



МИНИСТЕРСТВО
СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА СССР
ГЛАВНОЕ УПРАВЛЕНИЕ
ВЕТЕРИНАРИИ
и Государственный ветеринарный
наблюдательный пункт

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

01.07.80 N 115-6а

Москва

по диагностике сальмонел-
леза пчел



УТВЕРЖДАЮ
Начальник Главного управления
ветеринарии МСХ СССР

А.Д. Третьяков

1 июля 1980 г.

Сальмонеллез пчел – инфекционная болезнь взрослых пчел, сопровождающаяся их гибелью. Возбудителем заболевания являются патогенные типы кишечной палочки (эшерихия коли). Бактерии Э. коли представляют собой палочки с закругленными концами размером 1–3 мкм, подвижные, иногда неподвижные, перитрихи, спор и капсул не образуют, грамотрепетельные.

Заболевание возникает преимущественно в конце зимовки и весне при потреблении корма и воды, содержащих возбудитель колибактериоза. Заболеванию способствуют ослабление резистентности у пчел, повышенная влажность и низкая температура в улье, недостаток доброкачественных кормов. В этих условиях кишечная палочка в большом количестве развивается в кишечнике пчел и способна проникать в гемолимфу, вызывая септицемию.

Больные семьи пчел в конце зимовки проявляют беспокойство. При весеннем осмотре обнаруживают большой отход пчел, сильную загрязненность рамок и стенок улья калом пчел. Больные пчелы вялые с раздувающимся брюшком, часто теряют способность к полету. При вскрытии кишечника пораженных или только павших пчел имеет грязно-белый или буровато-серый цвет.

Диагноз на сальмонеллез ставят на основании эпизоотических данных, клинических признаков болезни и лабораторного бактериологического исследования пчел.

- 2 -

I. Бактериологическая диагностика

I.1. При бактериологической диагностике сальмонеллеза обязательно выделение чистой культуры возбудителя, изучение его культурально-морфологических и биохимических свойств, определение O-антигена, а при необходимости - биологическая проба на пчелах.

I.2. От каждой пробы, присланных в лабораторию живых больных пчел, берут по 10 пчел и стерилизуют их поверхность ватным тампоном, смоченным спиртом. Затем с помощью тонко оттянутой Пастерсовской пипетки отбирают гемолимфу, переносят ее на поверхность подсушенного агара Эндо, растирая шпателем, и делают посев в МПБ. Посевы сутки выдерживают в термостате при температуре 32°. Одновременно от тех же пчел на предметных стеклах готовят мазки, которые фиксируют раствором спирт-эфир (1:1) и окрашивают один фуксином или метиленовой синью, а другой - по Граму. Мазки просматривают при иммерсионной системе микроскопа.

I.3. Через 18-24 часа инкубирования посевы просматривают. В тех случаях, когда на среде Эндо роста нет, а в МПБ отмечают помутнение среды, культуру микроскопируют и пересевают в чашку со средой Эндо; через сутки проверяют наличие роста колоний. Э. коли на среде Эндо образует округлые выпуклые колонии с ровным краем розового, красного или малинового цвета с металлическим блеском. Для дальнейшего исследования на скошенный агар МПА отвивают по 2 произвольно взятых колонии или по 2 колонии каждой разновидности в случае получения неоднородного роста (каждую в 2 пробирки). Одну пробирку используют для приготовления мазков, посева на дифференциально-диагностические среды и приготовления убитого кипячением антигена, вторую - для приготовления этоклавирированного антигена.

Изучают культурально-морфологические и физиолого-биохимические свойства выделенных чистых культур согласно методам, изложенным

- 3 -

в "Наставлении по бактериологической диагностике сальмонеллеза сельскохозяйственных промысловых животных и птиц" (Главное Управление ветеринарии Министерства сельского хозяйства, 1974).

I.4. На основании данных изучения культурально-биохимических свойств проводят идентификацию выделенных культур. При определении родовой принадлежности руководствуются таблицей для дифференциации возбудителя колибактериоза пчел Э. коли от принадлежащих к сем. *Enterobacteriaceae* близкородственных родов *Klebsiella*, *Salmonella* с тем, чтобы исключить другие бактериальные заболевания взрослых пчел (гафниоз, паратиф), протекающие с подобной клиникой.

I.5. Одновременно с изучением культурально-морфологических и физиолого-биохимических свойств выделенных бактерий по O-антигену с целью установления энзоотических серотипов при помощи набора типоспецифических агглютинирующих сывороток, выпускаемых биофабрикой, согласно "Наставления по диагностике сальмонеллеза сельскохозяйственных и промысловых животных и птиц" (Главное Управление ветеринарии Министерства сельского хозяйства СССР, 1974). Если культуры Э. коли, выделенные от пчел, серологически не типизируются набором O-сывороток, выпускаемых биофабрикой, то серологическую типизацию продолжают с диагностическими сыворотками, изготавливаемыми Московским институтом вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова.

I.6. В том случае, если из гемолимфы выделены бактерии Э. коли, которые не типизируются серологически набором типоспецифических колизывороток, необходимо определение патогенных свойств кишечной палочки путем постановки биологической пробы на пчелах. С этой целью используют 2 садка с пчелами (по 100 штук в каждом). Пчел первого садка (контрольный) кормят сахарным сиропом (1:1), пчел второго садка (опытный) - сахарным сиропом с культурой Э. коли (1 млрд клеток в 1 мл). Пчел в садках содержат 10 дней при температуре 30°C, наблюдают за состоянием пчел и ежедневно подсчитывают погибших пчел.

- 4 -

Культуру признают патогенной, если наблюдаются проявления клинических признаков заболевания у опытных пчел (вздутие брюшка, пятна экскрементов на стенке улья) и продолжительность жизни у опытных пчел сокращается более, чем в 2 раза по сравнению с продолжительностью жизни контрольных пчел.

I.7. Положительный диагноз на колибактериоз устанавливают при выделении из гемолимфы пчел культуры Э. коли, которые:

- а). серологически типизируются набором типоспецифических колисывороток;
- б). серологически не типизируются, но вызывают гибель пчел.

I.8. Определяют чувствительность выделенных патогенных кишечных палочек к антибиотикам и химиотерапевтическим препаратам, руководствуясь "Методическими указаниями по определению чувствительности к антибиотикам возбудителей инфекционных болезней с.-х. животных", утвержденными Главным Управлением ветеринарии Министерства сельского хозяйства СССР 30 октября 1971 г.

Печатный цех МСХ СССР, тираж 300 экз., заказ № 6131