МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА СССР
ГЛАВНОЕ УПРАВЛЕНИЕ ВЕТЕРИНАРИИ

ВРЕМЕННАЯ ИНСТРУКЦИЯ

О МЕРОПРИЯТИЯХ ПО ДИАГНОСТИКЕ, ПРОФИЛАКТИКЕ И ЛИКВИДАЦИИ ВИБРИОЗОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА И ОВЕЦ

(Утверждена Главным управлением ветеринарии
Министерства сельского хозяйства СССР
5 марта 1971 г.)

ИЗДАТЕЛЬСТВО «КОЛОС»
Москва — 1971

gost.e-ecolog.ru

Настоящая инструкция разработана на основании предложений и при участии специалистов Главного управления ветеринарии Министерства сельского хозяйства СССР, научных сотрудников ордена Ленина Всесоюзного института экспериментальной ветеринарии, Государственного научно-контрольного института ветеринарных препаратов, Ленинградского ветеринарного института, Украинского научно-исследовательского института экспериментальной ветеринарии.

ВРЕМЕННАЯ ИНСТРУКЦИЯ

о мероприятиях по диагностике, профилактике и ликвидации вибриозов крупного рогатого скота и овец

(Утверждена Главным управлением ветеринарии Министерства сельского хозяйства СССР 5 марта 1971 г.)

I. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

1. Вибриоз — инфекционная болезнь, вызываемая микроорганизмами вида вибрио фетус (типа I вибрио фетус венереалис и типа II вибрио фетус интестиналис). Другие виды вибрионов (вибрио бубулюс, аэробные вибрионы), обитающие в организме животных, являются непатогенными для них.

Вибриоз крупного рогатого скота — половая инфекция, вызываемая вибрио фетус венереалис. Возможны случаи инфекции, обусловленной вибрио фетус интестиналис. Инфекция передается преимущественно при половом контакте или искусственном осеменении спермой зараженного быка, возможна передача инфекции через инфицированные подстилку, предметы ухода, инструментарий.

Вибриоз овец вызывается вибрио фетус интестиналис, заражение происходит в основном алиментарным путем (через инфицированные корм, воду) и через подстилку.

2. Диагноз на вибриоз устанавливают на основании клинико-эпизоотологических данных и выделения культуры возбудителя болезни.

Для ориентировочной диагностики вибриоза применяют реакцию агглютинации с влагалищной слизью (РАВС) и метод люминесцентной микроскопии с помощью вибриозных флуоресцирующих сывороток.

3. В целях предупреждения заболевания животных вибриозом в хозяйствах проводят мероприятия, обеспечивающие предотвращение заноса инфекции на фермы

(в стада, отары), строго соблюдают ветеринарно-санитарные правила содержания, кормления животных и ухода за ними.

Ввод животных для пополнения благополучных стад (отар) допускается только из хозяйств, благополучных по вибриозу крупного рогатого скота или овец. Быков (бычков), поступивших в хозяйство (на станцию, пункт по искусственному осеменению животных) для использования в племенных или производственных целях, выдерживают месяц в карантине и обязательно проверяют на вибриоз биопробой и трехкратно исследуют бактериологически (с интервалом в десять дней) полученную от них препуциальную слизь и сперму (секрет придаточных половых желез).

Вводимых в хозяйство баранов на вибриоз не исследуют.

Для осеменения маточного поголовья используют сперму быков станций или пунктов по искусственному осеменению животных, племенных заводов (колхозов, совхозов), благополучных по вибриозу.

Племенных быков исследуют на вибриоз один раз в шесть месяцев трехкратно с интервалом в десять дней (бактериологически исследуют полученную сперму и препуциальную слизь от быков на станциях и пунктах по искусственному осеменению животных и препуциальную слизь и секрет придаточных половых желез от быков, используемых для естественной случки).

4. При установлении заболевания животных вибриозом станцию (пункт) по искусственному осеменению животных, стадо (отару, ферму) и хозяйство в целом объявляют неблагополучными по вибриозу, вводят ограничения и проводят оздоровление их в соответствии с разработанным планом ветеринарно-санитарных и организационно-хозяйственных мероприятий.

Для дезинфекции помещений, выгульных дворов, предметов ухода за животными и других объектов в неблагополучных по вибриозу хозяйствах применяют: осветленный раствор хлорной извести, содержащий 2% активного хлора; 2%-ный горячий раствор едкого натра; 20%-ную взвесь свежегашеной извести; 5%-ную эмульсию дезинфекционного (фенольного) креолина; 5%-ную эмульсию ксилонафта (комнатной температуры); 5%-ный горячий раствор кальцинированной соды и другие дезсредства.

Дезинфекцию и другие санитарные работы, в том числе обеззараживание навоза, проводят в порядке, предусмотренном «Инструкцией по проведению ветеринарной дезинфекции, дезинвазии, дезинсекции и дератизации», утвержденной Главным управлением ветеринарии МСХ СССР 8 декабря 1968 года.

