрашена в бурый цвет. На сусле — агаре колонии черные с радиальными бороздками.

Отравление возникает вследствие скармливания объемистых кормов, пораженных токсичным грибом. Основные клинические признаки: геморрагический диатез, нарушения функций нервной системы и органов кровообращения, некроз слизистых оболочек, тяжелые расстройства желудочно-кишечного тракта. При типичной форме развивается катаральный стоматит и поверхностные некрозы слизистой оболочки рта и кожи губ, наблюдается слабость, сонливость. Для отравления токсином данного гриба характерна высокая летальность (70-90%).

В лабораторию доставляют пораженные корма, кусочки печени погибших. Диагноз устанавливают путем визуального исследования материала, обнаруживают черный сажистый налет. Проводят микроскопию раздавленной капли налета пораженных кормов, обнаруживают овальные споры, конидиеносцы со стеригмами. Путем микологического исследования, делают посева, выделенные колонии идентифицируют по культуральным и морфологическим свойствам, результат исследований в течение 10-15 дней. Токсич-

ность определяют методом кожной пробы на кролике, когда эфирную вытяжку исследуемого материала втирают в скарифицированную кожу кролика, через 3-4 суток воспаление, потом некроз и гибель.

Фузариотоксикозы (Fusariotoxicoses) – ряд алиментарных микотоксикозов, возникающих в результате скармливания животным кормов, пораженных токсигенными штаммами грибов рода *Fusarium*: *F. sporotrichiella*, *F. graminearum*, *F. nivale*. Грибы фузарии поражают все виды кормов при хранении, но преимущественно зерновые. Токсины фузариев называются трихотеценовыми, среди них известно 4 вида: T-2, DAS, DON, F₂ (F₂ – зеараленон). Трихотецены вызывают иммуносупрессию, нарушение кроветворения, дерматиты и бесплодие, мутагенное воздействие.

Токсины T₂, DAS, DON вызывают заболевание, которое называется T₂-токсикоз, продуцент которого – гриб *Fusarium sporotrichioides* (син. *F. tricinctum*). T₂-токсикоз протекает очень тяжело у крупного рогатого скота, свиней, птиц и человека. Отмечают у животных такие явления, как язвенный гатроэнтероколит, поражения центральной нервной системы, сосудов. Патологоанатомическая картина у птицы на вскрытии – поражение слизистой пищеварительного тракта на всем протяжении с многочисленными язвами.

Трихотеценовый токсин F₂ (зеараленон), продуцентом которого является *Fusarium graminearum*, вызывает F₂-токсикоз у овец, коз, свиней, птицы. У овец отмечается охота, сильная саливация (слюноотделение), так как у них развивается стоматит; у суягных – мертворожденные; у свиноматок – мертворожденные, охота; у хрячков – выпадение прямой кишки; у молодняка цыплят – диарея; у взрослой птицы – прекращение яйцекладки, а после убоя (на вскрытии) – кистозная дегенерация яичника.

При изучении морфологии выросшей культуры грибов обнаруживают на воздушном мицелии спородохии (сплетения конидиеносцев в виде подушечек на поверхности гифов), округлые споры, макроконидии серповидной формы на три клетки; микроконидии - шаровидной, грушевидной формы, без перегородок или с 1-2 перегородками, возможны хламидоспоры.

Fusarium graminearum образуют белый, розовый, серо-розовый бархатистый налет, обратная сторона красная. *Fusarium sporotrichiella* образуют белый, желтый налет; обратная сторона красная или оранжевая.

В лабораторию посылают подозрительный корм, зерно легковесное, с маково-серой оболочкой, с пятнами розового или оранжевого цвета. Здесь проводят: визуальное исследование, обнаруживают серый, красный, розовый, оранжевый налет; при микроскопировании в раздавленной капле соскоба налета пораженных кормов, обнаруживают макро-конидии серповидной формы.

Проводят микологическое исследование. В течение 7-10 суток выращивают колонии, которые затем идентифицируют по морфологическим и культуральным свойствам.

Токсичность пробы корма, пораженного фузарием, проверяют на кроликах кожной реакцией, втирая водную вытяжку корма в скарифицированную кожу, возникает дерматит.

Проводится газожидкостная хроматография, масспектрометрия экстракта корма, мицелия гриба с количественным определением и идентификацией трихотеценовых токсинов.

Афлатоксикоз – заболевание многих домашних и диких животных, птиц, возникающее при поедании кормов, пораженных токсическими штаммами грибов рода *Aspergillus* (*Aspergillus flavus* и *A. parasiticus*), продуцирующих афлатоксины. Данным токсикозом поражается и человек при поедании недоброкачественных продуктов животного и растительного происхождения. Все афлатоксины (В₁, В₂, С₁, С₂ и их производные М₁₅, М₂ и др.) отнесены к фуурокумаринам и практически не разрушаются при термической обработке. Афлатоксины и их продуценты нередко обнаруживаются в продуктах животного происхождения: мясе, молоке, яйцах и тканях животных, получавших корм, загрязненный данными ядами.

Афлатоксины - это одна из самых опасных групп ядовитых веществ, оказывающих гепатотоксическое, мутагенное, тератогенное и иммунодепрессивное действие.

При микроскопировании *Aspergillus flavus* имеет округлые, овальные споры и конидиеносцы с головками. Растет на среде Сабуро, Чапека. Образует желтые или оливково-жёлтые колонии. Культивирование при t +22-24⁰С в течение 10 дней.

Афлатоксикоз протекает у животных остро с проявлением гастроэнтероколита, поражением печени и центральной и нервной системы. Клинически диарея, тремор, нарушение координации движений, затем кератоз, ороговение кожи. Возможна гибель животных на фоне цирроза печени.

У цыплят может быть хроническое течение, которое проявляется диарей, отставанием в росте; у погибших – дистрофия печени.

В лабораторию отправляют корма, молоко, фекалии; от павших животных – печень, почки, мышечную ткань.

Здесь проводят вскрытие погибших, обнаруживают характерные патологоанатомические изменения: гастроэнтероколит, дистрофию печени с очагами некроза, дистрофию миокарда; проводят визуальное исследование, обнаруживают желтый налет.

Микроскопированием раздавленной капли налета пораженных кормов, обнаруживают споры, конидиеносцы с головками.

Проводят микологическое исследование, делают посев, выделенные колонии идентифицируют по культуральным и морфологическим свойствам, результат исследований в течение 10-15 дней.

Определяют количество афлатоксина методом тонкослойной хроматографии.

Дендродохиотоксикоз (*Dendrodochiotoxycosis*) – это остро протекающий алиментарный микотоксикоз сельскохозяйственных животных, иногда с летальным исходом, возникающий в результате поедания грубых кормов, поражённых токсическим грибом *D. toxicum*. Токсины дендродохины устойчивы к химическим веществам и высокой температуре. Восприимчивы лошади, свиньи, овцы, собаки, кошки, куры, кролики.

D. toxicum имеет разветвленный септированный мицелий, конидии эллипсоидной формы с заостренными концами, темно-зеленого цвета. Хорошо растет на естественных средах: сене, ячмене и на обычных лабораторных средах: агаре Сабуро, сусло-агаре, среде Чапека при температурном оптимуме 20-25°C. На агаре Чапека спустя 3-4 сут отмечают рост гриба в виде плотного сплетения гиф мицелия, на котором проявляются зеленые, затем чернеющие спородохии.

Различают молниеносное и подострое течение. Дендродохиотоксикоз характеризуется расстройством центральной нервной, сердечно-сосудистой и пищеварительной систем, кровоизлияниями во внутренних органах, язвенно-некротическими процессами на пятачке (у свиней), коже губ и слизистой оболочке ротовой полости, дегенеративными изменениями в паренхиматозных органах.

В лабораторию отсылают сено, солому, зернофураж, остатки перезимовавших кормов. Проводят микологическое исследование – выделение гриба в культуру и определение его токсичности. Токсичность кормов определяют методом кожной пробы на кроликах, а также скармливанием подсвинкам ячменя, специально зараженного грибом.

Охратоксикоз – заболевание животных, возникающее при скармливании кормов, содержащих охратоксины. Типичные продуценты охратоксинов: *Aspergillus ochraceus*, продуцирующий охратоксины А, В, С и Д, афлатоксин, пеницилловую кислоту, и *Penicillium viridicatum*, продуцирующие охратоксины А, В, С и Д, виридикатин, цитринин, афлатоксин, пеницилловую и микофеноловую кислоты. Наиболее чувствительны свиньи, собаки и птица. Патогенные микроскопические грибы поражают все виды кормов при хранении, пищевые отходы.

Наиболее высокой токсичностью обладает охратоксин А. В организме токсин нарушает баланс между антиоксидантами и прооксидантами, вызывая окислительный стресс. Охратоксин А оказывает нефротоксическое, тератогенное, иммунодепрессивное воздействие.

Aspergillus ochraceus имеет овальные споры и конидиеносцы с головками. *Penicillium viridicatum* образует круглые конидии (споры) и конидиеносцы с кисточками. На средах *Aspergillus ochraceus* образует коричневые пушистые колонии, обратная сторона красная. *Penicillium viridicatum* образует бархатистые бледно-зеленого цвета колонии, иногда с конденсатом. Культивирование ведут на среде Чапека, Сабуро в течение 10-15 дней, но они могут вырасти и на основных питательных средах.

Отмечают протекание токсикоза в хронической форме, и характеризуется снижением аппетита, потерей приростов массы тела, отмечается угнетение, полиурия. У свиноматок отмечаются аборт, высокая смертность эмбрионов, рождение нежизнеспособного молодняка. У собак во время нефропатии от резкого повышения артериального давления могут быть припадки и как осложнение инсульт. Затем поражается и печень, диарея, рвота усиливается, и как следствие наступает кома и животное погибает. У цыплят: жажда, диарея, асцит, судороги, скручивание шеи, гибель.

В лабораторию посылают пораженный корм, внутренние органы погибших, трупы птиц. В условиях лаборатории проводят патологоанатомическое вскрытие погибших, обнаруживают гастроэнтероколит, цирроз печени, гиалиновую дегенерацию, кисты почек; визуальное исследование кормов: обнаруживают белый (молодой мицелий), коричневый, красный, бледно-зелёный налёт.

Микроскопию раздавленной капли налета пораженных кормов, обнаруживают споры, конидиеносцы с головками, кисточками; микологическое исследование, делают посев, выделенные колонии идентифицируют по культуральным и морфологическим свойствам, результат исследований в течение 10-15 дней; биопробу на кролике с эфирной вытяжкой исследуемого материала, возникает дерматит.

Проводят газожидкостную хроматографию, масспектрометрию экстракта корма, мицелия гриба с количественным определением и идентификацией охратоксинов.

3.4. Паразитарные болезни

Пироплазмидозы и анаплазмозы. Диагноз на пироплазмидозы ставят на основании эпизоотологических, клинических, патологоанатомических данных и результатов лабораторных исследований (микроскопического, серологического).

Лабораторную диагностику пироплазмидозов и анаплазмозов животных проводят путем микроскопии мазков крови и мазков-отпечатков из внутренних органов.

Мазки крови делают в период развития симптомов болезни, при повышенной температуре до применения специфического лечения.

Бабезиоз (пироплазмоз). Исследуют мазки крови, взятой из периферических сосудов (кончика уха или хвоста). В месте взятия крови выстригают шерсть, очищают кожу ватным тампоном, смоченным водой, затем тампоном, смоченном в спирте. Прокол поверхностной вены делают стерильной иглой или надрезают кожу ножницами или лезвием бритвы. Для исследования берут **первую каплю** крови (в ней содержится значительно больше кровепаразитов, чем в последующих каплях). Дополнительно делают 2–3 мазка.

От павших животных делают мазки из крови при разрезе селезенки, печени, почек, из капилляров головного и костного мозга, но не позднее 4–6 часов после смерти животного (спустя это время возможен полный лизис паразитов). В более поздние сроки мазки следует делать из крови периферических сосудов венчика копыт или конца культи хвоста, где кровепаразиты сохраняются дольше.

При правильном окрашивании мазка пироплазмиды выделяются на розовом фоне эритроцитов в виде контурирующих образований, состоящих из протоплазмы сине-фиолетового цвета, иногда с вакуолью в центре, и ядра красно-рубинового или красно-фиолетового цвета.

Кроме микроскопии мазков крови в лабораторной практике используются серологические методы диагностики РСК, РДСК, РНГА, РИФ, ИФА. Разработана ПЦР - диагностика.

Тейлериоз. Для ранней диагностики (в первые 2-3 дня болезни) берут пунктат из поверхностных лимфоузлов (чаще предлопаточного, коленной складки), иногда печени и селезенки.

Перед проведением пункции животное фиксируют, левой рукой обхватывают лимфатический узел, в месте взятия пунктата выстригают шерсть, обрабатывают спиртом и спиртовым раствором йода. После этого вглубь узла вводят стерильную иглу, соединенную со шприцем, и, оттягивая поршень шприца, всасывают в иглу лимфу. Затем иглу извлекают из лимфоузла, поршнем шприца выдувают из нее на предметное стекло пунктат и делают обычные тонкие мазки. Мазки высушивают, фиксируют, красят по Романовскому и исследуют под иммерсионной системой микроскопа.

При микроскопии пунктата обнаруживают стадии множественного деления тейлерий («коховские шары», «гранатные тела») в лимфоцитах, моноцитах и реже внеклеточно. Они круглой или овальной формы, размером в пределах 8–27 мкм. Ядерное вещество гранатных тел окрашено в рубиново-красный цвет, а протоплазма в синевато-голубой.

Техника взятия пунктата из печени и селезенки такая же. Пункцию селезенки у крупного рогатого скота производят с левой стороны, в 11-е межребрье на горизонтальной линии маклока. Направление иглы - к лопатко-плечевому суставу противоположной ноги. Длина иглы - 8-10 см, диаметр - 0,5 мм.

Пункцию печени производят справа между 11-ми 12-м ребрами, на 2 пальца ниже горизонтальной линии маклока.

Направление иглы - к лопатко-плечевому суставу левой конечности.

Во второй период болезни исследуют мазки из периферической крови на наличие эритроцитарных форм тейлерий.

Для ранней диагностики тейлериоза и установления тейлерионосительства применяют серологические методы - РСК, РДСК и РИФ.

Нутгаллиоз. Исследуют мазки крови, взятой из периферических сосудов (обнаружение нутгаллий в виде «мальтийского креста», количество незначительное).

Разработаны серологические методы диагностики: РСК, РДСК, РИФ, РНГА и др.

Анаплазмоз. Решающим в диагнозе является положительный результат микроскопических исследований мазков крови, окрашенных по Романовскому. В лабораторию для исследования направляют от подозреваемых в заболевании или больных животных тонкие мазки крови из периферических сосудов уха, кончика хвоста или венчика. Мазки крови и кровь берут в период развития симптомов болезни, при повышенной температуре, до применения специфической (этиотропной) терапии.

На анаплазмоз, кроме исследования мазков, исследуют сыворотку крови животных по РСК, РДСК, РНГА, ИФА (ELISA). Для успешной диагностики следует комбинировать различные методы. Разработана ПЦР-диагностика.

Срок микроскопического и серологического исследований (с указанием вида возбудителя) 1 - 2 дня.

Случная болезнь. Лабораторный диагноз ставят на основании результатов микроскопического исследования соскобов со слизистой мочеполювых органов, пунктата из талерных бляшек, серологическими реакциями.

При случной болезни в периферической крови трипаносомы появляются редко, в небольшом количестве, поэтому кровь обычно не микроскопируют.

Основными для выявления скрытых, бессимптомных форм случной болезни являются серологические реакции - РСК, РДСК и др..

Трипаносом обнаруживают в выделениях и соскобах слизистой мочеполювых органов, особенно на ранних стадиях болезни. У жеребцов соскобы берут с уретры стерильной уретральной ложкой или ложкой Фолькмана с притуплёнными краями, а у кобыл – со слизистой вагины стерильным предметным стеклом. Собранную слизь (соскоб с некоторым количеством крови) сразу же исследуют методом «раздавленной капли», без окраски, при среднем увеличении микроскопа, отыскивая живых, подвижных трипаносом.

Из соскобов со слизистой оболочки делают тонкие мазки, окрашивают по методу Романовского-Гимза и микроскопируют.

При появлении «талерных» бляшек исследуют пунктат (кровянисто-слизистое содержимое), который берут из краев бляшек.

Срок исследования - 1 - 2 дня.

Су-ауру лошадей, верблюдов. Диагноз ставят на основании микроскопии периферической крови методом раздавленной (или висячей) капли, мазков из крови, окрашенных по Романовскому-Гимза, мазков-отпечатков из органов, а также серологического исследования проб крови по РСК.

На су-ауру ослов, мулов и собак проводят микроскопическое исследование раздавленных капель или тонких мазков крови. Микроскопию раздавленной (висячей капли) ведут в затемненном поле микроскопа, трипаносомы обнаруживаются по их подвижности в плазме среди массы эритроцитов. В мазках, окрашенных по Романовскому-Гимза, цитоплазма трипаносом голубая, базальное тельце и жгутик рубиново-красного цвета, кинетопласт - темно-фиолетовый.

Для диагностики су-ауру верблюдов применяют формалиновую реакцию (неспецифическая проба). Для ее постановки берут кровь из вены, отстаивают 1–2 суток при комнатной температуре, затем 1 мл сыворотки помещают в пробирку и добавляют 2 капли 40 %-ного формалина. Пробу взбалтывают, закрывают ватной пробкой и оставляют при той же температуре на двое суток. Положительной реакцией считается, если исследуемая сыворотка приобретает плотную (как желе) консистенцию и при опрокидывании

пробирки не стекает, сомнительной – если сыворотка загустевшая, но при наклоне пробирки медленно стекает, отрицательной – если сыворотка осталась без изменений.

Для диагностики хронического течения, скрытой формы у лошадей, собак и верблюдов используют серологические методы исследования: РА, РСК, РИГА и РИФ.

Для дифференциальной диагностики случной болезни и су-ауру (при первом обнаружении трипаносом) делают прививку материала (крови или соскобов) лабораторным животным, имея в виду, что возбудителем су-ауру легко заражаются все лабораторные животные; возбудителем случной болезни лабораторные животные заражаются лишь в виде исключения (дальнейшая перепрививка не удается).

Срок микроскопического исследования 1 день, серологического - 2 дня. При дифференциации возбудителей срок исследования на белых мышах до 10 дней, на других лабораторных животных до 20 дней.

Лейшманиоз. Исследуют мазки из соскобов кожи или из внутренних органов и костного мозга.

Для распознавания висцерального лейшманиоза исследуют кровь с применением формалиновой реакции.

Срок исследования 1 - 2 дня.

Трихомоноз. Материал от животных исследуют под микроскопом в темном поле. Материалом для исследования служат: вагинальные и маточные выделения, абортированный плод, плодные оболочки, околоплодные воды, выделения и смывы из препуция, сперма.

Для обнаружения живых трихомонад из полученного материала изготавливают 4–5 «раздавленных капель», сразу же просматривают в затемненном поле микроскопа при увеличении 200–600 раз. Хорошо заметно движение трихомонад, колебания ундулирующей мембраны и жгутиков; мертвые паразиты теряют жгутики и форму. При исследовании густой слизи ее разбавляют физиологическим раствором в 2–3 раза.

При исследовании спермы каплю ее на предметном стекле смешивают с каплей, разведенной физиологическим раствором (1:500) уксусной кислоты: сперматозоиды погибают, трихомонады продолжают двигаться.

Тонкие фиксированные мазки окрашивают по Романовскому. При микроскопии трихомонады представлены грушевидной и овальной формами, окрашены контрастно: протоплазма в сине-голубой цвет, а ядро в краснорубиновый. При исследовании лучше пользоваться средним увеличением микроскопа и иммерсией, чтобы не пропустить мелкие формы паразитов.

Культуральные методы исследования. При отрицательных результатах микроскопического исследования делают пересевы на питательные среды. Трихомонады лучше растут в анаэробных условиях: используют среду Петровского или пептонно-агаровую. Через 48 - 72 часа и через 7 - 10 дней ис-

следование проводят повторно. Культуральный метод позволяет выявлять быков-трихомонадоносителей, даже в случае отрицательной микроскопии.

Ответ дают через 1 - 2 дня.

Гистомоноз. Гистомонады в помете сохраняются не более 3–6 часов. Для обнаружения живых гистомонад материал (помет, соскобы с пораженных участков кишечника и его содержимое) исследуют в «раздавленной капле» в затемненном поле микроскопа при увеличении 10×40 . Микроскопию следует проводить немедленно после приготовления раздавленной капли на нагревательном столике при температуре 40–42 °С. Гистомонады обладают большой подвижностью за счет жгутиков и псевдоподий.

В трупах гистомонады быстро лизируются, поэтому с целью диагностики материал необходимо брать от вынужденно убитых птиц.

В нативном материале гистомонад дифференцируют от трихомонад и ооцист эймерий, которые паразитируют в кишечнике птиц. Гистомонады двигаются толчкообразно, по кругу, вращаясь вокруг своей оси, не имеют ундулирующей мембраны; трихомонады двигаются поступательно плавно, без толчков, ундулирующая мембрана имеется. Ооцисты эймерий имеют овальную или яйцевидную форму, редко округлую; желтоватого цвета или бесцветные; оболочка двухконтурная, протоплазма зернистая, иногда на одном конце ооцисты имеется небольшое отверстие – микропиле.

Для диагностики гистомоноза можно готовить мазки, окрашивать по Романовскому-Гимза. С целью выявления жгутиков длительность окрашивания должна быть не менее 2–3 часов. В мазке ядро и жгутики красноватого цвета, а цитоплазма голубая.

Эймериозы. Прижизненный диагноз устанавливают на основании исследований фекалий и кишечного содержимого по методу Фюллеборна или Дарлинга; посмертный - путем микроскопического исследования методом раздавленной капли или нативного мазка с пораженных участков кишечника, слизистой оболочки кишечника и его содержимого, печени (у кроликов), почки (у гусей).

При проведении копрологических исследований из каждого образца исследуют 3-4 капли. В поле зрения микроскопа обнаруживают неспорулированные ооцисты эймерий: единичные при субклиническом течении болезни, десятки и сотни при заболевании. Видовую принадлежность эймерий определяют по строению и размерам спорулированных ооцист с помощью специальных таблиц. Предварительно к культивированию ооцист: фекалии помещают в чашку Петри, помещают в термостат. Чтобы предохранить фекалии от плесени и ускорить процесс споруляции ооцист, фекалии обрабатывают 5 %-ным раствором бихромата калия.

Ооцисты эймерий необходимо отличать от яиц гельминтов, которые крупнее, имеют другую форму и строение оболочки. В яйцах некоторых гельминтов заметны процессы дробления и даже личинки на разных стадиях развития.

Срок исследования 1 - 2 дня.

Изоспороз. Прижизненный диагноз ставят по результатам исследования фекалий методом флотации по Фюллеборну, Дарлингу и др. с целью обнаружения ооцист изоспор в раздавленной капле (не менее 3 капель). Исследуют под микроскопом с объективами $\times 10 - \times 90$ и окуляром $- \times 10$. У больных животных обнаруживают большое количество неспорулированных ооцист. Они выделяются в любое время года, но чаще их регистрируют летом.

Ооцисты изоспор имеют двуконтурную оболочку без микропиле и остаточного тела; спорулируют во внешней среде.

Посмертная диагностика ставится при исследовании глубоких соскобов с пораженных участков тонкого, реже толстого кишечника методом раздавленной капли или нативного мазка. Обнаруживают эндогенные стадии развития изоспор (меронты, мерозоиты, гаметы, ооцисты). При окраске мазков по Романовскому-Гимза у эндогенных форм ядро темно-синего цвета, цитоплазма - сине-розового.

Срок исследования 1 - 2 дня.

Криптоспоридиоз. Из фекалий делают нативный тонкий мазок, высушивают, фиксируют и окрашивают карбол-фуксином по Цилю - Нильсену: ооцисты окрашиваются в красный цвет, внутри них 4 спорозоида. Сопутствующая микрофлора окрашивается в зелёный цвет.

При окраске мазков по Романовскому ооцисты обретают синий цвет различной интенсивности, внутри спорозоиты с красноватыми гранулами внутри.

Используются и флотационные методы Дарлинга и Фюллеборна. Из плёнки поверхностного натяжения готовят мазок, фиксируют и красят. В этом случае вероятность обнаружения криптоспоридий повышается, так как в исследуемом материале увеличивается концентрация ооцист.

Ооцисты криптоспоридий очень мелкие (3–5 мкм), поэтому микроскопию ведут под большим увеличением.

Токсоплазмоз. Лабораторный диагноз ставят на основании результатов микроскопических исследований мазков крови, серологических реакций и биопробы на 2 - 3 белых мышах (подкожным введением крови).

Кошек обследуют копроскопически методом Дарлинга или Фюллеборна. При среднем увеличении микроскопа обнаруживают ооцисты токсоплазм. Они округло-овальной формы, с бесцветной двухслойной оболочкой, размером 9–14 мкм, напоминают ооцисты эймерий. Для идентификации ооцист проводят их спорулирование.

Посмертная диагностика проводится исследованием мазков-отпечатков из паренхиматозных органов, лимфатических узлов, головного мозга, глазного яблока, плаценты. Мазки-отпечатки окрашивают по Романовскому-Гимза и микроскопируют под иммерсией.

Дифференцируют от саркоцист и безноитий. Внеклеточные (свободные) токсоплазмы представляются в виде дугообразно изогнутых полулун-

ных образований (4-7 × 2-4 мкм) с несколько суженным одним концом и более широким округлым другим. Ядро шарообразной формы расположено обычно ближе к широкому концу паразита; окрашивается в красный цвет. Протоплазма окрашивается в бледно-голубой цвет, содержит одну или несколько гранул.

Тканевые токсоплазмы имеют округлую и овальную форму, реже – в виде полумесяца. По размерам они меньше свободных форм. Псевдоцисты представлены рыхло сгруппированным скоплением токсоплазм (тахизоитов), не имеющих оболочки; количество паразитов может достигать нескольких десятков. Цисты обычно круглой формы, размером 10–100 мкм, имеют плотную двухконтурную оболочку, содержат сотни токсоплазм (брадизоитов), они лежат так плотно, что в препарате видны только ядра.

Биопроба проводится на белых мышах, которых заражают культурой спорулированных ооцист токсоплазм или патологическим материалом от животных, подозреваемых в заболевании.

Серологическая диагностика - РСК, РДСК, РИФ и др. Разработана ПЦР диагностика.

Срок микроскопического и серологического исследований 1 сутки, биологического - до 1 месяца.

Саркоцистоз. У дефинитивных хозяев исследуют свежесобраные фекалии копроскопически методами Дарлинга или Фюллеборна (ооцисты спорозист выделяются во внешнюю среду спорулированными в отличие от ооцист токсоплазм, изоспор, эймерий).

Для прижизненной диагностики саркоцистоза используют аллергические и серологические методы - РА, РСК и РДСК.

Разработан компрессионный метод исследования биопсированной мышечной ткани.

Посмертная диагностика - обнаружение макроцист саркоцист в мышцах пищевода, сердца, языка, диафрагмы, в скелетной мускулатуре. Они имеют вид удлинённых, иногда от 1 до 20 мм, образований белого или желтоватого цвета, покрыты тонкой оболочкой, от которой отходят внутренние перегородки. Чтобы убедиться, что эти образования являются саркоцистами, их разрушают на предметном стекле препаровальными иглами. Содержимое цисты смешивают с 1–3 каплями 50 %-ного раствора глицерина (или дистиллированной воды). Небольшое количество смеси микроскопируют при среднем увеличении в слегка затемненном поле: в содержимом обнаруживают цистозоиты (мерозоиты) банановидной, бобовидной, эллипсоидной форм.

При исследовании мазков, сделанных из содержимого макроцист, окрашенных по Романовскому-Гимза: цитоплазма цистозоитов окрашивается в бледно-голубой или светло-сиреневый цвет, ядро – в фиолетово-красный.

Компрессионный метод используется для обнаружения микроцист. Из пробы мышц вырезают кусочки с просеяное зерно, четыре среза помещают в компрессориум и исследуют под малым увеличением микроскопа. Микроци-

сты располагаются между мышечными волокнами, имеют веретенообразную или овальную форму. Микроцисты лучше видны, если пробы мышц предварительно окрасить, в том числе и по Романовскому-Гимза.

Для обнаружения цистозоитов в микроцисте 2-5 г мышц и 2-5 мл физраствора размешивают в ступке до получения гомогенной массы, каплю этой жидкости исследуют под микроскопом при среднем увеличении.

Дифференцируют саркоцисты от личинок трихинелл, цистицерков цестод и токсоплазм.

Спирохетоз кур. Диагноз ставят на основании результатов микроскопического исследования мазков крови. Наличие спирохет в мазках является достаточным основанием для постановки диагноза. Кровь берут из надреза гребня, сережек, у водоплавающих птиц – из мякнша пальцев или сосудов межпальцевых перепонки.

1. Исследование цельной крови (для выявления живых боррелий). Каплю крови помещают на предметное стекло, слегка разбавляют нитратной смесью или физиологическим раствором и микроскопируют в темном поле микроскопа. Боррелии видны как подвижные извитые нити.

2. Исследование мазков крови, окрашенных по Романовскому-Гимза. Окрашивание проводят в течение 3–5 часов (для большей контрастности мазки с краской выдерживают в течение суток). Паразиты окрашиваются в сиреневый цвет, эритроциты – в желто-розовый, лейкоциты – в голубой, ядра лейкоцитов и эритроцитов – в фиолетовый цвет. Недостаток метода - длительность окрашивания.

3. Исследование мазков крови, окрашенных тушью (по Бурри). Каплю крови смешивают на предметном стекле с двумя каплями чертовой туши, быстро делают тонкий мазок и высушивают его. Исследуют под микроскопом: на черном фоне видны белые (серебристые), неокрашенные боррелии в виде волнистых нитей между клетками крови.

Боррелии в периферической крови птиц появляются одновременно с подъемом температуры тела. Количество их в первые 2–3 дня резко увеличивается, на 4-5-й день боррелии почти не обнаруживаются. В первые дни заболевания боррелии бывают более короткими, чем в конце болезни.

У цыплят до месячного возраста их обнаруживают в течение всего периода болезни.

Посмертная диагностика. Мазки готовят из периферических сосудов, а также из печени и других паренхиматозных органов свежих трупов птицы.

Дифференцируют спирохетоз от эгиптианеллеза, поскольку оба заболевания имеют схожее клиническое проявление и возбудители передаются клещами *Argas persicus*.

При отрицательном результате микроскопии на спирохетоз ставят биопробу на 2-месячных цыплятах (утятах, гусятах), заражая по 1-2 головы.

Срок микроскопического исследования 1 сутки, биологического - до 7 суток.

Безноитиоз. Диагноз ставят на основании эпизоотологических данных, исследования мазков из пораженных участков кожи, мазков крови с учетом картины вскрытия.

Для лабораторного исследования используют кусочек поражённой кожи, изъятый путём биопсии. Из материала готовят мазки, окрашивают по Романовскому – Гимза и исследуют под иммерсионной системой микроскопа. В период лихорадки в мазках периферической крови ведут поиск эндозоитов: цитоплазма паразита окрашивается в бледно-голубой цвет, а ядро – в тёмно-красный; их обнаруживают как в плазме, так и в лейкоцитах. В биопсированной коже (при раздавливании на предметном стекле) обнаруживают псевдоцисты, мерозоиты и трофозоиты.

