

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
И ПРОДОВОЛЬСТВИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

•Инструкция
по предупреждению
и ликвидации сапа

•Наставление
по диагностике сапа

Москва
ФГНУ «Росинформагротех»
2000

Ответственный за выпуск
начальник отдела по особо опасным болезням,
общим для человека и животных Департамента ветеринарии
В. Н. Абрамов (Тел. 975-32-60).

И 72 Инструкция по предупреждению и ликвидации сапа,
Наставление по диагностике сапа. — М.: ФГНУ «Ро-
синформагротех», 2000, — 24 с.

ISBN 5-7367-0234-7

Разработаны сотрудниками Всероссийского института контроля, стандартизации и сертификации ветеринарных препаратов, Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института (г. Казань), специалистами Департамента ветеринарии Минсельхозпрода России.

Инструкция и Наставление предназначены для ветеринарных специалистов.

В издание включены требования по предупреждению заноса и распространения сапа в Российской Федерации, мероприятия по диагностике и ликвидации этой особо опасной болезни непарнокопытных семейства лошадиных.

Издается по заказу Департамента ветеринарии Минсельхозпрода России.

УДК 619
ББК 48.7

ISBN 5-7367-0234-7

© Департамент науки и технического прогресса
Минсельхозпрода России,
Департамент ветеринарии Минсельхозпрода России, 2000.

УТВЕРЖДАЮ
Заместитель начальника
Департамента ветеринарии

В. В. Селиверстов
26 февраля 1996 г.

НАСТАВЛЕНИЕ ПО ДИАГНОСТИКЕ САПА

1. Клинический осмотр

1.1. При клиническом осмотре обращают внимание на состояние кожного покрова, поверхностных лимфатических узлов и сосудов, слизистой оболочки носовой полости, общее состояние здоровья животного.

По внешнему проявлению болезни различают сепсис носовой, кожный и легочной. Иногда все три клинические формы могут быть выражены одновременно.

1.1.1. При носовом сепсисе на слизистой оболочке носовой полости появляются мелкие желтоватые узелки, окруженные красным ободком. На их месте образуются характерные язвы и звездчатые рубцы.

Развитие язв сопровождается гнойным истечением из носа, иногда с примесью крови, а также припуханием подчелюстных лимфатических узлов.

1.1.2. При сепсисе, поверхностных поражениях кожи наблюдают пустулу, язву с гнойным содержимым или заполненную грануляционной тканью или рубец.

При глубоких поражениях в толще кожи обнаруживают плотные узлы с гнойно-некротическим содержимым на разрезе, язвы или рубцы, которые могут быть расположены по ходу лимфатических сосудов.

1.1.3. При поражении легких наблюдаются слабый глухой кашель, быстрая утомляемость животного, периодические подъемы температуры тела выше 38,5°C.

2. Аллергическое исследование

Для аллергического исследования на сап применяют маллеин, представляющий собой стерильный культуральный фильтрат возбудителя сапа, выращенного на жидкой питательной среде.

При диагностике болезни применяют двукратную глазную и подкожную малленновые пробы.

2.1. Глазная маллеиновая проба.

2.1.1. Перед проведением исследования лошади (ослы, мулы) должны быть в течение суток освобождены от физической нагрузки и содержаться на привязи. Обследование животных, имеющих конъюнктивиты и другие заболевания глаз, глазной пробой не проводят.

Обследуемым животным наносят 3...4 капли маллеина с помощью глазной пипетки на конъюнктиву одного глаза при оттянутом нижнем веке.

Реакцию учитывают через 3, 6, 9, 12 и 24 ч путем осмотра слизистой оболочки глаза.

Положительная реакция характеризуется длительной или кратковременной гиперемией и опуханием конъюнктивы разной степени с гнойным истечением из внутреннего угла глаза или скоплением гноя в конъюнктивальном мешке.

Реакцию считают отрицательной при отсутствии каких-либо изменений или при слабом покраснении конъюнктивы и слезотечении.

2.1.2. Животным, не реагировавшим на первую аппликацию аллергена, препарат через 5...6 суток наносят повторно в той же дозе на конъюнктиву того же глаза.

Реакцию учитывают, как указано в п. 2.1.1.

