

ГОСТ 26072-89
(СТ СЭВ 3457-81)

Группа С79

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ СОЮЗА ССР
ЖИВОТНЫЕ И ПТИЦА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫЕ
Методы лабораторной диагностики туберкулеза
Agricultural animals and poultry. Methods of laboratory diagnostics of tuberculosis

ОКСТУ 9809

Срок действия с 01.07.90
до 01.07.95*

* Ограничение срока действия снято
по протоколу N 4-93 Межгосударственного Совета
по стандартизации, метрологии и сертификации
(ИУС N 4, 1994 год). - Примечание "КОДЕКС".

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

1. РАЗРАБОТАН И ВНЕСЕН Госагропромом СССР

РАЗРАБОТЧИКИ СТАНДАРТА

Н.П.Овдиенко, В.А.Шаров, Б.И.Антонов, Э.С.Плотников, В.И.Косенко, В.В.Поповцев, Л.А.Красота,
А.Х.Найманов, О.В.Якушева

2. УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Государственного комитета СССР по
стандартам от 04.07.89 N 2319

3. Срок первой проверки - III кв. 1992 г.

Периодичность проверки - 5 лет

4. ВЗАМЕН ГОСТ 26072-84

5. СТАНДАРТ ПОЛНОСТЬЮ СООТВЕТСТВУЕТ СТ СЭВ 3457-81

6. ССЫЛОЧНЫЕ НОРМАТИВНО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ДОКУМЕНТЫ

Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер пункта
ГОСТ 1625-75	5.1
ГОСТ 3118-77	2.1
ГОСТ 2290-76	5.1
ГОСТ 4204-77	3.1
ГОСТ 4233-77	3.1
ГОСТ 4328-77	2.1
ГОСТ 5962-67	5.1
ГОСТ 6672-75	5.1
ГОСТ 6709-72	2.1; 3.1
ГОСТ 8284-78	2.1
ГОСТ 9147-80	2.1
ГОСТ 9284-75	2.1

ГОСТ 9949-76	3.1; 5.1
ГОСТ 13739-78	2.1
ГОСТ 18300-87	2.1
ГОСТ 19569-80	3.1
ГОСТ 20015-88	5.1
ГОСТ 20292-74	3.1
ГОСТ 22180-76	3.1
ГОСТ 23683-79	3.1; 5.1
ГОСТ 24363-80	2.1
ГОСТ 25336-82	3.1

Настоящий стандарт распространяется на все виды сельскохозяйственных животных и птиц и устанавливает методы лабораторной диагностики заболевания туберкулезом, вызываемого микобактериями *M. bovis*, *M. tuberculosis*, *M. avium*.

Стандарт применяют для установления заболевания животных и птицы в республиканских, областных ветеринарных лабораториях, а также лабораториях научно-исследовательских учреждений при исследовании биоматериала от животных при экспортно-импортных операциях.

Диагноз на туберкулез у животных устанавливают на основании патологоанатомических, бактериологических, включая биологическую пробу, и аллергических методов лабораторной диагностики с учетом эпизоотологических данных и клинических признаков болезни.

Лабораторные исследования на туберкулез проводят в срок не более 90 дней, идентификацию культуры - в срок не более 90 дней после ее выделения.

1. ОТБОР ПРОБ

1.1. Пробу для проведения анализов отбирают от каждого животного в отдельности.

1.2. Для анализа отбирают пробы лимфатических узлов млекопитающих: заглоточные, подчелюстные, бронхиальные, средостенные, брыжеечные; лимфатические узлы, взятые в области илеоцекального соединения и подвздошной кишки, упаковывают отдельно от остальных лимфатических узлов. Портальные, предлопаточные, надвыменные, поверхностные паховые лимфатические узлы и внутренние органы (легкие, печень, почки) направляют только при наличии изменений, подозрительных на туберкулез.

Парные лимфатические узлы вырезают с обеих сторон туши, указав их название на этикетке, которую помещают вместе с пробой. Тушки (трупы) птиц для исследования направляют в лабораторию целиком.

