



25383-82
ИЗМ 1 +

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ
СОЮЗА ССР

ЖИВОТНЫЕ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫЕ

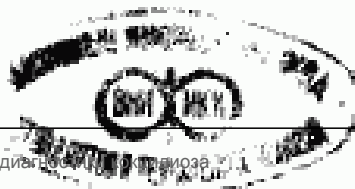
МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ КОКЦИДИОЗА

ГОСТ 25383—82
(СТ СЭВ 2547—80)

Издание официальное

Цена 3 коп.

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР ПО СТАНДАРТАМ
Москва



GOST
СТ СЭВ

ГОСТ 25383-82, Животные сельскохозяйственные. Методы лабораторной диагностики кокцидиоза
Domestic animals. Methods of laboratory diagnostics of coccidiosis

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

ЖИВОТНЫЕ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫЕ
Методы лабораторной диагностики кокцидиоза

ГОСТ
25383—82

Domestic animals. Methods of laboratory diagnostics
of coccidiosis

[СТ СЭВ 2547—80]

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

с 01.01.83

до 01.01.88

Несоблюдение стандарта преследуется по закону

Настоящий стандарт распространяется на все виды сельскохозяйственных животных и птиц и устанавливает методы лабораторной диагностики кокцидиоза.

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 павших животных.

1.2.1. От живых животных пробы кала берут у животных из одного стада, станка или же стаи 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 крупного рогатого скота берут 50 г кала, овец, коз и свиней — 20 г, домашней птицы и кроликов — 10 г.

Отобранные пробы смешивают, получая объединенную пробу.

В случае проведения исследований кала от каждого животного смешивание проб не производят.

Издавка официальное

Перепечатка воспрещена

© Издательство стандартов, 1982

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 закрывающийся 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 патологоанатомически измененных частей кишки, у кроликов—также из желчного пузыря и паренхимы печени, 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 М-24 или других марок с частотой вращения 2000 об/мин;

сито 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, используя 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 размещивают 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 мин.

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.

Наличие 101—1000 ооцист в 1 г кала свидетельствует:

для *Eimeria tenella* и *Eimeria necatrix* — 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. zuernii*) свидетельствует о слабой инфек-

ния, до 5000 — об инфекции средней тяжести, свыше 5000 — о сильной инфекции.

Для определения вида *Eimeria* используют существующие определители.

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 патологоанатомическом вскрытии животных. У животных исследуют желудочно-кишечный тракт, при этом учитывают наличие в крови патологоанатомических 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. Патологически 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 кокцидий *Eimeria*. Очаги разрезают и с помощью пастеровской пипетки наносят их содержимое на предметное стекло. Накрыв препарат покровным стеклом, рассматривают его под микроскопом. Аналогичным образом поступают и с поражениями почек гусей.

2.3.3. Обработка результатов

2.3.3.1. В случае установления единичных 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 кокцидий

Сущность метода заключается в подсчете количества ооцист в 1 г подстилки и определении по данным подсчета тяжести клинического течения кокцидиоза 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 перемешивают. 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 мин. 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 соответствующему определителю.

При наличии до 5000 ооцист *E. acervulina* в 1 г подстилки не придают им никакого клинического значения. Наличие до 5000 ооцист *E. tenella* или *E. passarii* в 1 г подстилки свидетельствует о слабом течении кокцидиоза у содержащихся на этой подстилке цыплят или же о снижении действия используемого кокцидиостатика. Наличие 1000 ооцист *E. maxima* в 1 г подстилки свидетельствует о клиническом течении кокцидиоза и недостаточной эффективности антикокцидиозного препарата.

2.5. Метод установления интенсивности инфекции

2.5.1. Проведение исследования

2.5.1.1. Интенсивность инфекции ооцистами *Eimeria* 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 лабораторной 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 изложить в новой редакции:

«2.1.1.1. Для проведения исследования применяют:
микроскоп с окулярным микрометром марки МБИ-3 по ГОСТ 8284—78;
весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104—80 с наибольшим пределом взвешивания 200 г;
центрифугу с частотой вращения 5000 мин⁻¹;
стаканы стеклянные вместимостью 150—200 см³ и 1000 см³ по ГОСТ 25336—82;

чашки стеклянные лабораторные по ГОСТ 25336—82;
стекла предметные по ГОСТ 9284—75 и покровные по ГОСТ 5672—75;
пипетки градуированные исполнений 1, 2, 4, 5, 6, 2-го класса точности вместимостью 50 см³ по ГОСТ 20292—74;
посуду лабораторную фарфоровую;
воронки стеклянные по ГОСТ 25336—82;
штатив для пробирок;
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;
воду дистиллированную по ГОСТ 6709—72.

2.1.2.1. Приготовление флотационного раствора

К 1 дм³ горячей воды добавляют 400 г хлористого натрия, тщательно размешивают, выдерживают 30 мин и фильтруют через вату или складчатый 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 см³ воды, размешивают до жидкой консистенции и проеживают через марлю и центрифужные пробирки.