Разработаны серологические методы - РСК и РДСК, биопроба (заражение белых мышей и кроликов), методы культивирования.

Срок исследования - 1 - 2 суток.

Балантидиоз. Для прижизненной диагностики исследуют свежевзятое содержимое прямой кишки. Пробу лучше брать тупой пипеткой с резиновым баллончиком.

Для посмертной диагностики берут соскоб с пораженных участков слизистой кишечника, его содержимое и исследуют в первые часы после смерти (через 5–6 часов обнаружить балантидии не удастся, т.к. они лизируются).

Активные вегетативные формы балантидии исследуют в «раздавленной капле» и нативном мазке, приготовленных из капли свежего теплого кишечного содержимого или из кусочка слизи. При необходимости их разводят теплым физиологическим раствором. Препараты исследуют под микроскопом на нагревательном столике при 35–37° (при более низкой температуре простейшие теряют подвижность). Балантидии имеют вид крупных яйцевидных образований светло-желтого цвета. Они находятся в непрерывном быстром движении, уходя за пределы поля зрения. Поэтому для обнаружения их выгоднее пользоваться малым увеличением микроскопа.

Для обнаружения инцистированных балантидий материал исследуют в раздавленной капле и нативном мазке. Для приготовления препарата кусочек кишечной слизи размешивают в капле люголевского раствора, накрывают смесь покровным стеклом и через 5–10 минут просматривают под микроскопом. Цисты имеют вид круглых образований с двухконтурной оболочкой, зернистой протоплазмой и находящимся в ней ядром (макронуклеусом).

Гельминтозы, фасциолезы и другие трематодозы. Исследования на трематодозы осуществляется путем исследования фекалий животных и помета птиц стандартизированным методом последовательных смывов (промываний), методом Болховитинова, методом Вишняускаса.

Яйца фасциол – золотистые или желто-коричневые. Вся полость яйца заполнена желточными клетками. На одном из полюсов крышечка, на другом – шипик. Размер 0,12–0,14 ×× 0,07–0,09 мм.

Яйца парамфистомат – бледно-серые или серые. Желточные клетки занимают не всю полость яйца, оставляя свободным пространство у полюса с «крышечкой». Размер 0,11–0,16 × 0,07–0,08 мм.

Яйца дикроцелий – асимметричные, темно-коричневого или бурого цвета, внутри сформировавшаяся личинка – мирацидий. Штифтик отсутствует. В зрелых яйцах просматриваются глазки Лейкарта. Размер 0,038 – 0,045 × 0,02 – 0,03 мм.

Яйца описторхисов золотисто-желтые, внутри зародыш – мирацидий. Размер 0,026–0,030 × 0,01–0,015 мм.

Яйца простогонимусов – асимметричные, желтовато-бурые, внутри желточные клетки. Размер 0,024–0,028 × 0,013–0,016 мм. С целью диагностики практикуется убой подозрительных в заболевании птиц.

Аскаридатозы, стронгилятозы и трихоцефалезы. Исследование фекалий производят флотационными или комбинированными методами: по методу Фюллеборна (с насыщенным раствором поваренной соли), Котельникова-Хренова (с аммиачной селитрой), методом Дарлинга и др.

Диктиокаулезы жвачных, протостронгилезы, мюллериоз, цистокаулез овец, коз. Исследования проводят только свежих фекалий, взятых непосредственно из прямой кишки животного по методу Бермана-Орлова, методу Шильникова. Исследования проводят - не позднее 4-6 часов с момента взятия фекалий.

Для диагностики диктиокаулеза, протостронгилеза, мюллериоза и цистокаулеза овец и коз применим метод Вайда.

Метастронгилезы, макраканторинхоз свиней. При диагностике метастронгилезов проводят исследования фекалий по методу Щербовича, применяя насыщенный раствор сернокислой магнезии, а при диагностике макраканторинхоза - насыщенный раствор гипосульфита натрия.

Дирофиляриоз плотоядных. Диагноз ставят при исследовании периферической крови в препарате «толстая капля»: каплю крови помещают на обезжиренное предметное стекло, покрывают покровным и микроскопируют. Для лучшей видимости к капле крови добавляют одну-две капли физраствора и микроскопируют при малом увеличении.

Можно исследовать мазки крови, окрашенные по Романовскому-Гимза.

Метод Кнотта. 1-2 мл венозной крови смешивают в пробирке с 10 мл 2% раствора формалина, центрифугируют 5 мин. при 1-1,5тыс. об./мин., надосадочную жидкость сливают. Небольшую каплю осадка помещают на предметное стекло, накрывают покровным стеклом, микроскопируют при малом (среднем) увеличении и опущенном конденсоре. Микрофилярии прямолинейно вытянуты, с хорошо различимыми внутренней структурой, головным и хвостовым концами.

Разработана ПЦР-диагностика.

Кровь лучше брать в вечерние часы, когда отмечается наибольший выход микрофилярий.

Цестодозы. Фекалии исследуют методами гельминтокопроскопии и гельминтоовоскопии.

Яйца цестод обнаруживают флотационными и комбинированными методами: по методу Фюллеборна, Котельникова-Хренова, Вишняускаса, Щербовича, методу Дарлинга и др.

Яйца мониезий по форме многогранные, светло-коричневые или темно-серые, диаметр 0,05-0,07 мм, внутри содержат онкосферу с грушевидным аппаратом. *M. expansa* – шестигранные (под микроскопом в проекции имеют форму неправильного треугольника), у *M. benedeni* – 10-12-гранные (под микроскопом как четырехугольные, реже пятиугольные).

Яйца аноплоцефалид лошадей круглой или овальной формы, с тремя оболочками, крупные (диаметр 0,05–0,08 мм), внутри – онкосферы. Различие в длине грушевидного аппарата: у *A. perfoliata* он равен радиусу яйца, у *A. magna* - меньше радиуса яйца, у *P. mamillana* - превышает радиус яйца.

Авителлинид дифференцируют по зрелым членикам, при этом учитывают размер, форму, внутреннее строение. Яйца в зрелых члениках заключены в капсулы и содержатся в парутеринных (околоматочных) органах: у тизаниезий - их множество, у авителлин - один, у стилезий – два. Яйца мелкие (0,02–0,03 мм), онкосфера с эмбриональными крючьями, но без грушевидного аппарата.

Цестодозы птиц. Прижизненный диагноз устанавливают на основании обнаружения члеников, обрывков стробил или целых цестод (давлений) при осмотре помёта птиц или после исследования методом последовательных промываний. Некоторые мелкие гельминты (давления) или отдельные сколексы цестод могут выделяться вместе со слизью кишечника, всплывают или находятся во взвешенном состоянии, в связи с чем следует просматривать осадок, верхний слой и промывные воды.

При диагностике используют методы гельминтоовоскопии по Фюллеборну, по Дарлингу, по Щербовичу и др. Но они не позволяют дифференцировать цестод, так как яйца мало отличаются на видовом или даже родовом уровнях: овальные, бесцветные или светло-серые, скорлупа из трёх оболочек, внутри - овальная онкосфера с шестью эмбриональными крючочками.

Цестодозы плотоядных

Тенидозы. Диагноз устанавливают гельминтокопроскопией по нахождению зрелых проглоттид в фекалиях методом последовательных промываний. Исследовать следует свежесобранные фекалии: членики тениид обладают подвижностью, расползаются во внешней среде, поэтому в фекалиях их можно не обнаружить. Тенииды отличимы от других цестод по отдельным гермафродитным или зрелым членикам, но диагноз будет групповым –

тениидозы. Для видового диагноза необходима стробила со сколексом. При эхинококкозе и альвеококкозе диагноз можно поставить по отдельным изолированным членикам.

Овоскопией ставится также групповой диагноз, так как их яйца тениид однотипны по строению и величине: овальные, мелких размеров (30–40 мкм), внутри содержат онкосферу с шестью эмбриональными крючьями, окружённую радиально исчерченной оболочкой.

Дипилидиоз. Диагноз основан на обнаружении члеников при гелминтокопировании и при исследовании методом последовательных промываний. Членики напоминают по форме огуречные семена, длина больше ширины, ширина 2-3 мм. При микроскопии - зрелые членики содержат капсулы (коконы), наполненные яйцами (8-21 шт.), и яйца из распавшихся коконов.

Дифиллоботриоз. При гелминтоскопии находят членики или обрывки стробилы. Ширина члеников больше длины. Матка открытая, располагается в центре членика. Яичник напоминает по форме крылья бабочки, находится позади матки

Гельминтоовоскопия проводится методами флотации. Яйца овальные, 0,07 x 0,045 мм, с гладкой оболочкой, светло-коричневого цвета, по форме похожие на яйца трематод, с крышечкой и небольшим выступом. Внутри содержат яйцеклетку, окружённую желточными клетками.

Срок исследования на все гелминтозы до 2 дней.

Акарозы

Диагноз на саркоптоз, псороптоз, хориоптоз, отодектоз, нотоэдроз, кнемидокоптоз, демодекоз устанавливают на основании клиники, микроскопического исследования соскобов кожи на наличие клещей с учетом вида пораженных животных.

Материал для исследования берут как со «свежих», еще не уплотнившихся очагов поражения, так и со «старых» очагов с загрубевшими патологическими наложениями (струпья, корки), на границе между пораженной и условно здоровой кожей. Материал для исследований берут из нескольких мест.

Соскобы делают с помощью острых предметов (скальпеля, ножа), скабливая легкими движениями мелкие корочки и поверхностные слои кожи. При подозрении на саркоптоз, нотоэдроз соскобы делают более глубокими, снимая слои эпидермиса до появления сукровицы; при отодектозе плотоядных и псороптозе кроликов исследуют корочки и чешуйки внутренней поверхности слухового прохода. При хориоптозе исследуют поверхностные соскобы. При кнемидокоптозе соскобы делают под роговыми чешуйками (после их выщипывания) конечностей и с пораженных участков кожи поверхности тела.

Материал исследуют биотическими методами Н.Н. Богданова, Г.З. Шика, Д.Р. Приселковой и др., а также абиотическими с использованием 10% раствора едкого натрия (калия) или керосина.

Материал для исследования на демодекоз берут из 3-5 бугорков (предварительно в этом месте выстригают шерсть, обрабатывают поверхность кожи спиртом), проколов их в центральной части иглой. Содержимое бугорков выдавливают, переносят с помощью скальпеля во флакон (пробирку) с вазелиновым маслом (физраствором), закрывают пробкой. Содержимое бугорка переносят на предметное стекло, равномерно распределяют по его поверхности, накрывают покровным стеклом и микроскопируют при малом увеличении в затемненном поле микроскопа. При отсутствии четко выраженных бугорков делают соскобы. У собак кроме глубоких соскобов при пустулезной форме болезни берут пустулезную жидкость, нанося ее по каплям на предметное стекло.

Срок исследования 1 - 2 дня.

3.5 Болезни рыб

Аэромоназ (краснуха, геморрагическая септицемия) карпов

Диагноз устанавливают на основании клинико-эпизоотологических и патологоанатомических данных, а также результатов бактериологических исследований и биопробы.

Для исследования в лабораторию направляют не менее 5 живых рыб с признаками острого и подострого течения болезни.

Рыба с признаками хронического течения заболевания для исследования непригодна

Исследование на аэромоназ включают посевы на питательные среды и определение патогенности выделенных культур; при необходимости проводят серологическое исследование для определения серогрупповой принадлежности выделенной культуры.

В целях уточнения проводят биологическое исследование.

Посевы делают на МПБ, МПА и среду конго-рот с сахарозой материалом из сердца, печени, почек, селезенки, асептической жидкости, головного мозга, кожных пузырей и геморрагически воспаленных участков кожи (свежеобразовавшихся язв). Материал берут только от живых рыб *Aeromonas hydrophila* от бактерии сходных родов проводят определение оксидазной активности культуры, подвижности, способности к расщеплению гликозы в среде Хью-Лейфсона (тест окисления-ферментации), ферментация маннита на среде Гисоа.

Выделенную культуру проверяют по РА с типоспецифическими сыворотками и патогенным штаммом *Aeromonas punctata*. Серологическая идентификация выделенных культур основана на выявлении специфических антигенов с использованием типоспецифических аэромонадных сывороток в пластинчатой реакции агглютинации (РА).

Биопробу проводят на 5 карпах весом 50 - 200 г., завезенных из благополучного по аэромоназу хозяйства.

Двухсуточную бульонную культуру или смыв с агара 0,65%-м раствором NaCl с концентрацией 2 млрд. микробных тел вводят рыбам внутрибрюшинно в дозе 0,2 мл. Температура воды в аквариумах, где содержат рыб, должна быть не ниже 18-20°C.

Одновременно ставят контроль на 3 рыбах, которым вводят стерильный МПБ в тех же дозах.

Срок наблюдения 10 суток.

В случае заболевания или гибели рыб проводят бактериологическое исследование. Выделенную культуру идентифицируют.

Биологическую пробу считают положительной, если все зараженные рыбы заболели или погибли с признаками аэромоноза, а из крови и внутренних органов реизолирована исходная культура.

Лабораторный диагноз на аэромоноз считают установленным при выделении культуры со свойствами, характерными для возбудителя болезни и патогенной для подопытных рыб.

Срок бактериологического исследования до 7 дней, с биопробой - до 20 дней.

Воспаление плавательного пузыря карпов

Диагноз устанавливают на основании данных клинико-эпизоотологических и патологоанатомических исследований.

Для патологоанатомического вскрытия из каждого водоема берут 25 экземпляров рыб (сеголетков, годовиков и двухлетков) для выявления комплекса характерных изменений в плавательном пузыре и других органах.

Для установления степени зараженности рыб микроспоридиями (экстенсивность и интенсивность инвазии) проводят паразитологические исследования почек, мазков крови, мазков и отпечатков из почек, печени и селезенки больных и условно здоровых рыб. Кусочки туловищной почки продавливают между стеклами и тщательно микроскопируют при увеличении не менее 400 на наличие трофозоитов и спор *Sphaerospora renicola*. Кровь берут у сеголетков, годовиков или двухлеток карпа из хвостовой артерии или сердца с помощью пастеровской пипетки или шприца. Высушенные мазки крови и отпечатки органов окрашивают по Паппенгейму или Романовскому Гимза, микроскопируют под иммерсией. Интенсивность инвазии определяют путем просмотра не менее 50 полей зрения микроскопа. Доспоровые стадии микроспоридий представляют собой округлые клетки размером 5-13 мкм с включениями 1-4 веретенновидных или 48 овальных или треугольных вторичных клеток.

При гистологическом исследовании готовят парафиновые срезы, которые окрашивают гематоксилин-эозином. На начальной стадии заболевания обнаруживают серозный отек и инфильтрацию лейкоцитами сосудистого слоя плавательного пузыря, набухание и метаплазию покровного эпителия, который превращается из плоского однослойного в кубический или цилиндрический. Нередко в сосудистом слое встречаются шаровидные цисты микроспоридий. При хроническом течении болезни поврежденные участки пузыря за-

мещаются фиброзной тканью, что приводит к сглаживанию сосудистого и других его слоев, видны скопления гемосидерина желто- бурого цвета.

Срок исследования до 3 дней.

Оспа карпов. Диагноз ставят на основании данных клинико-эпизоотологических и патологоанатомических исследований.

Срок исследования до 3 дней.

Фурункулез лососевых рыб. Лабораторная диагностика основана на получении культуры возбудителя и биопробе.

Посевы делают на МПБ, МПА и агар Фольмана материалом из внутренних органов и невскрытых абсцессов. Идентификацию свежесделанной культуры проводят с учетом морфологии бактерий, характерного роста на МПБ и МПА (побурение сред), биохимических свойств и способности микроба вызывать гибель годовиков и двухлетков форели с характерными для фурункулеза изменениями в органах и последующим выделением чистой культуры. Для биопробы заражают не менее 5 рыб.

Диагноз устанавливают на основании результатов бактериологических и биологических исследований, а также клинико-эпизоотологических данных и патологоанатомической картины.

Срок исследования до 10 дней.

Бранхиомикоз. Лабораторный диагноз ставят на основании обнаружения в кровеносных сосудах при микроскопии жаберных лепестков характерных гифов гриба, наполненных спорами.

Микроскопии подвергают некротизированные участки, чаще жабры больных рыб. Соскобы с жабр помещают на предметное стекло, добавляют несколько капель воды или других растворов, раздавливают покровным стеклом и просматривают при малом и среднем увеличении. В поле зрения микроскопа хорошо видны гифы гриба со спорами. В гистологических срезах они располагаются в просвете сосудов и респираторных складках, окрашиваются гематоксилин-эозином в темно-лиловый цвет.

Для выделения возбудителя бранхиомикоза посевы делают из жабр, подвергшихся гнилостному разложению.

Окончательный диагноз ставят с учетом клинико-эпизоотологических данных.

Срок исследования до 3 дней.

Сапролегниоз (дерматомироз) рыб и икры. Лабораторный диагноз ставят на основании выявления гифов гриба при микроскопическом исследовании свежих неокрашенных препаратов из пораженных участков кожи рыб или икры.

Проводят микроскопию патологического материала. При этом исследуют нативные препараты из пораженных органов с добавлением нескольких

капель 50%-ного водного раствора глицерина, 0,9%-ного раствора хлорида натрия или водопроводной воды.

С целью обнаружения сапролегниевых грибов исследуют под микроскопом соскобы с кожи, жабр, носовых ямок, а также икру. При этом хорошо видны гифы гриба, которые заканчиваются зооспорангиями.

Чистые культуры грибов выделяют на обычных грибных средах — агаре Сабуро, Чапеко, МПА.

Сапролегниевые грибы хорошо растут на стерилизованных кипячением семенах конопли и льна, помещенных на агаровые пластины (1,5%-ный агар на воде), которые раскладывают в чашках Петри. Грибок растет при комнатной температуре в виде ватообразных колоний. Его также культивируют на МПА, агаре Чапеко и Сабуро, для чего вырезают из них небольшие блоки, засевают культурой и раскладывают в чашки Петри.

Срок исследования 1 день.

Инфекционная анемия форели. Диагноз устанавливают на основании клинических, патологоанатомических исследований и эпизоотологических данных с подтверждением биопробой.

Биопробу проводят путем заражения 5 - 10 здоровых форелей или лососей фильтратом суспензии из внутренних органов (почки - обязательно) рыб, пропущенной через мембранные или иные фильтры № 2 или 3. Фильтрат вводят внутримышечно в дозе по 0,25 мл.

Срок исследования до 25 дней.

Вертеж лососевых. Лабораторный диагноз устанавливают на основании результатов клинических, микроскопических и гистологических исследований хрящевой ткани рыб с целью обнаружения возбудителя болезни, а также спор паразитов в мозгу, печени, просвете кишечника.

Срок исследования до 5 дней.

Миксоболиоз карпа. Лабораторный диагноз устанавливают на основании результатов микроскопии соединительной ткани внутренних органов с определением вида возбудителя.

Срок исследования до 2 дней.

Костиоз. Диагноз устанавливают на основании учета клинических проявлений болезни и результатов микроскопических исследований слизи с поверхности рыбы (обнаружение возбудителя).

Срок исследования 1 день.

Триходиниоз, хилодонеллез, ихтиофтириоз. Диагноз устанавливают на основании микроскопирования соскобов с жабр и поверхности тела рыбы с установлением вида возбудителя.

Срок исследования 1 день.

Сангвиникоз. Лабораторный диагноз устанавливают на основании микроскопии жабр, почек и сердца и обнаружения возбудителя и яиц в кровеносных сосудах, а также на основании учета клинических проявлений болезни и эпизоотологических данных.

Срок исследования 1 день.

Кокцидиоз. Лабораторный диагноз устанавливают на основании результатов микроскопии соскобов со слизистой оболочки кишечника и его содержимого. При окончательном диагнозе учитывают эпизоотологические данные.

Срок исследования 1 день.

Моногеноидозы (дактилогироз и гиродактилез). Лабораторный диагноз устанавливают на основании микроскопии соскобов слизи с поверхности тела рыбы, жабр и определения вида возбудителя.

Срок исследования 1 день.

Трематодозы, цестодозы, нематодозы. Диагноз ставят на основании результатов паразитологического исследования с целью установления видовой принадлежности возбудителя с учетом эпизоотологических данных и клинических признаков болезни.

Срок исследования 1 день.

Крустациозы (аргулез, эргазилез, лериеоз, синэргазилез). Диагноз устанавливают путем определения вида возбудителя микрокопированием с учетом клинико-эпизоотологических данных.

Срок исследования 1 день.

Гельминтозоозы (описторхоз, дифиллоботриоз и др.). Диагноз ставят на основании патологоанатомического вскрытия рыбы, обнаружения возбудителя компрессорным методом и биологической пробы на 3 - 5 котят или морских свинок с учетом эпизоотологических данных.

Срок исследования до 20 дней.

Паразитологические исследования

При таких исследованиях клиническому осмотру подвергают не менее 100 рыб из каждого пруда, паразитологическому вскрытию – мальков 25 экз., годовиков 10-15, рыб старших возрастов 5-10 экз.

Используя методики, разработанные В. А. Догелем, Э. М. Ляйманом, А. П. Маркевичем, проводят полное паразитологическое исследование рыб. Рекомендуются осуществлять его в нижеследующем порядке: кожа, плавники, носовая полость, жаберы, глаза, кровь, брюшная полость, сердце, печень и желчный пузырь, селезенка, кишечник, почки, мочеточники, пла-

вательный пузырь, половые железы, мышцы, головной и спинной мозг, хрящевая ткань.

При наружном осмотре обращают внимание на наличие кровоизлияний, язв, припухлостей, черных пятен на разных участках тела рыб, собирают всех видимых крупных эктопаразитов. Для обнаружения микроскопических организмов с поверхности тела, плавников соскабливают скальпелем слизь, помещают ее на предметное стекло, смешивают с несколькими каплями водопроводной воды и рассматривают при малом и среднем увеличении микроскопа. В них находят жгутиконосцев, инфузорий, споровиков, моногеней.

Из носовых ямок пипеткой при многократном промывании их водой извлекают слизь, после чего микроскопируют. В слизи могут быть найдены инфузории, слизистые споровики, личинки трематод, пиявки, рачки.

Для исследования жаберного аппарата удаляют жаберные крышки, вырезают жаберные дуги с жаберными лепестками и помещают на препаровальные стекла, смачивают водой и рассматривают первоначально под лупой. У мелких рыб жаберные дуги с лепестками, у крупных — отделенные от дуг лепестки компрессируют между двумя стеклами с добавлением воды. Микроскопически исследуют соскобы тканей с жабр при малом и среднем увеличении микроскопа. На жабрах можно обнаружить простейших, моногеней, яйца сангвиникол, рачков и др.

Глаза извлекают из глазных впадин, помещают на предметное стекло и вскрывают острыми ножницами белочную оболочку. Стекловидное тело и хрусталик компрессируют между двумя предметными стеклами и просматривают под микроскопом. При этом часто обнаруживают личинок диплостом.

Для исследований на наличие трипанозом и трипаноплазм кровь берут пастеровской пипеткой из сердца или хвостовой вены. Каплю, крови наносят на обезжиренное предметное стекло и добавляют каплю лимоннокислого натрия (цитрата натрия) для предотвращения свертывания, накрывают покровным стеклом, края которого замазывают вазелином, и микроскопируют.

Вскрывают брюшную полость дугообразным разрезом от анального отверстия к основанию левого грудного плавника. Боковую стенку отворачивают пинцетом и осматривают брюшную полость, обращая внимание на наличие ремнецов, нематод, а под серозными покровами и в брыжейке — на цисты и капсулы, содержащие личиночные стадии ленточных и круглых червей, миксоспоридий и др.

Сердце извлекают из сердечной полости, помещают на стекло, вскрывают, добавляют немного физиологического раствора и раздавливают другим стеклом. В нем обнаруживают сангвиникол, цисты миксоспоридий и др.

Печень, поджелудочную железу, селезенку, почки исследуют по одинаковой методике. Сначала проводят наружный осмотр этих органов, а затем их разрезают на кусочки, компрессируют и микроскопируют. Для исследова-

ния желчного и мочевого пузырей их помещают на стекло, вскрывают и собирают содержимое, после чего микроскопируют. В отдельных случаях делают соскобы со слизистых оболочек пузырей и также микроскопируют. Указанные органы являются местом обитания личинок гельминтов, многих видов споровиков и других паразитов.

В плавательном пузыре исследуют стенки и полость, в которых могут быть обнаружены микроспориций, личинки филометроидесов.

Половые органы исследуют компрессорным методом. В них могут локализоваться микроспориции и плероцеркоиды лентецов. В желудочно-кишечном тракте исследуют несколько отрезков. Обнаруженных крупных гельминтов собирают и помещают в физиологический раствор. Содержимое кишок соскабливают скальпелем и исследуют компрессорно.

Для исследования мышц с рыбы снимают кожу и осматривают мышцы снаружи. Могут быть обнаружены личинки возбудителя чернопятнистого заболевания. Затем острым скальпелем разрезают мышцы на тонкие пластинки толщиной 3-5 мм, которые просматривают невооруженным глазом, а затем компрессируют и исследуют под микроскопом.

Головной мозг извлекают из черепной коробки и помещают на стекло, готовят раздавленные препараты. Мозговую ткань просматривают под микроскопом частями. Для исследования спинного мозга перерезают позвоночник в задней части, в канал вводят проволоку, извлекают содержимое на стекло и исследуют компрессорно.

Исследование хрящевой ткани особенно важно в форелевых хозяйствах, неблагополучных по вертежу. Споры возбудителя этого заболевания локализуются в слуховых капсулах и в межпозвоночных хрящах. Отделяют кости и хрящи головы, очищают от мышц позвоночник, измельчают их на мелкие кусочки, смачивают водой и частями исследуют под микроскопом при среднем увеличении.

Кроме исследования паразитов в живом и естественном виде на нативных препаратах проводят сбор и фиксацию материалов для последующей окраски, более подробного определения видов, приготовления постоянных препаратов. Особенно это важно при обнаружении редких или новых видов паразитов.

Простейших окрашивают по Романовскому — Гимзе, метиленовым синим или железным гематоксилином. Для окраски трематод и цестод применяют квасцовый кармин. Моногенетических сосальщиков, микроспориции заключают в глицерин-желатину, замазывают сухие края покровных стекол бальзамом или черным лаком и хранят. Скребней и рачков также не красят, а для приготовления постоянных препаратов просветляют и заливают в бальзам. Окраску и заключение паразитов рыб проводят по общепринятым в паразитологии методикам.

3.6. Болезни пчел

Американский гнилец

Диагноз на американский гнилец ставят на основании эпизоотологических данных, характерных признаков поражения расплода и результатов лабораторного исследования.

Для исследования в лабораторию направляют образцы сотов размером 10 x 15 см с больными и погибшими личинками. Образцы пересылают в фанерном или деревянном ящике, отделяя их друг от друга и от стенок деревянными планками. Соты нельзя обертывать бумагой. Заплесневевший материал для исследования непригоден.

Лабораторная диагностика американского гнильца включает микроскопию мазков из патологического материала и выделение культуры возбудителя с последующей ее идентификацией.

Готовят мазки из массы разложившихся личинок или сухих корочек. С этой целью из ячеек сотов пинцетом извлекают не менее 10 погибших личинок и помещают в 5 мл стерильного физиологического раствора. Содержимое пробирки доводят до кипения над пламенем спиртовки, охлаждают и растирают до получения однородной суспензии. Из суспензии готовят мазки, окрашивают по Граму и для обнаружения спор - 2%-ным спиртовым раствором карболового фуксина в течение 1,5-2 мин. При наличии возбудителя в мазках обнаруживают овальные споры и одиночные грамположительные палочки.

Затем суспензию высевают в МПБ, МПА с добавлением 10% нормальной сыворотки крови лошади или среду Уайта. Посевы инкубируют в термостате при температуре 37-38°C в течение 24-72 ч. В положительном случае в МПБ *Vac. larvae* дает помутнение, через 48-72 ч среда просветляется, на дне пробирки образуется осадок. На плотных средах через 48-72 ч культивирования появляются шероховатые, локонообразные слегка выпуклые колонии, вначале прозрачные, затем серовато-белые. Позднее наблюдается сплошной, рост в виде серовато-белых наложений на поверхности агара.

Выделенные культуры идентифицируют по морфологическим (окраска по Граму), культуральным и биохимическим свойствам. Ферментативные свойства изучают путем выращивания в течение 2-5 суток на жидких средах Гисса с добавлением 10% нормальной сыворотки крови лошади. Возбудитель расщепляет глюкозу с образованием кислоты без газа, не сбраживает мальтозу, сахарозу, арабинозу, восстанавливает нитраты в нитриты, не образует каталазу, не обладает гемолитической активностью.

Диагноз на американский гнилец считается установленным при выделении из патологического материала культуры со свойствами, характерными для *Vacillus larvae*.

Срок исследования до 10 дней.

Европейский гнилец

Диагноз ставят на основании эпизоотологических данных, характерных признаков поражения расплода, результатов лабораторного исследования.

В лабораторию направляют образцы сотов размером 10 x 15 см с больными и погибшими личинками (в случае гибели открытого расплода образец должен содержать неразложившиеся личинки).

Исследование на европейский гнилец включает микроскопию мазков из патологического материала и выделение культур возбудителей с последующей их идентификацией.

Из ячеек сотов стерильным пинцетом извлекают 10-15 погибших личинок или корочек, заливают 5 мл стерильного физиологического раствора и растирают до получения однородной суспензии (корочки предварительно размачивают в стерильном физиологическом растворе в течение 15-20 минут). Из суспензии готовят мазки окрашивают по Граму и 2%-ным спиртовым раствором карболового фуксина в течение 1,5-2 минут.

Чаще обнаруживают грамположительные ланцетовидные кокки *Melissococcus pluton*, расположенные одиночно, попарно или в виде характерных скоплений - "розетками". При окраске одним из спец. методов – можно обнаружить капсулу. Реже обнаруживают короткие цепочки грамположительных кокков *Str. liquifaciens*, расположенные частоколом споры *Bacillus alvei*, а также одиночные споры и грамположительные палочки *Bacillus laterosporus*.

Суспензию высевают на среды Бейли или Черепова в чашках, а также в МПБ и на МПА. Посевы на в чашках инкубируют в анаэробных условиях при температуре 34-35°C в течение 5 суток, на МПА и МПБ - в аэробных условиях в течение 24-48 ч при этой же температуре.

В положительном случае *Melissococcus pluton* образует круглые, мелкие (диаметром 1,0-1,5 мм) выпуклые зернистые колонии жемчужно-белого цвета. Чистую культуру (делают мазки) пересевают на среды Гисса для определения ферментативных свойств. *Melissococcus pluton* ферментирует глюкозу с образованием кислоты без газа, не сбраживает маннит и сорбит. На обычных питательных средах обращают внимание на интенсивность помутнения, образование осадка или пленки в МПБ, форму и цвет колоний на МПА.

Str. liquifaciens через сутки вызывает равномерное помутнение МПБ. На МПА образует мелкие прозрачные колонки или налет, легко снимающийся петлей. В мазках из типичных колоний стрептококки располагаются короткими цепочками.

При обнаружении роста, характерного для *Str. liquifaciens*, делают дробный посев на 2-3 чашки с глюкозо-кровяным агаром и на среды Гисса. *Str. liquifaciens* разлагает с образованием кислоты без газа глюкозу, маннит, сорбит и не обладает гемолитической активностью.