2.2. Подкожная маллеиновая проба.

2.2.1. Подкожную маллеиновую пробу применяют не ранее 1,5 месяца после предыдущей подкожной пробы. Перед ее проведением животных выдерживают на привязи не менее суток и поят подогретой водой.

2.2.2. У лошадей (ослов, мулов) измеряют температуру тела в 7...8, 14...15 и 21...22 ч.

Обследование животных с кратковременным или длительным повышением температуры до 39°C и выше подкожной маллеиновой пробой не проводят.

2.2.3. Маллеин животным вводят подкожно в область подгрудка в количестве 1 см³.

Общую температурную реакцию тела и местную реакцию в области введения аллергена учитывают через 6...8, 10...12, 1...16, 20...24 и 30...36 ч.

Положительная реакция характеризуется постепенным подъемом температуры до 39,6°C и выше и медленным ее спадом с возможным слабым вторичным подъемом через 30...36 ч, а также образованием в месте введения маллеина воспалительной припухлости разной степени выраженности.

Реакцию считают отрицательной при нормальной температуре тела или кратковременном подъеме ее не более 39,5°C и отсутствии изменений в месте введения маллеина.

3. Серологическое исследование

3.1. Пластинчатая реакция агглютинации с сапным цветным антигеном (РА).

3.1.1. Компоненты реакции.

3.1.1.1. Антиген сапной цветной для пластинчатой РА представляет собой гомогенную взвесь в буферном растворе инактивированной окрашенной культуры возбудителя сапа. При хранении допускается образование осадка, переходящего в гомогенную взвесь при встряхивании. Перед употреблением флакон с антигеном выдерживают в течение 15...20 мин при температуре 18...30°C и встряхивают.

3.1.1.2. Испытуемая сыворотка крови лошадей нативная или консервированная.

Консервирование сыворотки крови проводят кристаллами борной кислоты (2...4% к объему сыворотки) до получения насыщенного раствора или путем однократного замораживания.

Неконсервированная сыворотка крови пригодна для исследования в течение 5 суток со дня взятия крови с сохранением ее при температуре 4...8°C.

Сыворотка, консервированная борной кислотой, пригодна для исследования в течение 10 суток, замороженная сыворотка — в течение 3 суток после однократного оттаивания.

Мутные, проросшие, гемолизированные сыворотки крови исследованию на сап не подлежат.

3.1.1.3. Сыворотка сапная для РА и РСК (позитивная сыворотка) изготавливается на биопредприятии.

3.1.1.4. Сыворотка крови лошадей неспецифическая неконсервированная (негативная сыворотка) изготавливается на биопредприятии.

3.1.1.5. Физиологический раствор — 0,85%-ный раствор хлорида натрия рН 6,8-7,2. Коррекцию рН проводят 10%-ным раствором соляной кислоты или 10%-ным раствором гидроокиси натрия.

3.1.2. Постановка РА.

Реакцию проводят на чистых сухих металлических эмалированных пластинках с лунками при температуре 18...30°C. На бортиках пластинки против каждой лунки записывают номер исследуемой сыворотки крови.

В начале работы ставят контроль антигена с позитивной сапной сывороткой и с негативной сывороткой крови лошадей, а также контроль антигена на спонтанную агглютинацию (к 0,03 см³ антигена добавляют 0,03 см³ сыворотки или физиологического раствора).

Исследуемые сыворотки крови в дозе 0,03 см³ вносят на дно лунки при помощи шприца-полуавтомата или микропипетки.

После внесения каждой сыворотки шприц-полуавтомат (микропипетку) трижды промывают физиологическим раствором и подсушивают фильтровальной бумагой.

В каждую лунку рядом с сывороткой при помощи шприца-полуавтомата или микропипетки вносят 0,03 см³ антигена. Затем антиген в каждой лунке тщательно смешивают с сывороткой ручным смесителем до получения однородной смеси, распределяя ее по всей поверхности лунки.

Пластинку с сыворотками и антигеном покачивают в течение 4 мин осторожными вращательными движениями вручную или при помощи аппарата для покачивания диагностических пластинок.

3.1.3. Учет результатов реакции проводят визуально через 4 мин после смешивания сыворотки крови с антигеном при слегка наклонном положении пластинки.

