

25383-82 4344 +

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ СОЮЗА ССР

ЖИВОТНЫЕ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫЕ

МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ КОКЦИДИОЗА

ГОСТ 25383-82 (СТ СЭВ 2547-80)

Издание официальное





РАЗРАБОТАН Министерством сельского хозяйства СССР ИСПОЛНИТЕЛИ

Б. А. Тимофеев, И. А. Коблова, Л. М. Шалова

ВНЕСЕН Министерством сельского хозяйства СССР

УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 11 августа 1982 г. № 3154

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ СОЮЗА ССР

ЖИВОТНЫЕ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫЕ Методы пабораторной диагностики кокцидноза

ГОСТ 25383—82

Domes, e animals. Methods of laboratory diagnostics of coccides's

[CT C3B 2547-80]

Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 11 августа 1982 г. № 3154 срок действия установлен с 01.01.83

go 01.01.88

Несоблюдение стандарта преспедуется по закону

Настояний стандарт распростряняется на все виды сельскохозийственных животных и итиц и устанавливает методы дабораторной цианностики кохцидноза.

Стандарт полностью соответствует СТ СЭВ 2547-80.

1. МЕТОДЫ ОТБОРА ПРОБ

 1.1. Для проведения исследований отбирают пробы кала животных, пробы патологического материала, а также пробы подстилки.

1.2. Пробы кала берут от живых и навших животных.

 1.2.1. От живых животных пробы кала берут у животных из одного стада, станка или же стан с учетом числа животных в группе.

Если число животных в группе менее 100, кал берут не менее чем от 20 животных; в группе с числом животных от 101 до 500 — от 10%; с числом животных от 501 до 1000 — от 5% и с числом животных свыше 1000—от 2% животных.

1.2.2. Кал берут из прямой кишки животного. От каждой головы уружного рогатого скота берут 50 г кале, овен, коз и свиней — 20 г. домашией птицы и кроликов — 10 г.

Отобранные пробы смешивают, получая объединенную пробу.

В случае проведения исследований каля от каж юго животного сменивание проб не производят.

Допускается отбирать пробы кала с пола станков, выгулов

и т. п.

1.2.3. От павших животных кал берут из конца ободочной кишки или из прямой кишки в количествах, указанных в п. 1.2.2. 1.2.4. Отобранные пробы кала упаковывают в полиэтиленовый

пакет или помещают в хорошо закрывак щийся сосуд.

До проведения исследований пробы хранят при температуре 2 4°C или консервируют, добавляя 2,5%-ный раствор бихромата калия.

1.3. Пробы патологического материала отбирают при вскрытии

павших животных.

Пробы берут из патологознатомически измененных частей кишки, у кроликов-также из желчного пузыря и паренхимы почени, у гусей - из почек. Если пробы нельзя исследовать сразу, кишку разрезают в продольном направлении и помещают в 2,5%-ный раствор бихромата калия. Из печени кроликов вырезают беловатые очаги и консервируют их тем же способом. Пробы для гистологического исследования хранят в 10%-ном растворе формальдегида.

1.4. Пробы подстилки в зависимости от размера помещения отбирают не менее чем из десяти разных мест в бумажный или

полиэтиленовый пакет.

1.5. Ко всем отобранным пробам прилагают сопроводительный документ с указанием:

количества проб; размера поголовья; системы содержания; возраста и пола животных; категории упитанности; заболеваемости или смертности; продолжительности заболевания; способа проведенной санитарной обработки; даты взятия материала для исследования.

2. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Методы определения наличия ооцист в кале

Сущность метода заключается в определении с помощью микроскопа наличия ооцист кокцидий, всплывающих на поверхность раствора с исследуемым материалом.

2.1.1. Аппаратура, материалы и реактивы
 2.1.1.1. Для проведения исследования применяют:

микроскоп с окулярным микрометром марки МБИ-3 по ГОСТ 8284-78.