II. МЕРОПРИЯТИЯ ПРИ ВИБРИОЗЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

5. К инфекции наиболее восприимчивы коровы и половозрелые телки. При заболевании животных наблюдают расстройство полового цикла (повторные осеменения, значительная яловость маточного поголовья). При возникновении заболевания у животных могут быть плацентиты, аборты, нередко сопровождающиеся задержанием последа, метритами, вагинитами.

У быков имеет место носительство возбудителя болезни без проявления клинических признаков.

Возбудитель локализуется в слизистых оболочках влагалища, матки, препуция, в придаточных половых железах.

Мероприятия по оздоровлению неблагополучных по вибриозу станций (пунктов) по искусственному осеменению животных

6. При заражении быков вибрио фетус венереалис на станции (пункте) прекращают получение спермы от всех животных.

В этом случае всех быков разделяют на две группы. В одну группу включают быков, от которых при исследовании выделена культура возбудителя, и быков (из числа подозрительных по заражению), сперма от которых использовалась для осеменения коров в хозяйствах, где установлено заболевание коров вибриозом, но от быков при этом возбудитель не выделен. В другую группу включают остальных животных, подозрительных по заражению.

Животных обеих групп содержат изолированно и с ними поступают, как указано в пп. 7 и 8 настоящей инструкции.

7. Быков первой группы (п. 6) подвергают лечению, которое проводят в два курса (по четыре дня) с интервалом в 5—6 дней.

При первом курсе для местного лечения применяют эмульсию стрептомицина и пенициллина из расчета по 1 млн. ЕД каждого антибиотика, эмульгированных в 50—60 мл растительного масла или рыбьего жира. Эмульсию вводят в препуциальный мешок. Перед введением эмульсии препуциальную полость тщательно промывают кипяченой теплой мыльной водой, а затем 3%-ным раствором перекиси водорода или раствором фурацилина в разведении 1 : 5000. После введения эмульсии антибиотиков край препуциального мешка зажимают резиновым кольцом и препуций массируют в течение 2—3 минут, делают 3—5-минутный перерыв и снова проводят массаж. Эту манипуляцию повторяют 5—6 раз, проводят ежедневно.

Одновременно проводят общее лечение: два раза в сутки внутримышечно вводят стрептомицин и пенициллин на 0,5%-ном растворе новокаина из расчета по 4 тыс. ЕД каждого антибиотика на 1 кг живого веса животного.

Через 5—6 дней проводят второй курс лечения, при этом внутримышечно дважды в сутки вводят окситетрациклин в дозе 5 тыс. ЕД на 1 кг веса животного на 0,5%-ном растворе новокаина, а препуциальную полость обрабатывают 5%-ной эмульсией фуразолидона на рыбьем жире или растительном масле.

Через месяц после окончания лечения быков трехкратно (с промежутком в 10 дней) исследуют бактериологическим методом полученную от них сперму и препуциальную слизь и параллельно проверяют быков биопробой по методике, изложенной в разделе V настоящей инструкции. При отрицательном результате биопробы и бактериологического исследования подвергавшихся лечению быков признают здоровыми. Высокоценных быков, у которых излечение не достигнуто, подвергают повторному лечению с последующим бактериологическим исследованием и постановкой биопробы на вибриоз в порядке, как указано выше. Если после повторной лечебной обработки при проверке установлено, что бык является носителем возбудителя вибриоза, животное выбраковывают.

8. Быков, подозрительных по заражению (вторая группа, п. 6), подвергают одному четырехдневному курсу обработки в порядке и средствами, как указано в п. 7, и через месяц после окончания обработок трехкратно (с

интервалом в 5 дней) исследуют бактериологически полученную от них сперму и препуциальную слизь.

При отрицательных результатах бактериологического исследования разрешается получение от этих быков спермы и ее использование до того, как со станции будут сняты ограничения.

9. При обнаружении у быков вибрио фетус интестиналис, но при отсутствии каких-либо подозрений на вибриоз в хозяйствах, в которых для осеменения коров использовалась сперма от этих быков, на станции (пункте) мероприятия проводят в следующем порядке.

Быков, у которых обнаружены вибрионы указанного типа, изолируют, прекращают получение от них спермы и животных подвергают одному четырехдневному курсу лечения в порядке, как указано в п. 7. Через месяц после окончания лечения трехкратно (с промежутком в 5 дней) исследуют бактериологическим методом полученную от быков сперму и препуциальную слизь и при отрицательных результатах исследования быков признают здоровыми.

В случае если у отдельных быков станции (пункта) обнаружен вибрио фетус интестиналис и в хозяйствах, в которых для осеменения коров использовалась сперма от этих быков, установлено заболевание животных вибриозом, быков изолируют, прекращают получение спермы от них и подвергают обработке (два курса), как указано в п. 7, а затем через месяц после лечения исследуют бактериологически (трехкратно с интервалом в 5 дней) сперму и препуциальную слизь и одновременно проверяют быков биопробой (см. раздел V). При получении отрицательных результатов исследования и проверки быков биопробой животных признают здоровыми.

Если лечение оказывается неэффективным, подвергавшихся обработкам быков выбраковывают.

Эксплуатацию остальных быков станции (пункта) в обоих случаях при этом не ограничивают.