Реакцию считают положительной при наличии отчетливо выраженной агглютинации окрашенных сапных бактерий антигена в виде мелких или крупных хлопьев при 75-100% - ном просветлении жидкости (3-4 креста).

Реакцию считают отрицательной при оценке менее 3-4 крестов.

Реакцию оценивают в крестах по схеме:

++++ (4 креста) — выраженная агглютинация в виде крупных хлопьев розового цвета с полным просветлением жидкости;

+++ (3 креста) — менее крупные хлопья с неполным (75%-ным) просветлением жидкости;

++ (2 креста) — агглютинат в виде мелких хлопьев, 50%-ное просветление жидкости;

+ (1 крест) — мелкозернистый агглютинат, незначительное (25%-ное) просветление жидкости;

- (минус) — отсутствие агглютинации, смесь гомогенная, равномерно окрашена.

3.1.4. После учета реакции пластинки и смеситель дезинфицируют погружением их на 5 мин в 1%-ный раствор хлорамина, затем моют водопроводной водой, ополаскивают дистиллированной водой, высушивают на воздухе и используют повторно. Для проведения дезинфекции и сушки пластинок используют кассеты и штативы-сушилки.

3.2. Реакция связывания комплемента.

3.2.1. Компоненты реакции.

3.2.1.1. Антиген сапной для РСК, изготавливается на биопредприятии.

3.2.1.2. Испытуемая сыворотка крови лошадей, нативная или консервированная (по п. 3.1.1.2).

3.2.1.3. Сыворотка сапная для РА и РСК (позитивная сыворотка), изготавливается на биопредприятии.

3.2.1.4. Сыворотка крови лошадей неспецифическая неконсервированная (негативная сыворотка), изготавливается на биопредприятии.

3.2.1.5. Сыворотка гемолитическая для РСК, изготавливается на биопредприятии.

3.2.1.6. Комплемент сухой для РСК, изготавливается на биопредприятии.

3.2.1.7. Физиологический раствор (по п. 3.1.1.5.).

3.2.1.8. 2,5%-ная взвесь эритроцитов барана в физиологическом растворе. Кровь у барана берут утром, до кормления, из яремной вены во флакон со стеклянными или металлическими бусами, встряхивают в течение 7-10 мин и затем фильтруют через марлю. Эритроциты 3-4 раза отмывают физиологическим раствором путем

центрифугирования при 2500-3000 об/мин до полного обесцвечивания промывной жидкости. Из осадка эритроцитов готовят 2,5%-ную взвесь в физиологическом растворе.

3.2.2. Титрование гемолитической сыворотки (гемолизина).

Титрование гемолизина проводят при использовании каждой новой серии и в дальнейшем ежегодно.

Из основного разведения гемолизина 1:100 (0,1 см³ гемолизина и 9,9 см³ физиологического раствора) готовят последующие разведения.

Схема разведения гемолизина

Основное разведение гемолизина 1:100, см ³	Физиологический раствор, см ³	Полученное разведение гемолизина
0,2	0,8	1:500
0,1	0,9	1:1000
0,1	1,4	1:1500
0,1	1,9	1:2000
0,1	2,4	1:2500
0,1	2,9	1:3000

Затем по 0,2 см³ каждого разведения переносят в ряд пробирок, в каждую пробирку добавляют по 0,2 см³ комплемента в разведении 1:20, 0,2 см³ 2,5%-ной взвеси эритроцитов и 0,4 см³ физиологического раствора. Штатив с пробирками встряхивают и помещают в водяную баню на 10 мин при температуре 37-38°C.

Титром гемолизина считают наибольшее его разведение, при котором наблюдается полный гемолиз эритроцитов.

3.2.3. Приготовление гемолитической системы.

Гемолитическую систему готовят смешиванием в равных объемах 2,5%-ной взвеси эритроцитов барана в физиологическом растворе и раствора гемолитической сыворотки, взятой в удвоенном титре (например, при титре гемолизина 1:1000 берут 2:1000, т.е. для приготовления 100 см³ гемолизина берут 0,2 см³ гемолизина из ампулы и разводят в 99,8 см³ физиологического раствора). Полу-

ченные 100 см^3 раствора гемолизина приливают при постоянном помешивании к 100 см^3 взвеси эритроцитов. Гемолитическую систему помещают в водяную баню при температуре $37-38^\circ\text{C}$ на 20 мин для сенсibilизации эритроцитов.