весы лабораторные по ГОСТ 24104-80:

центрифугу марки M-24 или других марок с частотой вращения 2000 об/мин;

сита с ячейками размером 0,5-1,0 мм2;

стаканы стеклянные вместимостью 150—200 см³ по ГОСТ 10394—75;

чашки стеклянные лабораторные по ГОСТ 10973-75;

стекла предметные по ГОСТ 9284—75 и покровные по ГОСТ 6672—75:

пипетки градуированные вместимостью 50 см³ по ГОСТ 20292—74;

посуду лабораторную фарфоровую;

воронки стеклянные по ГОСТ 8613-75;

штатив для пробирок;

петли;

вату гигроскопическую медицинскую по ГОСТ 5556-75;

натрий хлористый по ГОСТ 4233 77;

цинк сернокислый по ГОСТ 4174--77;

магний сернокислый по ГОСТ 4523-77;

воду дистиллированную по ГОСТ 6709-72.

2.1.2. Подготовка к исследованию

2.1.2.1. Приготовление раствора Бреза

Готовят насыщенный раствор сульфата магния и насыщенный раствор тиосульфата натрия. Растворы смешивают с дистиллированной водой в соотношении 3:3:1.

2.1.2.2. Приготовление флотационного раствора

К 1 л горячей дистиллированной воды добавляют избыток соответствующего химического реактива (насыщенного раствора хлористого натрия или сульфата цинка или раствора Бреза), выдерживают в течение 12 ч и фильтруют через вату в чистую склянку. Плотность флотационного раствора должна составлять приблизительно 1,3 г/см³.

2.1.3. Проведение исследования

2.1.3.1. Из пробы выделяют навеску кала массой 3 г, заливают в ступке 15-20 см³ воды, размешивают до жидкой консистенции и процеживают через сито и воронку в центрифужные пробирки.

Пробирки центрифугируют с частотой вращения 2000 об/мин в течение 1—2 мин. Жидкую часть сливают, затем добавляют 10 см³ флотационного раствора и тщательно перемешивают палочкой так, чтобы не образовались пузыри. Не рекомендуется встряхивать содержимое пробирки. Пробирки с флотационным раствором снова центрифугируют, как указано выше.

С помощью петли из каждой пробирки берут по три капли раствора и наносят на предметное стекло. Покровное стекло используют лишь для рассеяния капли в случае недостаточной обзорности поля зрения. При массовых исследованиях одной и той же пробы допускается не обжигать петлю после каждого переноса раствора на предметное стекло, достаточно лишь промыть ее несколькими резкими движениями в пробирке с водой. Однако в начале и конце исследования петлю необходимо обжигать.

Определение наличия ооцист проводят под микроскопом, ис-

пользуя соответствующий определитель.

2.2. Метод определения количества ооцист в кале

2.2.1. Аппаратура, материалы и реактивы

 2.2.1.1. Для проведения исследования применяют аппаратуру, материалы и реактивы, указанные в п. 2.1.1, и дополнительно счетную камеру Горяева или Мак-Мастера.

2.2.2. Проведение исследования

2.2.2.1. Исследуемую пробу кала тщательно гомогенизируют. Взвешивают от 3 до 5 г кала (в зависимости от необходимости точности определения) и размешивают в стакане с 45 см³ воды. Полученную таким образом суспензию фильтруют через сито. 10 см³ фильтрата помещают в центрифужную пробирку и центрифугируют с частотой вращения 2000 об/мин в течение 2 млн.

Жидкую часть сливают, к осадку добавляют 10 см³ флотационного раствора и тщательно перемешивают. Полученной суспензией заполняют счетную камеру. Допускается при отсутствии счетной камеры использовать предметное стекло, на которое наносят 0,15 см³ суспензии и накрывают покровным стеклом. Заполненную камеру или предметное стекло с 0,15 см³ суспензии выдерживают в течение 2 мин, чтобы ооцисты могли подняться к поверхности, и подсчитывают количество ооцист. Полученное число, умноженное на 100, представляет собой содержание ооцист в 1 г кала.