10. При обнаружении только непатогенных видов вибрионов (вибрио бубулюс, аэробных и др.) быков, от которых были выделены такие вибрионы, подвергают санитарно-профилактической обработке: препуциальную полость обрабатывают 5%-ной эмульсией фуразолидона с фурацилином (1 : 1) на рыбьем или растительном жире три дня подряд. В период проведения обработок у

быков прекращают получение спермы, в дальнейшем эксплуатацию этих животных не ограничивают.

На станции (пункте) проводят мероприятия по улучшению санитарного состояния, но ограничения по вибриозу не вводят.

С профилактической целью в сперму, полученную от быков станции (пункта), добавляют в максимальных дозах спермасан-3 или заменяющий его комплекс антибиотиков. В таком же порядке обрабатывают сперму, полученную от быков, эксплуатация которых не ограничена, на станциях (пунктах), где у отдельных животных обнаружены вибрионы типа интестиналис (п. 9), и в случаях, указанных в п. 8 инструкции.

II. В тех случаях, когда у быков обнаруживают одновременно вибрио фетус венереалис и вибрио фетус интестиналис или вибрио фетус венереалис и вибрио бубулюс, на станции (пункте) проводят комплекс ветеринарно-санитарных мероприятий в порядке, указанном в пп. 6—8.

Так же поступают в случаях, если от быков выделяют культуры атипичных вибрионов, не поддающихся дифференцированию, и в хозяйствах, в которых для осеменения коров использовалась сперма инфицированных быков станции, установлен вибриоз крупного рогатого скота.

12. Станцию (пункт) по искусственному осеменению животных объявляют благополучной на основании полученных отрицательных результатов бактериологического исследования и проверки биопробой (в случаях, предусмотренных настоящей инструкцией) подвергавшихся лечебным обработкам быков, после удаления со станции выбракованных животных и проведения полного комплекса ветеринарно-санитарных мероприятий.

При этом на станциях (пунктах), на которых у быков были обнаружены вибрионы типа венереалис, в течение года после снятия ограничений исследования быков проводят один раз в квартал (трехкратное с интервалом в 10 дней исследование спермы и препуциальной слизи).

Мероприятия в хозяйствах (на фермах), неблагополучных по вибриозу крупного рогатого скота

13. В неблагополучном хозяйстве по вибриозу крупного рогатого скота, обусловленному вибрио фетус венереалис, запрещают:

ввод на неблагополучную ферму здоровых животных из других ферм и хозяйств и пополнение неблагополучного стада коров на период до снятия ограничений по вибриозу;

вывод (вывоз) из хозяйства животных для племенных и пользовательных целей в другие хозяйства, а из неблагополучной фермы (стада) и внутри хозяйства — для любых целей, кроме как для убоя на мясо;

использование зараженных и подозрительных по заражению вибрионами быков в качестве производителей и спермы от них для искусственного осеменения коров и телок. В хозяйствах, в которых проводится естественное осеменение животных, вводят искусственное осеменение коров и телок спермой здоровых быков. Быков-производителей, находящихся на неблагополучной ферме, исследуют и подвергают лечебно-профилактическим обработкам методами, предусмотренными настоящей инструкцией (пп. 7 и 8).

14. В летний период скот неблагополучных ферм переводят на лагерное содержание, в помещениях проводят санитарную очистку, ремонт, дезинфекцию и оставляют их на все лето свободными от животных.

На каждой ферме отелы коров (нетелей) обязательно должны проводиться в родильном отделении. Каждую абортировавшую корову (нетель) изолируют, помещение и станки (стойла), где они размещались, подвергают очистке и дезинфекции.

В хозяйстве устанавливают систематическое наблюдение за всем маточным поголовьем, проводят тщательное исследование коров и нетелей, имеющих признаки подозрительного на вибриоз заболевания (аборт, рождение мертвого плода, задержание последа, метрит и т. п.).

15. Коров и нетелей неблагополучного стада (фермы), имеющих клинические признаки вибриоза (аборт, задержание последа, метрит и др.), подвергают лечению.

С этой целью больным животным ежедневно в течение четырех дней подряд вводят в полость матки по

1 млн. ЕД пенициллина и стрептомицина, эмульгированных в 40—50 мл стерильного растительного масла, рыбьего жира или растворенных в физиологическом растворе.

Одновременно проводят общее лечение этих животных стрептомицином (в 0,5%-ном растворе новокаина) из расчета 4 тыс. ЕД на 1 кг живого веса животного. Препарат вводят внутримышечно по два раза в сутки также в течение четырех дней подряд.

Для спринцевания влагалища применяют растворы фурацилина в разведении 1 : 5000 или риванола в разведении 1 : 1000.

16. В случаях, когда в хозяйстве у отдельных коров происходят аборты, но из абортированных плодов выделяют культуру вибрио фетус интестиналис, этих животных (коров) изолируют и подвергают лечебной обработке (см. п. 15). После прекращения у таких животных патологических выделений из родовых путей их можно возвращать в общее стадо.

Ограничения в хозяйстве не устанавливают.

Так же поступают в случаях, когда при исследованиях от животных выделяют культуру вибрио бубулюс.