3.2.4. Титрование комплемента.

Титрование комплемента проводят перед каждой постановкой реакции. Отбирают необходимое для данного объема исследований количество ампул (флаконов) с комплементом (из расчета 1 ампула или флакон на 100 пробирок реакции), растворяют препарат в физиологическом растворе, количество которого указано на ампуле (флаконе), сливают в одну емкость и перемешивают. Таким образом получают основной раствор комплемента, который хранят в холодильнике на протяжении постановки реакции. Из этого раствора готовят разведение 1:20 для титрования.

Комплемент титруют в бактериолитической системе, для чего позитивную, негативную и 1-2 сыворотки из опыта разводят физиологическим раствором 1:10, инактивируют при температуре $60-62^\circ\text{C}$ в течение 30 мин и разливают по $0,2 \text{ см}^3$ каждую в два ряда пробирок.

Внесение остальных ингредиентов и условия титрования показаны в табл. 1 на примере негативной сыворотки, при этом во вторые ряды сывороток вместо антигена вносят $0,2 \text{ см}^3$ физиологического раствора.

При работе с аппаратом Флоринского для разведения комплемента берут дополнительный ряд пробирок, в которых делают те же разведения комплемента, но объем увеличивают в 10 раз. Затем разливателем Флоринского переносят по $0,2 \text{ см}^3$ разведенного комплемента во все пробирки каждого ряда и вносят остальные ингредиенты, как указано в табл. 1.

Титром комплемента в бактериолитической системе считают минимальное количество его, необходимое для полного гемолиза эритроцитов барана в пробирках с негативной сывороткой и сыворотками из опыта с антигеном и без антигена, а также в пробирках с сапной сывороткой без антигена при полной задержке гемолиза в пробирках с сапной сывороткой и антигеном.

**Схема титрования комплемента в бактериолитической системе
(по первому ряду пробирок)**

Комплементы	Номера пробирок									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Негативная сыворотка в разведении 1:1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Антиген в рабочем разведении	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Комплемент 1:20	0,02	0,04	0,06	0,08	0,2	0,12	0,14	0,16	0,18	0,20
Физиологический раствор	0,18	0,16	0,14	0,12	0,1	0,08	0,06	0,04	0,02	0,00
Водяная баня 20 мин при 37-38°C										
Гемолитическая система	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Водяная баня 20 мин при 37-38°C										
Примерный результат	чг	чг	чг	чг	пг	пг	пг	пг	пг	пг
Дополнительный ряд пробирок для предварительного разведения комплекта										
Комплемент 1:20	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0	1,2	1,4	1,6	1,8	2,0
Физиологический раствор	1,8	1,6	1,4	1,2	1,0	0,8	0,6	0,4	0,2	0,0

3.2.5. Приготовление комплемента.

Количество комплемента для главного опыта определяют по формуле

$$X = \frac{T \cdot \Pi}{20},$$

где X — количество комплемента, необходимое для главного опыта;

T — титр комплемента в бактериолитической системе;

П — количество пробирок в реакции;

20 — кратность разведения комплемента при титровании.

Например, в опыте 200 пробирок, титр комплемента (по табл. 1)

— 0,1. Следовательно, количество его для проведения опыта:

$$\frac{0,1 \cdot 200}{20} = 1,0 \text{ см}^3.$$

Необходимое количество разведенного комплемента для главного опыта равно 40 см^3 (т.е. $0,2 \text{ см}^3 \cdot 200$). Следовательно, к $1,0 \text{ см}^3$ основного раствора комплемента добавляют $39,0 \text{ см}^3$ физиологического раствора.

3.3. Постановка главного опыта.

Каждую сыворотку крови, предварительно проинактивированную, как указано в п. 3.2.4., исследуют в трех пробирках: без антигена в разведении 1:5 (контроль сыворотки) и с антигеном в разведениях 1:5 и 1:10.

