МИНИСТЕРСТВО
СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(Минсельхоз России)
ДЕПАРТАМЕНТ ВЕТЕРИНАРИИ
107139, Москва, Орликов пер., 1
Для телеграмм: Москва,84
Минсельхоз
Телекс: 411258 ЗЕРНО
Тел./Факс: (095) 975-58-50

26.01.01 г. № 13-5-02/0005

На №_____

УТВЕРЖДАЮ
Заместитель руководителя Департамента ветеринарии

Е.А. Непоклонов

«26» января 2001 г.

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
по лабораторной диагностике рожи (эризипелоида) свиней

1. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

1.1. Рожа - эризипелоид - (erysipelas – лат. и англ., rotlaufseuche – нем., rouget – франц.) – инфекционная болезнь, поражающая преимущественно свиней 3-12-месячного возраста. Отдельные случаи болезни отмечены у крупного рогатого скота, ягнят, дельфинов, индеек, кур, уток, фазанов, грызунов и животных других видов. Восприимчив к роже и человек.

1.2. Возбудитель – Erysipelothrix rhusiopathiae относится к роду Erysipelothrix, подсемейству Salmonide, объединяющему 24 серовара, из которых первый и второй являются основными возбудителями рожи свиней.

Микроб убиквитарен (выделяется из почвы, навоза и других объектов внешней среды), что обусловливает частое инфицирование животных.

Источником возбудителя инфекции являются больные, павшие животные и переболевшие клинически здоровые бактерионосители. Факторами передачи возбудителя служат корма, почва, вода, предметы ухода, инфицированные помещения.

Переносчиками могут быть дикие и домашние животные, включая птицу, грызунов, пресноводных и морских рыб и насекомых. Заражение происходит алиментарным и аэрогенным путями, через поврежденные слизистые оболочки или кожный покров.

Болезнь протекает сверхостро, остро, подостро или хронически, в виде спорадических случаев или эпизоотических вспышек.

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

gost.e-ecolog.ru

1.4. 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.

2. МАТЕРИАЛ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Для исследования в лабораторию направляют трубчатую кость, селезенку, печень, почку, сердце от 2-3- трупов свиней. Отбор и доставку патологического материала осуществляют в соответствии с действующими «Правилами взятия патологического материала, крови, кормов и пересылки их для лабораторного исследования».

3. ПОРЯДОК ИССЛЕДОВАНИЯ МАТЕРИАЛА

3.1. Микроскопия.

3.1.1. 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 0,2-0,3х0,5-1,5 мкм, расположенных поодиночке или попарно, иногда встречаются короткие нити; не имеет капсулы и жгутиков, не образует спор. При хроническом течении в мазках из веррукозных разращений 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.

3.1.2. Определение подвижности проводят в висячей или раздавленной капле. Исследуют 20-24 часовую бульонную культуру, выращенную при 37^{0}С. Бактерии рожи свиней неподвижны.

3.2. Выделение и идентификация изолятов.

3.2.1. 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^{0}С в течение 20-24 часов, а при отсутствии роста – еще сутки.

3.2.2. Культуральные свойства. Бактерии рожи в S-форме при росте в жидкой питательной среде вызывают равномерное помутнение (муаровые волны), не образуют хлопьев, пленки, пристеночного кольца. При длительном стоянии микробы выпадают в легко разбивающийся осадок.

На плотной среде образуют мелкие (диаметром до 1 мм) круглые колонии, похожие на капельки росы, гладкие, ровные, легко снимающиеся с

агара. При длительном инкубировании колонии увеличиваются в диаметре, теряют прозрачность и становятся выпуклыми.

Бактерии в R-форме при росте в жидкой питательной среде образуют более интенсивное помутнение; через 30-36 ч выпадает неразбивающийся осадок, а бульон становится прозрачным. Колонии R-формы на агаре имеют шероховатую, зернистую поверхность с изрезанными краями, в диаметре до двух мм и более. Они плотнее и трудно снимаются с агара, подвержены самоагглютинации.

В желатине при посеве уколом бактерии рожи, культивируемые при комнатной температуре, через 3-10 сут формируют центральный стержень с густыми боковыми отростками, напоминающими ерш. Молоко свертывается через 4-6 сут при нагревании.

3.2.3. Ферментативные свойства. Эризипелотриксы разлагают с образованием кислоты без газа глюкозу, галактозу, лактозу, иногда арабинозу, мальтозу, образуют сероводород. Не образуют индол, не редуцируют нитриты и метиленовую синьку, желатин не разжижают.

3.2.4. 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 0,2-0,3 $см^3$. 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.

3.2.5. Для быстрой индикации возбудителя рожи свиней в патологическом материале и в смешанных культурах, а также для идентификации выделенных чистых культур, используют метод флуоресцирующих антител, в соответствии с действующим наставлением по применению сыворотки рожистой люминесцирующей сухой.

3.2.6. Для дифференциации эпизоотических штаммов от вакцинных, выделенных при поствакцинальных осложнениях, а также для определения их сероварианной принадлежности, полученные при вспышках заболевания, культуры направляют в ВГНКИ (123022, Москва, Звенигородское шоссе, 5), с соблюдением санитарных правил, изложенных в документе под названием «Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I-IV групп патогенности» СП 1.2.036-95.

3.3. При дифференциальной диагностике необходимо исключить листериоз, пастереллез, веррукозный стрептококковый эндокардит и чуму свиней.

В отличие от рожистых бактерий листерии подвижны, образуют каталазу, вызывают кератоконъюнктивит у морских свинок и кроликов.

Пастереллы грамотрицательны, окрашиваются в мазках-отпечатках биполярно, имеют капсулу, образуют индол, сбраживают сахарозу и маннит.

Стрептококки – овальные или сферические клетки, располагаются цепочками, выделяются из веррукозных разрастаний на эндокарде.

При чуме у свиней появляются внутрикожные кровоизлияния, которые при надавливании не исчезают. Красные пятна у больных рожей свиней обусловлены гиперемией и исчезают при надавливании. Для чумы характерны также геморрагии на слизистых и серозных оболочках, под капсулой почек и в лимфатических узлах (мраморность), инфаркты на селезенке.

3.4. Оценка результатов исследований.

3.4.1. Лабораторный диагноз на рожу (эризипелоид) считают установленным, если в одном из случаев имели место:

- обнаружение возбудителя заболевания в исходном материале (или в смешанной культуре) методом флуоресцирующих антител (без выделения чистой культуры);
- выделение из патологического материала культуры со свойствами, характерными для этого возбудителя;
- гибель зараженных лабораторных животных и выделение из органов культуры микроорганизмов со свойствами, характерными для возбудителя рожи, если даже в посевах из исходного материала культура возбудителя не выделена.

3.4.2. Срок исследования – до 7 суток.

gost.e-ecolog.ru