Для более точного определения допускается использовать несколько камер и ооцисты подсчитывают в нескольких камерах. При использовании камеры Горяева ооцисты подсчитывают во всех 225 квадратах и полученную сумму умножают на коэффициент 1111. Полученное количество показывает число ооцист в

1 см³ взвеси.

2.2.3. Обработка результатов

2.2.3.1. У домашней птицы обнаружение единичных ооцист (0-100 ооцист на 1 г кала) свидетельствует о наличии кокцидий в окружающей среде и течении субклинического заболевания.

Наличне 101-1000 ооцист в 1 г кала свидетельствует:

для Eimeria tenella и Eimeria песаtux — о заражении средней степени;

для Eimeria maxima — о сильном заражении;

для E. acervulina — о слабом заражении.

Наличие свыше 1000 ооцист в 1 г кала — признак сильного

заражения.

У крупного рогатого скота и овец наличие до 1000 ооцист в 1 г кала (для E. bovis и E. zuetnii) свидетельствует о слабой инфекции, до 5000 — об инфекции средней тяжести, свыше 5000 -- о сильной инфекции.

Для определения вида Еітегіа используют существующие оп-

ределители.

У кроликов наличие до 10000 ооцист на 1 г кала служит признаком слабой инфекции, до 100000— сильной инфекции, свыше 100000— очень сильной инфекции.

2.3. Метод исследования павших животных

Сущность метода заключается в выявлении и определении с помощью микроскопа различных стадий кокцидий в пробах, взятых при паталогоанатомическом вскрытии животных. У животных исследуют желудочно-кишечный тракт, при этом учитывают наличие в крови паталогоанатомических изменений, локализацию, а также размер, форму, цвет, структуру стадий развития.

2.3.1. Аппаратура и реактивы

2.3.1.1. Для проведения исследования применяют:

ножницы по ГОСТ 21239-77:

пинцеты по ГОСТ 21241 -77;

чашки лабораторные стеклянные по ГОСТ 10973--75;

пипетки пастеровские;

натрий хлористый по ГОСТ 4233--77;

воду дистиллированную по ГОСТ 6709-72.

2.3.2. Проведение исследования

2.3.2.1. Паталогически измененные части кишок кладут в чашки Петри или другую посуду и разрезают в продольном направлении. Несколько капель содержимого кишки разбавляют на предметном стекле физиологическим раствором, накрывают покровным стеклом и рассматривают под микроскопом. Можно также соскабливать краем предметного стекла слизистую оболочку пораженной кишки. Соскоб разбавляют физиологическим раствором и рассматривают под микроскопом для установления наличия мерозонтов, шизонтов или гамет кокцидий.

У павших кроликов исследуют беловатые очаги в печени и содержимое желчного пузыря на наличие ооцист компедий Eimeria. Очаги разрезают и с помощью пастеровской випетки наносят их содержимое на предметное стекло. Накрыв препарат покровным стеклом, рассматривают его под микроскопом. Аиэлогичным образом поступают и с поражениями почек гусей.

2.3.3. Обработка результатов

2.3.3.1. В случае установления сдиничных стадий развития кокцидий заболевание кокцидиозом рассматривается как вторичная инфекция, которая не играет главную роль в падеже животных. При установлении разных стадий развития патогенных видов кокцидий в большом количестве и исключении других инфекционных заболеваний кокцидиоз считают причиной падежа животных.

2.4. Метод исследования подстилки на наличие ооцист кокцилий

Сущность метода заключается в подсчете количества ооцист в 1 г подстилки и определении по данным подсчета тяжести клинического течения кокцидноза и резистентности кокцидий к используемому антикокцидиозному препарату.

 2.4.1. Аппаратура, материалы и реактивы
 2.4.1.1. Для проведения исследования применяют аппаратуру, материалы и реактивы, указанные в п. 2.1.1, и дополнительно:

счетную камеру Горяева или Мак-Мастера;

гомогенизатор электрический.