Для этого в первую и третью пробирку разливают физиологический раствор в количестве $0,4 \text{ см}^3$ и $0,1 \text{ см}^3$ соответственно. Затем в первую вносят $0,1 \text{ см}^3$ испытуемой сыворотки, смешивают и переносят $0,2 \text{ см}^3$ во вторую и $0,1 \text{ см}^3$ — в третью пробирки.

В опытные пробирки вносят по $0,2 \text{ см}^3$ сапного антигена в рабочем разведении, в контрольные — по $0,2 \text{ см}^3$ физиологического раствора, во все пробирки — по $0,2 \text{ см}^3$ комплемента в установленном титре. Штативы встряхивают и помещают в водяную баню на 20 мин при температуре $37 \dots 38^\circ\text{C}$.

Затем во все пробирки вносят по $0,4 \text{ см}^3$ гомолитической системы, встряхивают и вновь помещают в водяную баню на 20 мин при температуре $37 \dots 38^\circ\text{C}$.

Одновременно ставят следующие контроли:

позитивная и негативная сыворотки в тех же разведениях, что и испытуемые с антигеном и без антигена;

антиген без сыворотки (на антикомplementарность);

антиген без сыворотки и комплемента (на гемотоксичность);

гемсистема с физраствором.

При массовых исследованиях допускается постановка реакции в одной пробирке с разведением сыворотки 1:10 ($0,02 \text{ см}^3$ сыворотки и $0,18 \text{ см}^3$ физиологического раствора). При работе с аппаратом

Флоринского к $0,02 \text{ см}^3$ сыворотки добавляют $0,2 \text{ см}^3$ физиологического раствора. Сыворотки с задержкой гемолиза исследуют повторно, как указано выше.

3.4. Учет результатов реакции проводят дважды: непосредственно после последнего прогревания пробирок в водяной бане и на следующие сутки после хранения пробирок при температуре $4...8^\circ\text{C}$.

Сначала учитывают результаты контролей. Если в пробирках с позитивной сывороткой и антигеном, с антигеном без сыворотки и комплемента, с гемолитической системой и физиологическим раствором будет полная задержка гемолиза, а в пробирках с негативной сывороткой и антигеном, с сапной и негативной сыворотками без антигена и с антигеном без сыворотки — полный гемолиз, постановку реакции считают правильной, и проводят учет результатов.

Реакцию учитывают по степени задержки гемолиза эритроцитов, которую определяют по шкале, приготовленной перед учетом реакции. Для этого содержимое трех-пяти пробирок с полным гемолизом сливают в одну, затем гемолизированную жидкость и физиологический раствор разливают в пробирки по следующей схеме:

Комплементы	Номера пробирок				
	1	2	3	4	5
Гемолизированная жидкость (см^3)	1,0	0,75	0,5	0,25	-
Физиологический раствор (см^3)	-	0,25	0,5	0,75	1,0
Процент гемолиза	100	75	50	25	0

В соответствии с этой шкалой устанавливают степень задержки гемолиза эритроцитов в каждой пробирке.

3.5. Реакцию оценивают в крестах в зависимости от процента гемолизированных эритроцитов:

++++ (4 креста) — полное отсутствие гемолиза;

+++ (3 креста) — гемолиз 25% эритроцитов;

++ (2 креста) — гемолиз 50% эритроцитов;

+ (1 крест) — гемолиз 75% эритроцитов;

- (минус) — полный гемолиз.

3.6. Диагностическим титром сыворотки считают разведение ее 1:10. При задержке гемолиза эритроцитов в этом разведении сыворотки на ++++ и +++ реакцию считают положительной независимо от результатов реакции с сывороткой в разведении 1:5. При задержке на ++ и + реакция считают сомнительной, если задержка гемолиза в разведении сыворотки 1:5 соответствует ++++ или +++. Во всех других случаях реакцию считают отрицательной.

4. Патологоанатомическое исследование

4.1. Болезнь протекает с образованием гранулем в легких, на слизистой оболочке носовой полости, гортани, трахеи, на коже, в других органах и тканях с поражением лимфатических узлов. Гранулемы могут подвергаться распаду с образованием рубцующихся язв.

4.2. При исследовании вначале осматривают кожный покров животного, разрезают обнаруженные узлы. Затем труп вскрывают без снятия кожи, осматривают слизистые оболочки органов дыхания, обследуют легкие, печень, селезенку, лимфатические узлы головы и других органов.