Bacillus alvei через сутки в МПБ образует помутнение, слизистый осадок, сероватую нестабильную пленку, при встряхивании опадающую на дно

пробирки. На МПА образует крупные прозрачные неправильной формы колонии с блестящей поверхностью. В мазках из типичных колоний обнаруживают грамположительные палочки. При обнаружении роста характерного для *Bacillus alvei* делают дробный пересев на 2-3 чашки с глюкозо-кровяным агаром и среды Гисса, а также определяют способность восстанавливать нитраты, каталазную активность и характер гемолиза. *Bac. alvei* разлагает мальтозу и сахарозу с образованием кислоты, не разлагает арабинозу, не восстанавливает нитраты, каталазоположителен, вызывает -гемолиз.

Диагноз на европейский гнилец считается установленным при обнаружении одного или ассоциации возбудителей европейского гнильца с характерными для них свойствами.

Срок исследования до 8 дней.

Парагнилец

Диагноз на парагнилец ставят на основании эпизоотологических данных, характерных признаков поражения расплода и данных лабораторного исследования.

Для исследования в лабораторию направляют образцы сотов размером 10 x 15 см с больными и погибшими личинками (в случае гибели открытого расплода образец должен содержать неразложившиеся личинки). Образцы пересылают в деревянном или фанерном ящике, отделяя их друг от друга и от стенок ящика деревянными планками. Соты нельзя обертывать бумагой. Заплесневевший материал для исследования непригоден.

Лабораторная диагностика парагнильца включает микроскопию мазков из патологического материала и выделение культуры возбудителя с последующей ее идентификацией.

Суспензию из материала и приготовление мазков также как при исследовании на европейский гнилец. В положительных случаях в мазках обнаруживают одиночные грамположительные палочки с закругленными концами и крупные овальные споры, расположенные центрально. Из суспензии, делают высевы в МПБ и на МПА с добавлением 10% нормальной сыворотки крови лошади. Через 24-48 ч культивирования при 37-38°C возбудитель вызывает легкое помутнение бульона. Позднее МПБ просветляется, а на дно пробирки выпадает осадок, поднимающийся при встряхивании в виде косички. На МПА возбудитель образует плоские расплывчатые колонии с неровными краями или дает нежный ползучий рост. В мазках из типичных колоний обнаруживают одиночные крупные грамположительные палочки. При микроскопии 2-3-суточных культур обнаруживают споры, расположенные центрально. Выделенные культуры идентифицируют по морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам. *Bac. paraalvei* ферментирует с образованием кислоты без газа сахарозу, мальтозу, не ферментирует арабинозу, не восстанавливает нитраты, каталазоположителен, не вызывает гемолиза (течение 2-3 сут).

Диагноз на парагнилец считается установленным при выделении из патологического материала культуры со свойствами, характерными для *Vas. paraalvei*.

Срок исследования до 6 дней.

Вирусный паралич. Лабораторный диагноз устанавливают на основании постановки биологической пробы на 50 пчелах (скармливание материала, контактное заражение и т.д.) и серологических исследований (РГА, РЗГА и РДП) патологического материала от погибших пчел.

Срок исследования до 5 дней.

Нозематоз. Лабораторный диагноз устанавливают путем микроскопического исследования фекалий маток и содержимого среднего отдела кишечника пчел с целью обнаружения спор паразита.

Интенсивность поражения подразделяют:

до 100 спор в поле зрения - слабая;

от 100 до 1000 спор в поле зрения - средняя;

от 1000 и выше спор в поле зрения - сильная.

Диагноз на нозематоз ставят на основании клинических, эпизоотологических и лабораторных данных.

Для исследования в ветеринарную лабораторию посылают пробы по 50 - 100 живых пчел от семьи или свежий подмор от 10 - 20 % пчелиных семей, имеющих на пасеке, погибшую матку, а также фекалии от пчел; 5,0 г меда, 0,5 г перги или пыльцевой обножки, смывы с листов вошины.

Для прижизненной диагностики нозематоза матки ее осторожно помещают под стеклянный колпак, на дно которого кладут стеклянную пластинку или целлофан. Постланный материал с испражнениями матки сушат и отправляют в лабораторию.

Сбор фекалий пчел проводят весной перед их массовым облетом. С этой целью на передней стенке улья укрепляют на 1 - 1,5 часа лист белой бумаги (размером 20×30 см) с обозначением номера улья. Фекалии со стенок улья или рамок собирают путем их соскоба с поверхностей.

Пробы меда отбирают непосредственно из семей пчел путем вскрытия ячеек или из среднего и нижнего слоя этого продукта, хранящегося в таре.

Пробы перги берут из сотов чистым шпателем, а пыльцевую обножку отбирают из пыльцеуловителей.

Для исследования вошины из разных мест пачки отбирают по 5 листов, с обеих поверхностей которых делают смывы, расходуя на каждый лист по 50 мл воды. Смывы собирают в чистые флаконы.

При исследовании пчел от них отделяют брюшки в мерный цилиндр. К пробе пчел добавляют воду по 1 мл на пчелу, содержимое тщательно растирают в фарфоровой ступке с небольшим количеством песка (стекла) или в гомогенизаторе до получения суспензии. Каплю полученной суспензии помещают на предметное стекло, накрывают покровным и исследуют в затемненном поле микроскопа.

Исследуют до 20 полей при увеличении 400 - 600 раз. При наличии спор ноземы видны овальные, преломляющие свет тела. Степень поражения пчел ноземой оценивается в крестах: до 10 спор - один крест, до 100 - два, до 1000 - три и свыше 1000 - четыре креста.

Погибшую пчелиную матку считают как пробу от семьи. Ее исследуют индивидуально, гомогенизируя с 1 мл воды. При обнаружении под микроскопом спор ноземы в гомогенате, независимо от их количества в поле зрения, степень инвазии оценивается в четыре креста.

Для определения количества спор в пробе ведут подсчет их в 5 больших или 80 маленьких квадратах камеры Горяева. Зная объем камеры, общий объем пробы и число пчел вычисляют количество спор на одну пчелу.

Фекалии осторожно снимают скальпелем со стеклянных пластинок, целлофана или бумаги на предметное стекло, добавляют 1 - 2 капли воды, тщательно размешивают препаровальной иглой до получения однородной массы, накрывают покровным стеклом и исследуют под микроскопом.

К 2,1 г (1,5 мл) меда добавляют 5 мл воды и 10 мл этилового спирта, тщательно размешивают и центрифугируют при 2500 - 3000 об/мин 5 - 10 мин, полученный осадок исследуют под микроскопом.

250 мг перги или пыльцевой обножки наносят на предметное стекло, добавляют 3 - 5 капель воды (лучше раствор Люголя), тщательно растирают и исследуют под микроскопом.

Смывы с листов вошины разливают в стерильные центрифужные пробирки и центрифугируют 10 мин при 2500 - 3000 об/мин, полученный осадок исследуют под микроскопом.

С целью дифференциации спор ноземы используют контрастные методы окраски. Мазки фиксируют в метиловом спирте (5 - 10 мин) или спирт-эфире (15 - 20 мин) и подвергают воздействию 10 - 30 % перекиси водорода в течение 14 часов. Затем ополаскивают водой и красят азокармином в течение 7 часов при комнатной температуре или 2 часов при 56 °С. Исследования проводят под увеличением 400 - 600 раз или иммерсионной системой микроскопа. Зрелые споры микроспоридий не окрашиваются, выглядят в виде вытянутых образований с закругленными концами.

Для выявления стадий развития возбудителя используют препараты-отпечатки со средней кишки или гистологические срезы этого органа. После фиксации препараты окрашивают по Романовскому-Гимза, Циль-Нильсену и другими красителями.

Для определения жизнеспособности спор их окрашивают водным раствором акрицина-оранжевого в разведении 1:20000 - 1:25000. Препараты промывают дистиллированной водой и исследуют под люминесцентным микроскопом (светофильтры: ФС-1-2, ФС-1-4, СЗС-24 или СЗС-14, БС-8-2, запирающий фильтр ЖС-18, окуляры 8×, 10×, объектив ×90. Сила тока при микроскопировании 4, 0-4, 5А). Живые споры светятся ярко-зеленым, а погибшие - медно-красным цветом.

Видовую принадлежность спор нозем определяют непрямой методом реакции иммунофлуоресценции (РИФ).

Подсушенные на воздухе мазки-отпечатки из средней кишки или гомогената пчел фиксируют в течение 30 мин спирт-эфиром (1:1). На мазок наносят несколько капель иммунной сыворотки (цельной или разведенной 1:10). Препараты помещают на 1 час во влажную камеру при 37 °С и после этого в течение 30 мин промывают в 0,15 М растворе NaCl (рН 7,2 - 7,4), (иммунные сыворотки к *Nosema apis* пчел готовит ВИЭВ).

На подсушенные препараты наносят по 1 - 2 капли антивидовой люминесцирующей сыворотки, выдерживают во влажной камере при 37 °С в течение 1 часа и промывают 30 мин физиологическим раствором (рН 7,2 - 7,4), при этом дважды меняют раствор. После просушки на мазок наносят каплю нефлуоресцирующего иммерсионного масла или диметилфталата и исследуют под люминесцентным микроскопом.

Реакцию считают положительной при наличии ярко-зеленой люминесценции оболочек спор *Nosema apis*.

В контрольных мазках, обработанных нормальной сывороткой вместо иммунной, свечения не наблюдается; в мазках, содержащих искомым антиген *N. apis* (готовит ВИЭВ) реакция должна быть положительной.

Срок исследования 1 день.

Акарапидоз. Лабораторный диагноз устанавливают на основании микроскопического исследования передней пары трахеи пчел с целью обнаружения клеща.

Пчел помещают во флакон или пробирку, заливают жидкостью Удемана (87 частей 70%-ного этилового спирта, 5 частей глицерина, 8 частей ледяной уксусной кислоты), 70%-ным этиловым спиртом с 5% глицерина или водной эмульсией стирального порошка (по объему на каждые 20 частей дистиллированной воды используют 1 часть стирального порошка) и встряхивают в течение 10-15 минут. Через сутки встряхивание повторяют, пчел удаляют пинцетом, жидкость центрифугируют при 2000 оборотах и минуту в течение 10-15 минут и сливают. Осадок исследуют под микроскопом в затемненном поле зрения с целью обнаружения клещей.

На пчелах клещей можно найти под бинокулярной лупой МБС-1 или МБС-2. Паразитов снимают тонкой препаровальной иглой.

Для обнаружения *A. woodi* применяют индивидуальное вскрытие пчел пробы или при проведении массовых исследований одновременным исследованием всех пчел из пробы

При индивидуальном исследовании пчелу кладут на спину и делают один поперечный разрез грудки сзади передней пары ног, удаляют у ней голову, и второй разрез впереди средней пары ног и передних крыльев. Вырезанные сегменты тела, содержащие первую пару дыхалец и трахеи, для удаления мышечной ткани помещают в 8-10%-ный раствор КОН (NaOH), слегка нагревают в течение 20 минут и оставляют в растворе на ночь при комнатной температуре, после чего промывают и просматривают под увеличением $\times 8-20$. Мелкие овальные тела клещей видны через прозрачные стенки трахеи. Наличие желтых, коричневых и черных пятен на стенках трахей подтверждают положительный диагноз на акарапидоз.

Для детального изучения структур тела клеща изолированные трахеи переносят на другое предметное стекло в каплю глицерина или дистиллированной воды и микрофотографируют под большим увеличением ($\times 1000$, $\times 400$) в затемненном поле зрения

Для контрастирования деталей строения тела паразитов в трахеях срезы грудки толщиной 11-5 мм помещают в 8-10%-ный раствор КОН (NaOH) и нагревают почти до кипения, выдерживая клещей в нем в течение 10 минут. Содержимое выливают на фильтр, промывают водопроводной водой, окрашивают в течение 5 минут 1%-ным видимым раствором метиленового синего (сначала готовят раствор указанную концентрацию и к нему добавляют хлористый натрий в таком количестве, чтобы его концентрация составляла 0,85 %). выдерживают и дистиллированной воде 2-5 минут, прополаскивают 70 %-ным этанолом и микрофотографируют. На светло-голубом фоне трахея видны темно-синие клещи

Для дифференциации живых и мертвых клещей выделенные без предварительной обработки щелочью трахеи пчел помещают в каплю красителя (5 мг тиазол голубой тетразолин в 5 мл дистиллированной воды) на предметном стекле, накрывают, слегка придавливая покровное стекло, чтобы удалить воздух, и микрофотографируют. В течение нескольких секунд живые клещи окрашиваются в пурпурный, а погибшие в зеленовато-желтый цвет.

При проведении массовых исследований пчел используют метод гомогенизации материал или компрессорный метод.

Перед гомогенизацией у пчел удаляют голову, крылья, ноги и брюшко. Оставшиеся грудки насекомых помещают в стакан объемом 100 мл, заливая в него на 1/4 объема дистиллированную воду. Гомогенизируют три раза по несколько секунд при 10000 оборотов в минуту. Суспензию пропускают через сито (с отверстием 0,8 мм), ополаскивают водой, доводя окончательный объем жидкости до 50 мл. Фильтрат центрифугируют при 1500 оборотов 5 минут, надосадочную жидкость удаляют, к осадку добавляют несколько капель молочной кислоты, оставляя ее на 10 минут, а затем микрофотографируют. У обнаруженных клещей определяют видовую принадлежность.

При компрессорном методе у пчел удаляют голову, крылья, ноги и брюшки. Грудки насекомых помещают и пробирки с 8-10%-ным раствором щелочи (КОН или NaOH), выдерживая их при комнатной температуре в течение суток, затем промывают водопроводной водой и просушивают на фильтровальной бумаге. Положив грудку пчел на спинную сторону, захватывают ее анатомическим пинцетом с боков и переносят на компрессорий. В каждую клеточку компрессория выдавливают содержимое грудки одной пчелы, и скальпелем сделка счищают возможные остатки трахей с места выхода содержимого. После заправки клеточек накладывают второе стекло, компрессорий свинчивают и просматривают под малым увеличением микроскопа. Недостаток этого метода - потеря трахей у некоторых пчел.

Срок исследования 1 день.

Варроатоз. Диагноз устанавливают на основании обнаружения клещей при осмотре больных пчел (между головой и грудью, грудью и брюшком). Преимагинальные формы, поражающие расплод, обнаруживают на дне и стенках ячеек сот.

Для исследования на варроатоз в ветлабораторию высылают в зимне-весенний период (февраль-март) пробы подмора пчел с воскоперговой крошкой и сор со дна ульев не менее 20-30 г от каждой пчелиной семьи; весной после выставки пчелиных семей (апрель-май) вырезают образец пчелиного или трутневого печатного расплода с крайних участков сотов размером 3 x 15 см и собирают сор со дна ульев в указанном количестве: летом и осенью отбирают печатный трутневый или пчелиный расплод (размер 3x15 см) и 70-100 живых пчел от пчелиной семьи. Пробы подмора с воскоперговой крошкой, живых пчел и расплода отбирают не менее, чем от 10% пчелиных семей благополучных пасек и от всех пчелиных семей хозяйств карантинной зоны и смежных с ней районов.

В тарелку или чашку с белым дном наливают 150 см³ горячей (70 °С) воды и добавляют в нее 2 - 3 г стирального порошка любой марки. В полученный раствор высыпают отобранную пробу пчел и помешивают их в течение 1 - 2 мин.

Каждую пробу пчел исследуют в новой порции раствора.

Погибших пчел тщательно прополаскивают, извлекают пинцетом из раствора и подсчитывают их количество. Отпавшие от пчел клещи оседают на дно емкости и хорошо видны на белом фоне невооруженным глазом или под лупой малого увеличения.

Клещей варроа дифференцируют от других видов наружных клещей, паразитирующих на пчелах, и от браул.

Патологический материал после исследования уничтожают.

Степень поражения пчел клещами варроа в процентах определяют по формуле

$$C = \frac{K}{P} \times 100,$$

где С - степень поражения (количество клещей в расчете на 100 пчел;

К - количество отпавших клещей;

П - количество пчел в пробе.

Жизнеспособность пчелиных семей прогнозируют по трем степеням поражения: слабая - до 2, средняя - до 4 и сильная - свыше 4 клещей на 100 пчелах или 100 ячейках трутневого расплода.

Срок исследования 1 день.

Браулез. Диагноз устанавливают на основании обнаружения паразита преимущественно в области груди пчел при их осмотре, а также обнаружения яиц и личинок паразита при осмотре ячеек сот.

Для исследования в ветеринарную лабораторию направляют пробы подмора пчел и сора с воскоперговой крошкой со дна улья.

Срок исследования 1 день.

Амебиаз. Лабораторный диагноз устанавливают на основании результатов микроскопического исследования мальпигиевых сосудов кишечника пчел (обнаружение 5 - 20 цист амеб).

При подозрении на амебиаз в ветеринарную лабораторию направляют не менее 50 живых пчел или столько же пчел из свежего подмора подозреваемых в заражении семей. Материал помещают в чистые стеклянные банки с притертой пробкой и отправляют в лабораторию в течение первых суток с момента его взятия.

Для микроскопического исследования извлекают кишечник пчел на предметное стекло, наносят на него каплю воды и отделяют препаровальной иглой мальпигиевые сосуды. Их накрывают покровным стеклом.

Для этих же целей отделяют от пчел брюшко и растирают его пестиком в фарфоровой ступке с небольшим количеством воды (1 мл на пчелу). Каплю образовавшейся суспензии наносят на предметное стекло и накрывают его покровным. Препараты исследуют под микроскопом в затемненном поле зрения (увеличение $\times 400$, $\times 600$).

Диагноз устанавливают по наличию в поле зрения микроскопа 1-5 округлых или овальных двуконтурных цист амеб размером 6-7 мкм.

Для дифференцирования цист амеб от капель жира, дрожжевых клеток, зерен пыльцы, спор ноземы и грибов использует один из следующих методов.

1. К капле исследуемой суспензии на предметное стекло добавляет каплю 2 %-ного раствора эозина в физиологическом растворе, тщательно смешивают и накрывают покровным стеклом. Через 5-70 минут препарат исследуют под микроскопом. Цисты амеб окрашиваются в красный цвет; зерна пыльцы - в красновато-коричневый; споры ноземы, грибов, дрожжей и капли жира не окрашиваются.

2. Каплю исследуемой суспензии смешивает с раствором йода (йод - 5 г., йодистый калий - 10,0 г, вода - до 1000 см³), накрывают покровным стеклом и исследуют под микроскопом. Ядра амеб окрашиваются в коричневый цвет, цитоплазма - в коричневый, зерна пыльцы - в красновато-коричневый, споры ноземы, грибов и дрожжей не окрашиваются.

3. Из капли суспензии готовят мазок, высушивают его на воздухе, фиксируют над пламенем горелки в течение 3-5 сек. и окрашивают по Граму. Мазки исследуют под иммерсионной системой микроскопа. Цитоплазма амеб окрашивается в синий цвет, ядра - в красноватый, споры грибов, дрожжей, капли жира, зерна пыльцы - в темно-синий, споры ноземы не окрашиваются.

Срок исследования 1 день.

Сальмонеллез пчел. Диагноз на сальмонеллез ставят на основании эпизоотологических данных, характерных признаков поражения пчелиных семей и результатов лабораторного исследования.

Для исследования в лабораторию направляют не менее 50 живых пчел с признаками заболевания. Пчел помещают в стеклянные банки, которые обвязывают 2-3 слоями марли.

Лабораторная диагностика сальмонеллеза включает микроскопию мазков из патологического материала и выделение культуры возбудителя с последующей ее идентификацией.

1-й день исследований: Для приготовления мазков от 10-15 пчел, убитых парами эфира или хлороформа берут гемолимфу, делая прокол перепонки между 3 и 4 сегментами брюшка тонко оттянутой пастеровской пипеткой. Гемолимфу наносят на предметное стекло, мазок высушивают, фиксируют над пламенем горелки и окрашивают по Граму.

В положительных случаях в мазках находят мелкие полиморфные грамотрицательные палочки. Гемолимфу высевают в МПБ, на МПА и среду Эндо, Плоскирева или Левина.

Выделение и идентификацию возбудителей сальмонеллеза пчел осуществляют в соответствии с действующими Методическими указаниями по бактериологической диагностике сальмонеллеза животных. Лабораторный диагноз на сальмонеллез считают установленным при выделении из патологического материала бактерий рода *Salmonella*.

Срок исследования до 5 дней.

Септицемия. Диагноз на септицемию ставят на основании эпизоотологических данных, характерных признаков поражения пчелиных семей и результатов лабораторного исследования.

Для исследования в лабораторию направляют не менее 50 живых пчел с признаками заболевания. Пчел помещают в стеклянные банки, закрытые 2-3 слоями марли.

Лабораторная диагностика включает микроскопию мазков из патологического материала и выделение культуры возбудителя с последующей ее идентификацией.

1-й день исследования: мазки из гемолимфы готовят как при сальмонеллезе. В положительном случае в мазках обнаруживают однородные грамотрицательные палочки. Гемолимфу высевают в МПБ и на МПА. Для этого поверхность хитинового покрова 10-15 пчел слегка обжигают над пламенем горелки и берут гемолимфу. Посевы инкубируют в термостате в аэробных условиях при температуре 37-38°C в течение 20-24 ч.

Pseudomonas arisepiticum вызывает помутнение МПБ с образованием легкого осадка. На поверхности МПА образует крупные, хорошо очерченные бесцветные колонии с темным центром. Позднее появляется сплошной рост и культура приобретает зеленовато-мутный оттенок.

Идентификацию возбудителя проводят по морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам.

Pseudomonas arisepiticum ферментирует (через 2-3 суток инкубирования в термостате при 37-38°C) с образованием газа глюкозу, сахарозу, мальтозу, маннит и лактозу (наиболее вирулентные штаммы маннит и лактозу не расщепляют), восстанавливает нитраты в нитриты, образует сероводород, реакция Фогос-Проскауэра положительная.

Диагноз на септицемию считается установленным при выделении из патологического материала культуры со свойствами, характерными для *Pseudomonas arisepticum*.

Срок исследования 5 суток.

3.7. Лабораторная диагностика внутренних болезней

3.7.1. Болезни сердечно-сосудистой системы

Перикардит. Воспаление наружного листка сердца и сердечной сумки.

Диагностические тесты:

Общий анализ крови.

Биохимическое исследование крови:

- определение тканевого фермента тропанин;
- определение фермента креатинфосфокиназа (КФК);
- исследование на С-реактивный белок.

Клиническое значение. При перикардите у животных отмечается нейтрофильный лейкоцитоз за счет нарастания палочкоядерных лейкоцитов, ускорение СОЭ, положительная реакция на С-реактивный белок.

При вирусном или идиопатическом перикардите обнаруживают повышенный уровень тропонина; длительное (более 1-2 недель) повышение тропонина указывает на развитие миоперикардита. При остром перикардите обнаруживают повышение фермента креатинкиназа.

Инфаркт миокарда. Острое заболевание, характеризующееся развитием некроза отдельных участков сердечной мышцы на почве ишемии.

Диагностические тесты:

Общий анализ крови;

Биохимическое исследование крови:

- определение активности аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ), расчет коэффициента де Ритиса;
- определение фермента креатинфосфокиназы (КФК),
- определение фермента лактатдегидрогеназы (ЛДГ);
- исследование на С-реактивный белок;
- определение тканевого фермента тропанина.

Клиническое значение. При инфаркте миокарда у животных отмечается нейтрофильный лейкоцитоз за счет увеличения палочкоядерных лейкоцитов, снижение количества эозинофилов, ускорение СОЭ, положительная реакция на С-реактивный белок

Повышение уровня фермента КФК в результате некроза сердечной мышцы (возрастает в первые часы после инфаркта и достигает пика через 10 часов). Увеличение фермента АсАТ, начинает повышаться через 6-8 часов и достигает максимума через 24-36 часов, является результатом некроза сердечной мышцы. Повышение коэффициента де Ритиса (АсАТ/АлАТ) больше 1,75.

В дифференциальной диагностике поражения сердечной и скелетных мышц используется определение коэффициента КФК/АсАТ. Если КФК/АсАТ меньше 10, то более вероятен инфаркт миокарда, если больше 10, то это скорее поражение скелетных мышц.

Увеличение фермента тропанин напрямую свидетельствует о развитии инфаркта миокарда (маркер разрушения поперечнополосатых мышц). Тропанин появляется спустя 4 часа после поражения миокарда, достигая пика в первые сутки заболевания.

Лактатдегидрогеназа повышается при недостаточности кровообращения, миокардите, шоковых состояниях

Миокардит. Воспаление сердечной мышцы инфекционно-аллергической или инфекционно-токсической природы, сопровождаемое тяжелым общим состоянием животного и сердечной недостаточностью.

Диагностические тесты:

Общий анализ крови;

Биохимия крови:

- определение активности аланинаминотрансферазы (АлАТ) и
- аспаратаминотрансферазы (АсАТ), расчет коэффициента де Ритиса;
- определение фермента креатинфосфокиназы (КФК),
- определение фермента лактатдегидрогеназы (ЛДГ)
- определение тканевого фермента тропанина;
- исследование на С-реактивный белок;

Клиническое значение. Неспецифическими маркерами воспаления являются: увеличение СОЭ; лейкоцитоз; сдвиг лейкограммы влево, положительная реакция на С-реактивный белок;

В течение всего периода воспаления в крови наблюдается повышение активности кардиоспецифических ферментов: увеличение ЛДГ и ее фракций (ЛДГ₁ и ЛДГ₂) причем ЛДГ₁>ЛДГ₂, увеличение креатинфосфокиназы (КФК); аспарагиновой аминотрансферазы (АсАТ), повышение коэффициента де Ритиса; увеличение уровня сердечного тропанина.

Эндокардит. Воспаление внутренней оболочки сердца часто инфекционного происхождения. Поражаются стенки полостей, клапаны, сухожильные нити, папиллярные мышцы.

Диагностические тесты:

Общий анализ крови;

Биохимия крови:

- определение активности аспаратаминотрансферазы (АсАТ);
- определение фермента креатинфосфокиназы (КФК),
- определение фермента лактатдегидрогеназы (ЛДГ)
- определение белковых фракций;
- исследование на С-реактивный белок.

Клиническое значение. Заболевание сопровождается гипохромной анемией, увеличением СОЭ, умеренным лейкоцитозом со сдвигом ядра влево. Диспротеинемия с увеличением уровня γ -глобулинов. Повышение в крови С-реактивного белка.

Повышение активности ферментов аспаратаминотрансфераза (АсАТ); креатинфосфокиназа (КФК), лактатдегидрогеназа (ЛДГ)

Атеросклероз. Заболевание, характеризующееся отложением в стенках сосудов липопротеидов с последующим формированием атеросклеротических бляшек, разрастанием соединительной ткани.

Диагностические тесты:

- определение количества общего холестерина (ХС) и триглицеридов (ТГ) в сыворотке крови;

Клиническое значение: при атеросклерозе в сыворотке крови отмечается повышение общего холестерина, триглицеридов.

3.7.2. Болезни органов дыхания

Заболевания **верхних дыхательных путей** воспалительного характера: риниты, синуситы, фарингиты, ларингиты.

Диагностические тесты:

Общий анализ крови.

Исследование носового истечения.

Клиническое значение: при аллергических формах ринита и синусита повышение эозинофилов и в носовом секрете и крови. ОАК: небольшой нейтрофильный лейкоцитоз, увеличение СОЭ.

Бронхит - воспаление слизистой оболочки бронхов.

Диагностические тесты:

Общий анализ крови.

Биохимическое исследование крови:

– определение общего белка и белковых фракций.

Клиническое значение: при острой форме и обострении хронического заболевания - умеренный нейтрофильный лейкоцитоз с преобладанием молодых клеток, некоторое повышение СОЭ. При хронической форме – эозинофилия и моноцитоз. Повышение общего белка (гиперпротеинемия) за счет α и γ глобулинов.

Бронхопневмония – воспаление бронхов и альвеол, сопровождающееся образованием катарального экссудата и заполнения им бронхов и альвеол.

Диагностические тесты

Общий анализ крови.

Биохимическое исследование крови:

– определение общего белка и белковых фракций,

– определение резервной щелочности.

Исследование носового истечения (микроскопия, посевы для определения чувствительности возбудителей к антибиотикам).

Клиническое значение: при острой форме пневмонии общему анализу крови характерны нейтрофильный лейкоцитоз со сдвигом ядра влево, лимфопения, эозинопения, моноцитоз, увеличение СОЭ. При хронической форме – эозинофилия и моноцитоз, повышение количества эритроцитов. Биохимические показатели – снижение резервной щелочности, повышение общего белка (гиперпротеинемия) за счет глобулиновых фракций (гиперглобулинемия).

Крупозная пневмония – острое фибринозное воспаление легких, распространяющееся на целые доли и характеризующаяся стадийным течением.

Диагностические тесты

Общий анализ крови.

Биохимическое исследование крови:

- определение общего белка и белковых фракций;
- определение резервной щелочности;
- определение прямого билирубина.

Определение фибрина в плазме крови.

Исследование носового истечения (микроскопия, посевы для определения чувствительности возбудителей к антибиотикам).

Клиническое значение: общему анализу крови характерны нейтрофильный лейкоцитоз со сдвигом ядра влево, лимфопению, эозинопению, моноцитоз, уменьшение количества эритроцитов (нередко отмечается их зернистость) и гемоглобина, резкое увеличение СОЭ. Биохимические показатели – снижение резервной щелочности, содержания хлоридов, повышение прямого билирубина, общего белка (гиперпротеинемия) за счет глобулиновых фракций (гиперглобулинемия), уменьшение количества альбуминов (гипоальбуминемия). В плазме крови – большое количество фибрина. Экссудат из носового истечения бурого цвета, при микроскопии: много фибрина, лейкоцитов, эритроцитов, микробов.

Гнилостная пневмония (гангрена легких) болезнь, характеризующаяся гнилостным распадом некротизированной ткани легких под действием гнилостной микрофлоры.

Диагностические тесты:

Общий анализ крови.

Биохимическое исследование крови:

- определение общего белка и белковых фракций;
- определение резервной щелочности,

Исследование носового истечения (микроскопия).

Клиническое значение: общему анализу крови характерны нейтрофильный лейкоцитоз со сдвигом ядра влево, лимфопению, эозинопению, моноцитоз, уменьшение количества эритроцитов и гемоглобина, резкое увеличение СОЭ. Биохимические показатели – снижение резервной щелочности, общего белка за счет глобулиновых фракций, уменьшение количества альбуминов. Экссудат из носового истечения бурого или зеленоватого цвета – при микроскопии: волокна легочной ткани, пигменты, капли жира, эритроциты, лейкоциты, микробы.

Эмфизема (альвеолярная) – патологическое расширение легких, сопровождающееся увеличением их объема вследствие переполнения воздухом и снижением эластичности легочной ткани.

Диагностические тесты

Общий анализ крови.

Клиническое значение: для общего анализа крови характерно увеличение количества эритроцитов и гемоглобина, гематокрита, эозинофилия и моноцитоз. При эмфиземе, обусловленной бронхитом, может добавляться умеренный нейтрофильный лейкоцитоз, с преобладанием молодых клеток, некоторое повышение СОЭ.

Плеврит - воспаление плевры.

Диагностические тесты:

Общий анализ крови.

