

Міністерство освіти і науки України
Львівський національний університет ветеринарної медицини та
біотехнологій імені С.З. Гжицького

Факультет ветеринарної медицини

Кафедра епізоотології

БРУЦЕЛЬОЗ

*(діагностика, біопрепарати,
профілактика та боротьба)*

Методичні вказівки для підготовки фахівців
рівня вищої освіти – *другий (магістерський)*,
галузі знань – 21. "Ветеринарна медицина",
спеціальності – 211. "Ветеринарна медицина".

УДК.: 619: 616.98-022: 616-07: 615.363

Кісера Я.В., доктор ветеринарних наук, професор.
Божик Л.Я., кандидат ветеринарних наук, доцент.
Мартинів Ю.В., аспірантка.

Бруцельоз (*діагностика, біопрепарати, профілактика та боротьба*)
Методичні вказівки для проведення лабораторних занять з
епізоотології для студентів другого рівня вищої освіти – магістерський,
спеціальності 211. "Ветеринарна медицина" – Львів, 2021. – 44 с.

Рецензенти:

Коцюмбас Г.І. – доктор ветеринарних наук, професорка, завідувачка
кафедри нормальної та патологічної морфології і судової ветеринарії
ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького.

Пеленьо Р.А. – доктор ветеринарних наук, професор кафедри
мікробіології та вірусології; декан факультету ветеринарної гігієни, екології
та права ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького.

Розглянуто і схвалено на засіданні кафедри епізоотології (протокол
№ 15, від 2 червня 2021 року).

Рекомендовано до друку навчально-методичною радою факультету
ветеринарної медицини ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького (протокол № 7, від
14 червня 2021 року).

Навчально-методичне видання.

ЗМІСТ

I. ВСТУП.....	5-6
II. ДІАГНОСТИКА БРУЦЕЛЬОЗУ.....	7-9
1. Епізоотологічний метод.....	7
2. Клінічний метод.....	8
3. Патологоанатомічні зміни.....	8
III. ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА.....	9-21
1. Бактеріологічний метод.....	9
2. Серологічний метод.....	13
3. Алергічний метод.....	20
IV. ДИФЕРЕНЦІАЛЬНА ДІАГНОСТИКА.....	21
V. ІМУНОБІОЛОГІЧНІ ПРЕПАРАТИ ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ І СПЕЦИФІЧНОЇ ПРОФІЛАКТИКИ.....	22-28
VI. ЗАХОДИ З ПРОФІЛАКТИКИ ТА БОРОТЬБИ З БРУЦЕЛЬОЗОМ ТВАРИН.....	28-42
VII. КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ.....	43
VIII. РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА.....	44

БРУЦЕЛЬОЗ

(діагностика, біопрепарати, профілактика та боротьба)

МЕТА – Навчання магістрів ветеринарної медицини вимагає знання інструктивних матеріалів щодо профілактики та ліквідації бруцельозу та засвоєння практичних навиків з постановки діагнозу – бактеріологічного, серологічного і алергічного методів дослідження. Методичні вказівки дадуть можливість студентам магістратури при проведенні лабораторних занять оволодіти навиками щодо лабораторної діагностики бруцельозу, проведення оздоровчих заходів, що сприятиме підвищенню якості їх підготовки.

ЗАВДАННЯ СТУДЕНТАМ:

ЗНАТИ:

1. Важливість профілактичних заходів щодо бруцельозу в системі благополучності господарства.
2. Порядок оголошення території неблагополучною і накладання на неї карантинних обмежень.
3. Заходи по оздоровленню неблагополучних господарств від бруцельозу.

ВМІТИ:

1. Проводити заходи з профілактики бруцельозу в благополучних господарствах та організації проти бруцельозних заходів на неблагополучних територіях.
2. При виникненні захворювання забезпечити своєчасну діагностику; карантинування неблагополучних пунктів; ізоляцію і ліквідацію епізоотичного вогнища; інактивацію збудника в приміщеннях і на контамінованій території.
3. Проводити передзабійний огляд тварин і ветеринарно-санітарну експертизу продуктів забою, у випадку вимушеного забою тварин.

I. ВСТУП.

Бруцельоз – хронічне інфекційне захворювання, яке проявляється абортами, ендометритами, артритами, бурситами, порушенням відтворювальної функції тварин.

Діагноз на бруцельоз ставлять на підставі результатів серологічних, алергічних і бактеріологічних досліджень в врахуванням епізоотологічних і клінічних даних. При постановці діагнозу враховують сприйнятливість до бруцельозу багатьох видів тварин, можливість міграції бруцел виду *melitensis* і *abortus* на інші види тварин.

Клінічні ознаки бруцельозу у тварин не типові. У вагітних захворювання характеризується абортами, найчастіше в другій половині вагітності. Після абортів відмічають затримку посліду, метрит. Патологоанатомічні зміни не дають основи для постановки діагнозу на бруцельоз.

Основне значення в діагностиці захворювання має бактеріологічний метод з ізоляцією культури бруцел, визначенням виду збудника. В лабораторію направляють абортований плід з плодовими оболонками або шлунок плода з вмістимим, кусочки печінки, селезінки.

Для ретроспективної діагностики сироватки крові досліджують в РА, РЗК, РТЗК, РБП (роз-бенгал проба), використовують КР (кільцеву реакцію) з молоком. Для діагностики бруцельозу у дрібної рогатої худоби використовують бруцелін ВІЕВ.

Для діагностики бруцельозу у різних видів тварин використовують такі методи досліджень:

- у великої рогатої худоби – бактеріологічні і біологічні, серологічні: реакцію аглютинації в пробірках (РА), реакцію зв'язування комплексу (РЗК), реакцію тривалого зв'язування комплексу (РТЗК) і кільцеву реакцію з молоком;

- у дрібної рогатої худоби – бактеріологічні і біологічні; серологічні: РА в пробірках в 5% розчині хлористого натрію, реакцію аглютинації на склі, РЗК, РТЗК; алергічний;

- у свиней – бактеріологічні і біологічні; серологічні: РА в пробірках, РЗК;

- у коней – серологічні: РА в пробірках, РЗК або РТЗК;

- у собак – серологічні: РА в пробірках, РЗК.

За захворювання бруцельозом вважають встановленим, а тварин визнають хворими при одержанні позитивного результату дослідження по одному (крім кільцевої реакції з молоком), або декількох методів вказаних вище.