17. В неблагополучном по вибриозу стаде с целью профилактики заболевания вибриозом клинически здоровым коровам и телкам, подлежащим осеменению, рекомендуется вводить в период охоты в полость матки по 100 тыс. ЕД стрептомицина и пенициллина в 20 мл теплого физиологического раствора. Антибиотики вводят один раз через 10—12 часов после второго осеменения.

В целях предупреждения абортов стельным коровам и нетелям дают внутрь 250—300 мл водного раствора бигумаля (1 : 1000) ежедневно один раз в течение 5 дней.

18. Хозяйство (ферму, стадо) объявляют оздоровленным, если в течение 12 месяцев после последнего случая выявления больных вибриозом животных при исследовании гинекологически больных коров и нетелей неблагополучной фермы (стада) и абортированных плодов не выделена культура вибрио фетус венереалис и в хозяйстве (на ферме) проведен весь комплекс ветеринарно-санитарных мероприятий, предусмотренных настоящей инструкцией.

В случаях, когда в хозяйстве имеются быки-производители, которые использовались при естественной случ-

ке в неблагополучном по вибриозу стаде коров, перед снятием ограничений таких быков исследуют на вибриоз (препуциальную слизь, сперму и секрет придаточных половых желез бактериологическим методом) трехкратно с интервалом в 10 дней и одновременно проверяют биопробой в порядке, как указано в пп. 38, 39, 41 и 42 настоящей инструкции.

III. МЕРОПРИЯТИЯ ПРИ ВИБРИОЗЕ ОВЕЦ

19. Вибриоз овец — преимущественно острое заболевание, сопровождающееся абортами (за $1^1/_2$—2 месяца до окота), рождением слабых, нежизнеспособных ягнят, обычно погибающих в первые дни жизни. Аборты у овец в отаре наблюдаются, как правило, в течение одного сезона. Заболевание носит характер энзоотии. Больные овцы в течение длительного времени остаются вибриоиосителями.

Возбудитель болезни—вибрио фетус интенстиналис—сохраняется в абортированных плодах и последах при температуре плюс 5° в течение 10—15 дней, при температуре 10—15° — до суток.

Мероприятия в хозяйствах (отарах), неблагополучных по вибриозу овец

20. Меры борьбы с вибриозом овец основаны на предупреждении перезаражения животных в очаге инфекции и лечении больных животных.

Из неблагополучных по вибриозу отар запрещают вывод (вывоз) овец, не допускают переформирования отар.

По установлении диагноза на вибриоз всех абортировавших овец, а также овец с признаками преждевременных родов немедленно выводят из отар и изолируют.

Абортированные плоды, плодовые оболочки, послед и загрязненную патологическими выделениями подстилку, навоз собирают, а затем сжигают или после обеззараживания дезинфицирующими средствами зарывают в землю. Слой земли в месте, где произошел аборт, обеззараживают хлорной известью.

Кошару и выгульные дворы очищают и дезинфицируют.

21. Стрижку и купание овец неблагополучных отар проводят по графику в последнюю очередь; помещения, оборудование, инструментарий и территорию затем дезинфицируют.

При пастбищном содержании овец отару переводят на другие пастбищные участки, а пастбища, где находилась неблагополучная отара, карантинируют сроком на 2 месяца.

22. Для местного лечения овец, больных вибриозом, применяют антибиотики: стрептомицин, пенициллин, бициллин-3, тетрациклин. В течение 3—5 дней в полость матки ежедневно вводят один из указанных антибиотиков, эмульгированных в стерильном растительном масле или рыбьем жире из расчета 2 млн. ЕД антибиотика в 20 мл масла (жира).

Одновременно с местным лечением проводят общее лечение овец. С этой целью им внутримышечно вводят стрептомицин или окситетрациклин по 4 тыс. ЕД на 1 кг живого веса два раза в день в течение четырех дней подряд. Препараты готовят на 0,5%-ном растворе новокаина.

Для предупреждения абортов за $1^1/_2$—2 месяца до окота суягным овцам дают с кормом хлортетрациклин из расчета 5—8 мг на 1 кг веса животного ежедневно в течение 10—12 дней или бигумаль (с кормом) по 0,5 г на одну голову в течение трех дней подряд.

23. Баранов, используемых для докрытия овец в неблагополучной отаре, подвергают однократному 4-дневному курсу обработки: два раза в день внутримышечно им вводят стрептомицин и пенициллин на 0,5%-ном растворе новокаина из расчета по 4 тыс. ЕД каждого антибиотика на 1 кг веса животного.

24. В случаях, если в хозяйстве одновременно неблагополучны по вибриозу овец несколько отар, полученный от овец таких отар молодняк (ярок) формируют в отдельные отары и считают их условно благополучными.

25. Отару признают благополучной по вибриозу при отсутствии у овец в течение двух лет абортов вибриозного происхождения.

IV. ПОРЯДОК ВЕТЕРИНАРНОЙ ОБРАБОТКИ ПЛЕМЕННЫХ И ПОЛЬЗОВАТЕЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ, ВЫВОДИМЫХ ИЗ ХОЗЯЙСТВА

26. Вывод животных (крупного рогатого скота, овец), отобранных к продаже или переводу в другие хозяйства для племенных и пользовательных целей, разрешается только из благополучных по вибриозу хозяйств.