1.3. Пробы патологического материала, отобранные для бактериоскопического, бактериологического и биологического анализов, доставляют в лабораторию в свежем или замороженном виде. Допускается консервировать пробы в 30%-ном водном растворе химически чистого глицерина.

Пробы хранят до окончания лабораторного исследования.

2. МЕТОД БАКТЕРИОСКОПИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Сущность метода заключается в выявлении микобактерий туберкулеза путем бактериоскопии мазков из нативного материала.

2.1. Аппаратура, материалы и реактивы

Термостат с автоматическим регулированием температуры, обеспечивающий температурный режим 37-38 °С.

Микроскоп иммерсионный с контрастным приспособлением МБИ или МБР по ГОСТ 8284 или других аналогичных марок.

Осветитель типа ОИ-19.

Стекла предметные по ГОСТ 9284.

Фильтры бумажные.

Кислота карболовая кристаллическая.

Спирт этиловый ректификованный 96%-ный по ГОСТ 18300.

Спирт солянокислый 3%-ный; готовят следующим образом: берут 3 см³ концентрированной соляной кислоты по ГОСТ 3118 и добавляют ее к 97 см³ 70%-ного этилового спирта.

Калия гидроокись по ГОСТ 24363, раствор с массовой долей 1%.

Метиленовый голубой кристаллический.

Натрия гидроокись по ГОСТ 4328.

Фуксин основной.

Глицерин.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Масло иммерсионное для микроскопа по ГОСТ 13739.

Синь метиленовая (метиленовый голубой), высушенный спиртовой раствор; готовят следующим образом: к 8-9 г кристаллического метиленового голубого добавляют 100 см³ этилового спирта.

Синька Леффлера метиленовая, водно-спиртовой раствор; готовят следующим образом: 30 см³ насыщенного спиртового раствора метиленовой сини пропускают через бумажный фильтр, прибавляют 1 см³ раствора гидроокиси калия с массовой долей 1% и разбавляют 100 см³ дистиллированной воды. Раствор устойчив в течение длительного времени.

Фуксин Циля карболовый, водно-спиртовой раствор; готовят следующим образом: 1 г основного кристаллического фуксина растирают в ступке с 5 г кристаллической карболовой кислоты и 0,5 см³ глицерина, прибавляя небольшими порциями 10 см³ этилового спирта. После измельчения краски прибавляют при постоянном помешивании 100 см³ дистиллированной воды. Раствор краски выдержав в термостате 24 ч фильтруют через бумажный фильтр. Фуксин Циля хранят во флаконах из темного стекла с притертой пробкой.

2.2. Подготовка к анализу

2.2.1. Мазки патологического материала готовят, используя чистые обезжиренные предметные стекла. Готовят по два мазка - из каждого органа и лимфатического узла. Мазки высушивают на воздухе, фиксируют над пламенем и окрашивают по Циль-Нильсену.

Для окрашивания мазков по Циль-Нильсену на фиксированный мазок кладут кусочек фильтровальной бумаги, наливают на нее карболовый раствор фуксина Циля и нагревают до момента появления паров (два-три раза) в течение 5 мин, но не доводя краситель до кипения, раствор краски при этом каждый раз добавляют. Дают препарату остыть, удаляют пинцетом бумагу, сливают избыток красителя и препарат промывают водой. Мазок обесцвечивают 3%-ным раствором солянокислого спирта до достижения слабо заметного розового оттенка. После обесцвечивания препарат тщательно промывают водой и окрашивают метиленовой синькой Леффлера в течение 3-5 мин. Краску смывают, мазок промывают водой и высушивают на воздухе.

2.3. Проведение анализа

2.3.1. Мазки просматривают под микроскопом. При отсутствии микобактерий просматривают в каждом мазке не менее 50 полей зрения.