Якщо в благополучних щодо бруцельозу господарствах при дослідженні сироватки крові від окремих тварин в РА одержано позитивний результат – у великої рогатої худоби і коней тільки в титрі не вище 50-100 міжнародних одиниць (МО), у дрібної рогатої худоби і свиней – 25-50 МО, таких тварин негайно ізолюють і сироватку крові від них через 30-45 днів додатково досліджують РА, РЗК або РТЗК, одночасно тими ж методами досліджують все поголів'я. Якщо при повторному дослідженні серед поголів'я не буде виявлено інших реагуючих тварин, а у ізольованих раніше тварин титр сироватки крові не підвищиться, а РЗК або РТЗК будуть від'ємні, то їх визнають здоровими і повертають в стадо.

При підвищенні титру сироватки крові в РА або при одержанні позитивних результатів в РЗК або РТЗК у ізольованих тварин, їх визнають хворими, а господарство вважають неблагополучним щодо бруцельозу.

У випадку, коли в благополучному щодо бруцельозу господарстві у окремих овець і кіз одержана позитивна реакція на алерген, їх негайно ізолюють і сироватку крові від них досліджують на бруцельоз РА або РЗК для уточнення діагнозу. При одержанні позитивних результатів серологічного дослідження у ізольованих тварин, їх визнають хворими, а господарство (отару) неблагополучними щодо бруцельозу.

Якщо одержано від'ємні результати серологічного дослідження, то реагуючих на алерген тварин забивають, а решту поголів'я вважають благополучним щодо бруцельозу.

Діагноз установлюють на підставі бактеріологічних, серологічних та алергічних (у овець і свиней) досліджень з урахуванням епізоотологічної ситуації та клінічної картини хвороби.

II. ДІАГНОСТИКА БРУЦЕЛЬОЗУ.

1. Епізоотологічний метод.

Найсприйнятливіші до бруцельозу велика рогата худоба, вівці, кози, свині, північні олені, менш чутливі – коні, верблюди, м'ясоїдні тварини. З диких тварин хворіють антилопи, лосі, дикі кабани, лисиці, гризуни.

Джерелом збудника інфекції є хворі тварини, особливо в період аборту, коли бруцели у великій кількості виділяються з плодом, плодовими оболонками і водами та виділеннями зі статевих органів, періодично з молоком (у овець – 2-3 роки, у корів – 7-9 років), із сечею й калом (у кіз із сечею й вагінальними секретами – до 3 років). У разі захворювання статевих органів бики, а також барани й кнурі виділяють бруцели із спермою.

Факторами передавання збудника інфекції можуть бути забруднені виділеннями хворих тварин корми, вода, годівниці, гній, предмети догляду, одяг і руки обслуговуючого персоналу. В благополучному стаді хвороба може з'явитися після завезення нових тварин – прихованих носіїв бруцел, а також у разі спільного випасання та водопою здорових і заражених тварин, згодовування молодняку недостатньо знезараженого молока або відвійок із неблагополучних щодо бруцельозу господарств. Не виключена можливість занесення збудника інфекції собаками (особливо у вівчарстві), гризунами, жалкими комахами, кліщами.

Збудник хвороби проникає в організм тварин головним чином аліментарно, а також через шкіру, в тому числі й неушкоджену, через слизові оболонки, кон'юнктиву очей. У овець і свиней переважає статевий шлях передавання збудника хвороби. У великої рогатої худоби, овець, кіз, свиней бруцельоз має характер епізоотій, у інших видів тварин проявляється спорадично. Для бруцельозу великої та дрібної рогатої худоби характерним є тривалий (роками) латентний перебіг інфекції. Гострий перебіг хвороби спостерігається лише в разі первинної появи інфекції в стаді або введення в неблагополучне стадо нових статевозрілих тварин. Основним показником виникнення бруцельозу в благополучному стаді є аборти в другій половині вагітності, спочатку в окремих тварин, а потім масові – у 50-90% маток. Надалі кількість абортів різко знижується і, якщо стадо не поповнюється новими статевозрілими тваринами, через 2-3 роки аборти можуть припинитися взагалі.

2. Клінічний метод.

Інкубаційний період триває 2-4 тижні, після чого в крові заражених тварин з'являються специфічні аглютиніни, а згодом і комплементзв'язуючі антитіла. У багатьох інфікованих тварин бруцельоз проходить безсимптомно, латентно. Виявити таких тварин, які є джерелом збудника хвороби, можна лише за допомогою серологічних або алергічних досліджень.

У великої рогатої худоби перебіг захворювання латентний. Основною клінічною ознакою бруцельозу є аборт на 5-8 місяці тільності, затримка посліду, гнійний ендометрит, які зумовлюють яловість і безпліддя. Повторні аборти бувають рідко. Характерними ознаками бруцельозу є гігрома, серозні бурсити передніх кінцівок, абсцеси задніх кінцівок. У биків можуть спостерігатися орхіти й епідидиміти.

У овець і кіз аборти спостерігаються на 3-5 місяці кітності, рідко в більш ранні строки. У баранів часто вражаються сім'яники та їхні придатки.

У свиноматок аборти виникають на 4-12 тижні поросності, часто без затримки посліду. Можливі повторні аборти. У кнурів уражаються тестикули та їхні придатки. Хвороба може ускладнюватись ураженням суглобів, кісток, утворенням абсцесів у підшкірній клітковині, м'язах і навіть у паренхіматозних органах.

У коней характерними є бурсити в ділянці холки й потилиці, некрози хрящів, остистих відростків, утворення свищів. Аборти бувають надзвичайно рідко.

У верблюдів аборти спостерігаються на 6-7 місяці вагітності. У собак і котів перебіг бруцельозу безсимптомний, інфікованість виявляється лише за допомогою серологічних й бактеріологічних досліджень.

3. Патологоанатомічні зміни.

Патологоанатомічні зміни при бруцельозі у корів спостерігаються насамперед після абортів. Плодові оболонки та котиледони значною мірою інфільтровані, потовщені, пронизані крововиливами, часто вкриті пластівцями фібрину і гною. У корів виявляється кіста яєчників, мастити, бурсити, ураження суглобів, у биків – гнійно-некротичні ураження сім'яників та придатків.

У свиней буває муміфікація плодів, множинні дрібні гранульоми в матці, абсцеси в підшкірній клітковині.

У коней характерними є гнійно-некротичні процеси в ділянці потилиці й холки, можливі ендометрити, сальпінгіти, оофорити, піометрити.