При этом:

быков, достигших половой зрелости (18-месячного возраста и старше), перед выводом предварительно проверяют однократно путем бактериологического исследования полученных от них препуциальной слизи и спермы (или секрета придаточных половых желез);

вывод здоровых телок и ремонтных бычков, не бывших в случке, производят без исследования, а в ветеринарном свидетельстве, выдаваемом на выводимую группу молодняка, указывают о благополучии хозяйства по результатам бактериологического исследования спермы и препуциальной слизи быков-производителей хозяйства или станции по искусственному осеменению животных, обслуживающей данное хозяйство, а также абортированных плодов, цервикальной слизи гинекологически больных коров.

В случае если при исследовании быков-производителей и коров обнаруживают вибрио фетус интестиналис или вибрио бубулюс, взрослых животных подвергают санитарной и профилактической обработке, как указано в пп. 10 и 15 настоящей инструкции, и вывод молодняка не ограничивают;

вывод овец (баранов и ярок) для племенных и пользовательных целей разрешают без исследования на вибриоз.

V. ДИАГНОСТИКА ВИБРИОЗА

Взятие материала и пересылка его для лабораторного исследования на вибриоз

27. Для бактериологического исследования на вибриоз в ветеринарную лабораторию направляют:

а) от коров, нетелей и овцематок — абортированный плод (целиком с плодовыми оболочками или от крупных плодов голову, желудок, печень, легкие), плаценту или часть ее.

В случае непригодности плода, плодовых оболочек и плаценты для исследований в лабораторию направляют слизь из шейки матки, стерильно взятую в первые 3—4 дня после аборта (при отсутствии гнойных выделений из матки) или в период охоты. Слизь берут также от животных, у которых наблюдается расстройство полового цикла (в период охоты);

б) от быков станций (пунктов) по искусственному осеменению животных — препуциальную слизь и сперму, а от быков, используемых для естественного спаривания, — препуциальную слизь и секрет придаточных половых желез, взятые с соблюдением стерильности.

Сперму от быков берут при помощи искусственной вагины. Перед этим быка-донора купают или обтирают влажной суконной тряпкой, помещение и инструменты обеззараживают.

У быков, используемых для естественного спаривания, получают секрет придаточных половых желез путем массажа через прямую кишку.

Перед получением спермы (секрета) и препуциальной слизи полость препуция предварительно не обрабатывают;

в) от животных, убитых с диагностической целью, — влагалище, матку, лимфоузлы тазовой полости.

28. Для бактериологического исследования пробы слизи из половых органов животных берут стерильным марлевым тампоном при помощи специальных инструментов конструкций Павловского, Жабоедова, Казеева, а также применяемых при искусственном осеменении коров шприца-катетера или полистироловой пипетки, соединенной со шприцем.

Примечание. При исследовании быков обработку полости препуция бактерицидными средствами прекращают за 30 дней до исследования.

29. Взятый для исследования материал доставляют в ветеринарную лабораторию нарочным обязательно в закрытой таре со льдом.

При этом:

плоды или их органы, плаценту доставляют в возможно короткий срок: в течение первых суток после аборта. В холодное время года плоды рекомендуется замораживать;

из проб слизи половых органов, взятых от коров и

быков в хозяйствах, ветеринарный врач делает на месте посевы на питательные среды с соблюдением стерильности. При невозможности высева на месте тампоны со слизью помещают в пробирки с 3—5 мл стерильного физиологического раствора и доставляют в лабораторию не позднее чем через 6 часов после взятия;

на станциях (пунктах) по искусственному осеменению животных высевы из проб полученных от быков препуциальной слизи и спермы должен проводить на месте ветврач ветеринарной лаборатории.

30. Для серологического исследования на вибриоз в ветеринарную лабораторию направляют пробы влагалищной слизи, полученной от телок, используемых для биопробы, а также от коров (в стадах при подозрении на вибриоз), у которых наблюдается расстройство полового цикла. Слизь берут от животных, не имеющих патологических выделений из влагалища (гной, примесь крови и т. п.), в период полового покоя животных.

Для получения слизи используют прибор, состоящий из стеклянной, хорошо отполированной с обоих концов трубки длиной 40 см и 1—1,4 см в диаметре и марлевого тампона (используют прямоугольный кусок марли со сторонами 10—12 см), к середине которого привязывают прочную нитку длиной 60—70 см. Нитку пропускают через трубку и втягивают с ее помощью тампон внутрь трубки. Свободный конец нитки наматывают снаружи на трубку и оба отверстия трубки закрывают бумажными колпачками. Смонтированные приборы завертывают в бумагу по 10—15 штук, обвязывают шпагатом и стерилизуют в автоклаве в течение 30 минут при давлении 1 атм.

Перед введением тампона во влагалище наружную часть половых органов обмывают теплой водой с мылом. Трубку, освобожденную от обертки, осторожно вводят во влагалище до упора в его переднюю стенку. В трубку вводят металлический поршень, имеющийся в наборе, и с его помощью выталкивают тампон. Трубку и поршень извлекают, а тампон с ниткой оставляют во влагалище на 40—60 минут.

