



ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
БАШКИРСКАЯ НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННАЯ ВЕТЕРИНАРНАЯ
ЛАБОРАТОРИЯ

УЧЕБНЫЙ ЦЕНТР ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО
ОБРАЗОВАНИЯ

Лабораторно-практическое занятие. Серотипирование сальмонелл

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

Специальность: Ветеринария

Курсы повышения квалификации по теме: «Лабораторная диагностика инфекционных и инвазионных болезней животных, птиц, пчел и рыб».

Категория слушателей: ветеринарные специалисты ветлабораторий.

УДК 619:614

ББК

Рекомендованы к изданию Учебно-методическим советом Учебного центра ДПО ГБУ Башкирская НПВЛ (протокол № 1 от «3» марта 2016 г.)

Составитель: зав. отделом бактериологии, паразитологии и микологии
Файзуллина М.Ю.

Рецензент: заместитель директора, заведующий отделом метрологии и
информационного обеспечения ГБУ Башкирская НПВЛ, к.в.н., доцент
Буканов А.М.

Ответственный за выпуск: руководитель Учебного центра ДПО ГБУ
Башкирская НПВЛ, к.в.н., доцент Багданова О.С.

СЕРОТИПИРОВАНИЕ САЛЬМОНЕЛЛ

Цель занятия: овладеть техникой серотипирования сальмонелл

Категория слушателей курсов: ветеринарные специалисты ветлабораторий.

Слушатели курсов должны знать:

1. Состав наборов для серотипирования сальмонелл.
2. Технику постановки реакции агглютинации на предметном стекле.

Слушатели курсов должны уметь проводить постановку реакции агглютинации на предметном стекле

Вид занятия и место проведения: Лабораторно-практические занятия проводятся подгруппами не более 15 человек.

Место проведения - учебная аудитория и рабочий кабинет ГБУ Башкирская НПВЛ.

Объекты исследования: культура сальмонелл, полученная на мясопептонном агаре (МПА).

Оборудование, приборы:

СЕРОТИПИРОВАНИЕ САЛЬМОНЕЛЛ

Сальмонеллезы – группа бактериальных болезней, преимущественно молодняка сельскохозяйственных животных, в том числе и птиц, промысловых и мелких домашних животных.

У животных сальмонеллезы могут проявляться в виде трех основных форм: первичные, вторичные и бактерионосительство.

Первичные сальмонеллезы при остром течении характеризуются лихорадкой, явлениями септицемии, токсикоза и поражением кишечника, а при хроническом – воспалением легких, у взрослых животных могут наблюдаться аборты.

Вторичные сальмонеллезы осложняют течение основного заболевания (чума свиней, пастереллез и др.), при этом характерные для сальмонеллезозов признаки обычно слабо выражены или отсутствуют.

Бактерионосительство сальмонелл характеризуется тем, что животные, будучи внешне здоровыми, выделяют бактерии во внешнюю среду с фекалиями и мочой.

Сальмонеллы имеют сложное антигенное строение. Основными антигенами, имеющими значение для идентификации сальмонелл на уровне рода, определения их видовой, серогрупповой и серовариантной принадлежности, являются соматический или О - антиген и жгутиковый или Н - антиген. Этот принцип положен в основу диагностической антигенной схемы Кауфмана – Уайта. В этой схеме, в соответствии со структурой О - антигенов, сальмонеллы распределены по О - группам с различным числом сероваров, расположенных в пределах этих О - групп в алфавитном порядке в соответствии с обозначением их Н-антигенов 1-й фазы.

Для серологической идентификации с целью окончательного установления родовой принадлежности и определения сероварианта используют чистые культуры бактерий, отнесенные по морфологическим, культуральным и ферментативным свойствам к роду сальмонелл. Для этих целей биопромышленностью выпускаются наборы сывороток

сальмонеллезных О – комплексных и монорецепторных О- и Н – агглютинирующих для экспресс – идентификации сальмонелл в РА на стекле. Эти наборы позволяют определить родовую и серовариантную принадлежность 33 групп сальмонелл, наиболее часто выделяемых от животных, из продуктов животного происхождения и объектов внешней среды.

Сыворотки выпускают двумя наборами. В набор №1 входят О - комплексные сыворотки №1,2,3,4,5,6,7,8. В набор №2 входят О – и Н – монорецепторные сыворотки. К употреблению пригодны только прозрачные, не проросшие и не содержащие хлопьев сыворотки. На дне флаконов допускается выпадение осадка кристаллов борной кислоты, которые не мешают учету реакции.

Техника постановки реакции агглютинации на предметном стекле

Для постановки РА испытуемую культуру выращивают на скошенном МПА при температуре 37-38 °С в течение 18-24 час. Первоначально культуру испытывают с О – комплексными сыворотками. При этом РА на стекле ставят с каждой из О – комплексных сывороток последовательно, начиная с сыворотки №1 и до получения положительного результата с двумя сыворотками. Для этого из флакона, не захватывая осадка борной кислоты, пастеровской пипеткой набирают сыворотку и одну каплю наносят на предметное стекло. Бактериологической петлей в нее вносят и тщательно растирают до получения гомогенной взвеси испытуемую культуру. Для агглютинации с О – сывороткой следует брать верхнюю часть культуры, выросшей на скошенном агаре. Стекло покачивают круговыми движениями. Агглютинация наступает сразу или не позднее 1-2 мин. О – агглютинат имеет вид плотных, с трудом разбивающихся комочков и зернышек, жидкость полностью или частично просветляется. По результатам РА с О – комплексными сыворотками устанавливают О – групповую (серогрупповую) принадлежность сальмонелл.

При необходимости разделения сальмонелл серогрупп С₁ от С₄; С₂; от С₃; D₁ от D₂; E₂ от E₃ проводят дополнительное исследование этих культур с монорецепторными O – сыворотками.

Для определения серовариантной принадлежности сальмонеллы, отнесенные к определенной O – группе, испытывают с H – монорецепторными сыворотками 1 –й и 2- фазы. В выборе сывороток для реакции исходят из антигенной структуры сальмонелл той же группы, к которой отнесена определяемая культура, с учетом вида животных, от которого она выделена. Техника постановки РА аналогична таковой при использовании O – комплексных и монорецепторных сывороток. Для агглютинации с H – сыворотками испытываемую культуру, выросшую на скошенном МПА, следует брать из конденсата или из самой нижней части пробирки. H – агглютинат имеет вид крупных рыхлых, легко разбивающихся хлопьев при полном или частичном просветлении жидкости. При отрицательной реакции на стекле остается гомогенная взвесь культуры в сыворотке.

Контрольные вопросы:

1. В каких формах могут проявляться сальмонеллезы у животных?
2. Какой принцип положен в основу диагностической антигенной схемы Кауфмана – Уайта?
3. Сколько существует наборов для серологической идентификации сальмонелл?
4. Техника проведения РА на предметном стекле.

Рекомендуемая литература:

1. **Микробиологическая диагностика бактериальных болезней животных.** Скородумов Д.И., Субботин В.В., Сидоров М.А., Костенко Т.С.: - М.: ИзографЪ, 2005.