При розтині абортіваних плодів виявляються інфільтрація підшкірної клітковини, набряк та потовщення пупкового канатика, крововиливи на серозних і слизових оболонках, гіперплазія лімфовузлів і селезінки, дрібні осередки некрозу в печінці.

Діагноз установлюють на підставі бактеріологічних, серологічних та алергічних (у овець і свиней) досліджень з урахуванням епізоотологічної ситуації та клінічної картини хвороби.

III. ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА

1. Бактеріологічний метод.

Бактеріологічним і біологічним методами досліджують абортівані плоди цілісні або його частини (перев'язаний шлунок з вмістом, печінка, селезінка); навколоплідну рідину; плодові оболонки; молоко; вміст гігром, абсцесів; а від тварин, забитих з діагностичною метою – паренхіматозні органи, статеві органи і лімфатичні вузли.

БАКТЕРІОСКОПІЯ.

Мазки готують із вмісту шлунка, черевної і грудної порожнин, селезінки, печінки, молока.

Приготовлені мазки фіксують на полум'ї, або в різних кількостях спирту і ефіру.

Зафіксовані мазки фарбують за Грамом, Козловським, модифікованим методом Ціль-Нільсена.

МЕТОД ФАРБУВАННЯ ЗА ГРАМОМ

Реактиви:

1. Карболовий генціанвіолет – 1 грам кристалічного генціанвіолету розчиняють в 10 мл спирту ректифікату. До розчину додають 100 мл 2% водного розчину карболової кислоти, після чого розчин фільтрують через паперовий фільтр.

2. Луголівський розчин – 2 грами йодистого калію розчиняють в 25 мілілітрах дистильованої води. Після чого додають 1 грам кристалічного йоду і доливають до 300 мл дистильованої води.

3. Спирт ректифікат.

4. Фуксин карболовий основний (Ціля) – 1 грам основного фуксину розтирають в ступці з 5 грамами кристалічної карболової кислоти і декількома каплями гліцерину. Додають 10 мл спирту ректифікату і 100 дистильованої води. Розчин фільтрують.

Методика фарбування:

На фіксований мазок кладуть кусочок фільтрувального паперу і на нього наносять розчин генціанвіолету. Через 2 хвилини папір забирають, фарбу змивають і на препарат наносять луголівський розчин. Через хвилину його змивають, а препарат протягом 30 секунд обробляють спиртом. Потім препарат промивають водою і додатково зафарбовують спиртово-водним фуксином протягом 2-х хвилин (для цього фуксин карболовий основний (Ціля) розводять водою 1:10). Після цього препарат промивають, висушують і розглядають під мікроскопом. Бруцели фарбуються в червоний колір.

ФАРБУВАННЯ ЗА КОЗЛОВСЬКИМ

Реактиви:

1. Водний 2% розчин сафраніну – 1 грам кристалічного сафраніну розчиняють в 50 мл кип'яченої дистильованої води. Гарячий розчин фільтрують через паперовий фільтр і охолоджують.

2. 1% водний розчин малахітової зелені.

Методика фарбування:

Зафіксований на полум'ї мазок накривають фільтрувальним папером, змочують його свіжоприготовленим розчином сафраніну і підігрівають на полум'ї до появи пари. Промивають водою і зафарбовують 1% водним розчином малахітової зелені протягом хвилини. Після цього промивають водою, висушують і розглядають під імерсійною системою мікроскопа. Бруцели фарбуються в червоний колір, інша мікрофлора – в зелений колір.

ФАРБУВАННЯ ЗА МОДИФІКОВАНИМ МЕТОДОМ ЦІЛЬ-НІЛЬСЕНА

Реактиви:

1. Фуксин карболовий основний (Ціля) – 1 грам основного фуксину розтирають в ступці з 5-ма грамами кристалічної карболової кислоти і декількома краплями гліцерину. Додають 10 мл спирту ректифікату і 100 мл дистильованої води. Розчин фільтрують.

2. 0,5% оцтова кислота.

3. 1% розчин метиленової лефлеровської синьки – на 100 мл дистильованої води беруть 1 мл 1% розчину їдкого калію і 30 мл насиченого

спиртового розчину метиленової синьки. Фарбу фільтрують.

Методика фарбування:

Мазки фіксують на полум'ї і зафарбовують 10 хвилин фуксином Ціля в розведенні 1:10, злегка промивають водою і диференціюють 0.5% оцтовою кислотою протягом 30 секунд. Добре промивають водою. Дофарбовують 1% розчином метиленової синьки протягом 30 секунд і знову промивають водою. Висушують і розглядають під мікроскопом. Бруцели зафарбовані в червоний колір, фон препарату синій.

БАКТЕРІОЛОГІЯ.

Для культивування бруцел використовують печінково-глюкозо-гліцеринний бульйон, печінково-глюкозо-гліцеринний агар, сировоточні середовища, середовище Хоттінгера, МПА, МПБ.

Посіви проводять з вмісту грудної і черевної порожнин, вмісту шлунка, печінки, селезінки. З кожного органу проводять посіви не менше, ніж в одну пробірку бульйону і 2-3 пробірки агару (із вмісту шлунка не менше п'яти пробірок агару).

При первинних посівах і в перших трьох-чотирьох генераціях *Brucella abortus* вимагає для свого росту підвищеного вмісту вуглекислого газу (5-10%).

Br. melitensis і *Br. suis* в первинних посівах ростуть в звичайних аеробних умовах. Тому одну частину посівів потрібно інкубувати в атмосфері з підвищеним вмістом CO₂, а іншу частину в звичайній атмосфері повітря. Для створення в атмосфері підвищеного вмісту CO₂ пробірки заливають парафіном або ставлять їх в ексикатор. Підвищений вміст CO₂ в ексикаторі можна отримати:

а) заповненням частини об'єму вуглекислим газом з балону, або апарату Кіпа;

б) при взаємодії вуглекислого натрію (0,48 гр на 1 літр об'єму) і сірчаної кислоти (5 мілілітрів 25% розчину на 1 літр об'єму);

в) спалюванням спирту.

Засіяні пробірки ставлять в термостат при 37°C. Інкубують протягом місяця, проглядаючи їх через 18-24 години, а потім кожних 4-5 днів.

При виявленні росту на рідких середовищах всі культури мікроскопіюють і розсівають на тверді поживні середовища.

Ріст бруцел проявляється через 6-10 днів і пізніше. На поверхні агару бруцели утворюють блискучі, випуклі з рівними краями гладкі колонії, які мають на світлі голубуватий відтінок, з віком культури набувають темнішого

забарвлення.