2.4. Обработка результатов

2.4.1. Для микобактерий туберкулеза характерны тонкие, прямые или изогнутые красные палочки различной длины, часто зернистые. Они располагаются небольшими скоплениями или единичны.

3. МЕТОД БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Сущность метода заключается в выделении культур микобактерий туберкулеза и определении скорости роста и характера бактерий.

3.1. Аппаратура, материалы и реактивы

Термостат с автоматическим регулированием температуры, обеспечивающий температурный режим от 37 до 38 °С.

Холодильник.

Шкаф сушильный, обеспечивающий регулирование температуры от 100 до 200 °С.

Аппарат для встряхивания (шуттель-аппарат).

Центрифуга лабораторная с частотой вращения 3000 мин⁻¹.

Автоклав с рабочим давлением 1,5 КПА по ГОСТ 19569*.

* На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 51935-2002. - Примечание "КОДЕКС".

Ступки с пестиками вместимостью 50 и 100 см³ по ГОСТ 9147.

Песок или стекло стерильное.

Пипетки вместимостью 1, 2, 5, 10 см³ по ГОСТ 20292.

Флаконы пеницилиновые.

Пробирки бактериологические по ГОСТ 25336.

Стеклянные предметные по ГОСТ 9284.

Пробирки центрифужные.

Ножницы.

Лупа с увеличением 3-5×.

Шпатель.

Петли бактериологические.

Колбы конические вместимостью 250 см³ по ГОСТ 25336.

Пробки ватно-марлевые.

Ксилол по ГОСТ 9949 или бензин авиационный.

Кислота щавелевая по ГОСТ 22180, растворы концентрацией 5 и 10%.

Кислота серная по ГОСТ 4204, растворы концентрацией 3-5 и 6%.

Эфир.

Натрий хлористый по ГОСТ 4233, раствор с массовой долей 0,85% рН 7,0.

Натрия гидроксид, раствор с массовой долей 1 и 4%.

Парафин по ГОСТ 23683*.

* Действует ГОСТ 23683-89, здесь и далее по тексту. - Примечание "КОДЕКС".

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Среды питательные: Левенштейна-Йенсена, Петраньяни, Гельберга, Финн-2, Мордовского, сухая среда Левенштейна-Йенсена, яичная, мясопептонный агар (МПА), мясопептонный бульон (МПБ).

Для контроля стерильности среды помещают на 20-24 ч в термостат с температурой 37-38 °С. Допускается при посевах употреблять среды, приготовленные не более чем за 14 сут до испытания. Хранят среды в сухом прохладном месте.

3.2. Подготовка к анализу

3.2.1. Для посева на питательные среды патологический материал подвергают предварительной обработке, гомогенизируя и подвергая воздействию для уничтожения сопутствующей микрофлоры. Предварительная обработка должна быть щадящей для микобактерий туберкулеза.

3.2.2. Из каждого доставленного лимфатического узла вырезают кусочки размером 0,5 см³ на границе здоровой и измененной ткани. Общая масса лимфоузлов для исследования составляет около 6-10 г. Брыжеечные лимфатические узлы, взятые в области илеоцекального соединения и подвздошной кишки обрабатывают и высевают отдельно от других лимфатических узлов.

3.2.3. Кусочки органов и тканей свежие или отмытые дистиллированной водой от консервирующей жидкости, обрабатывают одним из методов, указанных ниже.

Метод Гона-Левенштейна-Сумиоши. Кусочки материала измельчают ножницами в ступке, тщательно растирают пестиком со стерильным песком или стеклом и заливают в зависимости от свежести материала растворами серной кислоты концентрацией 3-5 или 6% или раствором щавелевой кислоты концентрацией 5 или 10% в соотношении: на 1 объемную часть материала 4 части кислоты. Пробу центрифугируют в течение 10-15 мин частотой вращения 3000 мин⁻¹. Общая экспозиция контакта с кислотой не должна превышать 30 мин. Надосадочную жидкость сливают, осадок отмывают 2-3 раза физиологическим раствором с помощью центрифугирования и используют для посевов, нанося и втирая его шпателем на поверхность яичной среды.

