



МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

по лабораторной диагностике стафилококкозов животных

I. Общие положения.

I.1. Стафилококкоз – инфекционная болезнь сельскохозяйственных животных, пушных зверей и птиц, характеризующаяся гнойно-воспалительными процессами в различных органах и тканях, артритом, маститом, эндометритом, а в некоторых случаях – сепсисом со смертельным исходом.

I.2. Возбудитель болезни – *Staphylococcus aureus* – крупные неподвижные грамположительные кокки, располагающиеся неправильными скоплениями, а также одиночно или парно.

I.3. Диагноз на стафилококкоз устанавливается по результатам лабораторного исследования с учетом клинических данных.

I.4. Лабораторной диагностикой стафилококкоза включает микроскопию мазков, выделение культур стафилококков с последующей их идентификацией и изучением патогенных свойств.

I.5. для исследования в лабораторию посылают группы мелких животных и птиц целиком, от групп крупных животных направляют части периферических органов, головной мозг, кровь из сердца; от больных животных, в зависимости от клинических признаков – абортинивные плоды, истечения из шейки матки, содержимое абсцессов, синовиальную жидкость из воспаленных суставов.

I.6. Патологический материал для исследования на стафилококкозную

инфекция) (от животных, не подвергавшихся лечению антибиотиками, сульфаниламидными или нитрофурановыми препаратами в течение последних 10 дней.

2. Микроскопическое исследование.

2.1. Из доставленного материала готовят мазки и окрашивают их по Граму.

В мазках обнаруживаются крупные грамположительные кокки, расположенные скоплениями в виде гроздьев, в мазках из гноя могут быть парные кокки, короткие цепочки.

3. Бактериологическое исследование.

3.1. Высевы из патологического материала делают в МПБ, на МПА или молочно-соевой агар (рН сред 7,2-7,4). Высевы можно проводить и на кровяной агар.

Посевы инкубируют при температуре 37-38°C в течение 18-20 ч.

3.2. В МПБ отмечают интенсивное равномерное помутнение среды, на дне пробирки - рыхлый осадок. Иногда наблюдается прастеночное серо-белое кольцо или пленка.

На МПА и молочно-соевом агаре стафилококки образуют круглые, в виде с ровными краями, выпуклые колонии белого, кремового, золотисто- или лимонно-желтого цвета.

3.3. У выделенных культур изучают морфологические, культуральные биохимические и патогенные свойства.

3.4. Для ^{исследования} биохимических и томолитических свойств суточную культуру стафилококка пересевает в среды Гисса с глюкозой, лактозой, мальтозой, сахарозой, маннитом, дульцитом и на глюкозо-кровоной агар Цайссера.

B. aureus ферментирует с образованием кислоты без газа глюкозу, маннит, мальтозу, сахарозу, не ферментирует лактозу и дульцит, на глюкозо-кровоном агаре Цайссера образует β -гемолиз.

4. Определение патогенности возбудителя.

4.1. Определение патогенности проводят в реакции плазмокоагуляции, по дермоинергической пробе или биопробой на мышцах.

4.2. Востановка реакции плазмокоагуляции.

В реакции используют сухую кроличью плазму, выпускаемую предприятиями Минздрава СССР. Для работы сухую плазму разводят согласно прилагаемому назначению.

При необходимости приготовления плазмы в лаборатории у кролика берут кровь из ушной вены или сердце в пробирку с 5,6-ным раствором лимонно-кислого натрия (2 мл раствора на 8-10 мл крови). Цитратную кровь центрифугируют при 3000 об/мин в течение 10 мин, затем плазму

отсасывают и переносят в стерильные пробирки, которые закрывают ками и хранят в холодильнике до 3 нед. Перед употреблением плазму водят стерильным физиологическим раствором 1:5.

Подготовленную для исследования плазму разливают по 0,5 мл в стерильные углепудровские пробирки по количеству изучаемых культур. Затем в пробирку вносят 2 капли бульонной или одну петлю старшей 18-24-часовой культуры. Одновременно ставят контроль плазмы без добавления культуры.

Пробирки помещают в термостат при температуре 37-38°C. Учет реакции проводят через каждые час в течение 5-6 ч. При отсутствии коагуляции пробирки выдерживают при комнатной температуре 18 ч.

При положительной реакции плазмокоагуляции образуется сгусток, который не выпадает из пробирки при наклоне. В случае, когда коагулирована не вся плазма, сгусток плавает в ней.

4.3. Дермоэкзотическую пробу ставят на кроликах (лучше белой масти) массой 2-2,5 кг. Накануне у кролика на боку в 2 местах выстригают шерсть на площади 2x2 см. Суточную бульонную культуру вводят внутрикожно в интражированные участки кожи в дозе 0,2 мл.

При положительном результате на месте введения культуры через сутки появляется покраснение, на вторые сутки кожа темнеет и образуется некроз.

Наблюдение за кроликами ведут в течение 4 дн.

4.4. При выделении от птиц культур стафилококков, не обладающих плазмокоагулирующими свойствами, их патогенность определяют на 1-2-суточных цыплятах.

Суточную бульонную культуру в дозе 0,1 мл вводят 2 цыплятам интраорбитально во внешний угол глазницы между глазным яблоком и краем орбиты.

Гибель цыплет наступает на 3-5 сут.

Культуру считают патогенной при выделении ее из паренхиматозных органов и костного мозга павших цыплет.

Наблюдение за цыплятами ведут в течение 5 сут.

5. Лабораторный диагноз считают установленным при выделении из патологического материала культуры со свойствами, характерными для *S. aureus*, и установлении ее патогенных свойств.

6. Срок исследования до 8 сут.