В бульйоні бруцели утворюють рівномірне помутніння, а в подальшому кільце над рівнем бульйону і незначний осад на дні пробірки. На світлі кільце має голубуватий відтінок.

Виділені культури ідентифікують за тинкторіальними, морфологічними і культуральними ознаками, а також в реакції аглютинації на склі з позитивною сироваткою в розведенні 1:2 до 1:5. Контроль з нормальною сироваткою.

Додатково можна використати імуофлюоресцентний метод, для цього з бактеріальної суспензії готують мазки. Препарати підсушують на повітрі, фіксують протягом 15 хвилин 96° етиловим спиртом або сумішшю Карнуа, потім сполоскують фізіологічним розчином і висушують. Фіксовані препарати ставлять у вологу камеру, на них наносять краплю люмінісцентної сироватки в робочому розведенні до вказаного на ампулі титру (готують на фізіологічному розчині перед фарбуванням мазків) і витримують при температурі 37°C 20-30 хвилин.

Після закінчення фарбування препарат промивають 10 хвилин проточною водопровідною водою, підсушують на повітрі і розглядають під імерсією (90xS).

В позитивних випадках на темному фоні препарату виявляють специфічне яскраве жовтувато-зеленувате світіння по периферії бактеріальних клітин. Центральна частина клітини не світиться. Інша мікрофлора виглядає в вигляді тіньоподібних утворень, за виключенням бактерій туляремії, які світяться гомогенно і спостерігаються в препараті в вигляді гомогенних крапок.

БІОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ.

Біопробу проводять на морських свинках, попередньо перевірених на бруцельоз за РА, які не реагували навіть в розведенні 1:5. Суспензію з тканин і вмісту шлунка вводять підшкірно в дозі 1-2 мл.

Через 10-20-30 днів (тричі) у морських свинок беруть кров з серця і досліджують РА в розведенні 1:10, 1:20, 1:40, 1:80. Позитивна РА в розведенні 1:10 свідчить про зараження морських свинок бруцельозом.

Свинок з позитивною реакцією аглютинації забивають і досліджують бактеріологічно. В випадку від'ємної РА морських свинок витримують 6-8 тижнів, після чого їх забивають для бактеріологічного дослідження.

2. Серологічний метод.

З серологічних методів діагностики бруцельозу в ветеринарній практиці найширше використовують реакцію аглютинації (РА), реакція зв'язування комплементу (РЗК), реакцію тривалого зв'язування комплементу (РТЗК), кільцеву реакцію з молоком.

РЕАКЦІЯ АГЛЮТИНАЦІЇ

Реакцію аглютинації (РА) використовують як один з методів діагностики бруцельозу у великої рогатої худоби, свиней, коней, собак і інших, видів тварин.

Для дослідження придатні свіжі сироватки крові і сироватки, консервовані фенолом або сухою борною кислотою. Для консервування сироватки готують 5% розчин фенолу (одну краплю фенолу на 1 мл сироватки), консервовані фенолом сироватки придатні для дослідження протягом 15 днів.

Борну кислоту (суху) додають в сироватку в кількості 2% об'єму сироватки, консервовані борною кислотою сироватки придатні для дослідження один місяць.

Мутні пророслі, загнилі, гемолізовані сироватки для дослідження непридатні.

Реакцію аглютинації ставлять в об'ємі 1 мл в чотирьох розведеннях:

– при дослідженні сироватки крові свиней, овець, кіз, собак в розведеннях 1:25, 1:50, 1:100, 1:200;

– у великої рогатої худоби, коней 1:50, 1:100, 1:200, 1:400. При масових дослідженнях дозволяється постановка реакції двох перших розведеннях.

Реакцію можна ставити двома методами:

1. Метод послідовних розведень.
2. Мікропіпеточний метод.

МЕТОД ПОСЛІДОВНИХ РОЗВЕДЕНЬ.

Беруть 5 пробірок. В першій пробірці готують основне розведення. Сироватку великої рогатої худоби і коней беруть в дозі 0,1 мілілітра і додають до неї 2,4 мл фізіологічного розчину (розведення 1:25). Сироватку свиней, овець, кіз, собак беруть в дозі 0,2 мілілітра і додають 2,3 мл фізіологічного розчину (розведення 1:12,5). Потім в третю, четверту і п'яту пробірки вносять по 0,5 мл фенолізованого (0,5%) фізіологічного розчину, а при дослідженні сироватки крові овець і кіз 5% розчину кухонної солі.

Після цього з першої пробірки (основне розведення 1:25 або 1:12,5) в

другу і третю пробірки переносять по 0,5 мл розведеної сироватки. В третій пробірці сироватку змішують з наявним в ній фізіологічним розчином і з цього розведення 0,5 мл переносять в четверту пробірку, де розчини також змішують і 0,5 мл розчину переносять в п'яту пробірку, з якої після змішування з фізіологічним розчином 0,5 мл розчину видаляють.

Потім в кожену пробірку (2, 3, 4, 5) вносять по 0,5 мл антигену, розведеного фізіологічним розчином 1:10, або 5% розчином кухонної солі при дослідженні сироватки крові овець і кіз.

Після цього пробірки старанно струшують і ставлять в термостат при температурі 37-38° на 16-20 годин, після чого витримують при кімнатній температурі протягом 1-4 години.

Одночасно з постановкою реакції з досліджуваною сироваткою ставлять контрольні реакції:

- 1) з від'ємною сироваткою;
- 2) з позитивною сироваткою;
- 3) з антигеном і фізрозчином.

МІКРОПІПЕТОЧНИЙ МЕТОД

В цьому випадку розливання сироватки проводять мікропіпеткою об'ємом 0,1 мілілітр.

При дослідженні сироватки крові овець, кіз і свиней в чотири пробірки послідовно вносять 0,04; 0,02; 0,01 і 0,005 мілілітра сироватки. Потім в кожену пробірку добавляють по 1 мілілітру антигену, розведеного 1:20 фізіологічним розчином (при дослідженні сироватки крові овець і кіз 5% розчином кухонної солі). При цьому розведення сироватки відповідає 1:25, 1:50, 1:100, 1:200.

При дослідженні сироватки крові великої рогатої худоби і коней в кожену пробірку відповідно вносять 0,02; 0,01; 0,005 і 0,0025 мілілітрів сироватки і по 1 мл антигену, розведеного 1:20 фізіологічним розчином. Надалі з пробірками поступають так, як і при першому методі постановки реакції аглютинації.