Исследование выпотной жидкости: бактериологическое и цитологическое исследования.

Клиническое значение: при плеврите отмечается лейкоцитоз, увеличение СОЭ.

Исследование экссудата: мутный, относительная плотность более 1,018, белок более 30 г/л; бактериология - патогенные микроорганизмы (стафилококки, стрептококки, пневмококки, кишечная палочка); цитология осадка - нейтрофилы, эритроциты, эозинофилы, мезотелий, могут быть опухолевые клетки.

Гидроторакс – накопление транссудата в грудной полости.

Диагностические тесты:

Общий анализ крови.

Исследование выпотной жидкости.

Клиническое значение: При гидротораксе транссудат прозрачный, относительная плотность 1,006–1,015, белок 5-25 г/л; бактериология - стерильно или имеется «путевая» микрофлора; цитология осадка – мезотелий, иногда «путевые эритроциты».

3.7.3. Болезни органов пищеварения

Ацидоз рубца. Заболевание, возникающее вследствие образования в рубце большого количества молочной кислоты и сопровождающееся снижением рН рубцового содержимого, нарушением пищеварения и ацидотическим состоянием организма.

Диагностические тесты:

Исследование рубцового содержимого:

- измерение рН;
- подсчет количества инфузорий;
- определение подвижности инфузорий;
- определение активности инфузорий;
- определение молочной кислоты рубцового содержимого.

Биохимическое исследование крови:

- определение молочной кислоты;
- определение резервной щелочности.

Исследование мочи: определение рН.

Клиническое значение. При ацидозе рН рубцового содержимого снижается до 5,5 и ниже, параметры от 5,6 до 5,8 необходимо расценивать как критические или развивающаяся проблема рубцового ацидоза (А.А. Самолов, 2019). Количество инфузорий снижается (менее физиологической нормы), падает их подвижность и активность (время обесцвечивания рубцового содержимого при добавлении метиленового синего увеличивается до 15-17 мин и более). При остром ацидозе рубца рН содержимого снижается до 4,5; количество молочной кислоты возрастает до 75 мг% (8,8 ммоль/л).

В крови повышается содержание молочной кислоты до 4,4 ммоль/л, снижается резервная щелочность до 35 об.%СО₂.

Установлена положительная связь между рН рубца и рН мочи. При ацидозе рубца рН мочи снижается до 5,6 (И.П. Кондрахин, 2004).

Алкалоз рубца. Заболевание, характеризующееся сдвигом рН рубцового содержимого в щелочную сторону, нарушением рубцового пищеварения, обмена веществ, функции печени других органов.

Диагностические тесты:

Исследование рубцового содержимого:

- измерение рН;
- подсчет количества инфузорий;
- определение подвижности инфузорий;
- определение активности инфузорий;
- определение концентрации аммиака рубцового содержимого.

Биохимическое исследование крови:

- определение резервной щелочности;
- определение общего белка.

Исследование мочи: определение рН.

Клиническое значение. При алкалозе рН рубцового содержимого повышается более 7,5 . Количество инфузорий снижается (до 66 тыс/мл), падает их подвижность и активность (время обесцвечивания рубцового содержимого при добавлении метиленового синего увеличивается до 15-17 мин и более).

В результате нарушения микробного пищеварения клетчатка в рубце не разрыхляется, и поэтому затрудняется ее дальнейшее переваривание. Она присутствует в кале в виде больших групп клеток, не разъединенных между собой.

В рубцовом содержимом отмечают повышение концентрации аммиака (до 16,1 мг%). В сыворотке крови повышается общий белок до 113 г/л, резервная щелочность повышается до 64 об.% CO₂. рН мочи повышается до 8,4 и выше (Ручкин Д.А., Сербина Е.В., 2012).

Гастрит. Воспаление слизистой оболочки желудка с перестройкой ее структуры, нарушением секреторной, моторной и инкреторной функции. Заболевание может протекать с повышением кислотности (гиперацидный гастрит), понижением (гипацидный гастрит) или с отсутствием в желудочном соке соляной кислоты (анацидный гастрит). Встречаются случаи, когда в желудочном соке отсутствует как соляная кислота, так и пепесин (ахилия).

Диагностические тесты:

Исследование содержимого желудка:

- определение свободной соляной кислоты;
- определение общей кислотности (свободная и связанная соляная кислота, органические кислоты);
- определение рН.

Исследование кала.

Клиническое значение. Увеличение в содержимом желудка количества свободной соляной кислоты и общей кислотности (гиперхлоргидрия) отмечается при гиперацидном гастрите; уменьшение количества свободной соляной кислоты и общей кислотности (гипохлоргидрия) – при гипоацидном гастрите.

Обнаружение соединительной ткани при микроскопии препаратов кала может свидетельствовать о понижении кислотности желудочного сока или о полном отсутствии соляной кислоты.

При анацидных состояниях клетчатка в желудке не разрыхляется, и поэтому затрудняется ее дальнейшее переваривание, при этом она присутствует в кале в виде больших групп клеток, не разъединенных между собой.

Язвенная болезнь желудка. Хроническое рецидивирующее заболевание, при котором в результате нарушения регулирующих, нервных и гормональных механизмов и расстройств желудочного пищеварения образуется пептическая язва в стенке желудка.

Диагностические тесты

- Определение общей кислотности желудочного содержимого (свободная и связанная соляная кислота, органические кислоты).

- Исследование кала и содержимого желудка на наличие крови.
- Исследование на *Helicobacter pylori*: уреазный тест на хеликобактерии при ФГДС (исследуют фрагмент слизистой желудка); анализ содержимого желудка (рвотных масс), определение антител в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа (ИФА).
- Общий анализ крови.

Клиническое значение: при язвенной болезни в желудочном содержимом (рвотных массах) устанавливают повышение кислотности. Рвотные массы могут содержать либо ярко алую кровь, либо переваренную, которая имеет вид кофейных зерен. При лабораторном исследовании кала на скрытую кровь также выявляют положительную реакцию.

Обнаружение *Helicobacter pylori* указывает на бактериальную природу заболевания. Положительный результат при отсутствии клинической картины заболевания может означать бактерионосительство.

При общем анализе крови обнаруживают снижение уровня гемоглобина и эритроцитов, умеренный лейкоцитоз, ускорение СОЭ.

Энтероколит. Воспаление тонкого и толстого кишечника.

Диагностические тесты:

Исследование кала:

- микроскопия препаратов кала (нативный неокрашенный препарат, препарат окрашенный реактивом Саатгофа);
- исследование кала на скрытую кровь;
- определение рН кала.

Клиническое значение: В зависимости от характера воспаления в кале обнаруживают непереваримые частицы корма, в большом количестве содержание жира. Большое количество слизи, цилиндрический эпителий. Проба на кровяные пигменты положительная. Реакция кала: при гнилостных процессах – щелочная, при бродильных – кислая.

Диспепсия молодняка (токсическая форма). Остропротекающая болезнь новорожденных животных, характеризующаяся расстройством пищеварения, обмена веществ, обезвоживанием и интоксикацией организма

Диагностические тесты:

Биохимическое исследование крови:

- определение резервной щелочности;
- определение уровня мочевины;
- определение концентрации аммиака;

Микроскопическое исследование кала.

Исключают инфекционные заболевания, протекающие с диарейным синдромом.

Клиническое значение. При токсической диспепсии отмечается понижение резервной щелочности, повышение уровня мочевины и концентрации аммиака. При диспепсии и гастроэнтероколите, особенно при тяжелом их течении, резко возрастает в кале телят и поросят количество жировых элементов.

Копрологические синдромы патологических состояний органов пищеварения

При нарушении функции различных отделов пищеварительной системы появляются характерные изменения кала, получившие название копрологических синдромов.

1. Недостаточность процесса жевания проявляется наличием в кале большого количества непереваренных частиц корма (зерна злаков и стебли растений у травоядных животных; кусочки мяса, жира, пленки соединительной ткани у плотоядных).

2. Недостаточность желчеотделения проявляется следующими симптомами: цвет кала белый, глинистый, серовато-белый, что особенно хорошо заметно у молодняка молочного возраста, при этом реакция на билирубин и стеркобилин отрицательная или слабоположительная; консистенция кала чаще мажевидная, его запах зловонный, реакция кислая, но может быть щелочная вследствие вторичных гнилостных процессов.

3. Недостаточность панкреатического сокоотделения характеризуется тем, что кал становится неоформленный, часто мажевидной консистенции; запах кала гнилостный, реакция чаще щелочная. Из жировых элементов резко увеличено количество нейтрального жира; жирные кислоты и мыла содержатся в незначительном количестве или отсутствуют.

4. Недостаточность переваривания в тонком кишечнике сопровождается следующими признаками: консистенция кала жидкая, его цвет желтый, запах слабгнилостный, реакция слабощелочная; в кале в большом количестве обнаруживаются нейтральный жир, жирные кислоты и мыла.

Амилорея – появление в кале большого количества крахмала.

При гиперацидных состояниях желудка амилаза слюны быстро нейтрализуется соляной кислотой, поэтому в кале можно обнаружить то или иное количество крахмальных зерен. Заболевания поджелудочной железы обычно не сопровождаются значительной амилореей, так как недостаток амилазы поджелудочной железы вполне компенсируется другими амилолитическими ферментами желудочно-кишечного тракта.

Заболевания тонкого кишечника, сопровождающиеся ускоренной перистальтикой, характеризуются выраженной амилореей и содержанием большого количества перевариваемой клетчатки из-за недостаточного воздействия амилолитических ферментов тонкого и толстого кишечника.

При заболеваниях толстого кишечника, особенно поражениях его верхних отделов, выпадает конечная фаза переваривания клетчатки и крахмала, вследствие чего они в том или ином количестве обнаруживаются в кале.

Креаторея – присутствие в кале большого количества мышечных волокон – указывает на нарушение переваривания белковой пищи.

Креаторея наблюдается при:

- ахилии (при сохраненной ферментативной активности поджелудочной железы, подвергнутые термической обработке мышечные волокна перевариваются, даже при нарушениях секреторной функции желудка);
- недостаточности панкреатической секреции (сопровождается наиболее выраженной креатореей);
- ускоренной перистальтике, когда мышечные волокна не успевают подвергнуться достаточному ферментативному воздействию.

Стеаторея – присутствие в кале больших количеств нейтрального жира и его производных.

Появление большого количества нейтрального жира в кале может быть при недостатке липазы (нарушение функции поджелудочной железы), а также при недостаточном поступлении желчи в кишечник, которая активирует липазу, переводит жир в состояние тонкой эмульсии, более доступно действию ферментов.

Обнаружение большого количества кристаллов жирных кислот и их мыл указывает на то, что процесс эмульгирования и переваривания жиров не нарушен, но нарушено всасывание, что наблюдается при энтеритах.

Присутствие **примесей** в кале наблюдается при патологических процессах:

слизь: воспалительные процессы в кишечнике, глистные инвазии, защитная реакция при запорах и колитах;

гной: инфекционные заболевания с поражением ЖКТ, распад новообразований ЖКТ, абсцессы ЖКТ, новообразования предстательной железы с образованием свищей в полость ЖКТ;

кровь: кровотечение из нижних отделов ЖКТ, профузные кровотечения из верхних отделов ЖКТ (двенадцатиперстная и тощая кишка), вирусные заболевания, парапроктиты, травмы;

конкременты: холестаза, хронические панкреатиты, запоры;

кусочки непереваренной пищи (лиенторея): снижение экзокринной функции поджелудочной железы (панкреатиты, новообразования), ускорения пассажа кишечного содержимого (диареи различной этиологии), язвенные процессы в ЖКТ.

3.7.4. Болезни печени и желчного пузыря

При болезнях печени в стандартный набор биохимических исследований (печеночный профиль) входят: общий белок, билирубин общий и прямой, холестерин, АлАТ, АсАТ, ЛДГ, ГГТ, ЩФ, альбумин, глобулин, глюкоза.

Гепатит - воспаление печени диффузного характера, сопровождающееся гиперемией, клеточной инфильтрацией, дистрофией, некрозом и лизисом гепатоцитов и других структурных элементов, выраженной печеночной недостаточностью.

Диагностические тесты

Общий анализ крови.

Биохимический анализ крови:

- определение общего белка и белковых фракций;
- определение глюкозы;
- определение щелочной фосфатазы (ЩФ);
- определение общего холестерина;
- определение пигмента билирубина и его видов;
- определение концентрации аммиака;
- определение активности аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспартатаминотрансферазы (АсАТ), расчет коэффициента де Ритиса;
- определение ферментов креатинфосфокиназы (КФК), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), гамма - глутамилтранспептидазы (ГГТ)
- определение активности холинэстеразы.

Общий анализ мочи.

Анализ кала.

Клиническое значение

ОАК: при острой форме лейкоцитоз, эритропения, повышение СОЭ (при вирусном гепатите и хроническом воспалительном процессе – лейкопения), тромбоцитопения. Биохимические показатели – снижение глюкозы, альбуминов, при увеличении уровня альфа- и бета-глобулинов, активности холинэстеразы, повышение концентрации аммиака, холестерина, активности АсАТ, АлАТ, ЛДГ, ГГТ; содержание билирубина прямого и непрямого резко повышено. Коэффициент де Ритиса (АсАТ/АлАТ) меньше $1,33 \pm 0,4$ (указывает на разрушение гепатоцитов, как правило, вирусного происхождения). При хроническом гепатите – повышение активности АсАТ, АлАТ, ГГТ а также щелочной фосфатазы, уровня γ глобулинов, билирубина, желчных кислот. Моча темного цвета, содержит большое количество билирубина и уробилин. В кале – понижение билирубина и стеркобилина.

Гепатоз – дистрофия печени, заболевание, характеризующееся накоплением триглицеридов в гепатоцитах и нарушением основных функций печени. Различают острую форму – токсическую гепатодистрофию и хроническую – жировую гепатодистрофию.

Диагностические тесты

Общий анализ крови.

Биохимический анализ крови:

- определение общего белка и белковых фракций;
- определение глюкозы;
- определение щелочной фосфатазы;
- определение общего холестерина, пигмента билирубина и его видов,
- определение активности аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспартатаминотрансферазы (АсАТ), расчет коэффициента де Ритиса; лактатдегидрогеназы (ЛДГ), гамма - глутамилтранспептидазы (ГГТ).

Анализ мочи.

Анализ кала.

Клиническое значение.

ОАК: повышение СОЭ. Биохимические показатели – снижение уровня глюкозы, альбуминов; повышение билирубина общего и связанного, холестерина, повышение ЩФ, ГГТ. При отсутствии некроза гепатоцитов или низкой активности процесса - АсАТ, АлАТ могут быть в пределах нормальных значений. При токсической дистрофии печени – повышение содержания щелочной фосфатазы, гаммаглобулинов, активности АсАТ, АлАТ, ЛДГ. В моче умеренное повышение билирубина и снижение уробилина. В кале может быть снижен стеркобилин.

Цирроз – хроническое прогрессирующее заболевание, характеризующееся нарушениями функций печени вследствие диффузного разрастания соединительной ткани и глубоких структурных изменений органа.

Диагностические тесты

Общий анализ крови.

Биохимический анализ крови:

- определение общего белка и белковых фракций;
- определение щелочной фосфатазы;
- определение общего холестерина, пигмента билирубина и его видов,
- определение активности аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспартатаминотрансферазы (АсАТ), расчет коэффициента де Ритиса; лактатдегидрогеназы (ЛДГ), гамма - глутамилтранспептидазы (ГГТ)

Исследование абдоминального выпота на физико-химические свойства, цитологию, микробиологию.

Анализ мочи.

Анализ кала.

Биопсия (по показаниям).

Клиническое значение.

ОАК: цитопения, повышение СОЭ. Биохимические показатели – снижение альбуминов, холестерина, мочевины при увеличении уровня гаммаглобулинов, повышение содержания билирубина, щелочной фосфатазы,

ЛДГ, ГГТ, умеренный подъем трансаминаз, причем активность АсАТ выше, чем АлАТ. Коэффициент де Ритиса (АсАТ/АлАТ) меньше 1 – указывает на острую печеночную недостаточность. В моче – протеинурия, цилиндрурия, микрогематурия, наличие билирубина, повышение уробилина. Кал ахоличный, возможно присутствие крови.

Холецистит – воспаление желчного пузыря.

Диагностические тесты

Общий анализ крови.

Биохимический анализ крови:

- определение общего белка и белковых фракций;
- определение щелочной фосфатазы;
- определение общего холестерина,
- определение пигмента билирубина и его видов,
- определение активности аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспартатаминотрансферазы (АсАТ), расчет коэффициента де Ритиса; лактатдегидрогеназы (ЛДГ), гамма - глутамилтранспептидазы (ГГТ)

Анализ мочи.

Анализ кала.

Клиническое значение

ОАК: нейтрофильный лейкоцитоз со сдвигом формулы влево, повышение СОЭ. Биохимические показатели – повышение содержания непрямого билирубина, щелочной фосфатазы, альфа - и гаммаглобулинов, активности АсТ, АлТ, ЛДГ, ГГТ. В моче – протеин, билирубин. В кале – снижен стеркобилин.

Желчнокаменная болезнь – заболевание, характеризующееся образованием желчных камней в желчном пузыре, желчных протоках, связанное с нарушением обменных процессов.

Диагностические тесты:

Общий анализ крови.

Биохимический анализ крови:

- определение общего белка и белковых фракций;
- определение щелочной фосфатазы;
- определение общего холестерина, пигмента билирубина и его видов,
- определение активности аланинаминотрансферазы (АлАТ),
- аспартатаминотрансферазы (АсАТ), расчет коэффициента де Ритиса;
- гамма - глутамилтранспептидазы (ГГТ).

Анализ мочи.

Анализ кала.

Клиническое значение

ОАК: при наличии воспаления - нейтрофильный лейкоцитоз со сдвигом формулы влево, повышение СОЭ. Биохимические показатели – повышение содержания прямого и непрямого билирубина, холестерина, ЩФ, активности АсАТ, АлАТ, ГГТ. При холестатической желтухе в моче – уробилин и резкое повышение билирубина. Кал ахоличный, с большим количеством нейтральных жиров и кристаллов жирных кислот, стеркобилин отсутствует.

3.7.5 Лабораторные исследования выпотных жидкостей

Выпотными жидкостями называются компоненты плазмы крови, лимфы, тканевой жидкости, которые накапливаются в серозных полостях. В здоровом организме в серозных полостях имеется небольшое количество жидкости. При патологических процессах наблюдается увеличение количества жидкости в серозных полостях. Выпотные жидкости подразделяются на транссудаты и экссудаты. Основное отличие между различными видами выпота заключается в способе его образования.

Для правильной оценки клинической ситуации необходимо получить выпотную жидкость для лабораторных исследований. Выпот собирается в стерильные емкости с антикоагулянтом цитрат натрия 1г\1л жидкости или ЭДТА, для предотвращения свертывания. Если выпота получено большое количество, то отправляется для исследования последняя порция, наиболее богатая клеточными элементами. Для биохимического исследования одновременно набирают жидкость и в чистую сухую пробирку (например, центрифужную). Если проводят биохимическое исследование выпота, одновременно отбирают 5 мл венозной крови для определения градиента «сыворотка – выпотная жидкость», необходимого для дифференцировки транссудатов и экссудатов. Для бактериологического исследования забор жидкости проводят в стерильные пробирки. Для исследования анаэробной и аэробной микрофлоры необходимо забирать жидкость в 2 разные пробирки. Для анаэробов необходимы соответствующие условия транспортировки.

При лабораторном исследовании решается вопрос принадлежности выпота к транссудату или экссудату, оцениваются общие свойства (макроскопический вид жидкости): цвет, прозрачность, консистенция. Относительную плотность определяют с помощью урометра. Количественное определение белка проводят с сульфосалициловой кислотой. Из-за высокого содержания белка, выпотную жидкость разводят физиологическим раствором в 100 раз (к 0,1 мл выпотной жидкости приливают 9,9 мл 0,9% раствора хлорида натрия). Расчет производят с учетом степени разведения.

Жидкость, скапливающаяся в серозных полостях без воспалительной реакции, называется транссудатом. Транссудат может накапливаться в перикарде (*hydropericardium*), брюшной полости (*ascites*), плевральной полости (*hydrothorax*), между оболочками яичка (*hydrocele*). Транссудат обычно бывает

ет прозрачным, почти бесцветным или с желтоватым оттенком, реже слегка мутноватым из-за примеси слущенного эпителия, лимфоцитов, жира и др. Удельный вес не превышает 1,015 г/мл.

Транссудат возникает, когда гидростатическое или коллоидно-осмотическое давление изменяется в той мере, что жидкость, фильтрующаяся в серозную полость, превышает объем реабсорбции.

Образование транссудата может быть вызвано следующими факторами.

1. Увеличением венозного давления, которое имеет место при недостаточности кровообращения, заболеваниях почек, циррозе печени. Транссудация является результатом увеличением проницаемости капиллярных сосудов в результате токсического поражения, гипертермии, расстройствами питания.

2. Уменьшением количества белка в крови, осмотическое давление коллоидов уменьшается при снижении альбумина плазмы крови менее 25 г/л (нефротический синдром различной этиологии, тяжелые поражения печени, кахексия).

3. Закупоркой лимфатических сосудов. В этом случае образуются хилезные отеки и транссудаты.

4. Нарушением обмена электролитов, главным образом повышение концентрации натрия (гемодинамическая сердечная недостаточность, нефротический синдром, цирроз печени).

5. Увеличением продукции альдостерона.

Экссудатами называются жидкости, которые накапливаются в полостях тела в результате воспалительного процесса. Образование экссудата вызывается микрофлорой (бактерии, грибы), вирусами, паразитами, попаданием в полость желчи, секрета желудка, поджелудочной железы, содержимого желудочно-кишечного тракта, диссеминацией клеток опухоли по серозным полостям.

Макроскопические характеристики экссудатов позволяют отнести их к следующим видам.

1. Серозный выпот может относиться как к экссудатам, так и транссудатам, быть прозрачным или мутным, желтоватым или бесцветным (что определяется присутствием билирубина), разной степени мутности.

2. Серозно-гнойный и гнойный экссудат – мутная, желтовато-зеленая жидкость с обильным рыхлым осадком. Содержат большое количество нейтрофилов, детрита, жировые капли и почти всегда обильную микрофлору. Содержание белка до 50 г/л. Гнойный экссудат встречается при эмпиеме плевры, перитоните и др.

3. Гнилостный экссудат – мутная жидкость серо-зеленого цвета с резким гнилостным запахом. Результаты микроскопии аналогичны гнойному экссудату. Гнилостный экссудат характерен для гангрены легкого и других процессов, сопровождающихся распадом ткани.

4. Геморрагический экссудат – прозрачная или мутная жидкость, красновато- или буровато-коричневого цвета. Содержат много эритроцитов, некоторое количество нейтрофилов и лимфоцитов. Концентрация белка составляет более 30 г/л. Наиболее частой причиной геморрагического выпота является новооб-

разование, однако геморрагический характер жидкости большого диагностического значения не имеет, поскольку наблюдается и при ряде неопухолевых заболеваний (травма, инфаркт легкого, плеврит, геморрагический диатез). В то же время при злокачественных процессах с обширной диссеминацией опухоли по серозной оболочке может быть серозный, прозрачный выпот.

5. Хилезный экссудат – мутная жидкость молочного цвета, содержащая во взвешенном состоянии мельчайшие жировые капли. При добавлении эфира жидкость просветляется. Такой выпот обусловлен попаданием в серозную полость лимфы из разрушенных крупных лимфатических сосудов, абсцессом, инфильтрацией сосудов опухолью, филяриозом и др.

6. Хилусоподобный экссудат – молочно-мутная жидкость, появляющаяся в результате обильного распада клеток с жировым перерождением. Под микроскопом определяются капельки жира, много эритроцитов и лимфоцитов, встречаются нейтрофилы. Развитие их связано с повреждением лимфатических сосудов и истечением лимфы в полость брюшины или плевральную полость. Количество белка в среднем 35 г/л. Хилусоподобный экссудат характерен для выпотных жидкостей, появление которых связано с атрофическим циррозом печени, злокачественными новообразованиями и др.

7. Холестериновый экссудат – густая желтоватого или буроватого цвета с перламутровым оттенком жидкость с блестящими хлопьями, состоящими из скоплений кристаллов холестерина. Примесь разрушенных эритроцитов может придавать выпоту шоколадный оттенок. На стенках пробирки, смоченной выпотом, видны слепки кристаллов холестерина в виде мельчайших блесков. Такой характер имеет осумковавшийся выпот, который длительно существует (иногда несколько лет) в серозной полости. При определенных условиях – обратном всасывании из серозной полости воды и некоторых минеральных компонентов экссудата, а также при отсутствии притока жидкости в замкнутую полость – экссудат любой этиологии может приобрести характер холестеринного, наблюдается при злокачественных новообразованиях.

8. Слизистый экссудат – содержит значительное количество муцина и псевдомуцина, может встречаться при мезотелиоме, слизееобразующих опухолях, псевдомиксоме.

9. Фибринозный экссудат – содержит значительное количество фибрина. Встречаются также смешанные формы экссудата (серозно-геморрагический, слизисто-геморрагический, серозно-фибринозный).

Микроскопическое исследование выпотных жидкостей проводят после центрифугирования в течение 5-10 мин при 1500-3000 об/мин и приготовления препаратов из осадка. Микроскопию проводят в нативных и окрашенных препаратах.

Нативные препараты.

Микроскопическое исследование выпотных жидкостей включает исследование нативных препаратов, подсчет цитоза в камере (при необходимости) и исследование окрашенных препаратов для дифференцировки клеточных элементов. В зависимости от вида выпота образуется различный осадок

по количеству и качеству (может быть сероватым, желтоватым, кровянистым, однослойным или двухслойным, изредка трехслойным). В серозном прозрачном выпоте осадка может быть крайне мало, его характер мелкозернистый, цвет серовато-белый. В мутном гнойном или хилезном выпоте с большим количеством клеток осадок образуется обильный, крупнозернистый. В геморрагическом выпоте с большой примесью эритроцитов образуется двухслойный осадок: верхний слой в виде белесоватой пленки и нижний в виде плотного скопления эритроцитов. А при разделении осадка на 3 слоя, верхний - чаще представлен компонентом разрушенных клеток и детрита.

В нативной выпотной жидкости необходимо провести исследование цитоза, исследование имеет ориентировочный характер. Цитоз, или клеточность (в данном методе определяется только количество ядросодержащих клеток) проводят по стандартной методике в камере Горяева или на гематологическом анализаторе в режиме подсчета цельной крови окуляр 7, объектив 40. За количество ядерных клеток принимают значение WBC (white blood cell, или лейкоцитов) в 10^9 л.

Исследование окрашенного препарата.

При приготовлении мазков на предметных стеклах материал из осадка берется из каждого слоя и приготавливается не менее 2-х мазков. При однослойном осадке рекомендовано изготавливать не менее 4-х стекол. При скудном количестве осадка готовится 1 мазок с максимальным количеством материала в нем.

Высушенные на воздухе при комнатной температуре мазки фиксируются и окрашиваются азури-эозином по стандартному методу (Романовского-Гимзы, Паппенгейма-Крюкова, Лейшмана, Нохта, Райта и т.д.). Микроскопическое исследование экссудатов

По клеточному составу различают следующие виды экссудатов.

1. Реактивные: представлены преимущественно клетками мезотелия, небольшим количеством клеток макрофагально-гистиоцитарной природы, многочисленными лимфоцитами, эозинофилами.

2. Реактивно-воспалительные: характеризуются наличием наряду с клетками мезотелия и клетками макрофагально-гистиоцитарной природы сегментоядерных нейтрофилов, от небольшого количества до скоплений гнойного содержимого.

3. Экссудаты с выраженной лимфоидной инфильтрацией присутствуют при реактивно-воспалительных процессах, связанных с инфекцией, после длительных воспалительных процессов в условиях хронизации течения, при эмболии и инфаркте легкого, как вариант, сопутствующей инфильтрации при поражении клетками опухоли или при первичном поражении атипичными опухолевыми клетками гемопоэтической и лимфоидной ткани.

4. Эозинофильные экссудаты при обнаружении в клеточном составе более 10% эозинофилов. В основе подобной инфильтрации лежит специфическое IgE-презентирование эозинофилами при аллергии и иммунокомплексных реакциях, возникающих при контакте с аллергенами паразитов, лекарств, опухолей и т.д.

5. Экссудаты с большим количеством макрофагально-гистиоцитарных элементов встречаются при сердечной и почечной недостаточности, циррозе печени и т.д.

6. Экссудаты с наличием клеток злокачественных новообразований.

Описание цитограмм выпотных жидкостей

Табл. 3. Отличительные особенности реактивных клеток мезотелия и клеток злокачественных новообразований

Цитологические признаки	Клетки мезотелия	Клетки злокачественных опухолей
Характер расположения клеток	В однослойных пластах и разрозненно	Комплексами, тканевыми структурами
Полиморфизм и размер	Мономорфные и схожие по размеру	Полиморфные, резко различающиеся по размеру
Ядра	В клетках одного типа сходные, мономорфные, типичные	Полиморфные, неравномерный хроматин, кариолема неровная
Нуклеолы	Отсутствуют или одиночные, правильной формы	Присутствуют во многих ядрах, отличаются по форме и размеру в ядрах клеток одного типа

Дифференциальная диагностика трансудатов и экссудатов

Чтобы дифференцировать трансудат от экссудата, можно пользоваться несколькими методами, в основе которых лежит определение физических и биохимических параметров жидкости. Различие основано на содержании белка, типе клеток, цвете жидкости и ее удельном весе.

Трансудат, в отличие от экссудата, — выпот невоспалительного происхождения, причем это жидкость, которая накапливается в полостях тела в результате влияния системных факторов регуляции гомеостаза на образование и резорбцию жидкости. Удельный вес трансудата ниже, чем у экссудатов, и составляет менее 1,015 г/мл против 1,015 и более у экссудатов. Содержание общего белка у трансудатов составляет менее 30 г/л против значения, превышающего 30 г/л у экссудатов. Существует качественная проба Ривальта, позволяющая быстро и достаточно точно получить данные о выпоте, для верификации трансудата от экссудата.

Проба Rivalta

В узкий цилиндр со слабым раствором уксусной кислоты (100 мл дистиллированной воды + 1 капля ледяной уксусной кислоты) добавляют по каплям исследуемую выпотную жидкость. Если эта капля, падая вниз, дает тянущуюся за ней полоску помутнения, то жидкость является экссудатом. Трансудаты положительную пробу не дают или дают слабо положительную кратковременную реакцию помутнения.

Модифицированный трансудат является переходной формой от трансудата к экссудату, содержит «промежуточные значения» концентрации белка (между 25 г/л и 30 г/л) и удельного веса (1,015–1,018).

Табл. 4. Дифференциальные характеристики трансудатов и экссудатов

Показатель, ед.изм	Трансудаты	Экссудаты
Относительная плотность	1,006–1,015	более 1,018
Белок, г/л	5-25 (менее 30)	более 30
Свертывание	обычно отсутствует	обычно происходит
Бактериология	Стерильны или содержат «путевую» микрофлору	При микробиологическом исследовании обнаруживается микрофлора (стрептококки, стафилококки, пневмококки, кишечная палочка и т.д.)
Цитология осадка	Мезотелий, лимфоциты, иногда эритроциты («путевые»)	Нейтрофилы, лимфоциты, плазматические клетки, макрофаги и эритроциты в избытке, эозинофилы, реактивный мезотелий, клетки опухолей
Общий белок соотношение выпот/сыворотка	более 0,5	менее 0,5
Концентрация глюкозы, ммоль/л	более 5,3	менее 5,3
Концентрация холестерина, ммоль/л	менее 1,6	более 1,6
Цитоз (ядросодержащие клетки)	менее 1×10^9 /л	более 1×10^9 /л

Рутинное исследование выпотных жидкостей при определении принадлежности их к экссудату должно быть дополнено цитологическим исследованием осадка.