4.2.1. На слизистых оболочках обнаруживают узелки, язвы с красным ободком или рубцы, в паренхиматозных органах — светло-серые узелки разной величины, при этом часто изменения наблюдают одновременно и в регионарных лимфатических узлах.

4.2.2. Поражения в легких могут быть в виде милиарных узелков, а также в форме мелких и крупных очагов (ацинозная, ацинозно-нодозная лобулярная или лобарная пневмония), иногда с кавернами. Обнаруживаются также саловидные участки склероза ткани.

Пораженные лимфатические узлы резко увеличены, плотны, могут содержать обызвествленные инкапсулированные узелки или быть на разрезе однородными, без рисунка, серо-белого цвета. Нередко наблюдается воспаление окружающей узел клетчатки (периаденит) с образованием общего плотного фиброзного узла.

5. Бактериологическое исследование

5.1. Бактериологическая диагностика включает культуральное и биологическое исследования биоматериала. Для исследования используют подчелюстные, заглоточные, бронхиальные, средостенные лимфатические узлы, носовую перегородку, гортань, глотку,

трахею, а также измененные участки легкого, печени, селезенки, кожи с подкожной клетчаткой.

5.2. Культуральные исследование.

Из биоматериала делают высев с помощью пастеровской пипетки с грушей или шприца с длинной тонкой иглой (отдельного для каждого органа) в МПБ и на МПА с 2...4% глицерина (МПГБ, МПГА), pH 6,8...7,0.

Посевы инкубируют при температуре 37...38°C. Рост обычно появляется на 2...4 сутки.

При росте возбудителя бульон мутнеет, на дне появляется слизистый серо-белый осадок, поднимающийся штопором при встряхивании пробирки; некоторые штаммы образуют пристеночное кольцо или пленку на поверхности бульона.

На агаре возбудитель сапа растет в виде гладких полупрозрачных колоний серовато-белого цвета с перламутровым оттенком, сливающихся затем в слизистый налет на поверхности среды.

Для идентификации возбудителя выделенную культуру микроскопируют, мазки окрашивают по Граму синькой Леффлера (старой) или по Романовскому-Гимза, пересевают на картофельную среду Павловского, обезжиренное молоко, определяют подвижность в висячей капле, а также исследуют в реакции агглютинации на стекле с сапной сывороткой, взятой в разведении 1:10.

Возбудитель сапа представляет собой тонкие зернистые грамотрицательные палочки с закругленными концами, расположенные одиночно или короткими цепочками. При окраске по Романовскому-Гимза и синькой Леффлера отмечают хорошо выраженную зернистость.

При выращивании на картофельной среде Павловского через 2...3 суток появляются мелкие полупрозрачные с желтоватым оттенком колонии, которые затем сливаются, образуя слизистый «медовый» налет. Цвет налета меняется от янтарно-желтого в первые 3 суток роста до буро-коричневого и красноватого к 6...8 суткам.

Возбудитель сапа медленно (на 8...14 суток) свертывает молоко, неподвижен. Следует отметить значительно выраженное броуновское движение клеток возбудителя в висячей капле.

Большинство штаммов агглютинируется сапной сывороткой.

Выделенную культуру исследуют на биологические свойства (по р. 5.3.).

5.3. Биологическое исследование

Из отобранных участков биоматериала (п. 5.1.) одновременно с посевом готовят суспензию путем растирания тканей с физиологическим раствором в ступке с соблюдением условий стерильности и вводят подкожно в области шеи трем хомячкам-самцам в дозе 1 см^3 или трем морским свинкам-самцам в дозе 3 см^3 .

Выделенную из биоматериала культуру (п. 5.2.) вводят двум хомячкам или двум свинкам в тех же дозах.

Срок наблюдения за зараженными хомячками — 12 суток, морскими свинками — 25 суток.

При наличии в биоматериале возбудителя сапа в месте подкожного введения через 3...4 суток образуется язва с уплотненными краями. Больные животные малоподвижны, у них развиваются ринит, конъюнктивит, орхит.

Гибель хомячков при достаточной дозе и вирулентности возбудителя наступает через 5...7 суток, морских свинок — через 8...15 суток. У морских свинок заболевание может перейти в хроническую форму.