2.4.2. Проведение исследования

2.4.2.1. Пробу подстилки хорошо перемещивают. Взвешивают 10 г пробы с погрешностью не более 0,02 г и перекладывают в стакан с 100 см³ воды, ставят в холодильник, выдерживают в течение 12 ч и гомогенизируют 2-3 мин в электрическом гомогенизаторе с частотой вращения 2000 об/мин. Полученную суспензию фильтруют в течение 5 мнн. Жидкую часть сливают, к осадку добавляют 10 см³ флотационного раствора и тщательно перемешивают, встряхивая пробирку. Наполняют счетную камеру или помещают 0,15 см³ суспензии на предметное стекло, накрывают ее покровным стеклом и выдерживают в течение 2 мин. Число ооцист умножают на коэффициент 67, что представляет собой количество ооцист в 1 г подстилки.

2.4.3. Обработка результатов

2.4.3.1. Определение вида кокцидий проводят согласно соот-

ветствующему определителю.

При наличин до 5000 ооцист Е. acervulina в 1 г подстилки не придают им никакого клинического значения. Наличие до 5000 ооцист E. tenella или E. песаtux в 1 г подстилки свидетельствует о слабом течении концидноза у содержавшихся на этой подстилке цыплят или же о синжении действия используемого кокцидностатика. Наличие 1000 ооцист Е. тахіта в 1 г подстилки свидетельствует о клиническом течении кокцидноза и недостаточной эффективности антикокциднозного препарата.

2.5. Метод установления интенсивности инфекции

2.5.1. Проведение исследования

2.5.1.1. Интенсивность инфекции ооцистами Еішегіа или другими формами развития этого рода устанавливают подсчетом их в микроскопическом препарате и делением полученного числа на 3.

2.5.2. Обработка результатов

2.5.2.1. Подсчитанное число ооцист делят на 3. Это число будет равным числу паразитов в 1 г кала. В зависимости от этого для самых патогенных видов Eimeria устанавливают следующие степени интенсивности инфекции:

слабая инфекция (+) ·1—10 ооцист на 1 г кала; средняя инфекция (++)—11—100 ооцист на 1 г кала; сильная инфекция (+++)—больше 100 ооцист на 1 г кала. При оценке интенсивности инфекции следует учитывать не только наличие ооцист различных видов Eimeria, но и присутствие

других паразитов.

Изменение № 1 ГОСТ 25383—82 Животные сельскохозяйственные. Методы дабораторной диагностики кокцидиоза

Утверждено и введено в действие Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 27.05.87 № 1714

Дата введения 01.01.88-

Пункты 2.1.1.1, 2.1.2.1 взложить в новой редакции; <2.1.1.1. Пля проведения исследования применяют:

микроскоп с окулярным микрометром марки МБИ-3 по ГОСТ 8284-78,

весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104-80 с наибольниям предслом вавешивания 200 г;

центрифугу с частотой вращения 5000 мин- :

стаканы стеклянные вместимостью 150—200 см³ и 1000 см³ по ГОСТ 25336—82;

чашки стеклянные лабораторные по ГОСТ 25336-82;

стежда предметные по ГОСТ 9284—75 и покровные по ГОСТ 5672—75; пипетки градуированные исполнений 1, 2, 4, 5, 6, 2-го класса точности вместамостью 50 см³ по ГОСТ 20292—74;

посуду лабораторную фарфоровую;

воронки стеклянные по ГОСТ 25336-82;

штатив для вробирок;

петли:

марлю медицинскую по ГОСТ 9412-77:

вату гигроскопическую медицинскую по ГОСТ 5556-81;

фильтры беззольные по ГОСТ 12026—76; натрий хлористый по ГОСТ 4233—77;

натрий хлористый по ГОСТ 4233—77; волу дистиллиронанную по ГОСТ 6709—72.