3.7.6. Болезни органов мочевой системы

Гломерулонефрит. Иммуновоспалительное заболевание с преимущественным поражением клубочкового аппарата почек и в меньшей степени канальцев и интерстициальной ткани.

Триадная классическая развернутая форма острого гломерулонефрита сопровождается отечным, гипертензивным и мочевым синдромами.

Диагностические тесты

Общий анализ крови

Биохимический анализ крови:

- общий белок и белковые фракции
- содержание мочевины и креатинина

Общий анализ мочи

Клиническое значение: при остром гломерулонефрите характерно незначительное снижение концентрации гемоглобина за счет разведения крови, умеренное повышение СОЭ.

В сыворотке крови понижение общего белка (гипопротеинемия) за счет альбуминов (гипоальбуминемия), повышение фракции α_2 - и γ -глобулинов. Повышенное содержание мочевины и креатинина.

Моча имеет грязно-бурый оттенок (цвет «мясных помоев»). При лабораторном исследовании обнаруживают значительную протеинурию, в осадке эритроциты, лейкоциты, почечный (кубический эпителий), появление в моче цилиндров (гиалиновых, зернистых, эритроцитарных).

Тяжесть мочевого синдрома определяется характером изменений мочевого осадка при практически нормальном удельном весе мочи:

1) умеренно выраженный мочевого синдром:

- умеренная протеинурия до 2,0 г/л;
- гематурия до 30–50 эритроцитов в поле зрения;
- цилиндрурия (гиалиновые цилиндры);

2) выраженный мочевого синдром:

- протеинурия 3–10 г/л;
- гематурия 50–100 эритроцитов в поле зрения;
- цилиндрурия (зернистые, гиалиновые цилиндры);
- возможна лейкоцитурия;

3) значительно выраженный мочевого синдром:

- протеинурия до 20 г/л;
- гематурия более 100 эритроцитов в поле зрения;
- цилиндрурия (восковидные, зернистые и другие цилиндры);
- лейкоцитурия (преимущественно лимфоцитурия).

Острая почечная недостаточность. Внезапное нарушение функции почек со снижением процессов фильтрации и реабсорбции, приводящей к расстройству водного, электролитного, азотистого и других видов обмена.

Диагностические тесты

Общий анализ крови;

Биохимический анализ крови:

- содержание мочевины и креатинина;

- содержание электролитов: калия, магния, фосфора, натрия и кальция
- определение резервной щелочности

Общий анализ мочи.

Клиническое значение: При общем анализе крови устанавливают нейтрофильный лейкоцитоз, гипохромную анемию, увеличение СОЭ.

В результате нарушения выделительной функции почек в сыворотке крови уровень мочевины повышается до 8 раз, креатинина – до 6,5 раз (Г.А. Зиадетдинова. 2005).

В организме развивается метаболический ацидоз.

В начальной стадии ОПН выделяют гиперкалиемию, уменьшение относительной плотности мочи, гипернатриемию, которая сменяется на гипонатриемию.

Во второй стадии заболевания магний и фосфор повышаются, а концентрация кальция снижается.

В стадию восстановления диуреза отмечается гипо- и изостенурия, водно-электролитные нарушения исчезают.

Моча при ОПН содержит белок, цилиндры, эритроциты, почечный эпителий.

Хроническая почечная недостаточность. Заболевание, характеризующееся снижением функции клубочков и канальцев, выраженным нарушением гомеостаза. Возникает вследствие прогрессирующих хронических заболеваний почек, сопровождаемых гибелью большого числа нефронов.

Диагностические тесты

Общий анализ крови;

Биохимический анализ крови:

- содержание мочевины и креатинина;
- активность щелочной фосфатазы;
- содержание электролитов: калия, натрия и кальция

Общий анализ мочи.

Клиническое значение: При общем анализе крови характерны гипопластическая анемия, снижение количества гемоглобина, эритроцитов.

Нарушается выведение конечных продуктов белкового обмена, что приводит к развитию азотемии. В сыворотке крови концентрация мочевины повышается в 2,5 раз и более, креатинина – в 3 и более раза (Л.Ю. Войтова, 2014); увеличение активности щелочной фосфатазы в 2 раза.

В зависимости от стадии хронической почечной недостаточности уровень электролитов в сыворотке крови увеличивается или снижается. В латентную стадию содержание К, Na, Са остается в норме; в компенсированную стадию Na незначительно снижен, К, Са в норме; в интермиттирующую

стадию Na, K, Ca снижены; в терминальную стадию Na снижен, затем повышен, K и Ca повышены.

При анализе мочи устанавливают понижение относительной плотности в пределах 1,010-1,020, наличие белка, цилиндров, эритроцитов.

Нефроз. Поражение почек невоспалительного характера, характеризующееся дистрофическими изменениями преимущественно канальцев мозгового слоя. По течению различают острый и хронический.

Виды нефроза:

- липоидный — происходят нарушения клеточного питания, капилляры становятся ломкими, их стенка истончается. При этом белковые и липоидные (жировые) частицы накапливаются в моче, приводя к поражению эпителиальной ткани почечных канальцев.

- некротический — представляет собой острое нарушение кровоснабжения почек, в результате чего формируется стойкая ишемия, приводящая к отмиранию тканей.

- токсический — поражение почек происходит при воздействии ядовитых веществ.

- гидропический — возникает на фоне истощения организма, а также заболеваний эндокринной системы.

Диагностические тесты

Общий анализ крови;

Биохимический анализ крови:

- определение общего белка и белковых фракций;
- определение общего холестерина.

Общий анализ мочи.

Клиническое значение

При анализе мочи для нефроза характерны высокая протеинурия, в мочевом осадке обнаруживают лейкоциты, эпителиальные клетки почечных канальцев, цилиндры: эпителиальные, зернистые, гиалиновые, при тяжелых хронических почечных заболеваниях появляются восковидные цилиндры.

Нефрозу свойственны гипопроteinемия и диспротеинемия. Особенно сильно снижается содержание альбуминов в плазме крови, что приводит к уменьшению альбумин-глобулинового коэффициента. Соответственно в крови увеличивается количество глобулинов, преимущественно за счет α_2 - и β -глобулинов. Уровень γ -глобулинов снижен. Постоянным симптомом заболевания является холестеринемия.

При общем анализе крови регистрируют увеличение СОЭ.

При некротическом нефрозе по мере нарастания патологического процесса происходит развитие почечной недостаточности. При этом развивается уремия с увеличением в крови количества азотистых шлаков, минеральных веществ и образованием ацидоза.

Нефросклероз («сморщенная почка», цирроз почек, хроническое интерстициальное воспаление почек). Замещение паренхимы почки соединительной тканью, приводящее к их уплотнению, сморщиванию и нарушению функций.

Диагностические тесты

Общий анализ крови;

Биохимия крови:

- общий белок;
- содержание мочевины и креатинина;
- содержание электролитов: калия, фосфор, натрия и кальция

Общий анализ мочи.

Клиническое значение

При общем анализе мочи для нефросклероза показательно значительное уменьшение относительной плотности мочи (до 1,005-1,015 г/л). При нарастании признаков ХПН возможны эритроцитурия (до 2-3 эритроцитов в поле зрения), цилиндрурия, протеинурия (до 0,033 г/л).

У животных со сморщенной почкой снижается содержание гемоглобина и эритроцитов, отмечается умеренная тромбоцитопения, увеличение времени свертываемости крови.

По биохимическим показателям выявляют почечную недостаточность. При нефросклерозе может быть повышено содержание креатинина, мочевины, магния, фосфора, натрия. Снижается уровень белка, калия.

Пиелонефрит. Одновременное или последовательное воспаление паренхимы и лоханки почки.

Диагностические тесты

Общий анализ крови;

Общий анализ мочи

Клиническое значение: При общем анализе крови характерны нейтрофильный лейкоцитоз, увеличение СОЭ, гипохромная анемия.

В общем анализе мочи наблюдается смещение рН в щелочную сторону, протеинурия, лейкоцитурия, бактериурия, эпителий почечной лоханки

Мочекаменная болезнь. Заболевание, сопровождающееся образованием и отложением мочевых камней в почечной лоханке, мочевом пузыре, уретре.

Диагностические тесты: общий анализ мочи

Клиническое значение: в осадке мочи обнаруживают кристаллы солей. После почечной колики в моче появляются эритроциты.

Цистит. Воспаление стенки мочевого пузыря.

Диагностические тесты:

Общий анализ крови;

Общий анализ мочи

Клиническое значение: При общем анализе крови обнаруживают умеренный нейтрофильный лейкоцитоз и ускорение СОЭ

При общем анализе мочи умеренная протеинурия; в осадке лейкоциты, эпителий мочевого пузыря, эритроциты, бактерии.

3.7.7. Болезни обмена веществ

Обмен веществ — совокупность химических превращений с момента поступления в организм до выделения конечных продуктов. Обмен веществ и энергии представляет единство двух взаимосвязанных процессов: синтеза (анаболизма) и распада (катаболизма).

Все породы, линии крупного и мелкого рогатого скота, свиней, овец, коз, лошадей и других животных разводили и отбирали (селекционировали) в условиях, позволяющих их организму проявить максимальный генетический потенциал образования (биосинтеза) определенного вида продукции, полезной для человека, - мяса, молока, шерсти, кожи, яиц, рабочей тяговой силы и др. при эффективном использовании свойственных для данного вида животных питательных веществ, кормов с низкими (минимальными) затратами их на единицу продукции в оптимальных условиях окружающей среды.

Однако практика работы сельскохозяйственных предприятий разных форм собственности показывает, что фактически, даже при наличии чистопородных животных, они несут существенные убытки за счет низкой сохранности, продуктивности и воспроизводительной способности животных.

Одной из основных причин этих трудностей в развитии животноводства является нарушение различных видов обмена веществ: белков, углеводов, липидов, витаминов, минеральных веществ - микро- и макроэлементов в организме продуктивных животных в результате дисбаланса их поступления в организм с кормом, гиподинамии, развития стрессового состояния, отрицательного действия техногенных факторов окружающей среды.

Нарушения в обмене веществ вызывают структурные изменения во всех органах и системах и снижают способность к реализации свойственных им физиологических функций.

Кетоз. Преимущественно хроническая болезнь крупного рогатого скота и овец, буйволиц, характеризующаяся накоплением в организме кетоновых тел (β -оксимасляная, ацетоуксусная кислоты и ацетон) и сопровождающаяся вследствие этого дистрофическими процессами в печени, сердце, почках, гипофиз-надпочечниковой системе, щитовидной, околощитовидных желез и других органах.

Диагностические тесты: при остром кетозе — повышение содержания в крови, моче, молоке, рубцовой жидкости кетоновых тел, снижение в крови глюкозы, резервной щелочности.

У здоровых новотельных коров, в крови содержится кетоновых тел до 8 мг/100 мл, в молоке — 6—8, в моче — 9—10 мг/100 мл. У больных животных в острую стадию болезни количество кетоновых тел в крови достигает 20 мг%, в моче — 100—500, в молоке — 20—25 мг% и выше.

Содержание глюкозы в крови больных коров снижается до 35—25 мг% (1,9—1,4 ммоль/л), у здоровых животных концентрация глюкозы в крови составляет 40—60 мг% (2,2—3,3 ммоль/л).

Резервная щелочность в крови снижается до 37 об.% CO₂ (в норме у коров 46—66 об.% CO₂).

При хроническом кетозе наблюдаются снижение в крови количества гемоглобина (ниже 80—90 г/л), общего кальция (ниже 9,5 мг%, 2,4 ммоль/л), повышение преимущественно общего белка сыворотки крови (выше 80—86 г/л), неорганического фосфора (выше 6 мг%, 1,94 ммоль/л). При затяжном течении болезни и развитии признаков вторичной остеодистрофии содержание кетоновых тел в крови, моче и молоке находится на верхних пределах нормы или немного превышает ее.

Кетоз суягных овцематок. Тяжелое заболевание, характеризующееся усиленным распадом эндогенных жиров и белков, развитием токсемии, дистрофии печени и других органов. При недостаточном поступлении с кормом углеводов, белков и жиров наступает усиленный распад этих веществ в организме. Промежуточными продуктами распада депонированных жиров являются свободные жирные кислоты, из которых при недостатке глюкозы и торможении реакций в цикле трикарбоновых кислот образуются кетоновые тела.

Диагностические тесты: повышение в крови, моче содержания кетоновых тел, снижение сахара. Концентрация кетоновых тел в крови возрастает до 15 мг/100 мл и более, в моче — до 100—800 мг/100 мл. Содержание сахара снижается до 35 мг/100 мл (1,94 ммоль/л) и ниже.

Вторичная остеодистрофия коров. Хроническая болезнь, характеризующаяся системной костной дистрофией, нарушением обмена веществ, функций щитовидной и околощитовидной желез, печени и других органов вследствие кетоза.

В основе патогенеза этой болезни лежит нарушение функции щитовидной и околощитовидной желез вследствие затяжного течения кетоза.

Диагностические тесты: снижение содержания гемоглобина в крови (ниже 90 г/л), резервной щелочности (менее 46 об.% CO₂), кальция сыворотки крови (менее 9,5 мг/100 мл, 2,4 ммоль/л). Общего белка в сыворотке крови чаще более 86 г/л, фосфора 6 мг/100 мл (1,95 ммоль/л). Белково-осадочные пробы положительные.

Миоглобинурия. Тяжелое остропротекающее заболевание, сопровождающееся накоплением в мышцах молочной и других кислот, своеобразным

их изменением, парезом задней части тела, выделением с мочой миоглобина. Возникновению заболевания предшествует избыточное накопление в мышцах гликогена, при распаде которого образуется большое количество молочной кислоты, под действием которой набухают и уплотняются мышечные волокна, возникает контрактура мышц с последующим перерождением и распадом мышечных волокон, высвобождением миоглобина.

Диагностические тесты: в моче рН ниже 6,5—7,0, наличие миоглобина и нередко белка. В крови выражено снижение резервной щелочности до 35 об.% CO_2 и ниже, повышение содержания глюкозы до 166 мг/100 мл (9,2 ммоль/л), молочной кислоты до 23 мг/100 мл (1,36 ммоль/л), несколько уменьшена концентрация магния. СОЭ при тяжелом течении болезни резко замедлена, а в случае развития сепсиса — ускорена, при средней тяжести вначале замедлена, а затем приближается к норме, при легком течении заболевания в пределах нормы. Величина гемокрита при тяжелом течении болезни понижается до 27—25 %. Сыворотка крови розово-красного цвета, при выздоровлении соломенно-желтого. Содержание общего белка сыворотки крови нередко повышено вследствие поражения печени, осадочная белковая проба положительная. Содержание молочной кислоты резко возрастает.

Гипогликемия поросят. Заболевание, характеризующееся резким снижением содержания сахара в крови. Сущность болезни заключается в неадекватном притоке и потреблении энергетических веществ, в частности глюкозы, в первые дни жизни поросят. При недостаточном поступлении углеводов с молоком усиленно расходуется гликоген и глюкоза организма, вследствие чего снижается ее уровень в крови.

Диагностические тесты: понижение уровня глюкозы до 40 мг% (2,2 ммоль/л) и ниже при норме 95—105 мг% (5,27—6,03 ммоль/л), повышение концентрации мочевины в сыворотке крови до 100—150 мг% (16,6—24,9 ммоль/л) при норме 40—50 мг% (6,7—8,3 ммоль/л). Снижение количества гемоглобина в крови.

Мочекислый диатез. Заболевание, характеризующееся повышенным образованием мочевой кислоты и отложением ее солей на серозных оболочках грудобрюшной полости, почек, печени, на синовиальных оболочках суставов (подагра). Встречается преимущественно у птиц.

Диагностические тесты: содержание мочевой кислоты в сыворотке крови выше 7—8 мг/100 мл (413—472 мкмоль/л). Наблюдают повышение уровня общего белка, гаптоглобина в сыворотке крови, серомукоида, креатинина, общих липидов, снижение резервной щелочности.

Алиментарная остеодистрофия. Хроническая болезнь, сопровождающаяся дистрофическими изменениями в костной ткани в результате недостаточного поступления с кормом кальция, фосфора, магния, энергетических, белковых и других веществ.

Диагностические тесты: значительно снижается содержание гемоглобина, общего белка в сыворотке крови, общего и ионизированного кальция, неорганического фосфора, магния, каротина и витамина А, лимонной кислоты, щелочного резерва, повышается активность фосфатазы. У тяжелобольных коров содержание общего кальция в сыворотке крови колеблется от 6,26 до 11,5 мг/100 мл, неорганического фосфора — от 3,4 до 4,8, магния — от 1,40 до 1,93 мг/100 мл, общего белка — от 50 до 80,6 г/л, активность щелочной фосфатазы — от 7,10 до 25,75 ед. Бодански.

Энзоотическая остеодистрофия. Хроническая болезнь, обусловленная дисбалансом макро- и микроэлементов в почве, воде, кормах. Характеризуется дистрофией костной ткани, замедлением роста у молодняка. Болеют преимущественно крупный рогатый скот и овцы.

Диагностические тесты: снижение в крови количества эритроцитов и гемоглобина, связанного с белком йода, кальция, нередко фосфора. В кормах и воде низкое содержание кальция, йода, меди, селена, повышенное — стронция и бария.

Гипомагниемия. Остропротекающая болезнь, характеризующаяся повышенной возбудимостью, клоническими и тетаническими судорогами вследствие резкого снижения магния в крови. Магний активирует холинэстеразу и ускоряет гидролиз ацетилхолина — медиатора нервных импульсов. Возбудимость нервных окончаний при этом тормозится, мышцы расслабляются. При недостатке магния активность холинэстеразы снижается, концентрация ацетилхолина возрастает, повышается нервная возбудимость, появляются клонические и тетанические судороги.

Диагностические тесты: снижение в сыворотке крови магния до 1,7 мг% (0,7 ммоль/л) и ниже (норма 2—3 мг/100 мл), кальция до 8,5—7,5 мг% (2,1—1,9 ммоль/л).

Гипокобальтоз. Эндемическая болезнь, обусловленная недостаточностью в организме кобальта и характеризующаяся нарушением эритропоэза, белкового обмена, костной дистрофией и истощением.

Диагностические тесты: В крови отмечается резкое снижение количества гемоглобина и эритроцитов соответственно до 47—30 г/л и 4—2,5 млн/мкл ($4—2,5 \cdot 10^6$ /л). Содержание кобальта в цельной крови ниже 2,5 мкг/100 мл (0,43 мкмоль/л). Цветовой показатель выше 1. Отмечают гипопроотеинемия — 70—65 г/л и ниже; гипокальциемию — ниже 10 мг/100 мл (2,5 ммоль/л).

Гипокупроз. Преимущественно хроническое заболевание, сопровождающееся нарушением гемопоэза, изменением цвета волос (обесцвечиванием), дистрофическими изменениями в ЦНС.

Диагностические тесты: содержание подвижных форм меди в цельной крови — ниже 70 мкг%. Гипокупроз сопровождается снижением в крови количества гемоглобина и эритроцитов.

Недостаточность цинка. Заболевание, характеризующееся нарушением процессов ороговения клеток эпидермиса (паракератоз), костеобразования, кроветворения, воспроизводительной функции.

Диагностические тесты: содержание обменного цинка в цельной крови — ниже 300—400 мкг/100 мл. Наблюдается иммунный дефицит. Содержание цинка в сыворотке крови ниже 50 мкг% (7,70 мкмоль/л) — показатель цинковой недостаточности.

Недостаточность марганца. Хроническое заболевание, характеризующееся нарушением воспроизводительной функции, дистрофией костей и суставов (скользящий сустав).

Диагностические тесты: у больных животных содержание марганца в крови ниже 5 мкг/100 мл.

Беломышечная болезнь. Заболевание, сопровождаемое у молодняка дистрофией скелетных и сердечной мышц, печени и других органов.

Диагностические тесты: содержание селена в кормах менее 1 мг/кг сухого вещества корма, в цельной крови — ниже 10 мкг/100 мл, в сырой печени — 3—5 мг/100 г, в волосах — 120 мкг/кг, в молоке — 4 мкг/л. Увеличение в крови концентрации креатина, повышение активности глутатионпероксидазы.

Йодная недостаточность сопровождается низкорослостью и недоразвитостью животных, появлением алопеции, гиперкератозом, увеличением или уменьшением щитовидной железы, снижением продуктивности и плодовитости.

Диагностические тесты: снижение содержания связанного с белком йода (СБИ) до 2—2,5 мкг/100 мл. и ниже, в молоке — ниже 2 мкг/100 мл (20мкг/л) при норме 60—80мкг/л,

Недостаточность фтора (энзоотический кариес зубов). Хроническое заболевание, проявляющееся прогрессирующим разрушением твердых тканей зубов. Диагноз ставят на основании клинических признаков и определения содержания фтора в кормах, почве и воде.

Диагностические тесты: содержание фтора в воде менее 0,5 мг/л. Среднее пороговое содержание фтора в воде 0,3—0,4 мг/л, в растениях 3—5 мг/кг.

Энзоотический флюороз. Хроническое заболевание, проявляющееся главным образом остеосклерозом и гипоплазией эмали зубов.

Диагностические тесты: содержание фтора в питьевой воде более 1,2—1,5 мг/л, в почвах — более 0,05 %.

Нарушения фосфорно-кальцевого обмена у взрослых животных проявляются расстройством пищеварения и дистрофическими процессами в скелете (остеомалация), извращением аппетита.

Диагностические тесты: снижение или, наоборот, увеличение содержания общего кальция и неорганического фосфора в сыворотке, изменение их соотношения, повышение активности щелочной фосфатазы, снижение резервной щелочности плазмы (ацидоз).

Гиповитаминоз А. Хроническое заболевание, сопровождающееся усиленной метаплазией и ороговением эпителиальных клеток, нарушением сумеречного зрения, воспроизводительной функции и роста молодняка.

Витамин А быстро разрушается при инфекционных и инвазионных болезнях, стрессе, интенсивной антибиотикотерапии и применении многих других лекарственных веществ.

Диагностические тесты: снижение уровня каротина в сыворотке крови взрослого крупного рогатого скота и молодняка старше 3 мес до 0,4 мг/100 мл и ниже, α -ретинола до 16 мкг/100 мл и ниже. У телят молочного периода клинические признаки гиповитаминоза А проявляются при содержании ретинола в сыворотке крови 48 мкг/100 мл. Молозиво первого удоя от коров с недостаточностью ретинола содержит менее 4 мг/кг витамина А, молоко — следы.

У овец болезнь проявляется при содержании ретинола в сыворотке крови менее 20 мкг/100 мл. Содержание в молозиве овец первого удоя 3—5 мг/кг, а в молоке 3 мг/кг ретинола свидетельствует о хорошем обеспечении маток каротином, а ягнят витамином А. Снижение этих показателей указывает на гиповитаминоз А.

У свиней - при содержании ретинола в сыворотке крови менее 10 мкг/100 мл (норма 50 мкг/100 мл и выше).

Гиповитаминоз D. Хроническое заболевание, сопровождающееся нарушением фосфорно-кальцевого обмена, дистрофией кости. У молодняка болезнь называется рахитом.

Диагностические тесты: содержание в сыворотке крови общего кальция ниже 9,0 мг/100 мл (2,25 ммоль/л), неорганического фосфора менее 4,5 мг/100 мл (1,45 ммоль/л), активность щелочной фосфатазы выше 5 ед. Бодански или выше 1,4 мкмоль/мл за 1 ч инкубации при 37°C. У молодняка отмечают снижение в крови эритроцитов и гемоглобина. Общий белок сыворотки крови в пределах нормы или ниже ее. Содержание в крови 1,25-дигидрохолекальциферола D₃ у больных телят снижено и составляет 7—14 нг/мл против 39—70 нг/мл у здоровых.

Гиповитаминоз E. Хроническое заболевание, проявляющееся нарушением окислительных процессов в организме и его тканях, перерождением и некрозом печеночных клеток, мышечной дистрофией.

У различных видов животных авитаминоз Е проявляется по-разному: у ягнят наблюдается развитие мышечной дистрофии, так как с молоком овцематки не передают им витамин Е. У телят авитаминоз Е проявляется совместно с недостатком селена, что приводит к дегенерации мышц.

Недостаточность витамина Е у птиц может проявляться энцефаломалацией, экссудативным диатезом, мышечной дистрофией. У взрослых птиц длительный дефицит в кормах витамина Е приводит к стерильности самцов и снижению репродуктивных качеств кур-несушек.

Гиповитаминоз Е у взрослых собак и кошек характеризуется нарушением функции размножения, а у молодняка проявляющийся задержкой развития, роста, мышечной дистрофией, токсической гепатодистрофией, энцефалопатией с размягчением головного мозга, анемией и геморрагическим диатезом.

Лабораторно в крови больных животных выявляется резкое возрастание активности аспартаттрансаминазы, аланинтрансаминазы, сукциндегидрогеназы и альдолазы и снижение содержание витамина Е (ниже 2 мкмоль/л), эритроцитов и лимфоцитов. В моче в значительном количестве появляется миоглобин.

Диагностические тесты: показатели, характерные для дистрофии печени. Снижение в сыворотке крови содержания токоферола до 2 мкмоль/л. У больных поросят этот показатель менее 100 мкг/100 мл (2,32 мкмоль/л), у здоровых — 145—179 мкг/100 мл. У здоровых коров содержание токоферола в сыворотке крови в зимний период 400—500 мкг/100 мл (9,26—11,6 мкмоль/л), в летний — около 800 мкг/100 мл (8,58 мкмоль/л) и более, а у больных значительно ниже. При гиповитаминозе Е отмечается повышение активности АсАТ, АлАТ, альдолазы, ЛДГ.

Гиповитаминоз К. Заболевание, характеризующееся снижением свертываемости крови. Болеют преимущественно птицы и пушные звери.

Диагностические тесты: снижается в крови количество эритроцитов, удлиняется время свертывания крови, увеличивается продолжительность кровотечения. У свиней свертывание крови происходит не за 4—5 мин, как это бывает в норме, а за 10—20 мин. Протромбиновое время увеличивается до 22,6 с при норме 14 с.

Гиповитаминоз С. Заболевание, сопровождающееся снижением порозности кровеносных сосудов, геморрагией, воспалением десен, опуханием суставов, снижением резистентности организма.

Гиповитаминоз С у собак и кошек развивается при длительном скармливании им кормов, содержащих незначительное количество аскорбиновой кислоты и сахаров. При заболеваниях пищеварительного аппарата и печени нарушается синтез и всасывание в кишечнике аскорбиновой кислоты.

Содержание аскорбиновой кислоты в сыворотке крови ниже 0,3—0,5 мг в 100 мл – признак недостаточности витамина.

Диагностические тесты: снижение в крови содержания эритроцитов, гемоглобина, аскорбиновой кислоты. У больных взрослых свиней уровень аскорбиновой кислоты в сыворотке (плазме) крови ниже 0,2 мг/100 мл (11 мкмоль/л), у поросят — менее 0,96 мг/100 мл (55 мкмоль/л), у крупного рогатого скота — менее 0,6 мг% (34 мкмоль/л), у лошадей — 0,2 мг%, у овец — 0,4 мг% (менее 23 мкмоль/л). У больных телят содержание аскорбиновой кислоты в сыворотке крови менее 0,3 мг/100 мл (18 мкмоль/л). Содержание в молоке коров аскорбиновой кислоты ниже 10 мг/л, овец и кобыл — 40, свиней — 120 мг/л свидетельствует о развитии гиповитаминоза С.

Гиповитаминоз В₁. Заболевание, сопровождающееся расстройством функции нервной системы, ослаблением сердечной деятельности, мышечной слабостью, диспепсическими явлениями. При недостатке витамина В₁ в организме накапливаются пируваты и лактаты, в эритроцитах падает активность транскетолазы.

Дефицит этого витамина в организме возникает при длительном скармливании вареного картофеля, обрубленного зерна, свежей рыбы (тюльки, корюшки, плотвы, салаки, леща, щуки, карпа, окуня), содержащей фермент тиаминазу, разрушающую витамин В₁ и избытке углеводов при недостатке белка. Витамин В₁ в организме собак и кошек, в отличие от с.-х. животных, не синтезируется, поэтому его необходимо задавать с кормом.

Диагностические тесты: содержание в сыворотке крови пировиноградной кислоты выше 1,3—1,7 мг/100 мл (138—193 мкмоль/л), молочной кислоты выше 11—13 мг/100 мл (1,4—1,44 ммоль/л), содержание общего тиамин в цельной крови ниже 7—15 мкг/100 мл, в печени — менее 10 мг/кг сырой ткани. У больных цереброкортикальным некрозом, вызванным недостатком тиамин, содержание пируватов достигает 170—560 мкмоль/л.

Гиповитаминоз В₂. Хроническое заболевание, сопровождающееся задержкой роста, поражением кожи, нервными расстройствами. Недостаточность рибофлавина чаще отмечают у птиц, пушных зверей, свиней, реже — у крупного рогатого скота и других животных.

Способствуют гиповитаминозу В₂ низкое содержание белка в рационе, длительное применение антибиотиков и сульфаниламидов, недостаток других витаминов, особенно тиамин, никотиновой и аскорбиновой кислоты, интоксикации и различные болезни.

У щенков и котят при дефиците витамина В₂ наблюдается сухой чешуйчатый дерматит с эритемой, конъюнктивит, васкуляризация роговицы, западение глазных яблок, слабость задних конечностей.

Диагностические тесты: содержание рибофлавина в крови больных животных ниже 8—16 мкг/100 мл, в печени крупного рогатого скота менее 0,1—0,3 мг/100 г, свиней — 2,9—4,4 мг/100 г. В крови резко уменьшается количество гемоглобина и эритроцитов, развивается анемия.

Гиповитаминоз РР (пеллагра). Заболевание, характеризующееся поражением кожи, желудочно-кишечного тракта и нервной системы. При недостатке никотиновой кислоты или ее амида нарушается синтез коферментов дегидрогеназы, следовательно, снижаются окислительно-восстановительные процессы и тканевое дыхание, развиваются дистрофические и атрофические процессы в коже, пищеварительном тракте, нервных клетках.

Диагностические тесты: зависят от поражения органов и систем. При преобладании поражения желудочно-кишечного тракта отмечают снижение в крови гемоглобина, эритроцитов, повышение СОЭ; при поражении кожи с развитием пиодермии наблюдается нейтрофильный лейкоцитоз.

Содержание никотиновой кислоты в печени здорового взрослого крупного рогатого скота 7,6—27,5 мг/100 г. При пеллагре ее уровень в печени значительно ниже указанных величин.

Гиповитаминоз В₆. Хроническое заболевание, характеризующееся нарушением азотистого обмена, микроцитарной анемией, поражением кожи, признаками судорог, задержкой роста. Пиридоксин в форме кофермента пиридоксальфосфата участвует в трансаминировании, дезаминировании и декарбоксилировании аминокислот. При недостатке пиридоксина в крови понижается количество эритроцитов и гемоглобина, ухудшается ее свертываемость, накапливается в организме глутаминовая кислота, что ведет к повышению возбудимости коры головного мозга и появлению эпилептических припадков и судорог.