ОЦІНКА РЕАКЦІЇ АГЛЮТИНАЦІЇ.

Облік реакції проводять макроскопічно і оцінюють в хрестах за такою схемою:

- ++++ (Чотири хрести) – повне просвітлення рідини, мікробні тіла осідають на дно пробірки в вигляді парасольки. При струшуванні осад розбивається в пластівці (100% аглютинація).
- +++ Три хрести) – ті ж явища, як і в оцінці чотири хрести, але рідина має неповне просвітлення (75% аглютинації).

- ++ (Два хрести) – рідина просвітлена парасолька виражена слабо (50% аглютинації).
- + (Один хрест) – просвітлення рідини не наступає, або воно виражене слабо. Відсутній або слабо виражений осад в вигляді парасольки.
- (Від'ємна) – просвітлення рідини, утворення парасольки не наступає.

Діагностично позитивною реакція вважається:

а) для овець, кіз і свиней при наявності реакції аглютинації в оцінці не менше, ніж в два хрести, розведенні 1:50;

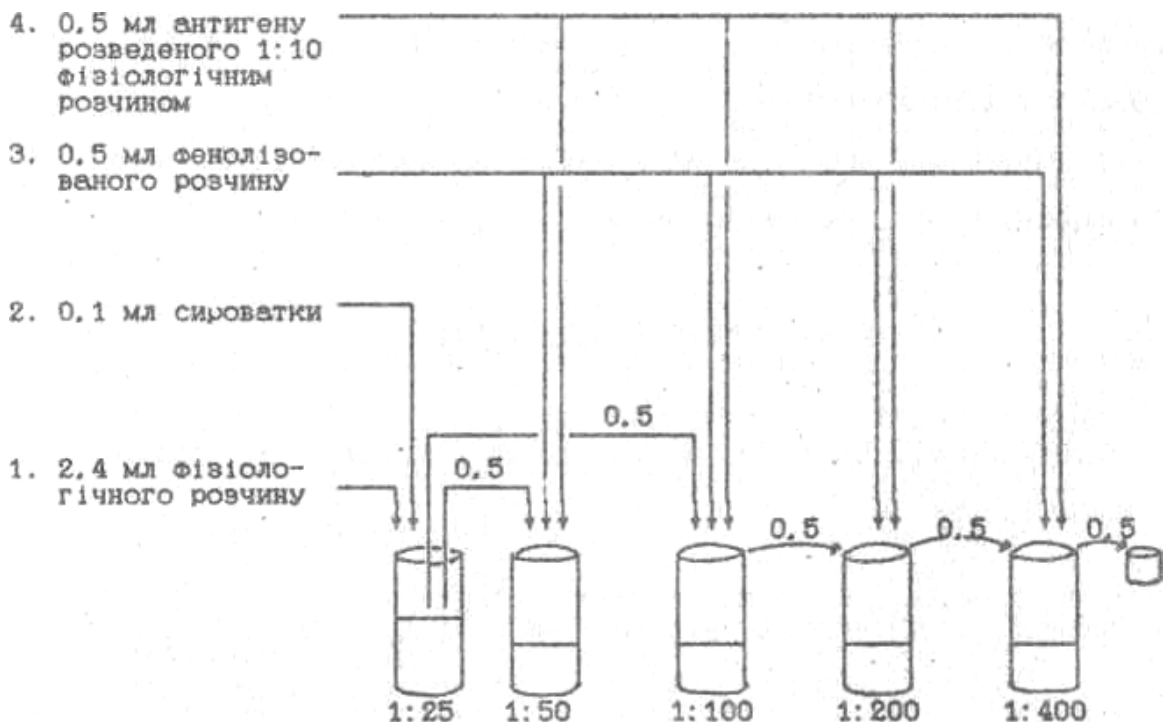
б) для великої рогатої худоби і коней при наявності реакції аглютинації, оціненої не менше, ніж в два хрести, в розведенні 1:00.

Діагностично сумнівною реакція вважається:

а) для овець, кіз, свиней при наявності реакції аглютинації, оціненої не менше, ніж в два хрести, в розведенні 1:25;

б) для великої рогатої худоби і коней при наявності реакції аглютинації, оціненої не менше, ніж в два хрести, в розведенні 1:50.

СХЕМА ПОСТАНОВКИ РЕАКЦІЇ АГЛЮТИНАЦІЇ МЕТОДОМ ПОСЛІДОВНИХ РОЗВЕДЕНЬ У ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ І КОНЕЙ



РЕАКЦІЯ. ЗВ'ЯЗУВАННЯ КОМПЛЕМЕНТУ

Реакцію зв'язування комплекменту використовують, як один з основних методів діагностики бруцельозу у великої і дрібної рогатої худоби, свиней, коней, собак та інших видів тварин.

Для дослідження придатні сироватки крові свіжі і консервовані 5% розчином фенолу (1 крапля на 1 мл). Сироватки, консервовані фенолом, придатні для дослідження протягом 15 днів.

Сироватки та інші компоненти реакції розводять фізіологічним розчином (0.85% розчин хімічно чистого NaCl на дистильованій воді).

ЗАГАЛЬНИЙ ПРИНЦИП ПОСТАНОВКИ РЕАКЦІЇ ЗВ'ЯЗУВАННЯ КОМПЛЕМЕНТУ (РЗК)

В реакцію входять дві системи:

1. *Бактеріологічна*, яка включає в себе досліджувану сироватку крові, комплекмент (сироватка крові морської свинки свіжа, консервована або висушена), бруцельозний антиген для РЗК.

Комплемент – складова частина свіжої нормальної сироватки, яка відіграє роль активатора. Комплекмент міститься в свіжій сироватці крові будь-якого виду тварин, але найбільш активний він у морської свинки, що послужило основою використання її в лабораторіях як основного донора комплекменту.

При нагріванні бактеріологічної імунної сироватки до 56° руйнується термолабільний комплекмент, але залишається її діюче начало – теплостійкий фактор, який обумовлює специфічну дію бактеріолізіну. Інактивована бактеріолітична сироватка не проявляє *in vitro* літичної дії проти специфічного збудника, але в досліді на тварині (*in vivo*) вона проявляє свій ефект повністю, так як реактивується наявним в організмі комплекментом.

2. *Гемолітична*, яка складається з гемолізіну (сироватка крові кролів, гіперімунізованих еритроцитами барана) і еритроцити барана (2,5%).