2.1.2.1. Приготовление флотационного раствора

К 1 дм³ горячей воды добавляют 400 г хлористого матрия, тимисьно разменивают, выдерживают 30 мин и фильтруют через вату или складчатыю фильтр в чистую склянку Плотность флотационного раствора должна составлять 1,3 г/см³-.

Пункт 2.1.2.2 исключить.

Пункт 2.1.3.1 изложить в новой редакции: <2.1.3.1. Из пробы выделяют навеску кала массой 3—5 г, помещают навеску в ступку, заливают 15-20 см; зоды, размешивают до жидкой консистенции и процеживают через марлю в

тентрифужные пробирки.

Сробирки центрифугируют в течение 5 мин с частотой вращегия 5000 мин−1. Жиджую часть сливают, затем добавляют 10 см³ флотационного раствора, тщательно перемешивают палочкой и повторно центрифугвруют. При помощи петли из каждой пробирки берут по три капли раствора, наносят на предметное стекло и накрывают покровным стеклом. Определяют наличие опист под микроскопом. После проведения одного исследования летлю обжитают.

Пункт 2.2.1.1. Исключить слова- «или Мак. Мастера».

Пункты 2.2.2.1, 2.2.3.1 изложить в новой редакции: «2.2.2.1 Взвешивают 5 г кала, взятого из отобранной пробы, и тщательно размешивают в ступке с 45 см3 воды. Нолученную суспензию фильтруют через одын слой марля, осадок стбрасывают, 10 см3 фильтрата помещают в центрифужную пробирку и центрифугируют в течение 5 мин с частотой вращения 5000 мин-1. Жидкую часть-слявают, к осадку добавляют 10 см3 флотационного раствора, тщательно перемешивают и еще раз центрифугируют в течение 5 мин с частотой вращения 5000 мин-1. Из пробирки снимают при помощи петли поверхностимй слой жидкости и в счетной камере Горяева подсчитывают количество опцист во всех 225 мера бото и поравления количества общест в 1 г кала, подсчитанное в камере Горяева, число общест умножают на 1111.

(Продолжение см. стр. 338)

2.2.3.1. У домашней птицы наличие 50000 ооцист на 1 г кала не влияет на зоотехнические показатели цыплят, обнаружение более 100000 оосцист на 1 г кала свидетельствует о заражении средней степени, обнаружение ооцист в количестве более 30000 на 1 г кала — о высокой степеня заражении и малой эффективности применяемого препарата.

У крупного рогатого скота и овец наличие до 1000 ооцист в 1 г кала свидстельствует о низкой степени заражения, до 5000 — о средней степени зара-

жения, более 5000 — о высокой степени заражения.

У кроликов наличие до 10000 ооцист на 1 г кала служит признаком низкой степени заражения, до 100000 — высокой степени заражения, более 100000 - очень высокой степени заражения».

Пункт 2.3. Наименование изложить в новой редакции: «2.3. Метод исследо-

вания павших или убитых животных».

Пункт 2.3.1.1, Заменить ссылку: ГОСТ 10973-75 на ГОСТ 25336 82.

Пункт 2.3.2.1. Первый абзац. Заменить слова: «патологически измененные

части кишок» на «исследуемые части кишок».

Пункт 2.3.3.1 изложить в новой редакции: «2.3.3.1. Для своевременной диагностики кокцидноза у домашней птицы подсчет ооцист проводят одии раз в 7
дней, начиная в двух-, трехнедельного возраста цыплят. Из каждой группы
вскрывают по 4—6 ослабленных птиц. Исследуют соскобы со сливистой и содержимое кишечника в месте верехода дненаццативерстной кишки в тощую,
середниы тонкого отдела кишечника и слепых кишок. Несколько капель наиосит на предметное стекло, разбавляют водой и накрывают покровным стеклом.
Просматривают под микроскопом 20 полей зрения, определяют среднее количество ооцист на одно поле зрения и проводят илеитификацию кокцидий вида
Ејшегіа в соответствии с ключом вдентификация, представленном на схеме. В
зависимости от клинических проявлений, степени и характера изменений отделов кишечника, локализации поражения и стадий развития кокщидий определяот виды ооцист Е. tenella, Е. песаtrix, Е. acervulina, Е. тахіта, Е. ргаесох. (см.
схему. См. с. 339)».