Через указанный срок тампон извлекают за нитку из влагалища, предохраняя его от загрязнения. Тампон сразу погружают на дно пробирки, в которую предварительно наливают 5 мл стерильного формалинизированного (0,3%) 3%-ного раствора хлористого натрия, а нит-

ку отрезают. Пробирку закрывают резиновой стерильной пробкой и отправляют в лабораторию в тот же день или сохраняют на льду до утра следующего дня. Тампоны, загрязненные фекалиями, гнойными массами или кровью, для исследования непригодны.

Бактериологическая диагностика вибриоза

31. Для постановки бактериологического диагноза на вибриоз требуется выделение культуры возбудителя этой инфекции вибрио фетус венереалис или вибрио фетус интестиналис.

Возбудитель вибриоза подвижен, по Граму не красится, хорошо окрашивается всеми анилиновыми красками и весьма четко фуксином Циля в разведении 1 : 5 (1—2 минуты). В мазках из абортированных плодов и другого патматериала вибрионы имеют вид запятой, летящей чайки, S-образной формы. При исследовании материала, полученного от давно инфицированных животных или после их лечения, могут быть обнаружены диссоциированные формы вибрионов в виде длинных спирилл, малоизвитых нитей и кокковидных форм, в 2—4 раза мельче обычных кокков.

32. Для получения культуры возбудителя вибриоза используют полужидкие и плотные питательные среды, в том числе: полужидкий 0,15—0,2%-ный мясо-печеночный пептонный агар (ПЖА), 2—3%-ный мясо-печеночный пептонный агар (МППА), среду Китт-Тароцци без масла, агар Мартена и другие (при изготовлении ПЖА и МППА вместо мясного отвара используют экстракт мышцы сердца крупного рогатого скота).

Для обогащения в питательные среды добавляют 5—10% дефибринированной крови крупного рогатого скота, овец, кроликов или сыворотку крови лошади, аминопептид-2 (5—10%), экстракт сухих дрожжей (5 г на 1 л среды), тиогликолат натрия (0,5 г на 1 л среды).

33. При исследовании абортированных плодов посевы делают из содержимого сычуга, легких, печени, измененных участков плаценты, головного мозга, амниотической жидкости в 5 пробирок с ПЖА из каждого органа. Сперму или секрет придаточных половых желез от быков, слизь из шейки матки или препуция высевают в 5 пробирок с ПЖА (из каждой пробы). Рекомендуется также делать высевы и на плотные среды.

Первичные посевы из спермы (секрета), слизи проводят обычным способом, или дробно (материал вносят в пробирку с ПЖА, перемешивают и из этой пробирки засевают 5 пробирок, которые инкубируют), или «с подсосом» (после внесения части материала на дно первой пробирки с ПЖА в пастеровскую пипетку с оставшимся материалом засасывают небольшое количество стерильной среды у другой стенки пробирки, пипетку извлекают и засевают таким же образом вторую пробирку и т. д.).

При обработке спермы (секрета), слизи в лаборатории материал перед посевом обрабатывают одним из следующих способов:

а) центрифугированием в течение 10 минут при 1000 об/мин с последующим высевом надосадочной жидкости;

б) фильтрацией через мембранные фильтры № 5— № 2 — № 5. Мембранные фильтры готовят двумя способами:

первый способ — фильтры стерилизуют кипячением в дистиллированной воде два раза по 10 минут со сменой воды. Колбу Бунзена и фильтр Зейтца стерилизуют обычным способом. Мембранные фильтры закладывают в фильтр Зейтца в стерильных условиях в следующем порядке: № 5 — № 2 — № 5 (фильтр № 5 при этом способе стерилизации можно заменить стерильной фильтровальной бумагой);

второй способ — колбу Бунзена и фильтр Зейтца стерилизуют обычным способом, затем в фильтр Зейтца закладывают нестерильные мембранные фильтры и весь прибор (в перевернутом состоянии, погружая в воду мембранные фильтры) кипятят в дистиллированной воде дважды по 10 минут со сменой воды.

Посевы помещают в эксикатор или микроанаэростат и культивируют в условиях пониженного содержания кислорода воздуха путем замены 10—15% его объема углекислым газом, после чего выдерживают в термостате при 37° в течение 6—10 дней с просмотром через каждые три дня. При посеве «с подсосом», начиная с третьего дня, пробирки, в которых отсутствует рост, просматривают ежедневно и по мере выявления роста проводят микроскопию культур.

34. На ПЖА вибриозная культура растет под поверхностью среды в виде серовато-голубоватого диска тол-

щиной от 1 до 4 мм. На плотной питательной среде вибрионы растут в виде нежного мелкороссинчатого налета или отдельных голубоватых колоний (заметных через лупу).

35. При бактериологическом исследовании первичного материала выделенные культуры вибрионов часто бывают загрязнены посторонней микрофлорой. Получение чистой культуры является необходимым условием для дифференциации патогенных и сходных с ними других видов вибрионов.