Метод Аликаевой. Ткани нарезают на кусочки размером 0,5 см³, помещают в ступку, заливают раствором серной кислоты концентрацией 3-5 или 6% и оставляют на 10-20 мин. Ступку накрывают стерильной пергаментной бумагой. Затем кислоту сливают, материал промывают два-три раза в течение 5-10 мин физиологическим раствором, после чего раствор удаляют и кусочки ткани тщательно растирают с незначительным объемом свежего физиологического раствора (1-1,5 см³). Из полученной взвеси делают посева и мазки, а к оставшейся доливают физиологический раствор в количестве, необходимом для заражения животных (1 см³ на одно животное).

3.2.4. Для концентрации микобактерий в исследуемом материале применяют метод флотации. Материал растирают в ступке с физиологическим раствором до консистенции сметаны. В узкогорлую колбу вместимостью 250 см³ помещают 10 см³ исследуемого материала, добавляют равное количество 1%-ного раствора гидроксида натрия.

Смесь тщательно встряхивают (не более 10 мин) в специальном аппарате или вручную до получения однородной консистенции. Затем гомогенизированный материал разбавляют в соотношении 1:9 дистиллированной водой и прибавляют 1-2 см³ ксилыла или авиационного бензина. Смесь вновь встряхивают в течение 5-10 мин, добавляют дистиллированную воду (до горлышка колбы) и оставляют на 30 мин при

комнатной температуре. Микобактерии туберкулеза концентрируются во флотационном растворе у горлышка колбы.

Для приготовления мазков содержимое образовавшегося кольца осторожно отсасывают пипеткой и наносят по мере подсыхания несколько раз на предметное стекло. Для посевов на питательные среды пенистую часть флотационного кольца переносят пастеровской пипеткой в стерильные пробирки, добавляя приблизительно равное количество 3-5 или 6%-ного раствора серной кислоты. Пробирки тщательно встряхивают в течение 3-5 мин и оставляют на 10 мин. Содержимое вновь образовавшегося компактного кольца засевают петлей-ракеткой в пробирки с питательной средой.

3.3. Проведение анализа

3.3.1. Подготовленный для исследования материал высевают в 5-10 пробирок с питательной средой Левенштейна-Йенсена или Гельберга, Петраньяни, Финн-2, Мордовского. В 5 пробирок тех же сред высевают взвесь из брыжеечных лимфоузлов и в одну пробирку с мясопептонным агаром (МПА) и мясопептонным бульоном (МПБ). Посев проводят пастеровской пипеткой или платиновой петлей, осторожно втирая материал по всей поверхности питательной среды. Засеянные пробирки укладывают в наклонном положении и помещают в термостат с температурой 37-38 °С. Через 2 сут посеvy просматривают и определяют восстановление цвета среды. Если цвет среды не восстановился, обработку и посев повторяют. Пробирки, в которых появился рост посторонней микрофлоры, удаляют. В остальных ватно-марлевые пробки парафинируют.

Для выявления начального роста микобактерий все пробирки с посевами просматривают не менее одного раза в неделю. Посевы выдерживают в термостате в течение 90 сут. При обнаружении роста микобактерий в первые 10 сут наблюдение за посевами продолжают в течение 3 мес.

3.3.2. Для дальнейшего изучения культуральных свойств делают пересев выросших колоний микобактерий, предварительно накопив бактериальную массу для посева на различные питательные среды (яичные, мясопептонный бульон (МПБ) и яичную среду с салицилатом натрия) и культивируют их при температурах: 20-25, 37-38 и 45 °С.

Для посева отбирают платиновой петлей (диаметр 2-3 мм) бактериальную массу и переносят в стерильную пробирку или пенициллиновый флакон. При неоднородном росте культуры отбирают колонии, наиболее характерные по внешнему виду для микобактерий туберкулеза. Бактериальную массу тщательно растирают в 1-1,5 см³ физиологического раствора, который добавляют небольшими порциями в пробирку (флакон).