Раздел 2 дополнить пунктами — 2.3.4, 2.3.4.1:

«2.3.4 Оценка результатов

2.3.4.1 Наличве ооцист видов Е. acervulina менее 50 и ооцист Е. tenella. Е. necatrix, Е. maxima менее 5 кокцидий в поле эрения - признак низкой степени заражения.

При установлении разных стадий развития кокцидий в большом количестве

у давших птиц или животных кокцидноз считают причиной падежа».

Пункт 2.4.1.1. Исключить слова: «и дополнительно: счетную камеру Горяс-

ва или Мак, Мастера; гомогенизатор электрический».

Пункт 2.4.2.1 изложить в новой редакции: «2.4.2.1. Пробу подстилки хорошо переменивают и взаешнявют 100 г. Заливают 1 лм³ воды, выдерживают донабухания содержимого и пилетельно разменивают. Полученную суспензию
фильтруют через марлю, осадок отбрасмвают. Фильтрат тщательно перемениввают и отбирают 100 см³ в центрифужную пробирку. Центрифутируют в течение 5 мин с частотой вращения 5000 мин -¹. Жидкую часть сливают, к осадку
добавляют 50 см³ флотационного раствора, тщательно переменивают и центрифугируют в течение 5 мин. с частотой вращения 5000 мин -¹. Из пробирки синмают при помощи петля поверхностный слой в в счетной камере Горяева подсчитывают колячество ооцист во всех 225 квадратах. Полученное число ооцист
умножают на 5555, и определяют колячество ооцист в 1 г подстилки».

Пункты 2.4.3, 2.4.5 исключить.

(Продолжение см. с. 339)

КЛЮЧ И ИДЕНТИФИКАЦИИ ВИДОВ Eimeria ЦЫПЛЯТ

Наименование показателя			Характеристика		
Кланические признака	Кровотеченяя	чения	Крово	Кровотечений не отмечено	
Патологические вз- менения	Глубокие эрозни эпителия	элителия	Слизистый энте- рит	Слазистонскротический энтерит	ческий энтерит
Отдел кишечника	Слепие кишки	Тонкая кишка	12-перствая верхний отдел тонкой кишки	Средний отдел тонкой кишки	Нижний огдел тонкой кишки
Наличие в мазке раз- внаямщихся стадий кок- цадий	Большие	Большие шизонты	Гаметоциты и мелкие оодисты в большом ко- личестве	Гаметоциты и большие желто- ватые оойисты	Гаметоциты нан ооцисты
Дополвительные приз-	Казеозная мас- са в слепых без кам кинках большос колчество оонист При слабом заражении нли красноватые пораже кинок без выдимой крови	Казеозная мас- са в слепых без каменений кинках большос колчиество ооцист При слабом заражении сероватые или красионатые поражения степки кинок без выдимой крови	Слабое заражение харахтери. ние харахтери. зустка налачием беловатых фоху. голь сильное — славнение пора- жений и распро- странением по	При сальном заражения видя- кыс геморра- гия и некрозы	Беловатый эн- судат и казеоз- ные массы в тяжелых случа- ях некроз няж- него отдела кищечняка
	E tenella	E, necatrix	E. acervulina	E. maxima	E. praecox
		(MVC Nº 8 1987 r.)	1987 г.)		

Редактор Н. Е. Шестакова Технический редактор А. Г. Каширин Корректор Р. А. Фролова

Сдано в наб. 24.08.82 Подп. к воч. 24.09.82 0,5 п. л. 0,38 уч.-изд. л. Тир. 10000 Цена 3 коп. Ордена <3мак Почета» Издательство стандартов, 123537. Москва, Новопресненский пер., 3