Для очистки загрязненных посторонней микрофлорой культур применяют следующие методы:

а) заражение беременных морских свинок путем введения им в брюшную полость или во влагалище 0,5 мл исследуемой полимикробной культуры с последующим высевом материала из абортированных плодов. Если в течение 10—12 дней аборта не происходит, свинок убивают и высевы делают из эмбрионов и полости матки;

б) рассев загрязненной культуры на чашки Петри с плотной средой с последующим отсевом отдельных колоний возбудителя на ПЖА в пробирках;

в) посев культуры в пастеровские пипетки под слой полужидкой питательной среды;

г) посев культур на ПЖА «с подсосом»;

д) заражение трех крупных небеременных самок белых мышей внутривлагалищно в течение двух дней подряд с последующим их убоем на 8-й день. Для посева на ПЖА используют кусочки рогов матки; заражение трех самок белых мышей внутрибрюшинно в дозе 0,5 мл культуры с последующим убоем их на 3—4-й день и высевом крови из сердца, а также материала из печени, селезенки и рогов матки;

е) фильтрацию смешанных культур через мембранные фильтры.

36. Для обнаружения вибрионов в патологическом материале и смешанных культурах, а также для определения принадлежности их к тому или иному типу применяют метод флуоресцентной микроскопии, руководствуясь при этом «Наставлением по лабораторной диагностике рожи свиней, листериоза, вибриоза и сальмонеллезов сельскохозяйственных животных с помощью флуоресцирующих сывороток».

37. Дифференциацию вибрионов, выделенных от крупного рогатого скота, по видам и типам проводят по

культуральным, биохимическим и серологическим свойствам возбудителя, пользуясь при этом таблицей (см ниже). Для дифференциации пригодны только чистые культуры.

38. Для определения зараженности быков-производителей вибрионами проводят биопробу.

На каждого быка, подвергавшегося лечению в случаях, указанных в пп. 7 и 11 настоящей инструкции, берут из благополучного по вибриозу стада одну здоровую половозрелую, не случавшуюся и не осеменявшуюся искусственно телку. Допускается использование телок из числа выбракованных, не имеющих племенной ценности.

Телку предварительно исследуют на вибриоз двукратно с интервалом в две недели (по РАВС).

Для определения зараженности быков при вводе их в хозяйство (п. 3) и в случаях, указанных в пп. 9 и 18 инструкции, допускается использование одной телки на 2—3 быка (групповая биопроба).

39. Для проведения биопробы берут у исследуемого быка с интервалом 6—8 часов две пробы спермы в одну колбу и три смыва из препуция в другую колбу. Смыв из препуция делают путем вливания в препуциальный мешок 100—150 мл стерильного физиологического раствора через сифон с массажем заднего свода препуция.

Смывы из препуция центрифугируют до получения осадка, который добавляют к неразбавленной сперме.

Полученные на искусственную вагину пробы спермы и смывы из препуция хранят не более 24 часов в холодильнике при температуре 0—4°, их используют для искусственного осеменения предназначенных для биопробы телок.

Сперму и смывы берут от быков через 30 дней после лечения. В этот период препуциальную полость быка не разрешается обрабатывать какими-либо бактерицидными препаратами.

40. Осеменение телок лучше проводить в период раскрытия шейки матки. При отсутствии течки ее вызывают искусственно путем введения телкам подкожно СЖК в дозе 1500—2000 м. е. или 2 мл 1%-ного синестрола.

Телок осеменяют смесью спермы и центрифугата смыва слизи из препуция в общем количестве 10—20 мл.

Дифференциальные свойства культур вибрионов, выделяемых от крупного рогатого скота

Вид и тип	Культурально-биохимические свойства										Типирование моноспецифическими сыворотками		
	каталаза	образование сероводорода: на МПБ	образование сероводорода: на ПЖА с 0,02% цистина	рост на ПЖА: с 0,15% агара	рост на ПЖА: с 0,5% агара (уколом)	рост на ПЖА: с 4% желчи	рост на ПЖА: с 1% глицина	рост на ПЖА: с 3,5% хлористого натрия	редукция 0,2%-ного селенита натрия в альбимиагаре	V. fetus venerealis	V. fetus intestinalis	Vibrio bubulus
Vibrio fetus venerealis	+	—	—(±)	Кольцо под поверхностью	Вверху	+	—	—	—	+	—	—
Vibrio fetus intestinalis	+	—(±)	+	Кольцо под поверхностью	Вверху	+	+	—	+	—	+	—
Vibrio bubulus	—	+	+	Диффузный или кольцо под поверхностью	Елочкой по длине укола	—	+	+	+	—	—	+

Обозначения: + наличие роста или положительная реакция.
— отсутствие роста или отрицательная реакция.
± слабый рост или сомнительная реакция.

Примечание. В случае, если при типировании культуры вибрио фетус показатели биохимических и серологических свойств не совпадают, но по одному из этих показателей культура относится к типу I, то культуру следует относить к типу вибрио фетус венереалис.

Если при серологическом исследовании культура агглютинируется моноспецифическими сыворотками типа I и II, то ее также следует относить к типу вибрио фетус венереалис.