Возникновению гиповитаминоза способствует продолжительное кормление животных испорченными, плесневелыми, вареными кормами, а также избыток в рационе белков, применение антибиотиков и сульфаниламидов.

Ранними симптомами В₆-авитаминоза у щенков и котят является лимфопения, а затем общая лейкопения. Развивается микроцитарная и гипохромная анемия, сопровождающаяся нарушением обмена железа. У собак и кошек нередко появляется извращение аппетита, расстройство желудочно-кишечного тракта, отмечаются поражение кожи, особенно на нижней поверхности живота, дерматиты вокруг глаз, носа, развивается некроз кончика хвоста, ушей.

Диагностические тесты: количество микроэритроцитов в окрашенных мазках крови составляет 90% и более общего числа эритроцитов. Снижено содержание в крови гемоглобина. В моче повышено количество ксантуровой кислоты, в крови и молоке — пиридоксина.

Недостаточность цианкобаламина (В₁₂-гиповитаминоз). Заболевание, характеризующееся прогрессирующей анемией, исхуданием, задержкой роста. Витамин В₁₂ (цианкобаламин, оксикобаламин, нитрокобаламин, аквакобаламин и др.) участвует в переносе метальных групп и водорода. Он необходим для кроветворения, образования эпителиальных клеток, функционирования нервной системы, роста и процессов регенерации. При недостатке

цианкобаламина развивается анемия, нарушается межклеточный обмен белков, углеводов и жиров, задерживается рост и развитие.

У жвачных животных в рубце активен синтез витамина В₁₂ при наличии микроэлемента кобальта, при авитаминозе В₁₂ у них отмечают выраженную задержку роста, истощение, пониженный аппетит, дегенеративные изменения в печени.

При недостатке в рационе пантотеновой (витамина В₅) и фолиевой (витамина В₉) кислот, рибоксина (витамина В₂), пиридоксина (витамина В₆) и метионина также возникает дефицит витамина В₁₂ в организме.

Диагностические тесты: снижение в крови содержания эритроцитов, гемоглобина, цианкобаламина, кобальта.

3.7.8. Болезни эндокринных органов

В организме животных существует нервная регуляция, которая осуществляется при помощи центральной нервной системы, но кроме неё существует еще и гуморальная регуляция, которая осуществляется посредством переносимых кровью биологически активных веществ – гормонов. Обе системы создают один общий, очень сложный нейрогуморальный аппарат. Этот аппарат взаимодействует со всеми системами и органами организма животных, регулируя большинство процессов и даже особенности поведения. У высокоорганизованных животных, благодаря этому образуется сложное взаимодействие с окружающей средой, повышается устойчивость внутренней среды организма (гомеостаз).

Эндокринные расстройства могут возникать при нарушении функции любого звена – от коры больших полушарий до пострецепторных процессов в клетках-мишенях. Можно использовать следующую классификацию.

1. Заболевания гипоталамо-гипофизарной системы (акромегалия и гигантизм, ахондроплазия, гипофизарная карликовость, болезнь Иценко-Кушинга, гиперпролактинемия, несахарный диабет).

2. Заболевания щитовидной железы (эндемический зоб, гипотиреоз, тиреоидит, диффузный токсический зоб, опухоли щитовидной железы).

3. Заболевания паращитовидных желез (гипопаратиреоз и гиперпаратиреоз).

4. Заболевания островкового аппарата поджелудочной железы (сахарный диабет, гипогликемия, опухоли клеток островков Лангерганса).

5. Заболевания надпочечников (гиперальдостеронизм, гипoadренокортицизм, первичный гиперальдостеронизм, феохромоцитома).

6. Эндокринные заболевания гонад (гипогонадизм, крипторхизм, опухоли семенников, гипофункция яичников, кисты яичников, персистентное желтое тело яичников, нимфомания, анафродизия).

7. Эндокринные заболевания тимуса.

Важное место в диагностике эндокринных болезней занимают лабораторные исследования. При болезнях эндокринных органов существенно из-

меняются биохимические показатели крови, мочи, молока и других биологических жидкостей, так как гормоны оказывают существенное влияние на обмен веществ. Проводят общий клинический анализ крови и мочи. Используют общедоступные методы оценки состояния белкового, углеводного, липидного, минерального и водно-электролитного обмена, кислотно-щелочного равновесия. Оценивают активность некоторых ферментов, проводят белково-осадочные пробы. Существуют биологические, химические и сатурационные методы определения гормонов. Предпочтение отдается сатурационным методам, основанным на вытеснении меченого гормона из специфической связи с белками-носителями, рецепторами или антителами природным гормоном, содержащимся в испытуемой пробе. В ряде случаев определение гормонов проводят в условиях специфических нагрузок, одновременно находят концентрацию основного гормона и его регулируемого параметра. Сопоставляют с содержанием его физиологического регулятора. Ультразвуковой метод (УЗИ) применим для морфологической оценки паращитовидной, поджелудочной желез, надпочечников у мелких животных.

Для диагностики опухоли гипофиза, надпочечников у животных используют метод томоденситометрии с предварительным внутривенным введением контрастного йодированного продукта. Для лабораторной диагностики эндокринных болезней, как минимум следует использовать морфологические и биохимические анализы крови, остальные методы – при наличии соответствующей аппаратуры.

Заболевания гипоталамо-гипофизарной системы

Акромегалия – заболевание, характеризующееся диспропорциональным развитием костей скелета, тканей и органов – возникает в результате избыточной секреции гипофизом гормона роста – соматотропина (СТГ). При лабораторной диагностике выявляют высокий уровень соматотропина.

Гигантизм - заболевание, при котором также наблюдается повышенная выработка соматотропина (гормона роста), что в свою очередь приводит к чрезмерному росту конечностей и туловища. Отличие гигантизма от акромегалии заключается в том, что при гигантизме пропорционально быстро растут органы, ткани и в особенности кости скелета. Лабораторные исследования при акромегалии и гигантизме не выявляют существенных изменений, однако, в крови увеличено содержание соматотропина.

Ахондроплазия – это патология, которая проявляется при мутации (у собак гена в 4 хромосоме), характеризуется угнетением роста хрящей. В норме этот ген отвечает за нормальный рост фибробластов, синтезирующих белки, и, соответственно, костной ткани. При обследовании, у всех животных, страдающих ахондроплазией, выявляют дефицит гормона роста и связано это с дисфункцией гипофиза.

Гипофизарная карликовость является наследственной патологией, характеризуется недостаточным функционированием гипоталамуса или ги-

пофиза. Визуально болезнь выражается в малом росте (карликовость), плохого качества шерсти, патологиях надпочечников, щитовидки и половых желез. Клинические симптомы выражены, если есть нехватка адренокортикотропного и тиреотропного гормонов. Диагностика: анализ крови на уровень гормонов (гормон роста, адренокортикотропный и тиреотропный гормон), взятие биопсии, с помощью которой можно обнаружить снижение количества и размера волокон эластина.

Болезнь Иценко-Кушинга - нейроэндокринное расстройство, развивающееся вследствие поражения гипоталамо-гипофизарной системы, гиперсекреции АКТГ и вторичной гиперфункции коры надпочечников и развитием в конечном итоге гиперкортицизма.

Лабораторная диагностика выявляет увеличение содержания гемоглобина и эритроцитов, нейтрофильный лейкоцитоз, эозинопению, лимфоцитопению, гипоальбуминемию, гиперглобулинемию, гиперхолестеринемию, гипокалиемию, гипергликемию (не всегда). Кроме того отмечают повышение содержания в крови 11-ОКС, 17-ОКС, гидрокортизона, кортикотропина. При общем анализе мочи обнаруживают протеинурию, микрогематурию, цилиндрурию, глюкозурию, повышенную экскрецию с мочой 11-ОКС, 17-ОКС.

Пангипопитуитаризм (диэнцефально-гипофизарная кахексия, болезнь Симмондса) – заболевание гипоталамо-гипофизарной системы, вызывающее вторичное снижение функции периферических эндокринных желез. Лабораторно устанавливают снижение уровня сахара в крови.

Гиперпролактинемия. Это патологическое состояние, характеризующееся выделением молока из молочных желез вне связи с беременностью.

Лабораторная диагностика включает определение уровня пролактина. При гиперпролактинемии отмечается снижение показателей половых гормонов (ЛГ, ФСГ, эстрогенов). Для диагностики эндокринных патологий устанавливают содержание ТТГ, АКТГ, антимюллерова гормона.

Несахарный диабет (несахарное мочеизнурение) - хроническое заболевание собак, реже кошек и лошадей (чаще жеребцов) сопровождающееся нарушением водного и минерального обмена. Наиболее часто заболевание возникает в результате поражения диэнцефально-гипофизарной системы, что приводит к нарушению образования антидиуретического гормона в задней доле.

Лабораторные исследования, которые используют для диагностики несахарного диабета, включают:

- **Тест водной депривации.** 1. Животное выдерживают на голодной диете 12 часов. 2. Проводят катетеризацию мочевого пузыря с взятием общего анализа мочи. Фиксируют удельный вес (плотность) мочи. 3. Измеряют вес животного. 4. В течение следующих 12 -18 часов животному не дают корм и воду, устанавливают уретральный катетер и каждые 2 часа берут пробу мочи, фиксируя ее удельный вес. Тест противопоказан животным с признаками обезвоживания, повышенным уровнем мочевины и кальция в крови. При несахарном диабете регистрируют потерю массы тела около 5 %, в моче сохраняется низкий удельный вес и гипоосмолярность.

- Проба Зимницкого. Патологию подтверждает высокий суточный диурез, уменьшение относительной плотности урины (<1005), гипонатрийурия. В крови выявляют гиперосмолярность плазмы за счет гипернатриемии (более 290 мосм/кг), гиперкальциемию и гипокалиемию.

- Глюкоза крови. Повышение уровня сахара в крови натошак может свидетельствовать о сахарном диабете, что важно в дифференциальной диагностике. При сахарном диабете одним из ведущих симптомов также является полиурия.

- Определение уровня антидиуретического гормона (АДГ). При несахарном мочеизнурении центрального генеза в крови выявляют низкий уровень антидиуретического гормона.

- Генетический скрининг.

Заболевания щитовидной железы

Зоб эндемический. Хроническое заболевание, характеризующееся увеличением щитовидной железы (зоб) и нарушением ее функции, изменениями функций связанных с ней органов и организма в целом вследствие недостатка йода. Увеличение щитовидной железы удается установить у взрослых овец и коз только при сильной йодной недостаточности, у других животных – нет. Диагностические тесты: *содержание йода в почве* ниже 0,1 мг/кг, в питьевой воде менее 2—10 мкг/л, в кормах 0,04—0,25 мг/кг сухого вещества. Снижение содержания йода, связанного с белком, в крови (в норме 4—8 мкг/100 мл, 315—630 нмоль/л). В молоке коров из свободных от зоба районов содержание йода 60—80 мкг/л, в районах йодной недостаточности значительно ниже. У больных телят содержание в сыворотке крови T_3 (трийодтиронина) составляет 1,55—4,36 нмоль/л, T_4 (тироксина) — 7,8—2,92 нмоль/л, у здоровых соответственно 2,8—4,75 и 44,26—39,72 нмоль/л. Уровень в крови тиреотропного гормона (ТТГ) у больных животных бывает почти в 2 раза выше, чем у здоровых. У молодняка отмечают снижение в крови кальция и повышение фосфора.

Гипотиреоз. Заболевание, проявляющееся гипофункцией щитовидной железы и снижением содержания в крови тиреоидных гормонов с последующим снижением уровня обменных процессов и нарушениями работы многих органов и систем.

Лабораторно в крови выявляют снижение содержания йода, связанного с белком (СБЙ), уменьшение концентрации в сыворотке крови T_4 (тироксина), особенно свободного T_4 и T_3 (трийодтиронина), повышение циркулирующего ТТГ (тиреотропного гормона), чаще радиоиммунным анализом. Редко циркулирующие антитела к T_4 и T_3 могут помешать адекватному измерению концентрации гормонов. Имеются сведения, что у коров при гипотиреозе концентрация в сыворотке крови T_3 составляла 0,23-1,9 нмоль/л, T_4 — 14,8-52,2 нмоль/л. Наблюдается снижение общего кальция до 8 мг/100 мл (2 нмоль/л), фагоцитарной активности нейтрофилов до 36 %. Отмечают гипохромную анемию, повышение СОЭ, средней степени нормоцитарную нор-

мохромную нерегенераторную гипопластическую анемию (в 50% случаев), гиперхолестеринемия (в 80% случаев) (более 2-3 ммоль/л), гипертриглицеридемию (более 0,6-0,9 ммоль/л), и высокую активность креатининкиназы. Имеются данные о том, что гипотиреоз у собак зачастую вызывает патологический гемостаз или провоцирует кровотечения.

Если у животного (собаки) обнаружен низкий уровень T_4 , может быть опробован анализ на тироксин, который основан на действии специальных медикаментозных средств. Небольшое количество синтетического гипотирозного гормона вводится внутривенно. Спустя шесть часов после этой процедуры берется кровь, проверяется уровень T_4 . Если у животного гипотиреоз, уровень гормона в крови будет нормальным или близко к нормальному. У здорового животного уровень этого вещества уйдет далеко за верхние границы нормы.

Тест стимуляцией тиреотропин-рилизинг-гормоном (ТРГ) имеет меньшее значение. При его проведении определяют высвобождение ТТГ из гипофиза в ответ на экзогенный ТРГ. После введения ТРГ определяют концентрацию сывороточного T_4 . ТРГ дешевле, чем ТТГ, и его легче получить. Теоретически организм животного с гипотиреозом не должен реагировать на введение ТРГ. Интерпретировать результаты теста трудно из-за незначительного повышения концентрации T_4 в сыворотке после введения ТРГ.

Общий анализ мочи обычно в пределах нормы.

Тиреоидит – воспаление щитовидной железы. Различают острый, подострый и хронический тиреоидит. Острый, в свою очередь, может быть гнойным и негнойным. Подострый – острое вирусное воспалительное поражение щитовидной железы, также носит название тиреоидит де Кервена (гранулематозный тиреоидит, гигантоклеточный тиреоидит). Хронический может быть фиброзным (зоб Риделя), аутоиммунным (тиреоидит Хашимото) и специфическим тиреоидитом (туберкулезным, септомикозным).

При остром тиреоидите – в крови нейтрофильный лейкоцитоз, увеличение СОЭ. Содержание в крови T_3 , T_4 и ТТГ чаще в пределах нормы. Изменения в виде повышения ТТГ с нормальными значениями T_3 и T_4 появляются при латентном гипотиреозе, а повышение ТТГ в комплексе со снижением уровня T_3 и T_4 при манифестном гипотиреозе.

При подостром тиреоидите – в начальной (острой) стадии болезни в сыворотке крови повышается уровень T_4 и T_3 , позже их содержание уменьшается. При разрушении фолликулов щитовидной железы возможно увеличение антител к тиреоидной пероксидазе и тиреоглобулину.

При хроническом аутоиммунном тиреоидите появляются антитела к тиреоглобулину, тиреоидной пероксидазе, второму коллоидному антигену (белок коллоида, который не содержит йода) и антитела к тиреотропному гормону. При появлении гипотиреоза повышается уровень ТТГ и/или снижается уровень T_3 и T_4 .

При хроническом фиброзном тиреоидите иммунологические и гормональные изменения чаще отсутствуют. При наличии сопутствующего аутоиммунного тиреоидита возможно появление низкого титра антител к тиреоглобулину, пероксидазе, тиреотропному гормону, второму коллоидному ан-

тигену. При нарастании симптомов гипотиреоза повышается уровень ТТГ и/или снижается уровень T_3 и T_4 . Одним из наиболее информативных методов является пункционная биопсия щитовидной железы.

Диффузный токсический зоб (тиреотоксикоз, болезнь Грейвса, болезнь Базедова, тиреотоксикоз с диффузным зобом, сокращенно ДТЗ). Аутоиммунное заболевание, обусловленное избыточной секрецией щитовидной железой тиреоидных гормонов и сопровождаемое токсикозом. Диагностические тесты: повышение в сыворотке крови, выявленных, чаще всего радиоиммунологическим анализом, содержания T_3 и T_4 , свободных фракций гормонов в сыворотке крови, связанного с белком йода, часто титры T_3 выше, чем T_4 . Концентрация тиреоидных гормонов у молодняка значительно выше, чем у взрослых животных. При гипертиреозе отмечают повышение СОЭ, снижение в крови концентрации холестерина, в моче — повышение креатинина.

Для диагностики токсического зоба щитовидной железы, важное значение, имеет статус антител. Для определения уровня антител к тиреоглобулину используют иммунофлюоресцентный метод, позволяющий выделить в сыворотке крови антитела к тиреоглобулину, ядерным антигенам, коллоидному антигену, микросомальному антигену. Выявленные антитела являются указателями на патологию щитовидной железы. Если уровень антител к рецепторам ТТГ превышает 35%, то есть риск развития рецидива ДТЗ.

Иммунологические исследования, важность которых при диффузном токсическом зобе вытекает из самой природы заболевания, должны включать определение тиреостимулирующих антител, оценку супрессорной активности Т-лимфоцитов и иммуногенетическое типирование.

Для уточнения диагноза проводят функциональную пробу с тиротропин-рилизинг-гормоном (ТРГ). ТРГ — это гормон гипоталамуса, который стимулирует выработку ТТГ гипофиза, а вслед за ним и гормонов щитовидной железы. В норме ТРГ обладает способностью повышать уровень ТТГ, T_3 , T_4 . При ДТЗ такого эффекта не происходит, уровень вышеперечисленных гормонов остается на прежнем уровне.

Опухоли щитовидной железы Опухоли щитовидной железы зарегистрированы у собак, крупного рогатого скота и других видов животных. Лабораторно в крови отмечают снижение эритроцитов, гемоглобина (анемия), повышение скорости оседания эритроцитов, возможное снижение или повышение концентрации T_4 , T_3 , снижение кальция, повышение кортизола. Для уточнения диагноза используют результаты гистологических исследований биоптата щитовидной железы.

Болезни околощитовидных желез

К болезням паращитовидных желез относят гипопаратиреоз и гиперпаратиреоз.

Гипопаратиреоз (тетания). Заболевание, обусловленное пониженной секрецией паратгормона и характеризующееся гипокальциемией и приступами тетанических судорог.

Лабораторно при тетаническом кризе отмечают, что содержание в сыворотке крови общего кальция ниже 6-7 мг/100 мл (менее 1,5-1,8 ммоль/л), ионизированного кальция менее 4,3 мг/100 мл (менее 1,07 ммоль/л), магния менее 1,7 мг/100 мл (менее 0,7 ммоль/л), а неорганического фосфора выше 6,5 мг/100 мл (более 2,14 ммоль/л), повышается активность щелочной фосфатазы. При общем анализе крови выявляют нормохромную анемию, повышение СОЭ, небольшой лейкоцитоз. В моче — появление белка. Кроме того, при гипопаратиреозе выявляются гиперкальциурия, снижение экскреции с мочой фосфора и цАМФ. В ответ на введение пациенту паратгормона при гипопаратиреозе экскреция фосфата с мочой десятикратно увеличивается (проба Элсворта – Ховарда).

Послеродовая гипокальциемия (послеродовой парез, родильный парез, гипокальциемическая лихорадка, послеродовая кома, родильная апоплексия, молочная лихорадка). Остропротекающая болезнь, характеризующаяся резким снижением в крови и тканях кальция и сопровождаемая парезом мышц.

Диагностические тесты: снижение содержания в крови общего кальция ниже 7,5 мг% (1,84 ммоль/л), ионизированного кальция до 2—3 мг% (0,5—0,75 ммоль/л), магния — ниже 1,8 мг%, паратгормона, дигидроксивитамина D₃ [1,25 — (ОН)₂D₃], повышение концентрации кальцитонина, в крови резко снижено содержание фосфора (ниже 4мг/100мл). У больных животных отмечают некоторое снижение в крови магния.

Послеродовая эклампсия собак и кошек - (предродовая или постродовая тетания, лактационный мастит, лактационная тетания, молочная лихорадка) - остро протекающее нервное заболевание, сопровождающееся у животных припадками и судорогами.

Лабораторно у собак, страдающих от эклампсии (или находящихся на ее пороге), кальция в крови остается менее 7 мг/дм³ (вплоть до 4-5 мг/ 100мл при норме от 9-11,3 мг/100 мл). Одновременно снижается количество фосфора, глюкозы, и магния. Эклампсия обычно сопровождается протеинурией. В 56 процентах случаев уровень калия в крови повышен. У собак отмечают нарушение свертываемости крови.

Гиперпаратиреоз – хронически протекающее эндокринное заболевание, обусловленное патологически высоким синтезом паращитовидными железами паратгормона.

Лабораторно устанавливают повышение содержания в сыворотке крови общего кальция: у собак и кошек более 11,5 мг/100 мл (более 2,87 ммоль/л); у лошадей более 12,5 мг/100 мл (более 3,11 ммоль/л); у крупного рогатого скота более 13 мг/100 мл (более 3,25 ммоль/л). Содержание неорганического фосфора в сыворотке крови снижено: у собак менее 3 мг/100 мл (менее 1 ммоль/л); у лошадей менее 4 мг/100 мл (менее 1,3 ммоль/л); у крупного рогатого скота менее 4,5 мг/100 мл (менее 1,45 ммоль/л).

Активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови повышена: у крупного рогатого скота составляет более 200 ЕД/л, у овец — более 100, коз

—более 300, свиней —более 150, лошадей — более 250, собак —более 50 и кошек —более 140 ЕД/л. Концентрация паратгормона в крови повышена.

Поражение почек проявляется в полиурии, повышенном выделении кальция и воды с мочой.

Заболевания островкового аппарата поджелудочной железы

Панкреатит - воспаление поджелудочной железы. Железа осуществляет две важнейшие функции: экзокринную и эндокринную. Большая ее часть (95%) выполняет экзокринную функцию — обеспечение синтеза и секреции пищеварительных ферментов. Эндокринная функция заключается в секреции гормонов (в клетках островков Лангерганса), участвующих в регуляции различных процессов.

Сахарный диабет. Болезнь возникает вследствие абсолютной или относительной недостаточности инсулина, который вырабатывается в β -клетках островков Лангерганса поджелудочной железы и сопровождается нарушением обмена веществ, особенно углеводного.

Выделяют два типа сахарного диабета: I — инсулинзависимый (ИЗСД), II — инсулиннезависимый (ИНСД). У собак и других животных различия между ИЗСД и ИНСД часто стерты. Оба типа диабета характеризуются гипoinsулинемией, гипергликемией, глюкозурией и нередко кетоацидозом.

Диагностические тесты. При ИЗСД — выраженная высокая гипергликемия, глюкозурия, возможна кетонурия, ацидоз, полиурия.

При ИНСД — умеренная гликемия, глюкозурия, при тяжелой форме возможен кетоацидоз.

В условиях лаборатории проводят биохимический анализ крови с определением содержания глюкозы и физико-химических свойств мочи (запах, удельный вес, рН, содержание глюкозы, кетоновых тел, белка). При легкой форме сахарного диабета содержание глюкозы в цельной крови, взятой у собак, свиней, лошадей натошак, превышает 95—120 мг/100 мл (5,26—6,6 ммоль/л); ацетоновые тела в моче качественной пробой не обнаруживают; резервная щелочность на уровне нижней границы нормы. Считают, что у здоровых собак глюкозы в крови, взятой натошак, содержится 0,8—1,2 г/л. Если ее больше 2 г/л — это развитый сахарный диабет.

Для тяжелой формы сахарного диабета, особенно ИЗСД, характерны выраженная гипергликемия и глюкозурия. Содержание глюкозы в крови достигает 20—30 г/л (12,2—16,65 ммоль/л) и выше, в моче у лошадей — 3—8 %, у собак — 4—10, у свиней — до 6 %. Относительная плотность мочи 1,040—1,060, в ней обнаруживают высокую концентрацию кетоновых тел, белка, запах сладковатый, напоминающий запах фруктов; рН снижен, имеет кислую реакцию. В крови устанавливают низкую резервную щелочность (кетоацидоз). У больных сахарным диабетом в сыворотке крови выявляют снижение альбуминов, повышение γ -глобулинов, холестерина, β -липопротеидов.

Гипогликемия - состояние, характеризующееся резким падением уровня глюкозы в крови (у собаки менее 3 ммоль/л).

Лабораторно при анализе крови отмечают низкий уровень глюкозы в крови, высокий уровень трасаминаз, щелочной фосфатазы, избыток калия, повышенное количество эозинофилов в крови, избыточное количество мочи.

Опухоли поджелудочной железы. В островковой части поджелудочной железы у животных, как и у человека, развиваются в основном доброкачественные опухоли - инсулинома, глюкагонома, соматостатинома, секреторируемые инсулин, глюкагон или соматостатин. Возможны параэндокринные опухоли (гастринома, липома, кортикотропинома), продуцирующие не свойственные железе гормоны - гастрин, вазоактивный интерстициальный пептид, кортикотропин.

Инсулинома - опухоль β -клеток островков Лангерганса, секретирующая избыточное количество инсулина. Лабораторно при инсулиноме устанавливают - содержание глюкозы в крови ниже 3 ммоль/л, инсулина более 20 мМ/л. Отмечается повышение в крови холестерина, креатинина, активности ЩФ, АСТ.

Глюкагонома - хроническое заболевание, обусловленное опухолью α -клеток островков Лангерганса поджелудочной железы, продуцирующей гормон глюкагон. Лабораторно определяют снижение количества эритроцитов, гемоглобина крови, малую гематокритную величину, развитие нормохромной анемии, повышение в десятки раз концентрации глюкагона, снижение холестерина, альбумина, свободных аминокислот сыворотки крови.

Соматостатинома. Соматостатиномы из дельта-клеток островков Лангерганса составляют 60% случаев опухолей продуцирующих соматостатин.

При соматостатиноме определяется сахарный диабет лёгкого течения (в 80 % случаев), желчнокаменная болезнь (70 %), гипохлоргидрия (60 %), диарея (35 %), стеаторея (30 %) и потеря массы тела (25 %). Уровень соматостатина в плазме крови повышен на фоне снижения уровней инсулина и глюкагона, отмечена анемия (анемия нормоцитарная нормохромная вследствие торможения синтеза эритропоэтина или микроцитарная сидеропеническая из-за нарушения всасывания железа). Пониженный уровень глюкагона — характерное отличие соматостатиномы от глюкагономы. Оптимальный уровень соматостатина в норме составляет менее 50-100 пг/мл, при соматостатиноме же он может увеличиваться в 1000 раз и больше.

Заболевания надпочечников

Надпочечники состоят из двух эндокринных зачатков, сливающихся в одну железу. Кора синтезирует и секретирует главный глюкокортикоид — кортизол, первичный минералкортикоид — альдостерон, андрогены и небольшое количество эстрогенов. Мозговое вещество синтезирует и секретирует катехоламины — адреналин, норадреналин и дофамин. Как избыточное, так и недостаточное образование гормонов вызывает патологические эффекты в организме животных.

Гиперадренкортицизм (синдром Иценко-Кушинга) – это патологиче-

ское состояние организма, вызванное длительным избыточным содержанием кортизола в крови за счёт повышенного его образования в коре надпочечников. Клинические симптомы синдрома Иценко-Кушинга аналогичны таковым при болезни Иценко-Кушинга, однако, течение более стремительное. Лабораторная и дифференциальная диагностика синдрома Иценко-Кушинга аналогична таковой при болезни Иценко-Кушинга.

Гипоадренкортицизм - хроническая недостаточность коры надпочечников (болезнь Аддисона) – развивается первично или вторично, характеризуется снижением секреции корой надпочечников глюкокортикоидов и минералокортикоидов.

При лабораторной диагностике крови выявляют анемию, повышение СОЭ, лейкопению, лимфоцитоз, эозинофилию, гипогликемию, гипонатриемию (менее 310 мг% (135 ммоль/л)), гипохлоремию, гиперкалиемию (более 20 мг% (6 ммоль/л)), креатинина более 1,9 мг% (167 мкмоль/л), снижение содержания в крови 11-ОКС, 17-ОКС, кортизола (менее 50 нмоль/л),.

При поражении ЖКТ и кровотечениях количественные показатели гемоглобина, эритроцитов снижаются вместе с уровнем альбуминов и общего белка.

Подтвердить диагноз можно только с помощью использования «золотого стандарта» – тест стимуляции АКТГ. Обязательно животное должно быть «чистым» от применения глюкокортикоидов (преднизолон) или спустя несколько недель (мин. 4 нед.) после их приема. Как исключение – дексаметазон, он не вступает в реакцию с кортизолом. Но при его введении гипофиз перестает вырабатывать адренкортикотропные гормоны, а надпочечники – кортикостероиды.

Первичный гиперальдостеронизм (синдром Конна) – опухоль или гиперплазия коры надпочечников с чрезмерным образованием альдостерона. Лабораторный анализ крови выявляет гипомагниемию, гипернатриемию, гипохлоремию, гиперкалиемию, а анализ мочи – сниженную относительная плотность, изо- и гипостенурию, протеинурию.

Феохромоцитома – гормонально активная опухоль, исходящая из мозгового вещества надпочечников или из экстраадреналовой хромоафинной ткани, характеризуется гиперсекрецией опухолью адреналина и норадреналина.

Лабораторная диагностика: определение уровня свободных метанефринов (метанефрин и норметанефрин) в плазме и конъюгированных метанефринов в моче. Менее информативно определение экскреции конечного метаболита катехоламинов — ванилил-миндальной кислоты (ВМК) и катехоламинов с мочой.

Эндокринные заболевания гонад

Дисфункция внутренней секреции семенников. Семенники - парные органы с экзокринной и эндокринной функциями у самцов. Эндокринная функция сводится к секреции мужского полового гормона - тестостерона. С нарушением гормональной функции семенников чаще проявляются такие заболевания, как гипогонадизм, крипторхизм и опухоли семенников.

Гипогонадизм - патологическое состояние, характеризующееся недоразвитием половых органов, вторичных половых признаков и, как правило, бесплодием вследствие недостаточной продукции андрогенов. Лабораторно устанавливают снижение в сыворотке крови и моче тестостерона, филлитропина и лютропина. Следует учитывать, что содержание этих гормонов у молодых животных до периода их полового созревания ниже, чем у взрослых некастрированных самцов. При гипогонадизме, связанным с нарушением функции семенников, лабораторным анализом можно выявить повышение выделения с мочой гонадотропинов: 17-кетостероидов и 17- оксикортикостероидов.

Крипторхизм - патологическое состояние, при котором одно или оба семенника не опущены в мошонку. Неестественное расположение семенников сопровождается снижением их репродуктивной функции. Диагностика включает генетические анализы, исследование тестостерона, гонадотропных гормонов.

Опухоли семенников чаще встречаются у собак, реже - у лошадей, крупного рогатого скота, овец и свиней. Злокачественные опухоли преобладают над доброкачественными. В гуманной медицине для диагностики рака семенников определяют уровень опухолевых маркёров в крови (альфа-фетопротеин (АФП), β -субъединица хорионического гонадотропина человека (ХГЧ) и лактатдегидрогеназа (ЛДГ)). Животным с подозрением на опухоль семенника или при определении опухоли семенника при пальпации проводят УЗИ и под контролем УЗИ животному выполняют пункцию из патологического очага в семеннике. Полученный материал изучают и устанавливают цитологический диагноз.