Гемолізину – антитіла, які лізують еритроцити. Гемолізину проти еритроцитів даного виду тварин одержують шляхом гіперімунізації відмитими від плазми еритроцитами кроля. В лабораторній практиці найчастіше користуються гемолізином проти еритроцитів барана.

Техніка імунізації кроля для одержання гемолізіну полягає в 5-6 кратному (іноді і більше) з інтервалами в 1-2 дні внутрішньовенному введенні наростаючих доз ретельно відмитих від слідів сироватки еритроцитів барана. На кінцевому етапі гіперімунізації досліджують сироватку кроля для виявлення титру гемолізіну. В більшості випадків одержують гемолітичну сироватку з титром 1:2000 і більше. Це означає, що

гемоліз суспензії еритроцитів (2,5%) настає від використання гемолітичної сироватки в розведенні 1:2000 і більше.

Після титрування компонентів РЗК в бактеріологічній системі, в пробірці в відповідних кількостях вносять досліджувану сироватку, фізіологічний розчин, антиген в робочому титрі і комплемент в робочому титрі.

Досліджувану сироватку з фізіологічним розчином ставлять в водяну баню при 58-60°C на 30 хвилин (інактивація сироватки). Після цього вносять в пробірку антиген і комплемент і пробірку витримують 20 хвилин в водяній бані при температурі 37-38°C.

Якщо в досліджуваній сироватці є комплемент зв'язуючі антитіла, то всі компоненти бактеріологічної системи (антиген, комплемент і антитіла) зв'яжуться в одну систему і комплементу в вільному вигляді в пробірці не буде, однак помітних змін в пробірці не настає. Для того, щоб визначити чи наступило зв'язування комплементу, в пробірці додають компоненти гемолітичної системи (гемолізін і еритроцити барана (2,5%)) і знову ставлять в водяну баню на 20 хвилин при температурі 37-38°C.

Після цього проводять оцінку реакції. Принцип оцінки полягає в тому, що гемолізін без комплементу не може гемолізувати еритроцити барана і якщо він зв'язався в бактеріологічній системі, гемолів не настає і реакцію вважають позитивною.

Якщо сироватка крові від здорової тварини, то вона не містить бруцельозних комплемент зв'язуючих антитіл і комплемент в бактеріологічній системі не зв'язується, а при внесенні в пробірку компонентів гемолітичної системи він разом в гемолізіном викликає гемоліз еритроцитів і реакцію вважають від'ємною, тобто негативною.

РЕАКЦІЯ ТРИВАЛОГО ЗВ'ЯЗУВАННЯ КОМПЛЕМЕНТУ

Реакцію тривалого зв'язування комплементу можна використовувати замість реакції зв'язування комплементу при дослідженні на бруцельоз сироваток крові від великої рогатої худоби, овець і кіз.

Компоненти реакції.

1. Досліджувані, негативна і бруцельозна сироватки, інактивовані в розведеному вигляді в день постановки реакції при температурі 63-64°.
2. Бруцельозний антиген для РЗК в робочому титрі, вказаному підприємством, що його виготовило.
3. Комплемент-сироватки крові морської свинки (свіжа, консервована або висушена) в розведенні 1:30.

4. Гемолізін в подвійному робочому титрі.
5. Еритроцити барана (вівці) (4%).

СХЕМА РЕАКЦІЇ ТРИВАЛОГО ЗВ'ЯЗУВАННЯ КОМПЛЕМЕНТУ

Компоненти реакції	Номер пробірки для кожної сироватки			Контроль антигену	Контроль гемолітичної системи
	1	2	3		
Досліджувана сироватка	0,1	0,1	0,05	-	-
Фізіологічний розчин	0,9	0,4	0,45	-	1,5
<i>Водяна баня при 63-64° 30 хвилин (інактивація сироваток)</i>					
Антиген в робочому титрі	-	0,5	0,5	1,0	-
Комплемент 1:30	0,5	0,5	0,5	0,5	-
<i>Холодильник при 0-4° 16-18 годин і 20-30 хвилин при кімнатній температурі</i>					
Гемолітична система (робоча доза)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
<i>Водяна баня при 37-38° 20 хвилин</i>					

Порядок постановки реакції

Перший день:

1. Розлив досліджуваних і контрольних сироваток для постановки реакції і для титрування гемолітичної системи.
2. Інактивація сироваток.
3. Розлив антигену і комплекента.
4. Виготовлення гемолітичної системи.
5. Пробірки і колби з гемолітичною системою ставлять в холодильник при температурі 0-4° на 16-18 годин.

Другий день:

1. Витримують пробірки і колби з гемолітичною системою при кімнатній температурі 20-30 хвилин.
2. Титрують гемолітичну систему.
3. Визначення робочої дози гемолітичної системи.
4. Дослід.
5. Облік реакції.

Оцінка результатів реакції тривалого зв'язування комплементу.

Облік реакції проводять на другий день постановки реакції і оцінюють її як позитивну і від'ємну.

Позитивна реакція – відсутній гемоліз еритроцитів в крові.

Від'ємна реакція – гемоліз еритроцитів в досліджуваній крові.

ДІАГНОСТИКА БРУЦЕЛЬОЗУ У КОРІВ ШЛЯХОМ ПОСТАНОВКИ КІЛЬЦЕВОЇ РЕАКЦІЇ З МОЛОКОМ

Кільцева реакція (КР) використовується з метою орієнтовної перевірки благополучної щодо бруцельозу великої рогатої худоби.

Дослідження молока можна проводити безпосередньо в господарствах або лабораторіях. При одержанні позитивних або сумнівних реакцій, проби молока досліджують повторно і одночасно від всіх тварин беруть кров для дослідження по реакції аглютинації і реакції зв'язування комплементу, проводять епізоотологічне обстеження господарства, клінічний огляд тварин і досліджують на захворювання маститами.

При одержанні від'ємних результатів дослідження крові в РА і РЗК, тварин, реагуючих тільки по кільцевій реакції з молоком, залишають серед поголів'я. Повторно молоко від всіх тварин цього поголів'я досліджують через 3-6 місяців.

Методика постановки кільцевої реакції

Для кільцевої реакції використовують спеціальний кольоровий антиген, виготовлений на біофабриці з бруцел типу Br. abortus, зафарбований гематоксиліном в синій колір.

Для дослідження беруть цільне, свіже молоко або консервоване формаліном. При масових дослідженнях молока роботу необхідно проводити безпосередньо в господарстві.