Приготовленную взвесь вносят по 2-3 капли пастеровской пипеткой в шесть пробирок с плотной яичной средой (по две для каждого температурного режима), в две пробирки яичной среды с салицилатом натрия и одну пробирку с мясопептонным бульоном (МПБ). На пробирках делают надписи с указанием номера экспертизы, даты посева и температурного режима культивирования. Пробки парафинируют и пробирки устанавливают в термостат при заданных температурах. Пробирки с посевами на мясопептонную среду и на яичную среду с салицилатом натрия инкубируют в термостате при 37-38 °С.

3.4. Обработка результатов

3.4.1. Для микобактерий туберкулеза бычьего вида характерен рост через 20-60 сут в виде скупко растущих мелких, шаровидных в глубине среды слегка возвышающихся цвета слоновой кости колоний. Реже встречаются культуры, образующие морщинистые колонии.

3.4.2. Для микобактерий туберкулеза человеческого вида характерен рост через 20-30 сут в виде морщинистых, сухих, цвета слоновой кости колоний. Это R-варианты культур микобактерий (шероховатые), вирулентные для человека и животных. Иногда встречаются S-варианты (гладкие) культуры.

3.4.3. Для микобактерии туберкулеза птичьего вида характерны мягкие, слизистые (иногда с пуговицеобразным возвышением и кратеровидные углубления) серовато-белые, реже слегка желтоватые колонии. Культуры этого вида растут быстрее (10-15 сут), чем микобактерий указанных выше видов.

3.4.4. Микобактерии туберкулеза всех трех видов не образуют пигмента и растут на яичных средах без салицилата натрия: бычьего и человеческого видов - при 37-38 °С, птичьего - 37-38° и 45 °С. Микобактерии туберкулеза птичьего вида растут также на яичной среде с салицилатом натрия.

3.4.5. Атипичные микобактерии могут расти при разных температурах на яичных, а некоторые и на простых средах.

3.4.6. Культуры микобактерий непигментированные, дающие рост при температуре 37-38 °С на яичных средах без салицилата натрия более чем через 20 сут, и не растущие в мясопептонном бульоне (МПБ), а также культуры, дающие рост при температуре 37-38 и 45 °С на яичных средах (включая среды с салицилатом натрия) через 10 и более сут, подлежат исследованию биологическим методом.

Культуры микобактерий, характеризующиеся ростом на яичной среде с салицилатом натрия или на простых средах, пигментированием, ростом при 22 °С, в дальнейшем биологическому исследованию не подвергают.

4. МЕТОД БИОЛОГИЧЕСКОЙ ПРОБЫ

Сущность метода заключается в воспроизведении туберкулеза при диагностическом исследовании материала и для определения вида микобактерий туберкулеза.

Исследование проводят, используя взвесь из материала (органы, лимфоузлы и др.) или культуру микобактерий, выделенную бактериологическим исследованием.

4.1. Аппаратура, материалы и реактивы

Аппаратура, материалы и реактивы - по п.3.1, а также указанные ниже.

Весы лабораторные с погрешностью взвешивания не более 0,001 г.

Шприцы вместимостью 1-2 см³.

Иглы инъекционные N 0416.

Натрий двууглекислый, раствор с массовой долей 10%.

4.2. Подготовка к анализу

4.2.1. Патологический материал, взятый от животных и обработанный, как указано в п.3.2.3, нейтрализуют стерильным водным раствором двууглекислого натрия с массовой долей 10%, отстаивают до оседания крупных частиц и образовавшуюся надосадочную жидкость используют для инъекции лабораторным животным. Взвесь готовят из расчета, чтобы для получения одной дозы (1 см³) было взято примерно 1 г исследуемого материала.

