



25383-82
4344-1 +

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



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—82Dentex, or 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.

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 отобраннным 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;

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 сернистый по ГОСТ 4174—77;

магний сернистый 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 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 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. zuetunii*) свидетельствует о слабой инфек-

ции, 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. necatrix* 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 безольные 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 пропеживают через марлю в 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 изменений отделов кишечника, локализации поражения 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 кокцидиоз 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 л 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	Кровотечения			
Патологические изменения	Глубокие эрозии эпителия	Слизистый энтерит	Кровотечений не отмечено	Слизистонекротический энтерит
Отдел кишечника	Слепые кишки	Тонкая кишка	12-перстная верхний отдел тонкой кишки	Нижний отдел тонкой кишки
Наличие в массе развывающихся стадий кокцидий	Большие шизонты	Большие шизонты	Гаметоциты и мелкие ооциты в большом количестве	Гаметоциты и гаметоциты
Дополнительные признаки	Казеозная масса в слепых кишках большое количество ооцитов	Слепые кишки без изменений	Слабое заражение характеризуется наличием беловатых раздольных фокусов, сильное — слившимся поражений и распространением по кишечнику	При сильном заражении видимые геморрагии и некрозы
	При слабом заражении сероватые или красноватые поражения стенки кишок без видимой крови			Беловатый эндулит и казеозные массы в тяжелых случаях некроз нижнего отдела кишечника
	<i>E. tenella</i>	<i>E. necatrix</i>	<i>E. acervulina</i>	<i>E. maxima</i>
				<i>E. praecox</i>

(ИУС № 8 1987 г.)

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

Сдано в наб. 24.08.82 Подп. к печ. 24.09.82 9,5 л 0,38 уч.-изд. л Тир 10000 Цена 3 коп.

Ордена «Знак Почета» Издательство стандартов, 123537, Москва, Новопресненский пер., 3
Тип. «Московский печатник», Москва, Ляля пер., 6. Зак. 931