Реакцію краще ставити в уленгутувських пробірках в об'ємі 1 мл. В кожен пробірку вносять 0,05 мл антигену. Пробу молока беруть зі всього надою кожної корови в кількості 25 мл шприцом з голкою довжиною 50-60 мм. Потім 1 мл молока вносять в пробірку. Старанно змішують його з антигеном. При взятті кожної проби молока шприц двохкратно промивають теплою водою.

При постановці реакції в бактеріологічних пробірках беруть по 2 мл молока і добавляють по 0,1 мл антигену.

Пробірки струшують і ставлять в водяну баню або термостат на 45-50 хвилин при температурі 37-39°C, після цього читають реакцію за такою схемою:

а) при наявності чітко вираженого синього кільця в верхній частині молока (решта молока має білий колір) реакція оцінюється як позитивна;

б) синє кільце не утворюється, молоко рівномірно зафарбоване в колір антигену (синє), реакція оцінюється як від'ємна (негативна).

При відправці молока в лабораторію в кожен пробірку з 10 мл молока вносять 1 краплю 10% розчину формаліну. Консервоване молоко придатне для дослідження протягом 24-х годин.

Перед дослідженням молоко необхідно старанно струшувати.

Не дозволяється досліджувати кільцевою реакцією молоко, одержане від корів хворих ящуром, маститами та іншими захворюваннями, які супроводжуються підвищенням температури тіла, а також молоко корів в запуску перед отелом і в перші 12 днів після отелу.

ПЛАСТИНЧАТА РЕАКЦІЯ АГЛЮТИНАЦІЇ З РОЗБЕНГАЛ АНТИГЕНОМ (РБП)

Це реакція аглютинації на пластинці з використанням бенгальської рожевої фарби в кислому середовищі.

Розбенгал пробу (РБП) проводять на чистих сухих емальованих пластинках з ямками при температурі 18-30°. Досліджувані сироватки вносять на дно ямки в дозі 0,03 мл (1 краплю) мікропіпеткою. В кожен ямку біля сироватки вносять 1 краплю (0,03 мл) антигену. Обидві краплі старанно змішують скляною паличкою до гомогенної суміші.

Пластинку протягом 4 хвилин легко струшують. При позитивній реакції до 4 хвилини з'являються крупинки аглютинату рожевого кольору. Від'ємну (негативну) реакцію вважають при відсутності аглютинації (гомогенна рідина).

3. Алергічний метод.

Алергічний метод діагностики бруцельозу найчастіше використовують у овець, кіз і свиней. Як алерген використовують бруцелін ВІЕВ.

Бруцелін – імунобіологічний препарат, який являє собою прозору дещо опалесцюючу жовтувато-коричневого кольору рідину. Для виготовлення бруцеліну використовують слабоаглютинуючий і слабовірулентний штам бактерій *Brucella abortus* В-1 ВІЕВ. Використовують для алергічної діагностики бруцельозу в овець та кіз методом пальпебральної проби, у свиней методом внутрішньошкірної проби відповідно до Інструкції про заходи профілактики й ліквідації бруцельозу сільськогосподарських тварин.

Дослідження тварин на бруцельоз з використанням бруцеліну дозволяється проводити тільки спеціалістам ветеринарної медицини. Реакцію на введення бруцеліну у овець і кіз оцінюють один раз через 42-48 год., у свиней – два рази через 24 год. та 48 год. оглядом, а коли неясно пальпацією місця ін'єкції. Коли на місці введення препарату виявляють набряклість, реакцію вважають позитивною. У разі нечітко вираженої реакції пальпують місце введення препарату й порівнюють із шкірою іншого ока (або іншої підхвостової складки), а у свиней з шкірою іншого вуха. Якщо виявляють хоч би невелику різницю, реакцію вважають позитивною. При відсутності вказаних ознак реакції результат випробування вважають негативним. Реагуючих на бруцелін тварин мітять, вилучають з отари та ізолюють.

При дослідженні овець і кіз у неблагополучних на бруцельоз отарах з метою більш повного виявлення хворих тварин, що не реагують на перше введення, при обліку реакції вводять через 42-48 год. повторно в тих же самих місцях і в тій же дозі. Після повторного введення бруцеліну реакцію оцінюють через 24 год. При цьому всіх реагуючих овець і кіз також мітять та ізолюють. Якщо при обліку реакції на перше введення алергену в отарі не буде виявлено реагуючих тварин, повторне введення не роблять.

У тварин, що хворі на бруцельоз, на місці введення бруцеліну виникає запальна реакція у вигляді щільної або тістоподібної припухлості. Крім того, може розвинути гіперемія, іноді крововиливи у вигляді темно-червоної плями по центру набряку. У здорових тварин місцева реакція відсутня.

IV. ДИФЕРЕНЦІАЛЬНА ДІАГНОСТИКА.

Передбачає необхідність виключення у великої рогатої худоби трихомонозу, хламідіозу та кампілобактеріозу; у свиней – сальмонельозу, лептоспірозу; у овець і кіз – лістеріозу, кампілобактеріозу, хламідіозу. З цією метою проводять посіви на живильні середовища для виділення культури відповідного збудника з абортів плодів, а також серологічні дослідження для визначення наявності специфічних антитіл у крові інфікованих матерів.

V. ІМУНОБІОЛОГІЧНІ ПРЕПАРАТИ ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ І СПЕЦИФІЧНОЇ ПРОФІЛАКТИКИ БРУЦЕЛЬОЗУ.

Сироватка крові кроля гемолітична (гемолізін) для зв'язування комплементу (РЗК).

ІЕКВМ НААН України.

Опис Стерильна прозора, злегка опалесцентна рідина світло-жовтого або слабо-рожевого кольору без осаду й сторонніх домішок. Допускається утворення на поверхні сироватки навколостінного кільця білого кольору.

Склад. Гемолізін являє собою консервовану гліцерином сироватку крові кроля, що імунізований еритроцитами барана.

Застосування. Застосовується як компонент реакції зв'язування комплементу (РЗК).

Форма випуску. Ампули по 1 або 2 мл, упаковані в коробки по 10-20 шт.

Зберігання. У чистому сухому приміщенні при 4-8°C.

Термін придатності. 24 місяці.

Набір компонентів для серологічної диференціації культур бруцел.

ІЕКВМ НААН України.

Опис. Сироватка – прозора, однорідна рідина жовтого або рожевого кольору.

Антигени – при збовтуванні гомогенна суспензія білуватого кольору.