41. Биопробу проводят следующим образом:

а) осемененную искусственно телку убивают на 12—15-й день после осеменения, а затем подвергают бактериологическому исследованию на вибриоз шейку, тело и рога матки, а также яйцеводы и яичники. При получении отрицательного результата бактериологического исследования этих органов от убитой телки быка, от которого были взяты сперма и смыв из препуция, признают здоровым;

б) у телок трижды, на 5, 15 и 25-й день после осеменения, берут слизь из шейки матки и исследуют ее бактериологическим методом. Кроме того, слизь из шейки матки исследуют также в момент течки, если она возникает у телки в период исследований.

Если после осеменения телки проведенные исследования дают отрицательный результат, быка признают здоровым, а телку в этом случае возвращают в стадо.

При получении положительного результата бактериологического исследования цервикальной слизи телки признают быка больным, а телку подвергают убою.

42. Если получен положительный результат при постановке групповой пробы, то проводят индивидуальную проверку каждого быка в порядке, как указано выше.

Серологическая диагностика вибриоза

43. Слизь для исследования РА берут из шейки матки от коров и половозрелых телок в случаях и порядке, указанных в п. 30.

44. Пробирки с тампонами оставляют на 12—14 часов в холодильнике при температуре от 0 до +4° или на льду. Затем тампоны хорошо отжимают пинцетом, полученную жидкость центрифугируют в течение 20—30 минут при 2,5 тыс. об/мин или фильтруют через бумажные фильтры.

Реакцию ставят в четырех разведениях, при этом в пробирки 2, 3 и 4-го рядов предварительно наливают 3%-ный раствор поваренной соли по 0,5 мл, содержащий 0,3% формалина. Профильтрованный экстракт разливают в первую и вторую пробирки по 0,5 мл. Содержимое второй пробирки перемешивают и 0,5 мл переносят в третью пробирку, а из третьей — в четвертую. Из последней пробрики 0,5 мл смеси удаляют. Далее во все пробирки вводят по 0,5 мл вибриозного антигена для

РАВС, разведенного тем же раствором поваренной соли в соотношении 1 : 9, пробирки встряхивают и ставят в термостат при температуре 36—37° на 24 часа.

Одновременно ставят контроли антигена:

а) на самоагглютинацию — берут 0,5 мл разведенного для реакции антигена в пробирку, добавляют в нее 0,5 мл формалинизированного (0,3% формалина) 3%-ного раствора поваренной соли;

б) на активность — 0,5 мл разведенного антигена добавляют к позитивной вибриозной сыворотке типа I в разведениях 1 : 50, 1 : 100, 1 : 200 и 1 : 400;

в) на специфичность — в пробирку вводят 0,5 мл антигена в рабочем разведении и 0,5 мл нормальной сыворотки в разведениях 1 : 100 и 1 : 200.

45. Через 24 часа пробирки извлекают из термостата, выдерживают 3—6 часов при комнатной температуре и проводят учет реакции. Вначале учитывают показания контролей антигена. Отрицательная реакция в контролях «а» и «в» и положительная в контроле «б» подтверждают правильность постановки реакции.

Учет результатов РАВС проводят по следующей схеме:

++++ (4 креста) — полное просветление столбика жидкости и образование осадка, при легком встряхивании разбивающегося на хлопья;

+++ (3 креста) — наличие слабой опалесценции жидкости и образование осадка, разбивающегося на хлопья при осторожном встряхивании;

++ (2 креста) — неполное просветление (50%) жидкости и образование небольшого осадка, также разбивающегося на хлопья;

+ (1 крест) — отсутствие или незначительное просветление жидкости при наличии небольшого осадка, при встряхивании которого заметны отдельные хлопья;

— (минус) — полное отсутствие просветления жидкости, может быть незначительный осадок, при встряхивании которого образуется равномерная муть.

Оценка реакций:

положительная — агглютинация интенсивностью ++++ или +++ (4 или 3 креста) во всех пробирках или только в первой и второй;

сомнительная — агглютинация интенсивностью ++ или + (2 или 1 крест) в первой и во второй пробирках;

отрицательная — отсутствие агглютинации во всех четырех пробирках или при наличии агглютинации только в первом разведении.

* *
*

С утверждением настоящей инструкции утрачивают силу:

«Временная инструкция о мероприятиях по борьбе с вибриозом крупного рогатого скота и овец», утвержденная Главным управлением ветеринарии Министерства сельского хозяйства СССР 14 декабря 1967 г., с изменениями от 12 августа 1969 г.;

«Временное наставление по бактериологической и серологической диагностике вибриоза крупного рогатого скота и овец», утвержденное Главным управлением ветеринарии Министерства сельского хозяйства СССР 14 декабря 1967 г.

Редактор А. С. Бырдина. Техн. редактор М. М. Гуревич.

Т 11269. Подписано к печати 8/VII 1971 г. Тираж 60 000 экз. Формат 84×108¹/₃₂.
Печ. л. 0,75. Бесплатно. Заказ № 935.

ия № 32 Главполиграфпрома. Москва, Цветной бульвар, 26.

gost.e-ecolog.ru