4.2.2. Для приготовления взвеси из культуры микобактерий, выделенной, как указано в разд.3, бактериальную массу в количестве 8-10 мг снимают шпателем с поверхности плотной питательной среды и переносят в стерильный пенициллиновый флакон с резиновой пробкой, предварительно взвешенный. Затем флакон вновь взвешивают на аналитических весах и по разности между первой и второй массой флакона определяют массу взятой культуры. Во флаконы добавляют физиологический раствор из расчета 1 см³ на 1 мг бактериальной массы.

4.3. Проведение анализа

4.3.1. Для постановки биопробы берут кроликов живой массой не менее 2000 г, морских свинок живой массой 300-350 г (желательно светлой масти) и кур в возрасте не моложе 150 сут.

Биопробу проводят при диагностическом исследовании материала от млекопитающих - на двух морских свинках, от птиц - на двух курах.

4.3.2. Взвесь материала в дозе 1-2 см³ вводят морским свинкам подкожно в области паха, допускается интратестикулярное заражение морских свинок в дозе 0,2 см³ взвеси, курам - в подкрыльцовую вену.

4.3.3. Через 30 сут после заражения свинок исследуют туберкулиновой пробой. У морских свинок на боку

выщипывают (или выбривают) шерсть (лучше накануне исследования) и внутрикожно им вводят ППД-туберкулин для млекопитающих в дозе 25 ТЕ (туберкулиновых единиц), растворенный в 0,1 см³ растворителя или стерильного физиологического раствора.

Дозу 25 ТЕ ППД-туберкулина в 0,1 см³ растворителя получают следующим путем: во флакон с ППД-туберкулином вливают растворитель, содержащийся в прилагаемом к аллергену флаконе, перемешивают и получают концентрацию 50000 ТЕ/см³. После растворения ППД-туберкулина 1 см³ раствора переносят в пробирку с 9 см³ физиологического раствора, перемешивают. Затем 0,5 см³ этого раствора переносят во вторую пробирку с 9,5 см³ физиологического раствора и получают раствор, содержащий в 0,1 см³ 25 ЕД ППД-туберкулина.

Реакцию на туберкулин у морских свинок учитывают через 24 и 48 ч после введения ППД-туберкулина. Положительная реакция проявляется гиперемией кожи в месте введения ППД-туберкулина и образованием уплотненной припухлости диаметром 5 мм и более, иногда с некрозом в центре.

Курам вводят 0,1 см³ ППД-туберкулина для птиц внутрикожно в бородку, реакцию учитывают через 30-36 ч. Положительная реакция характеризуется опуханием бородки.

4.3.4. Заражение животных культурами микобактерий, выделенными из исходного материала, проводят для определения вида возбудителя туберкулеза. В этих целях двух морских свинок, двух кроликов и при необходимости двух кур заражают трех-четырехдневной культурой: морских свинок подкожно, кроликов - внутривенно в краевую вену уха, кур - внутривенно в подкрыльцовую вену в дозах по 1 мг микобактерий, суспендированных в 1 см³ физиологического раствора. Если бактериальная масса трудно растирается (суспензия должна быть гомогенной), ее сначала тщательно растирают с несколькими каплями физиологического раствора или бычьей желчи пестиком в ступке или стеклянной палочкой в пробирке, а затем к суспензии частями добавляют необходимый объем физиологического раствора.

4.4. Обработка результатов

Определение видов микобактерий туберкулеза проводят на основании результатов патологоанатомического исследования подопытных лабораторных животных.

4.4.1. Микобактерии туберкулеза человеческого и бычьего видов у морских свинок вызывают развитие генерализованного туберкулеза в период от 21 до 90 сут после введения материала (культуры). На месте введения материала (культуры) образуется язва и наблюдается увеличение регионарного лимфатического узла. Морские свинки прогрессивно худеют. При вскрытии павших или убитых животных в регионарных к месту заражения паховых лимфатических узлах на разрезе обнаруживают казеозные очаги. При генерализации процесса поражены и другие лимфатические узлы. Селезенка и печень увеличены, плотные, с сероватыми или желтоватыми мелкими сливающимися узелками. В легких много сероватых очажков.