Кисты семенников бывают одиночные и множественные, размером от микроскопической величины до 10-15 см в диаметре. Для диагностики кист может быть использовано УЗИ.

Дисфункция гормональной секреции яичников Гипоталамус продуцирует релизинг-факторы, регулирующие функцию гипофиза. Передняя доля аденогипофиза контролирует функцию яичников путем секреции фолликулостимулирующего и лютеинизирующего гормонов. Дисфункция гормональной секреции яичников - это нарушения в работе яичников.

Гипофункция яичников Гипофункция яичников (инфантилизм) - заболевание, обусловленное недостаточной секрецией яичниками стероидных (эстроген, прогестерон) и нестероидных (простагландины E2 и F2 α) гормонов или снижением синтеза и высвобождения люлиберина, фолиберина, гонадолиберина гипоталамусом и лютропина (ЛГ), фолликулотропина (ФСГ), гонадотропина гипофизом.

Для диагностики гипофункции яичников определяют уровень прогестерона в сыворотке крови. Снижение уровня прогестерона в сыворотке крови коров до 1,5-1,01 нг/мл характерно для начальной стадии гипофункции яичников, а уровень гормона менее 0,5 нг/мл свидетельствует о глубоких нарушениях функции гонад. По другим данным, диагностическим показате-

лем гипофункции яичников у коров является содержание прогестерона в крови ($2,99 \pm 0,28$) нмоль/л и тироксина ($32,3 \pm 2,62$) нмоль/л. У свиноматок содержание прогестерона в плазме крови при гипофункции составляет в среднем $1632,77 \pm 263,95$ пг/мл, в то время как при функционирующих желтых телах — $2982,26 \pm 2535,37$ пг/мл.

Кисты яичников - патологические полости, стенки которых образованы фиброзной тканью. Лабораторно в сыворотке крови в период, предшествующий образованию кист яичников, выявляют понижение концентрации лютеинизирующего гормона (ЛГ), а при наличии сформированных кист - повышение уровня эстрадиола.

Персистентное желтое тело яичников. Желтое тело является временной железой внутренней секреции, оно выделяет гормон – прогестерон (у некоторых приматов желтое тело кроме прогестерона секретирует широкий спектр стероидных гормонов, включая андрогены и эстрадиол). Диагноз ставится после проведения ректального исследования.

Нимфомания - нейроэндокринное расстройство, при котором половая охота проявляется через короткий промежуток времени и продолжается несколько суток при наличии сильно выраженных признаков течки и полового возбуждения. Для выявления гормонального дисбаланса проводят анализы на гормоны. Определяют увеличение продукции фолликулина, гиперфункцию передней доли гипофиза, повышенную чувствительность нервной системы к фолликулину и, возможно, гипофункцию желтого тела.

Анафродизия - ослабление либо полное прекращение или неполноценность половых циклов. Лабораторно при анафродизии у кобыл определяют сниженный уровень в крови прогестерона.

Болезни тимуса. Тимус считается одновременно главным органом иммунитета и частью эндокринной системы. В нём вырабатываются тимозин; тималин; тимопоэтин I; тимопоэтин II; гомеостатический тимусный гормон; гуморальный тимусный фактор. Для оценки работы тимуса нужны лабораторные исследования иммунной системы. Для обнаружения нарушения созревания Т-лимфоцитов назначают комплексный набор исследований (определение количества Т- и В-лимфоцитов и их активности, общее количество иммуноглобулинов и их подтипов (G, A, M, E), общий анализ с лейкоцитарной формулой). Признаком нарушения иммунитета является снижение числа и активности Т-лимфоцитов.

При врожденном недоразвитии вилочковой железы отмечается слабая активность только В-лимфоцитов, Т-лимфоциты и иммуноглобулины существенно ниже нормы. При тимомегалии обнаруживают уменьшение отдельных видов Т-клеток и зрелых В-лимфоцитов, снижение иммуноглобулинов G и A, повышение иммуноглобулинов M и E, низкие уровни кортизола и его регулятора кортикотропина, повышенные уровни гормона роста и тиреотропного гормона.

3.7.9. Болезни системы крови

Система крови обеспечивает работу всех органов организма. Это динамичная система, реагирующая на экзогенные и эндогенные воздействия на организм. Все органы и ткани системы объединяет их происхождение из мезенхимы. Патология системы крови проявляется анемическим, геморрагическим и инфекционным синдромами. В зависимости от того, какой синдром является ведущим, различают следующие группы болезней: анемии, геморрагические диатезы, гемобластозы.

Лабораторная диагностика болезней системы крови. Самым распространенным и обязательным является общий анализ крови, мочи, фекалий. Результаты, полученные таким образом, не диагностируют конкретное заболевание, но благодаря им, определяется общий характер патологии. Морфологический состав крови не всегда отражает изменения, возникающие в кроветворных органах. Поэтому с целью верификации диагноза и количественной оценки функции костно-мозгового кроветворения проводят морфологическое исследование костного мозга. Особенности структуры клеток крови можно установить при световой, или, что лучше, электронной микроскопии. Во время рентгеновского исследования могут быть выявлены увеличенные лимфатические узлы при лимфогранулематозе и лимфатической лейкемии, множественная миелома костей, раковые метастазы в костном мозге, «мраморная болезнь», влекущая за собой вытеснение костного мозга и малокровие, костные деформации. Для детального анализа гемопоэза перспективным направлением в теоретическом и практическом плане является метод клонирования клеточных кроветворных популяций. Ультразвуковое исследование позволит увидеть увеличение размера селезёнки и других органов. Важным является биохимический анализ крови на биологические субстраты, гормоны, аллергены, онкомаркеры, определение иммунного статуса организма, диагностику инфекционных заболеваний. При некоторых гематологических заболеваниях в крови можно определить аномальные белки — парапротеины. Они относятся к группе иммуноглобулинов, но отличаются от них по своим свойствам. Наиболее информативным методом для раннего выявления аномальных парапротеинов является иммуноэлектрофорез. Высокой степенью специфичности обладает серологическая диагностика, которая представлена следующими иммунохимическими серореакциями: реакция иммунофлюоресценции (РИФ); иммуноферментный анализ (ИФА); реакция непрямой гемагглютинации (РНГА); реакция связывания комплемента (РСК); полимеразная цепная реакция (ПЦР). Эти виды исследования относятся к сложным серореакциям и обладают значительными преимуществами перед остальными. Они проводятся быстро, имеют высокую точность диагностики болезней. Информативным исследованием является молекулярно-генетический анализ.

Уровень диагностики может быть разным. Все зависит от оснащённости лаборатории, ее финансирования, квалификации персонала, работающего

в ней. Нельзя по одним меркам оценивать уровни аппаратуры и выполняемых исследований. Есть лаборатории первичного звена и лаборатории специализированных учреждений. Естественно, они выполняют разные задачи при диагностике, и сравнивать их невозможно: каждая решает проблемы на определенном уровне.

Анемия (малокровие) - патологическое состояние, характеризующееся уменьшением содержания эритроцитов и гемоглобина в единице объема крови. Наиболее приемлемая классификация анемий основана преимущественно на этиопатогенетическом принципе: 1) постгеморрагические - анемии после кровопотерь; 2) гемолитические - анемии на почве усиленного разрушения эритроцитов; 3) гипо- и апластические анемии, связанные с нарушением кроветворения; 4) железо- и витаминдефицитные (алиментарные) - анемии на почве недостатка железа, витамина В₁₂ и фолиевой кислоты.

Постгеморрагическая анемия возникает после кровопотерь и проявляется уменьшением в крови содержания эритроцитов и гемоглобина.

Лабораторно устанавливают уменьшение содержания эритроцитов и особенно гемоглобина, появление в крови незрелых форм эритроцитов, цветной показатель становится ниже единицы. В первые дни - увеличение числа лейкоцитов, сдвиг лейкоцитарной формулы влево, относительная лимфопения, нарастание количества ретикулоцитов, снижение в крови уровня железа. Эритроциты имеют различную величину и форму, бедные гемоглобином. Анизоцитоз, пойкилоцитоз и гипохромия - один из характерных признаков для хронической постгеморрагической анемии. Одновременно отмечают тенденцию к развитию лейкопении при относительном лимфоцитозе, снижение вязкости крови и повышение СОЭ.

Гемолитическая анемия связана с повышенным разрушением эритроцитов, характеризуется уменьшением в крови содержания гемоглобина и эритроцитов, появлением признаков гемолитической желтухи и при интенсивном гемолизе - гемоглобинурии.

В крови больных животных лабораторно устанавливают стойкое уменьшение содержания эритроцитов и гемоглобина и незначительное увеличение количества лейкоцитов, преимущественно за счет лимфоцитов и эозинофилов, тромбоцитопения. СОЭ сильно увеличена. В костном мозгу преобладает гиперплазия эритроидного ростка, увеличение числа ретикулоцитов, диаметр эритроцитов уменьшен, осмотическая стойкость снижена (гемолизирующая сыворотка), содержание билирубина повышено. В моче устанавливают наличие уробилина, билирубина, гемоглобина. У больных животных в фекалиях увеличивается содержание - стеркобилина.

Гипопластическая и апластическая анемии - эти болезни проявляются функциональной недостаточностью всех ростков кроветворения, и особенно эритроидного.

В крови больных животных при гипопластических анемиях лабораторно устанавливают снижение содержания эритроцитов и гемоглобина, часто

встречаются незрелые формы эритроцитов. Уровень сывороточного железа повышен. Цветной показатель снижается до 0,7 и ниже. В костномозговом пунктате увеличено количество слабегемоглобинизированных клеток эритроидного ростка.

При апластических анемиях, в крови уменьшается количество эритроцитов при нормальном содержании в них гемоглобина. Среди эритроцитов редко встречаются полихроматофилы, отмечаются анизоцитоз, пойкилоцитоз и повышение СОЭ. При поражении всех ростков кроветворения снижается также содержание лейкоцитов и тромбоцитов и относительно увеличивается число лимфоцитов. Резкое снижение в крови количества нейтрофилов и тромбоцитов свидетельствует о неблагоприятном прогнозе. В пунктатах костного мозга резко уменьшено количество ядросодержащих клеток, отмечается задержка созревания клеток эритроидного, миелоидного и мегакариоцитарного ростков. В крови отмечают гипо- или нормохромную анемию, ретикулоцитопению, тромбоцитопению и лейкопению в различных сочетаниях.

Мегалобластные анемии (В₁₂-дефицитные анемии, фолиево-дефицитные анемии) объединяют группу приобретенных и наследственных анемий, характерным признаком которых является наличие в костном мозге мегалобластов.

При лабораторной диагностике витамин-В₁₂-дефицитной анемии определяют следующее. Количество эритроцитов снижается в большей степени, чем уровень гемоглобина. Цветовой показатель чаще больше нормы, т. е. больше 1,15 (1,3; 1,4; 1,6), увеличение СОЭ. Анемия гиперхромная, иногда нормохромная. Анизоцитоз эритроцитов за счет макроцитов, мегалоцитов. Количество мегалоцитов варьирует в зависимости от тяжести анемии. В эритроцитах можно обнаружить тельца Жолли, реже кольца Кебота, встречается базофильная зернистость. Количество ретикулоцитов снижено или на нижней границе нормы. У большинства больных уменьшается количество лейкоцитов (главным образом за счет нейтрофилов). Отмечается сдвиг лейкоцитарной формулы вправо — появляются крупные полисегментированные нейтрофилы. Количество сегментов в них может достигать 10 - 12 при норме до 5. Одновременно может быть сдвиг лейкоцитарной формулы влево до метамиелоцитов и даже миелоцитов. Уменьшается количество эозинофилов вплоть до их исчезновения. Снижается количество моноцитов. Возникает относительный лимфоцитоз. Примерно у половины больных уменьшается количество тромбоцитов, иногда значительно. Среди тромбоцитов часто встречаются крупные формы диаметром до 7 - 8 мкм, т. е. они могут иметь размеры эритроцитов. Явлений кровоточивости не наблюдается. В периферической крови могут появиться мегалобласты, нормобласты часто с дегенеративно измененными ядрами. В костном мозге обнаруживается раздражение красного ростка за счет преобладания мегалобластов. Лейкоэритронормобластический индекс 1/1; 0,5/1; 0,3/1 при норме 3/1; 4/1.

При тяжелых формах анемий кроветворение полностью проходит по мегалобластическому типу. Почти все клетки красного ряда представлены

мегалобластами. Если преобладают промегалобласты и базофильные мегалобласты, т. е. клетки с базофильной цитоплазмой, такой костный мозг называют «синим». Количество оксифильных мегалобластов снижено, они могут отсутствовать. У других больных преобладают полихроматофильные и оксифильные мегалобласты т. е. почти все клетки гемоглобинизированы. Ядра многих мегалобластов дегенеративно изменены (имеют форму тутовой ягоды и др.). При менее выраженных анемиях, при лечении кроветворение в костном мозге проходит по смешанному типу, т. е. по нормобластическому и по мегалобластическому. Клетки красного ряда представлены нормобластами и мегалобластами. Имеются изменения и в клетках миелоидного ряда. Характерен макроцитоз нейтрофилов. Особенно крупные размеры имеют метамиелоциты, палочкоядерные, сегментоядерные нейтрофилы. Количество мегакариоцитов обычно нормальное, при тяжелых анемиях снижено.

У больных отмечается умеренная билирубинемия за счет свободного билирубина, повышение активности ЛДГ, снижение содержания витамина В₁₂. Уровень сывороточного железа чаще в норме, иногда до начала лечения немного повышен.

Алиментарная (железодефицитная) анемия. У молодых животных (чаще у поросят) наибольшее распространение имеет анемия, связанная с недостатком у них железа. Характеризуется расстройством деятельности кроветворных органов и нарушением обменных процессов, которое приводит к отставанию молодняка в росте и снижению резистентности организма к неблагоприятным факторам среды.

В крови лабораторно определяют снижение содержания гемоглобина у поросят до 40—50 г/л, у ягнят до 54, у телят до 75 г/л и ниже. Количество эритроцитов у поросят уменьшается до $3 \cdot 10^{12}/л$, у ягнят до $4 \cdot 10^{12}/л$, у телят до $5 \cdot 10^{12}/л$ и ниже; цветовой показатель ниже 0,8 (гипохромная анемия); концентрация гемоглобина снижается резче, чем число эритроцитов, уменьшается и средний объем эритроцитов; резко снижено содержание сывороточного железа (менее 100 мкг%), возможно, меди, кобальта, общего белка сыворотки крови. Изменяется качественный состав эритроцитов, сопровождающийся анизоцитозом, пойкилоцитозом, полихроматофилией, обнаруживают эритробласты.

Токсическая анемия вызывается гемолитическими факторами. В крови лабораторно обнаруживаются анемия, анизоцитоз. Происходит повышение количества билирубина, дающего непрямую диазореакцию, у лошадей количество билирубина повышается до 12,8 мг%, у крупного рогатого скота и свиней – до 1,6 мг%, в моче происходит увеличение содержания уробилина, из-за чего моча имеет красновато-бурый оттенок.

Послеродовая гемоглобинурия коров — одна из форм гемолитической анемии; наблюдается она, как правило, в стойловый период у высокопродуктивных коров 5—7-летнего возраста в первые недели после отела и протекает с явлениями сильной гемоглобинурии, иногда с ацетонурией. Молоко окрашено в красный цвет. После начала заболевания, через 1-2 дня моча

у коровы становится темно-вишневого цвета, прозрачной, сиропообразной и имеет щелочную реакцию. При лабораторном исследовании мочи в ней обнаруживается белок, гемоглобин, уробилин, в отдельных случаях кетоновые тела, в осадке – продукты распада эритроцитов, клетки почечного эпителия, иногда почечные цилиндры. При исследовании крови в первые дни заболевания регистрируют резкое снижение количества эритроцитов (до 1,2 – 1,5 млн. в 1мм^3) и гемоглобина (до 16% по Сали). Цветной показатель выше единицы (1,15); осмотическая резистентность эритроцитов понижена; СОЭ несколько ускорено. В мазках из периферической крови находят анизопойкилоцитоз, полихроматофилию, ретикулоциты (20: 1000), эритроциты с базофильной пунктацией и отдельные нормобласты. Общее количество лейкоцитов у большинства больных коров бывает в норме или же возрастает до 15 – 20 тыс. в 1мм^3 . Лейкоформула характеризуется нейтрофилией (до 72%) и выраженным регенеративным сдвигом. Отмечают тромбоцитоз. При тяжелом течении послеродовой гемоглобинурии коров количество лейкоцитов в крови снижается до 4-5 тыс. в 1мм^3 . В сыворотке крови отмечают повышенное содержание непрямого билирубина и появление метгемоглобина, выраженную гипофосфатемию, у отдельных больных коров снижение уровня каротина и щелочного резерва, количество сахара в крови в течение ряда дней повышено. При послеродовой гемоглобинурии коров происходит нарушение показателей костномозгового пунктата. При остром течении болезни количество ядерных элементов в костном мозге увеличивается на 20-30%. Эритробластограмма характеризуется увеличением процента молодых эритробластических форм – проэритробластов и базофильных эритробластов при уменьшении процента нормобластов. При этом количество гранулофилоцитов больше нормы в 10 раз. Одновременно с регенеративными процессами в костном мозге больной коровы отмечаются явления дегенеративного порядка, которые сопровождаются пойкилоцитозом, анизоцитозом, комковатостью структуры протоплазмы эритроцитов и пикнозом ядер части эритробластов. Неполноценный эритропоэз поддерживает гемолиз эритроцитов и замедляет процесс восстановления крови у больной коровы. При рассмотрении миелограммы отмечают уменьшение готовых резервов миелобластов и ретикулоэндотелиальных клеток. При смене абсолютной нейтрофилии относительной, происходит нарастание числа нейтрофилов со сдвигом ядерной формулы влево, среди гранулоцитов обнаруживаются лизис и вакуолизация ядра и протоплазмы.

Сидероахрестическая анемия (САА) — железонасыщенная, или сидеробластная, анемия, при которой эритроциты содержат мало железа (гипохромны) вследствие неиспользования его костным мозгом для синтеза гемоглобина. При САА уменьшается образование порфиринов и возникает избыток железа. Лабораторные исследования выявляют снижение гемоглобина в сочетании с низким цветовым показателем, нормальное или повышенное количество ретикулоцитов. В сыворотке крови определяют высокое содержание железа, а в пунктате костного мозга — повышенное количество сидеробластов

(клетки костного мозга с включениями железа в виде гранул). Дефицит ферментов, участвующих в обмене порфиринов, уточняют путем определения продуктов порфиринов в моче. Повышенное содержание железа в организме доказывается также с помощью десфераловой пробы (после введения десферала с мочой выделяется увеличенное количество железа). Общая железосвязывающая способность сыворотки (ОЖСС) у таких больных снижена.

Талассемия. В основе талассемии лежит нарушение синтеза цепей глобина, что связано с наследственным дефектом транспортной РНК или гена-регулятора. По этому принципу имеется классификация талассемии на альфа-талассемию и бета-талассемию. Альфа-талассемия проявляется в виде гемолитической анемии. Отмечаются признаки анемического синдрома, увеличение селезёнки. В лабораторных анализах крови обнаруживают повышенные значения ретикулоцитов, что указывает на повышенную регенераторную способность костного мозга восстанавливать разрушенные клетки. Эритроциты гипохромные и похожи на мишень.

Бета-талассемия возникает при нарушении синтеза бета-субъединиц, различают большую и малую бета-талассемию. В лабораторных анализах крови при малой бета-талассемии: количество сидеробластов в норме или повышено; гипохромная микроцитарная анемия; анизоцитоз, пойкилоцитоз, повышено количество ретикулоцитов; железо в норме; повышенные уровни непрямого билирубина. У больных малой формой бета-талассемии отмечается повышение уровня HbA₂ (до 6%, норма до 3%) и HbF (до 7%, в норме – менее 1%).

Большая бета-талассемия (анемия Кули) – гомозиготная, считается тяжёлой прогрессирующей формой бета-талассемии. В лабораторных анализах отмечается: повышенное содержание сидеробластов; низкие показатели MCV, MCH, MCHC, свидетельствующие о гипохромной микроцитарной анемии; анизоцитоз; пойкилоцитоз – в виде мишени, шизоциты; базофильная пунктация эритроцитов; увеличение осмотической резистентности эритроцитов; увеличение неконъюгированного билирубина; избыточное содержание железа, вплоть до отложения его в органах (гемосидероз). Для большой бета-талассемии характерно увеличение содержания в крови фетального (HbF) гемоглобина до 70%, что подтверждается при проведении электрофореза. Сидеробласты содержат в цитоплазме негемоглобиновое железо в виде гемосидерина и ферритина.

Параксизмальная гемоглобинемия или гемоглобинурия

Под гемоглобинурией подразумевается такое патологическое состояние, когда с мочой выделяется гемоглобин, между тем как при гематурии с мочой выделяются поврежденные и неповрежденные эритроциты.

Установлены две формы гемоглобинурии: истинная и ложная. При первой разрушение эритроцитов и освобождение гемоглобина происходят в крови, при второй выход гемоглобина и распад красных кровяных телец наблюдается в моче вследствие нахождения в ней гемолизина, продуцируемых бактериями (стрептококк).

Лабораторно определяют гемоглобинемию, гемоглобинурию. В моче появляется белок, она становится красной, а иногда черной. Количество бел-

ка в моче в часто превышает содержание его в крови, что обусловлено нарушением функциональной способности почек.

Гемоглобинурия от охлаждения. После охлаждения в стойле или после прогулки в холодную и сырую погоду у животных отмечается озноб, продолжающийся в течение $1/2$ часа и больше, затем наступает сравнительно быстрый подъем температуры (до 39—40°). В этот момент или немного позднее у животного выделяются небольшие количества мутной, темно-коричнево-красной или черной мочи.

Лабораторно после центрифугирования мочи спектроскопически обнаруживается оксигемоглобин или метгемоглобин. При микроскопическом исследовании мочи находят детрит, окрашенный в коричневый или желтый цвет, образующий большие скопления. Иногда в тонких местах препарата видны гиалиновые и зернистые цилиндры, единичные лейкоциты, эритроциты и эпителий канальцев. С повышением диуреза моча становится более прозрачной, осадок уменьшается, параллельно уменьшаются химически обнаруживаемые кровь и белок, вместо них появляется соответственно распаду эритроцитов уробилин и уробилиноген. Наконец, когда гемоглобин обнаруживается лишь только при спектральном и химическом анализе, пробы на белок остаются положительными. Осадок в это время состоит лишь из желтых зернышек, которые остаются в моче и тогда, когда белка уже нет в моче.

В крови всегда находится свободный гемоглобин, который быстро переходит в связанный билирубин и уменьшается в количестве через несколько часов. После появления гемоглобинемии наблюдается уменьшение количества нейтрофилов и больших мононуклеаров с относительным лимфоцитозом, а через 2 часа после гемоглобинемии развивается нейтрофильный лейкоцитоз с относительной лимфопенией. Во время приступа количество эритроцитов уменьшено. Количество эритроцитов во время приступа снижается до 500 тыс., а затем быстро (через 17 часов) увеличивается до 1 млн. В периоды, свободные от пароксизма, отмечают эозинофилию. При часто повторяющихся пароксизмах у животных может развиться анемия.

Геморрагические диатезы объединяют большую группу болезней, различающихся по этиологии и патогенезу, но имеющие общий синдром - повышенную кровоточивость.

Гемофилия - наследственная болезнь, характеризуется выраженной склонностью к кровотечениям и кровоизлияниям, является классической формой геморрагических диатезов. Регистрируют ее преимущественно у собак, свиней и лошадей. Гемофилия - генетическая болезнь, наследуемая по рецессивному типу. Лабораторно выявляют замедление свертываемости крови. Она может не наступить даже после нескольких часов, в то время как у здорового крупного рогатого скота кровь свертывается в течение 10 минут, лошадей - 20, свиней - 10 и собак - 5 минут. Вследствие кровопотерь развивается хроническая постгеморрагическая, гипохромная анемия. Число лейкоцитов и эритроцитов в крови существенно не изменяется.

Тромбоцитопения - болезнь, обусловленная дефицитом тромбоцитов, проявляющаяся множеством мелких кровоизлияний, пониженной ретракцией кровяного сгустка. Лабораторно отмечают, что количество тромбоцитов уменьшено до 5-20 тыс/мкл. Падение тромбоцитов ниже 5 тыс/мкл - опасный для жизни симптом. Наряду с нормальными тромбоцитами встречаются большие формы кровяных пластинок, бедных зернистостью и гликогеном, с пониженной активностью лактатдегидрогеназы, повышенной активностью кислой фосфатазы. Содержание лейкоцитов в пределах нормы, у некоторых больных количество их несколько увеличено, а при поражении всех трех ростков кроветворения - уменьшено. Ретракция кровяного сгустка понижена или отсутствует, вследствие чего сыворотка крови не отделяется, продолжительность кровотечения удлинена, свертывание крови нарушено.

Кровопятнистая болезнь (петехиальная горячка) Болезнь аллергической природы, проявляется обширными симметричными отеками и кровоизлияниями в слизистые оболочки, кожу, подкожную клетчатку, мышцы и внутренние органы.

Лабораторно в крови при остром течении выявляют небольшой лейкоцитоз, преимущественно нейтрофильного и реже эозинофильного типа, уменьшение количества гемоглобина и эритроцитов, повышение СОЭ. Выраженный нейтрофильный лейкоцитоз со сдвигом влево, а также лейкопения с нейтропенией являются неблагоприятными моментами в прогнозе. Благоприятным симптомом считается возвращение количества лейкоцитов к норме и появление эозинофилии. В сыворотке, особенно при тяжелом течении болезни, возрастает уровень непрямого билирубина. В моче обнаруживают белок, гемоглобин, повышенное содержание уробилина, форменные элементы крови и слущенный эпителий извитых канальцев. Резистентность эритроцитов в норме или несколько понижена. Количество тромбоцитов уменьшено иногда до 60 тыс. Свертываемость крови в период кровотечения нормальна.

Эритроцитозы

Эритроцитозы характеризуются повышенным количеством эритроцитов в крови и не представляют собой какого-либо самостоятельного заболевания, а являются лишь симптомом при различных патологических и физиологических процессах.

Различают абсолютный и относительный эритроцитоз. Относительный эритроцитоз – вследствие уменьшения объема циркулирующей крови или выброса эритроцитов из кровяных депо. Абсолютный эритроцитоз – увеличение массы циркулирующих эритроцитов вследствие усиления гемопоэза. (симптоматические эритроцитозы, вызванные гипоксией, симптоматические эритроцитозы, связанные с неадекватно повышенной продукцией эритропоэтина, симптоматические эритроцитозы, связанные с избытком адренокортикостероидов или андрогенов в организме).

Эритремия – первичный эритроцитоз, возникающий вследствие автономной (независимой от выработки эритропоэтина) пролиферации эритроид-

ных клеток-предшественников в красном костном мозге и поступлением в кровь большого количества зрелых эритроцитов.

Гемобластозы - опухолевые (неопластические) заболевания кроветворной и лимфатической ткани. По характеру и месту локализации опухолевых разрастаний, а также по морфологии и принадлежности пролиферирующих клеток к определенным росткам гемопоэза гемобластозы разделены на две группы:

- лейкозы - системные поражения органов кроветворения, включающие лимфоидную, миелоидную, моноцитарную, эритролейкоз, мегакариоцитарный;
- гематосаркомы - сопровождающиеся опухолевым ростом. К ним относятся лимфосаркома, ретикулосаркома, лимфогрануломатоз и миеломная болезнь.

Лейкоз животных

Среди сельскохозяйственных животных лейкоз чаще встречается у крупного рогатого скота, реже — у овец, лошадей, свиней, а также у собак и кошек. Появление новых очагов лейкоза связано главным образом с завозом племенного молодняка из зон и хозяйств, неблагополучных по лейкозу.

К лейкозу относятся лимфоидный лейкоз, лимфосаркома, миелоидный лейкоз, эритролейкоз, мегакариоцитарный и моноцитарный лейкоз.

Характерная особенность лимфоидного лейкоза — наличие злокачественных лимфоидных клеток в крови и костном мозге.

Для **лимфосарком** характерны первичное поражение лимфоидной системы, непостоянное вовлечение в процесс костного мозга, наличие лейкопении и часто — анемии (в 20% случаев). По строению клеток различают: лимфосаркому слабодифференцированную, лимфобластичную, лимфоцитарную, а также гистиоцитарную, или гистиолимфоцитарную, которую также называют ретикулосаркомой.

При **миелоидном лейкозе** поражается костный мозг, в крови появляются миелоидные клетки.

Эритролейкоз проявляется быстрым размножением клеток — предшественников эритроцитов и клеток гранулоцитарного ряда. Характерное свойство этих новообразований — наличие аномальных предшественников эритроцитов, часто с многочисленными мегалобластными формами.

При **мегакариоцитарном лейкозе** мегакариоциты размножаются в костном мозге, затем в других органах гемопоэза, при их отсутствии — в крови.

Для **моноцитоидного** (моноцитарного) лейкоза типично поражение костного мозга и наличие моноцитоидных клеток в крови.

По клинико-морфологической картине лейкозы разделены на острые и хронические. Общим признаком острых лейкозов является развитие опухолей из молодых, бластных клеток. Признак хронических лейкозов — развитие опухолей из созревающих и зрелых клеток.

По количеству лейкоцитов в периферической крови лейкозы на той или

иной стадии их течения квалифицируют как: – лейкемические (резкое увеличение количества лейкоцитов – $100,0 \cdot 10^9/\text{л}$ и выше); – сублейкемические (увеличение числа лейкоцитов до $100,0 \cdot 10^9/\text{л}$); – алейкемические (число лейкоцитов не изменено); – лейкопенические (число лейкоцитов уменьшено – $< 4,0 \cdot 10^9/\text{л}$).

Лабораторная диагностика. Ведущее значение в диагностике лейкозов имеют клиничко-морфологические и гематологические методы с обязательным подтверждением диагноза патологоанатомическим и гистологическим исследованием, так как животные длительное время могут быть носителями онкорнавирусов и иметь лимфоцитоз без развития опухолевого процесса. Применяют методы иммунологической диагностики, реакции иммунодиффузии (РИД), иммунофлюоресценции (РИФ), РСК, ПЦР, электронную микроскопию.

Лейкоз крупного рогатого скота - наиболее часто встречающийся гемобластоз, хроническая инфекционная болезнь опухолевой природы, протекающая бессимптомно или характеризующаяся лимфоцитозом и злокачественным разрастанием кроветворных и лимфоидных клеток в различных органах. Возбудитель болезни - вирус лейкоза крупного рогатого скота – РНК-содержащий вирус подсемейства *Onconavirinae* семейства *Retroviridae* (ВЛКРС).

В развитии лейкозного процесса у крупного рогатого скота различают четыре стадии: предлейкозную, начальную (доклиническую), развернутую (клиничко-гематологическую) и конечную, или терминальную (опухолевую), стадии. Предлейкозная стадия у зараженных ВЛКРС животных проявляется в виде относительного лимфоцитоза (до 14 тыс/мкл, или $14 - 10^9/\text{л}$) за счет лимфоидных клеток, характерных для подозрительных по заболеванию по «лейкозному ключу». Обнаружить другие патологические изменения не удается.