Пробирки центрифугируют в течение 5 мин с частотой вращения 5000 мин⁻¹. Жидкую часть сливают, затем добавляют 10 см³ флотационного раствора, тщательно перемешивают палочкой и повторно центрифугируют. При помощи петли из каждой пробирки берут по три капли раствора, наносят на предметное стекло и накрывают покровным стеклом. Определяют наличие ооцист под микроскопом. После проведения одного исследования петлю обжигают».

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. Полученную суспензию фильтруют через один слой марли, осадок сбрасывают, 10 см³ фильтрата помещают в центрифужную пробирку и центрифугируют в течение 5 мин с частотой вращения 5000 мин⁻¹. Жидкую часть сливают, 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 поверхностный слой жидкости и в счетной камере Горяева подсчитывают количество ооцист во всех 225 квадратах. Для определения количества ооцист в 1 г кала, подсчитанное в камере Горяева, число ооцист 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 ооцист на 1 г кала свидетельствует о заражении средней степени, обнаружение ооцист в количестве более 300000 на 1 г кала — о высокой степени заражения и малой эффективности применяемого препарата.

У крупного рогатого скота и овец наличие до 1000 ооцист в 1 г кала свидетельствует о низкой степени заражения, до 5000 — о средней степени заражения, 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 исследования 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 кокцидиоза у домашней птицы подсчет ооцист проводят один раз в 7 дней, начиная в двух-, трехнедельного возраста цыплят. Из каждой группы вскрывают по 4—6 ослабленных птиц. Исследуют соскобы со слизистой и содержимое кишечника в месте перехода двенадцатиперстной кишки в тощую, середины тонкого отдела кишечника и слепых кишок. Несколько капель наносят 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 идентификацию кокцидий вида *Eimeria* в соответствии с ключом идентификации, представленном на схеме. В зависимости от клинических проявлений, степени и характера измененный отдел кишечника, локализация поражений и стадий развития кокцидий определяют виды ооцист *E. tenella*, *E. necatrix*, *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. praecox*. (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. Наличие ооцист видов *E. acervulina* менее 50 и ооцист *E. tenella*, *E. necatrix*, *E. maxima* менее 5 кокцидий в поле зрения — признак низкой степени заражения.

При установлении разных стадий развития кокцидий в большом количестве у павших птиц или животных кокцидоз считают причиной падежа».

Пункт 2.4.1.1. Исключить слова: «и дополнительно: счетную камеру Горяева или Мак. Мастера; гомогенизатор электрический».

Пункт 2.4.2.1 изложить в новой редакции: «2.4.2.1. Пробу подстилки хорошо перемешивают и взвешивают 100 г. Заливают 1 дм³ воды, выдерживают до набухания содержимого и тщательно размешивают. Полученную суспензию фильтруют через марлю, осадок отбрасывают. Фильтрат тщательно перемешивают и отбирают 100 см³ в центрифужную пробирку. Центрифугируют в течение 5 мин с частотой вращения 5000 мин⁻¹. Жидкую часть сливают, к осадку добавляют 50 см³ флотационного раствора, тщательно перемешивают и центрифугируют в течение 5 мин с частотой вращения 5000 мин⁻¹. Из пробирки снимают при помощи петли поверхностный слой и в счетной камере Горяева подсчитывают количество ооцист во всех 225 квадратах. Полученное число ооцист умножают на 5555, и определяют количество 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			
Клинические признаки	Кровотечение			
	Кровотечений не отмечено	Кровотечений не отмечено		
Патологические изменения	Слизистый энтерит	Слизистонекротический энтерит		
	Отдел кишечника	Средний отдел тонкой кишки	Нижний отдел тонкой кишки	
Наличие в мазке развизующихся стадий коцидий	Гаметоциты и мелкие ооцисты в большом количестве	Гаметоциты и большие желтоватые ооцисты	Гаметоциты и ооцисты	
	Дополнительные признаки	Слабое заражение характеризуется наличием беловатых раздольных фокусов, сильное — слиянием пораженных и распространением по кишечнику	При сильном заражении видны мис геморрагии и некрозы	Беловатый энтерит и казеозные массы в тяжелых случаях некроза нижнего отдела кишечника
Наименование показателя	<i>E. tenella</i>	<i>E. necatrix</i>	<i>E. acervulina</i>	<i>E. praecox</i>
	Глубокие эрозии эпителия	Тонкая кишка	Слизистый энтерит	
Слепые кишки	Слепые кишки	Тонкая кишка	12-перстная верхний отдел тонкой кишки	
	Большие шизонты	Большие шизонты	Гаметоциты и мелкие ооцисты в большом количестве	
Казеозная масса в слепых кишках большое количество ооцист	Слепые кишки без изменений	Слепые кишки без изменений	Слабое заражение характеризуется наличием беловатых раздольных фокусов, сильное — слиянием пораженных и распространением по кишечнику	
	При слабом заражении сероватые или красноватые поражения стенки кишок без видимой крови			

(ИУС № 8 1987 г.)

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

Сдано в наб. 24.08.82 Подл. к печ. 24.09.82 0,5 п. л. 0,38 уч.-изд. л. Тир. 10000 Цена 3 коп.

Орден «Знак Почета» Издательство стандартов, 123537, Москва, Новопресненский пер., 3
Тел. «Московский печатник», Москва, Лядня пер., 6. Зак. 931