Микобактерии туберкулеза птичьего вида у морских свинок, как правило, вызывают только абсцесс в месте введения культуры и увеличение регионарного пахового лимфатического узла. При заражении материалом изменений в органах и тканях у животных не наблюдают.

4.4.2. Микобактерии туберкулеза бычьего вида у кроликов при внутривенном заражении в течение от 21 до 90 сут после заражения вызывают генерализованный процесс, который характеризуется увеличением легких с множеством очажков, часто с наличием некрозов. В печени и селезенке поражения имеют вид небольших узелков, либо отсутствуют. В почках могут развиваться очаговые поражения.

Микобактерии туберкулеза человеческого вида у кроликов не вызывают прогрессирующего процесса. Единичные очажки можно обнаружить в легких и редко в почках. Чаше поражения отсутствуют.

Микобактерии туберкулеза птичьего вида у кроликов вызывают, как правило, сепсис (тип Иерсена), характеризующийся резким увеличением селезенки. При этом гибель животных наступает через 11-30 сут.

4.4.3. Микобактерии туберкулеза человеческого и птичьего видов при внутривенном заражении кур не вызывают у них заболевания и каких-либо изменений в органах.

Микобактерии туберкулеза птичьего вида вызывают гибель кур в течение 30 сут. Иногда куры выживают 60-90 сут. На вскрытии у павших (или убитых) кур обнаруживают много серо-желтых бугорков в печени и селезенке, а в окрашенных по Циль-Нильсену мазках из органов - значительное количество микобактерий

туберкулеза.

5. МЕТОД ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Сущность метода заключается в обнаружении в лимфатических узлах и органах больных туберкулезом животных морфологических изменений.

5.1. Аппаратура, материалы и реактивы

Аппаратура, материалы и реактивы - по п.2.1, а также указанные ниже.

Микротом с микротомными ножами.

Блоки деревянные.

Стекла покровные по ГОСТ 6672.

Спирт этиловый ректификованный, 96%-ный по ГОСТ 5962*.

* На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 51652-2000. - Примечание "КОДЕКС".

Формалин по ГОСТ 1625*, раствор массовой долей 10%.

* Действует ГОСТ 1625-89. - Примечание "КОДЕКС".

Углекислота.

Парафин по ГОСТ 23683.

Целлоидин.

Эфир.

Хлороформ по ГОСТ 20015.

Бальзам пихтовый по ГОСТ 2290 или кедровый, или канадский.

Ксилол (пара, орта, мета) по ГОСТ 9949.

Эрозин, раствор массовой долей 0,1%.

Гематоксилин.

Фуксин основной.

5.2. Подготовка к анализу

5.2.1. Кусочки ткани заливают в целлоидин или парафин и приготавливают срезы. Срезы готовят также и на замораживающем микротоме. Препараты окрашивают гематоксилин-эозином.

5.3. Проведение анализа

5.3.1. Срезы просматривают под микроскопом.

5.4. Обработка результатов

5.4.1. Положительными результатами гистологического исследования, свидетельствующими о типичных для туберкулеза изменениях, считают наличие в органах и лимфатических узлах частично или полностью обызвестленных некротических очагов-казеозов, окруженных зоной эпителиоидных, гигантских и лимфоидных клеток и соединительно-тканной капсулой.

5.4.2. При дифференциальной диагностике туберкулеза учитывают сходные изменения, наблюдаемые при гранулемах, образующихся при микозах и паразитарных болезнях. В этих случаях регионарные лимфатические узлы не поражены.

В гранулемах микотического происхождения находят в некрозе мицелий гриба, при паразитарных - тело паразита и эозинофильно-клеточную пролиферацию в капсуле.

При паратуберкулезе наблюдают в брыжеечных лимфатических узлах и кишечной стенке эпителиоодноклеточную пролиферацию без образования некрозов.

Текст документа сверен по:
официальное издание
М.: Издательство стандартов, 1989