Животных с клиническими признаками болезни усыпляют эфиром, вскрывают и проводят высев из сердца, селезенки, печени, семенников на питательные среды, затем исследуют выделенную культуру как указано в п. 5.2. Аналогично поступают с павшими зараженными животными.

При вскрытии у больных и павших животных на селезенке, печени, в легких, семенниках обнаруживают геморрагические и некротические узелки.

6. Гистологическое исследование

Для гистологического исследования берут измененные кусочки органов и тканей, из которых после фиксации готовят срезы на замораживающем микротоме или после заливки целлоидином (парафином).

Срезы окрашивают гематоксилин-эозином и просматривают сначала при малом увеличении (окуляр х 7, объектив х 10), затем при обнаружении узелков рассматривают их при большом увеличении (объектив х40 - х 60).

Типичной формой сапного изменения является инфекционная гранулема (узелок) специфического строения. В центре развиваю-

щегося узелка обнаруживают нейтрофильные лейкоциты, лимфоциты и эпителиоидные клетки. Дифференцирующим признаком является карioreксис (распад ядер) лейкоцитов.

В стадии инкапсуляции центр узелка представлен глыбчато-зернистым распадом хроматина ядер лейкоцитов и окрашен в темно-синий цвет. Внутренний слой клеточной зоны состоит из эпителиоидных клеток бледно-розового цвета, а наружный, окрашенный темнее, — из лимфоидных клеток с фибробластами и коллагеновыми волокнами.

Центральная часть обызвествленных узелков окрашена в темно-синий, а некротическая масса — в розовый цвета. Известь выступает в виде глыбок и зерен на общем розовом фоне необызвествленной некротической массы. За соединительнотканной капсулой располагаются лимфоидные клетки в виде синеватого ободка.

Помимо узелков, сапные изменения могут проявляться в виде диффузного воспаления с экссудативным и продуктивным акцентом, которое характеризуется наличием очагов лейкоцитарных скоплений с явлениями карioreксиса или пролиферацией лимфоидных и эпителиоидных клеток.

Изменения слизистой носовой полости могут представлять собой комбинацию узелков, первичных и вторичных язв и рубцов.

7. Постановка диагноза

7.1. При положительном результате хотя бы одного из следующих методов исследования: клинического осмотра, глазной малленовой пробы, исследования сыворотки крови в РА или РСК животных считают подозреваемыми в заболевании сапом.

7.2. Диагноз на сап считают установленным в следующих случаях:

7.2.1. Положительная малленовая проба, подтвержденная результатом патологоанатомического исследования;

7.2.2. Обнаружение характерных для сапа изменений во внутренних органах и тканях;

7.2.3. Выделение культуры из патологического материала со свойствами, характерными для возбудителя сапа;

7.2.4. Получение положительных результатов биологического исследования, даже если культуры возбудителя из исходного материала не выделены.

С изданием настоящего Наставления на территории Российской Федерации не действуют «Методические указания по лабораторной диагностике сапа», утвержденные ГУВ Минсельхоза СССР 24 июля 1985 г., «Наставление по постановке пластинчатой реакции агглютинации с сапным цветным антигеном», утвержденное ГУВ Минсельхозпрода СССР 19 октября 1990 г., «Наставление по применению маллена для диагностики сапа», утвержденное Департаментом ветеринарии Минсельхозпрода России 28 апреля 1995 г.

СОДЕРЖАНИЕ

Инструкция по предупреждению и ликвидации сапа.....	3
Наставление по диагностике сапа.....	10

Компьютерная верстка *Т.П. Речкиной*
Корректор *В. А. Суслова*

Набор и верстка на компьютерной системе ФГНУ "Росинформгротех"

Изд. лиц. № 020783 от 16.06.98 Подписано в печать 15.05.2000 Формат 60x84/16
Бумага писчая Гарнитура шрифта "Тип-Таймс" Печать офсетная Усл. печ. л. 1,39
Усл. кр.-отт. 1,45 Уч.-изд. л. 1,47 Тираж 1000 экз. Заказ 121

Отпечатано в типографии ФГНУ "Росинформгротех",
141261, пос. Правдинский Московской обл., ул. Лесная, 60