Начальная стадия характеризуется отсутствием клинических признаков болезни, но более постоянными изменениями количественного и качественного состава крови. Число лейкоцитов колеблется от 15 до 40 тыс/мкл, а среди лимфоцитов преобладают юные и средние клетки. Гематологические изменения могут многие годы оставаться стабильными.

При развернутой стадии лейкозного процесса отмечают лейкемическую картину крови (40 тыс. и более лейкоцитов в 1 мкл крови, т.е. более $40 \cdot 10^9/\text{л}$), увеличение числа молодых, недифференцированных клеток в лейкоцитарной формуле (доля таких клеток может достигать 5%). Продолжительность этой стадии варьируется от нескольких месяцев до 1...2, иногда и 3 лет.

Терминальная (опухолевая) стадия лейкоза характеризуется дальнейшим развитием патологического процесса и более отчетливым проявлением клинических признаков.

Основной - серологический метод диагностики основан на выявлении в сыворотке крови животных при помощи РИД антител к антигену ВЛКРС. Специфические антитела появляются в крови крупного рогатого скота через 2 мес после заражения, т.е. значительно раньше, чем гематологические изменения, и сохраняются пожизненно. Кроме того, с этой целью применяют другие реакции: связывания комплемента (РСК); иммунофлюоресценции

(РИФ); радиоиммунопреципитации (РИП); нейтрализации (РН), иммуноферментного анализа (ИФА), полимеразной цепной реакции (ПЦР).

В СССР в основу гематологической диагностики был положен «лейкозный ключ», учитывающий не только абсолютное количество лейкоцитов, но и процентное содержание лимфоцитов.

Количество лейкоцитов и лимфоцитов у здорового, подозрительного по заболеванию и больного лейкозом крупного рогатого скота («лейкозный ключ»)

Возраст животного	Здоровые животные		Подозрительные по заболеванию животные		Больные животные
	Количество лейкоцитов в 1 мм ³ крови	Лимфоциты %	Абсолютное количество лимфоцитов в 1 мм ³ крови	Лимфоциты, не ниже, %	Абсолютное количество лимфоцитов в 1 мм ³ крови
1-2 года	До 13000	До 80	10500–13000	65	Свыше 13000
2-4 года	До 12000	До 75	9000–12000	60	Свыше 12000
4-7 лет	До 11000	До 70	8000–11000	55	Свыше 11000
7 лет и старше	До 10000	До 65	6500–10000	50	Свыше 10000

При исследовании костного мозга выявляется повышенное содержание незрелых форм клеток.

Гематосаркомы сопровождаются опухолевым ростом. Для них характерно местное опухолевое разрастание клеток с возможной системностью поражения. Лабораторно определяются слабо дифференцированные и не дифференцированные клетки кроветворной ткани. Большинство клеток имеют полиморфные ядра в состоянии митоза. При гематосаркомах в пролиферативный процесс вовлекаются клетки лимфоидного ряда и недифференцированные клетки ретикулоэндотелиальной системы.

Лимфосаркома по составу разрастающихся клеток может быть лимфобластической, лимфоцитарной, гистиоцитарной, слабо дифференцированной и др. Для лимфосаркомы характерно первичное вовлечение в патологический процесс лимфоидной системы. Красный костный мозг повреждается непостоянно. Лабораторно лимфосаркомы характеризуются пролиферацией лимфоидных клеток с плотными мелкими ядрами, богатыми хроматином, или крупных, средних клеток с обильной цитоплазмой, просветленными ядрами. При лимфобластическом варианте лимфосаркомы представлены однородными типичными лимфобластами.

Ретикулосаркома (ретикулосаркоматоз, гистобластная злокачественная лимфома, ретикулоклеточная саркома, ретотельсаркома, злокачественная гистиоцитарная лимфома и ретикулоцитомы). Это – злокачественная опухоль, формируется из ретикулярной ткани лимфатических узлов. Лабораторно при гистиоцитарном варианте сарком в пролиферате обнаруживают двуядерные гигантские клетки, макрофаги, гистобласты, лимфоциты.

Лимфогранулематоз. Заболевание, относящееся к злокачественным опухолям лимфатической системы. Проявляется местным опухолевым ростом. Закономерно вовлечение в опухолевый процесс лимфатических узлов, как отдельных, так и многих. Морфологически лимфогранулематоз – это полиморфноклеточная гранулема. Лабораторно её клеточный состав – лимфоциты, гистиоциты, клетки ретикулярного типа, нейтрофилы и эозинофилы, плазматические и лимфоидные клетки, встречаются клетки Березовского-Штенберга (гигантские). Последние – патогномоничны для лимфогранулематоза.

Увеличение относительного или абсолютного количества нейтрофилов, эозинофилов и моноцитов помимо лимфоцитов и недифференцированных клеток на определенной стадии развития патологического процесса — характерная черта лимфогранулематоза. Не менее важный показатель — обнаружение в крови молодых (пролимфоцитов и лимфобластов) и атипичных клеток, число которых варьировало соответственно от 0,5 до 6,0 и от 1 до 12%. Выявляют увеличение СОЭ. В сыворотке крови констатируют повышение содержания α_1 , α_2 -глобулинов, гаптоглобулинов.

Миеломная болезнь (плазмоцитомы) относится к системным заболеваниям кроветворных органов, которая характеризуется очаговым или диффузным разрастанием плазматических клеток в костях, содержащих красный мозг, и нередко во внутренних органах. При лейкоемизации процесса плазматические клетки могут попасть и в периферическую кровь. Они обладают свойством продуцировать патологические белки — парапротеины.

Лабораторно - лейкоцитарная формула обычно не характерна, она может быть нормальной или же отличаться нейтрофилезом со сдвигом влево. В мазках крови постоянно обнаруживают плазматические клетки. Лейкопения отмечается реже, и то на поздних стадиях болезни. Анемия — наиболее постоянный признак миеломной болезни, которая бывает обусловлена трансформацией костного мозга. Тромбоцитопения носит умеренный характер и не приводит к кровоточивости. Отмечаются характерные биохимические изменения, которые выражаются в повышении содержания в крови белка за счет глобулинов, а также в появлении патологического белка миеломного парапротеида. Наряду с обнаружением единичных плазматических клеток в мазках крови устанавливают: у коровы — лейкоцитоз и лимфоцитоз на сублейкемическом уровне; у лошади — усиливающуюся анемию (эритроцитов 2,7—1 млн/мкл) и лейкопению (лейкоцитов 3,2—6,4 тыс/мкл), у собаки — анемию, лейкоцитоз (лейкоцитов 17,7 тыс/мкл с нейтрофилией и резким ядерным сдвигом влево — юных 8%, палочкоядерных 65, сегментоядерных 10%), лимфопению (12% лимфоцитов) и моноцитоз (5% моноцитов). В костномозговом кроветворении обнаруживают изменения цитоморфологической картины костного мозга — наиболее характерный признак для миеломной болезни. В пунктате костного мозга можно обнаружить обилие плазматических клеток различной степени зрелости — от крупных клеток с молодым ядром, содержащим ядрышки, до более зрелых, с плотным колесовидным хроматином ядра, эксцентрично расположенным в цитоплазме. Цитоплазма имеет го-

лубую, синюю или сиреневую окраску и содержит различное число вакуолей, образуя «пенистость». Клетки располагаются изолированно или в виде синцития. Выраженные черты морфологической анаплазии (анизоцитоз, многоядерность) позволяют считать их миеломными клетками.

3.7.10. Болезни молочной железы

Мастит. Воспаление молочной железы, развивающееся в ответ на биологическую, механическую, термическую или химическую травму.

В зависимости от характера воспалительной реакции, мастит разделяют на клинический с ярко выраженными признаками воспаления и скрытый (субклинический) без выраженных клинических симптомов заболевания.

Клиническая форма мастита диагностируется по характерным для заболевания клиническим признакам.

Диагностические тесты при субклиническом мастите:

Физико-химическое исследование молока:

- определение концентрации водородных ионов (рН)
- измерение электропроводности секрета
- определение содержания лактозы

Подсчет числа соматических клеток в молоке.

Клиническое значение: При субклиническом мастите в молоке отмечается повышение электропроводности в результате увеличения поступления в молоко из крови ионов натрия и хлора; увеличение рН более 6,9 ед. (сдвиг в щелочную сторону) в следствие расщепления белков молока до аммиака, а также поступлением из крови гидрокарбоната натрия; понижение содержания лактозы на 10-20% и более. Количество соматических клеток в молоке тыс/мл

Некоторые физико-химические показатели молока коровьего

Наименование показателя	Норма для молока
Массовая доля белка, %, не менее	2,8
Массовая доля жира, %	2,8-6
Плотность, кг/м ³ , при температуре 20° С и массовой доле жира 3,5 не менее	1027,0
Кислотность, °Т	16,0-21,0
Кислотность, рН, ед	6,3 – 6,9
Температура замерзания, °С, не выше	– 0,520
Содержание небелкового азота, %, не более	0,038
Содержание мочевины, мг%, не более	40,0
Бактериальная обсемененность, тыс. на 1 грамм, не более	4000
Сухой обезжиренный молочный остаток (СОМО), %, не менее	8,2
Проводимость, mS/см	4-6
Лактоза (среднее содержание), %	5,01
Содержание соматических клеток, тыс/мл, не более	500

Список литературы

1. Альштейн А.Д. Подходы к созданию генно–инженерной вакцины против лейкоза на основе вируса осповакцины // Биотехнология в животноводстве и ветеринарии: тез. докл. II междунар. науч. конф. М., 2000. С. 149-151
2. Апалькин В.А., Гулюкин М.И., Петров Н.И. Лейкоз крупного рогатого скота. СПб., 2005. 106 с.
3. Барышников П.И., Разумовская В.В. Лабораторная диагностика вирусных болезней животных: учеб. пособие. СПб.: Изд-во «Лань», 2015. 672 с.
4. Белявская В.А. Возможности и ограничения использования ПЦР в диагностике и генотипировании вируса лейкоза крупного рогатого скота // Актуальные вопросы зоотехнической науки и практики как основа улучшения продуктивных качеств и здоровья сельскохозяйственных животных. Ставрополь, 2003. С. 275-278.
5. Бикхардт К. Клиническая ветеринарная патофизиология. М.: Медицина, 2001. 288 с.
6. Бовкун Г.Ф. Ветеринарная микробиология и микология. Брянск: Изд-во Брянский ГАУ, 2019. 198 с.
7. Бурмистров Е.Н. Клиническая лабораторная диагностика, основные исследования и показатели. М., 2005.
8. Галеев Р.Ф. Теоретическое обоснование, экспериментальное подтверждение путей передачи вируса лейкоза крупного рогатого скота, усовершенствование методов диагностики и мер борьбы с ним: автореф. дис. ... д-ра вет. наук. Казань, 2000. 18 с.
9. Галеев Р.Ф., Руденко А.А., Валиев Ф.Р. Диагностика и профилактика лейкоза КРС // Практик. 2003. № 5. С. 44–48.
10. Герунова Л.К., Герунов В.И., Корнейчук Д.В. Профилактика микотоксикозов в животноводстве // Вестник Омского ГАУ. 2018. № 3 (31). С. 36-43.
11. Герунова Л.К., Максимов В.И. Физиология сердечно-сосудистой системы и лекарственная регуляция ее функций у животных: учеб. пособие. СПб.: Лань, 2013. 160 с.
12. Гладырь Е.А., Зиновьева Н.А., Ермилов А.А. Разработка и экспериментальная апробация высокочувствительной тест-системы диагностики вируса лейкоза крупного рогатого скота // Методы исследований в биотехнологии сельскохозяйственных животных. ВИЖ, 2005. 134 с.
13. Горбунов А. П. Теоретические основы и практика оздоровления хо-

- зьяйств от лейкоза крупного рогатого скота: сб. науч. тр. Екатеринбург, 2005. С. 23-28.
14. Госманов Р.Г. Практикум по ветеринарной микробиологии и микологии: учебное пособие / под ред. Н.М. Колычев, А.А. Барсков. СПб.; М.; Краснодар: Лань, 2014. 380 с.
 15. ГОСТ 10444 от 1986 г., Продукты пищевые. Методы выявления ботулинических токсинов и *Clostridium botulinum*.
 16. ГОСТ 23453-2014 Молоко сырое. Методы определения соматических клеток (с Поправкой) М.: Стандартинформ, 2015 г. <http://docs.cntd.ru/document/1200115756>
 17. ГОСТ 25385-91 Животные сельскохозяйственные. Методы диагностики бруцеллёза.
 18. ГОСТ 25386-91 "Животные сельскохозяйственные. Методы лабораторной диагностики лептоспироза".
 19. ГОСТ 26072-89 (СТ СЭВ 3457-81) Животные и птица сельскохозяйственные. Методы лабораторной диагностики туберкулеза.
 20. ГОСТ Р 53079.4-2008 Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа. М.: Стандартинформ, 2009 <http://docs.cntd.ru/document/1200072566>
 21. Гулюкин М.И., Симонян Г.А., Мироменко А.К. Особенности противолейкозных мероприятий, обеспечивающих высокую молочную продуктивность: сб. науч. тр. Екатеринбург, 2005. С. 28-34.
 22. Справочник ветеринарного терапевта / Н.В. Данилевская, А.В. Коробов, С.В. Старченков, Г.Г. Щербakov. СПб.: Изд-во Лань, 2000. 384 с.
 23. Данилевский В.М., Кондрахин И.П., Коробов Л.В. Практикум по внутренним незаразным болезням животных. М.: Колос, 1992. 271 с.
 24. Данилова Л.А. Анализ крови и мочи. 4-е изд., исправ. СПб.: Салит-медкнига, 2003. 128 с.
 25. Диагностика некробактериоза и копытной гнили животных: учебное пособие / А. А. Шевченко, О. Ю. Черных, Л.В. Шевченко, Г.А. Джаилиди, Д.Ю. Зеркалев. Краснодар: КубГАУ, 2013. 20 с.
 26. Долгов В.В., Ермакова И.П. Лабораторная диагностика обмена минералов и заболевания костей. М.: РМАПО, 1998. 60 с.
 27. Долгов В.В., Свирин П.В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза. М.: ООО Изд-во «Триада», 2005. 227 с.
 28. Долгов С.С., Раков В.В. Ферменты в лабораторной диагностике: учеб. пособие. М., 2000.

29. Жаров А.В. Патологическая анатомия животных. М.: КолосС, 2006. 664 с.
30. Жаров А.В., Иванов И.В., Стрельников А.П. Практикум по патологической анатомии с/х животных. М.: Агропромиздат, 1989. 287 с.
31. Зайцев С.Ю., Коновалов Ю.В. Биохимия животных. М.: Лань, 2005.
32. Инструкция о мероприятиях по борьбе с аэромонозом карповых рыб утв. Департаментом ветеринарии Минсельхозпрода России 17.08.98г., № 13-4-2/1366.
33. Инструкция о мероприятиях по борьбе с бранхиомикозом рыб утв. Департаментом ветеринарии Минсельхозпрода России 26.11.97г., № 13-4-2/1099.
34. Инструкция о мероприятиях по предупреждению и ликвидации болезней, отравлений и основных вредителей пчел, утв. Минсельхозпродом РФ 17.08.1998 г., № 13-4-2/1362
35. Камышников В.С. Методы клинических лабораторных исследований. Мн.: Белорусская наука, 2002. 776 с.
36. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. М.: МЕДпресс-информ., 2009. 896 с.
37. Кисленко В.Н. Ветеринарная микробиология и иммунология: практикум. СПб.: Изд-во «Лань», 2012. 368 с.
38. Клиническая биохимия в диагностике болезней лошадей : учебно-методическое пособие / Л. Ю. Карпенко, А. А. Бахта, А. И. Козицына, В. В. Крюкова. СПб.: СПбГАВМ, 2019. 65 с.
39. Клиническая биохимия: учеб. пособие / А.Я. Цыганенко, В.И. Жуков, В.В. Мясоедов, И.В. Завгородний. М.: Триада, 2002. 502 с.
40. Клиническая эндокринология: руководство. 3-е изд. /под ред. Н.Т. Старковой. СПб: Питер, 2002. 576 с.
41. Ковзов В.В. Иммунный статус и его коррекция у телят, больных эндемическим зобом: дис. ... канд. вет. наук: 16.00.01. Витебск, 1998. 120 с.
42. Ковзов В.В. Лечение телят, больных энзоотическим зобом с коррекцией иммунного статуса // Ученые записки Витебской государственной академии ветеринарной медицины. Витебск, 1998. Т. 34. С. 42-45.
43. Ковзов В.В., Алейников В.В., Карпуть И.М. Профилактика иммунной недостаточности и зобной болезни у телят // Современные проблемы интенсификации животноводства: материалы междунар. студенческой науч. конф. Горки, 1997. С. 37-38.
44. Козинец Г.И. Атлас клеток крови и костного мозга. М.: «Триада-Х», 1998. 160 с.
45. Кокуричев П.И., Домнин Б.Г., Кокуричева М.П. Патологическая ана-

- томия с/х животных: атлас. СПб.: Агропромиздат, 1994. 212 с.
- 46.Колычев Н.М., Госманов Р.Г. Ветеринарная микробиология и микология. СПб.: Лань, 2014. 624 с.
 - 47.Комплексная терапия и терапевтическая техника в ветеринарной медицине: учеб. пособие / под общ. ред. А.А. Стекольников. СПб.: Лань, 2007. 288 с.
 - 48.Конвай В.Д., Старун А.С. Клиническая биохимия: учеб. пособие. Омск: Омский ГАУ, 2016. 104 с.
 - 49.Кондрахин И. П. Ацидоз и алкалоз рубца: лекция. М.: МВА, 1989. 16 с.
 - 50.Кондрахин И.П. Алиментарные и эндокринные болезни животных. М.: Агропромиздат, 1989. С. 212-224.
 - 51.Кондрахин И.П. Эндокринные, аллергические и аутоиммунные болезни животных: справ. М.: КолосС, 2007. 251 с.
 - 52.Кондрахин И.П., Левченко В.И., Таланов Г.А. Справочник ветеринарного терапевта и токсиколога: справ. М.: КолоС, 2005. 544 с.
 - 53.Кондрахин И.П., Таланов Г.А., Пак В.В. Внутренние незаразные болезни животных. М.: КолоС, 2003. 461 с.
 - 54.Конопатов Ю.В., Рудаков В.В. Биохимические показатели у кошек и собак. СПб., 2000.
 - 55.Кудрявцев А.А., Кудрявцева Л.А. Клиническая гематология животных. М.: «Колос», 1974. 399 с.
 - 56.Кузнецов С.Л., Мушкамбаров Н.Н., Горячкина В.Л. Атлас по гистологии, цитологии и эмбриологии. М.: Медицинское информационное агентство, 2002. 374 с.
 - 57.Лабораторная диагностика сальмонеллез, обнаружение сальмонелл в пищевых продуктах и объектах окружающей среды: метод. ук. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011. 111 с.
 - 58.Лабораторные исследования в ветеринарии: вирусные, риккетсиозные и паразитарные болезни: справ. / под ред. Б. И. Антонова. М.: Агропромиздат, 1987. 240 с.
 - 59.Леваненко А.А. Аутоиммунный тиреоидит и репродуктивная система женщины // Молодой ученый. 2018. № 13. С. 77-78.
 - 60.Литусов Н.В. Эшерихии: иллюстрированное учеб. пособие. Екатеринбург: Изд-во УГМА, 2016. 36 с.
 - 61.Лифшиц В.М., Сидельников В.И. Медицинские лабораторные анализы. М.: «Триада-Х», 2000. 312 с.
 - 62.Маршалл В.Дж. Клиническая биохимия. М.: БИНОМ, 1999. 368 с.
 - 63.Медведева М.А.. Клиническая ветеринарная лабораторная диагности-

- ка: справ. для ветеринарных врачей. М.: ООО «Аквариум-Принт», 2008. 415 с.
- 64.Меньшиков В.В. Обеспечение качества лабораторных исследований. М.: Лабинформ, 1999. 320 с.
 - 65.Методические рекомендации по диагностике, профилактике и лечению микотоксикозов животных. М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2017. 68 с.
 - 66.Методические рекомендации по лабораторной диагностике листериоза животных и людей от 19.02.1987 г.
 - 67.Методические указания по диагностике лейкоза крупного рогатого скота: метод. ук. по диагностике лейкоза крупного рогатого скота № 13-7-2/2130 от 23 августа 2000 г.
 - 68.Метод. ук. по лабораторная диагностика кампилобактериозов №01 157028-34 от 26.12.2008 г.
 - 69.Метод. ук. по лабораторной диагностике американского гнильца пчел, утв. Государственным агропромышленным комитетом СССР № 433-6 от 18 августа 1986 г.
 - 70.Метод. ук. по лабораторной диагностике лептоспироза 23.06.1992.
 - 71.Метод. ук. по лабораторной диагностике пастереллеза животных и птиц № 22-7/82 от 20.08.1992 г.
 - 72.Метод. ук. по лабораторной диагностике рожи (эризипелоида) свиней №13-5-02/0050 от 26.01.2001 г.
 - 73.Метод. ук. по лабораторной диагностике сапа №4.2.2831-11 от 14.01.2011
 - 74.Метод. ук. по проведению микологических исследований патологического материала и кормов в ветеринарно-бактериологических лабораториях при диагностике микозов и микотоксикозов сельскохозяйственных животных: Утв. 24/VII 1959 г. / Гос. инспекция по ветеринарии М-ва сел. хозяйства СССР. М.: Изд-во М-ва сел. хоз-ва СССР, 1959. 39 с.
 - 75.Метод. ук. по экспресс-диагностике варроатоза и определению степени поражения пчелиных семей клещами варроа в условиях пасеки, утв. Главным управлением ветеринарии М-ва сел. хоз-ва СССР № 115-6а от 16.01.84 г.,
 - 76.Метод. ук. по диагностике акарапидоза и экзоакарапидоза пчел, утвержденными Департаментом ветеринарии Минсельхозпрода России № 13-5-02/0466 от 16.06.02 г.
 - 77.Метод. ук. по диагностике браулеза пчел, утв. Главным управлением ветеринарии М-ва сел. хоз-ва СССР № 115-6а от 23.04.84 г.
 78. Метод. ук. по диагностике нозематоза медоносных пчел, утв. Глав-

- ным управлением ветеринарии М-ва сел. хоз-ва СССР № 115-6а от 25.04.85 г.
79. Метод. ук. по лабораторной диагностике амебиаза пчел, утв. Главным управлением ветеринарии М-ва сел. хоз-ва СССР № 115-6а от 23.04.84 г.
80. Метод. ук. по определению патогенности аэромонад по степени ДНКазной активности, утв. Департаментом ветеринарии Минсельхозпрода России № 13-4-2/1116 от 9.12.97 г.
81. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: справ. / под ред. И.П. Кондрахина. М.: КолосС, 2004. 520 с.
82. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: справ. / под общ. ред. И.П. Кондрахина. М.: КолосС, 2004. 520 с.
83. Микотоксикозы животных (этиология, диагностика, лечение, профилактика) / А.В. Иванов М.Я. Тремасов, К.Х. Папуниди и др. М.: Колос, 2008. 140 с.
84. Микотоксины и микотоксикозы животных - актуальная проблема сельского хозяйства / Р.С. Овчинников и др. // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. 2018. № 1 (25). С. 114-123.
85. Морозова В.Т., Миронова И.И., Марцишевская Р.Л. Лабораторная диагностика патологии пищеварительной системы. М.: РМАПО, 2001.
86. МУК 4.2.2939-11 Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2012.
87. Назаренко Г.И., Кишкун А.А. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований. М.: Медицина, 2000. 544 с.
88. Наставление по диагностике инфекционной болезни овец, вызываемой *Brucella ovis* (инфекционный эпидидимит баранов) от 13.11. 1991 г.
89. Наставление по диагностике туберкулеза животных от 10.11.2002 г.
90. Наставлению по диагностике паратуберкулеза (паратуберкулезного энтерита) №13-5-02/0050-05 от 05.04.2004 г.
91. Наставления по диагностике бруцеллеза сельскохозяйственных животных № 13-5-02/0850 от 29.09.2003 г.
92. Неменова Ю.М. Методы лабораторных клинических исследований. М.: Медицина, 1972.
93. Орбец В.А., Беляев В.А., Киреев И.В. Болезни системы крови животных: учебно-методическое пособие. Ставрополь, 2012. 31 с.
94. Пальцев М.А., Аничков Н.М. Патологическая анатомия. М.: Медицина,

2001. 736 с.
95. Пальцев М.А., Пономарев А.Б., Берестова А.В. Атлас по патологической анатомии. М.: Медицина, 2003. 432 с.
96. Панцырев Ю.М. Клиническая хирургия. М.: Медицина, 1988. 640 с.
97. Петрянкин Ф.П., Петрова О.Ю. Болезни молодняка животных: учеб. пособие. 2-е изд., перераб. и доп. СПб.: Лань, 2014. 352 с.
98. Полянцев Н.И., Михайлова Л.Б. Акушерство, гинекология и биотехника размножения животных: учебник. СПб.: Лань, 2018. 448 с.
99. Попова С.А., Скопцова Т.И., Лосякова Е.В. Микотоксины в кормах: причины, последствия, профилактика // Известия Великолукской ГСХА. 2017. № 1. С. 16-23.
100. Прохвятилова Л.Б. Применение ПЦР для раннего обнаружения вируса лейкоза крупного рогатого скота у экспериментально инфицированных животных // Ветеринария. 2001. № 8. С. 17-21.
101. Прудников В.С., Прудников А.В. Микотоксикозы животных (патоморфология, диагностика и профилактика) // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»: науч.-практ. журнал. Витебск, 2011. Т. 47, вып. 1. С. 111-114.
102. Романова В.Е. Дезрегуляционная патология при хронической почечной недостаточности у собак и кошек: дис. ... канд. биол. наук. М., 2011. 116 с.
103. Руководство по гематологии / под ред. А.И. Воробьева. М.: Медицина, 1985. 448 с.
104. Ручкин Д.А., Серебряна Е.В. Алкалоз рубца и кислотно-щелочное равновесие в организме крупного рогатого скота: сб. науч. тр. Sworld. Издательство: ООО «Научный мир», 2012. С. 3-4.
105. Самоловов А.А. Ацидоз рубца – причина всех проблем здоровья коров. Производственная болезнь. Новосибирск, 2019. 61 с.
106. Сборник инструкций по борьбе с болезнями рыб. М.: Изд-во Отдел маркетинга АМБ-агро, 1998. 310 с.
107. Симонян Г.А., Хисамутдинов Ф.Ф. Ветеринарная гематология. М.: Колос, 1995. 256 с.
108. Справочник ветеринарного терапевта / под ред. А.В. Коробова, Г.Г. Щербакова. СПб «Лань», 2005. 384 с.
109. Справочник ветеринарного терапевта и токсиколога / И.П. Кондрахин, В.И. Левченко, Г.А. Таланов; под ред. И. П. Кондрахина. М.: КолосС, 2005. 543 с.

110. Струков А.И., Серов В.В. Патологическая анатомия. М.: Медицина, 1995. 688 с.
111. Тимофеев Ф.Е., Прудников В.С., Бирман Б.Я. Гнильцовые болезни и микозы пчел: монография. Витебск, 2002. 48 с.
112. Ткачук В.А. Клиническая биохимия. М.: ГЭОТАР-МЕД., 2004. 512 с.
113. Фармакология: учебник / под ред. В.Д. Соколова. 3-е изд., испр. и доп. СПб.: Лань, 2010. 560 с.
114. Цынко Т.Ф. Диагностика заболеваний по анализам крови и мочи. Ростов н/Д: Феникс, 2002.
115. Шанс Био: лабораторная диагностика: справ. пособие для ветеринарных врачей / под общ. ред. Е.Н. Бурмистрова. М.: ООО Независимая ветеринарная лаборатория «Шанс Био», 2006. 156 с.
116. Шишков В.П., Бурба Л.Г. Лейкозы и злокачественные опухоли животных. М.: Колос, 1977. 376 с.
117. Электронное издание «Medpro.ru» <http://www.medpro.ru>
118. Эндокринология: учебник / под ред. Н. Лавина. М.: Практика, 1999. 1128 с.
119. Энциклопедия Шанс Био. Источник: <https://vetlab.ru/encyclopedia/>
120. Юрковский О.И., Грицюк А.М. Клинические анализы в практике врача. Киев: «Техника», 2000.
121. Черненко В.В., Симонова Л.Н. Диагностика болезней мочевой системы у животных: учеб. пособие. Брянск: Изд-во Брянский ГАУ, 2018. 46 с.
122. Черненко В.В. Основные синдромы и диагностика внутренних болезней животных: учебное пособие. Брянск: Изд-во Брянский ГАУ, 2018. 36 с.
123. Черненко В.В., Черненко Ю.Н. Копрологические исследования в диагностике болезней животных: учеб.-метод. пособие. Брянск: Изд-во БГАУ, 2019. 46 с.
124. Клинические лабораторные исследования крови. Показатели в норме и при патологии: учебно-методическое пособие / В.В. Черненко, Л.Н. Симонова, Ю.И. Симонов, Ю.Н. Черненко. 2-е изд., доп. и перераб. Брянск: Изд-во Брянский ГАУ, 2016. 37 с.
125. Метод. рекоменд. по диагностике, терапии и профилактике нарушений обмена веществ у продуктивных животных от 08 июля 2005. Источник: <http://docs.cntd.ru/document/1200118756>
126. Ветеринарное законодательство. <http://www.vetlek.ru/zakon/>
127. Информационный портал «Право.ru». <http://pravo.ru>

128. Информационный портал «Доктор – консультация доктора».
<https://carduodo.ru>
129. Информационный портал «Новости и технологии медицины».
<https://medbe.ru>
130. Электронная библиотека студента «Библиофонд»
<https://www.bibliofond.ru>
131. Ветеринарная служба Владимирской области <https://vetvo.ru>
132. Биологический энциклопедический словарь. Источник:
<http://bio.niv.ru/doc/encyclopedia/biology/index.htm>
133. Онкология от А до Я. Источник: <https://onko.guru>
134. Устами врачей: информационный медицинский интернет-проект
<https://ustamivrachey.ru>

Учебное издание

Василий Васильевич Черненко, Галина Николаевна Бобкова,
Леонид Никифорович Гамко, Василий Павлович Иванюк,
Дмитрий Валерьевич Иванов, Елена Владимировна Крапивина,
Елена Андреевна Кривопушкина, Иван Васильевич Малявко,
Юрий Иванович Симонов, Людмила Николаевна Симонова,
Олеся Владимировна Хотмирова, Юлия Николаевна Черненко

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ПРОВЕДЕНИЮ
ОБЯЗАТЕЛЬНОГО МИНИМУМА ИССЛЕДОВАНИЙ
В ВЕТЕРИНАРНЫХ ЛАБОРАТОРИЯХ
ПРИ ДИАГНОСТИКЕ БОЛЕЗНЕЙ ЖИВОТНЫХ**

Учебно-методическое пособие

Редактор Павлютина И.П.

Подписано к печати 24.11.2020 г. Формат 60x84 ¹/₁₆.

Бумага офсетная. Усл. п. л. 10,93. Тираж 25 экз. Изд. №6769.

Издательство Брянского государственного аграрного университета
243365 Брянская обл., Выгоничский район, с. Кокино, Брянский ГАУ