Склад Набір вміщує:

- 8-бруцельозну родову сироватку;
- К-бруцелаовісну родову сироватку;
- К-бруцелаовісну видову сироватку;
- 8-бруцельозний антиген;
- К-бруцелаовісний антиген.

Застосування. Набір компонентів призначено для серологічної індикації і диференціації культур бруцел у пластинчатій реакції аглютинації при бактеріологічній діагностиці бруцельозу тварин і бруцелаовісній інфекції.

Форма випуску. Компоненти набору випускають у флаконах в об'ємі по 2 мл.

Зберігання. В холодильнику при 5-10°C.

Термін придатності. 12 місяців.

Комплемент морської свинки, сухий.*ІЕКВМ НААН України.**Опис.* Суха пориста маса у вигляді таблетки рожево-сірого кольору.*Склад.* Комплемент являє собою ліофілізовану сироватку крові морської свинки.*Застосування.* Комплемент застосовується як компонент реакції зв'язування комплекменту (РЗК).*Застереження.* Комплемент після розчинення зберігати при 4 – 10°C не більше 8 год. або в замороженому стані -20 – 10°C - до 3 міс.*Форма випуску* Ампули по 1 або 2 мл., упаковані у коробки по 10-20 шт.*Зберігання.* У чистому, сухому місці при 4-10°C.*Термін придатності.* 3 роки.**Набір позитивної і негативної бруцельозної контрольних сироваток для РБП, РА, РЗК (РТЗК).***ІЕКВМ НААН України.**Опис.* Позитивна бруцельозна й негативна сироватки – прозорі рідини солом'яно-жовтого або рожевого кольору.*Склад.* Набір компонентів вміщує:

- позитивну бруцельозну сироватку,
- нормальну (негативну) сироватку.

Застосування. Набір позитивної бруцельозної і негативної контрольних сироваток застосовують для контролю активності й специфічності бруцельозних антигенів у серологічних реакціях при діагностиці бруцельозу в розбенгал пробі (РБП), реакції аглютинації (РА), реакції зв'язування комплекменту (РЗК) і реакції тривалого зв'язування комплекменту (РТЗК), а також для титрації комплекменту в бактеріолітичній системі РЗК і визначення дози гемсистеми в РТЗК.*У РБП контрольні сироватки використовують у нерозведеному стані, в РА і РЗК (РТЗК) у робочому титрі, який позначено на етикетці. Позитивну бруцельозну й негативну контрольні сироватки використовують згідно з Настановою по діагностиці бруцельозу тварин.**Форма випуску.* Набір вміщує:

позитивну бруцельозну сироватку.....8 ампул по 2 мл

нормальну (негативну) сироватку.....2 ампули по 2 мл.

Зберігання. У сухому темному приміщенні при 4-10°C.*Термін придатності.* 1 рік.

Антиген бруцельозний для кільцевої реакції (КР) з молоком.

Херсонська державна біофабрика, Україна.

Опис. Рідина синього кольору.

Склад. Антиген являє собою суміш пофарбованих бруцельозних мікробів типу бовіс.

Застосування. Кільцева реакція застосовується з метою орієнтовної перевірки молока благополучних на бруцельоз молочних стад і для перевірки молока на базарах. Дослідження молока на бруцельоз проводиться безпосередньо в господарствах або в діагностичних кабінетах ветлікарні, у районних ветлабораторіях і в лабораторіях ветеринарно-санітарної експертизи на ринках. Дослідження молока на бруцельоз проводиться ветлікарями ветеринарно-діагностичних лабораторій, лабораторій ветеринарно-санітарної експертизи на ринках, а також господарств, які пройшли при лабораторіях практику щодо постановки й обліку реакції. При одержанні позитивних або сумнівних реакцій проби молока для КР беруть повторно й одночасно від усіх тварин беруть кров для дослідження на бруцельоз РА та РЗК, проводять епізоотологічні обстеження господарств, клінічний огляд тварин та дослідження їх на захворювання маститами. У випадку одержання позитивних результатів досліджень крові на РА та РЗК, подальші заходи проводять відповідно до інструкції по боротьбі з бруцельозом. У цьому випадку ізолюють також і тварин, які дали тільки позитивну КР, якщо це не було пов'язано з маститом або вагітністю. При одержанні негативних результатів крові на РА та РЗК і відсутності епізоотичних даних на бруцельоз у даному стаді тварин, що дали тільки КР з молоком, залишають під наглядом. Повторно молоко від усіх тварин цього стада досліджують через 3-6 місяців

Техніка постановки кільцевої реакції (КР). Для КР застосовують антиген, спеціально виготовлений на біофабриці для цієї реакції. Для дослідження в РК треба брати незбиране, головним чином свіже молоко або консервоване формаліном (з розрахунку 0,1 мл 10 % розчину формаліну на 10 мл молока) При масовому дослідженні молока роботу треба проводити безпосередньо на фермі. Реакцію ставлять у пробірках, краще уленгутівських. У кожную пробірку наливають по 0,05 мл (одну краплю) антигену. Пробу молока беруть шприцом з голкою завдовжки 50-60 мм. Потім 1 мл молока вливають у пробірку поштовхами для кращого змішування з антигеном. Після взяття кожної проби молока шприц два рази промивають теплою водою. При постановці КР в бактеріологічних пробірках беруть по 2 мл молока і додають по 0,1 мл антигену (2 краплі). Потім пробірки збовтують і штативи ставлять у

водяну баню або термостат на 45-50 хв. при 37-39°C, після чого обліковують реакцію за такою схемою:

- а) при наявності чітко вираженого синього кільця у верхній частині стовпчика молока, а решта молока залишається білою, реакція вважається позитивною (100 або 75 % аглютинації),
- б) при наявності достатньо вираженого синього кільця в шарі вершків (залишок молока має синюватий колір) реакція також вважається позитивною (50 % аглютинації),
- в) якщо синє кільце в шарі вершків слабо виражене, а весь стовпчик молока має синій колір, реакція вважається сумнівною (25% аглютинації),
- г) якщо стовпчик молока залишається рівномірно пофарбованим у початковий синій колір, що був отриманий зразу після додавання до нього антигену, а вершки залишаються білими або ледь жовтого кольору, реакція вважається негативною.

Результати дослідження молока КР від корів, що хворі на ящур, мастити та інші захворювання, що супроводжуються підвищенням температури тіла, а також молоко від корів у перші 12 днів лактації не враховуються

Застереження. Консервоване молоко потрібно досліджувати протягом 1 доби. Перед дослідженням молоко треба ретельно розмішати для рівномірного розподілу вершків.

Форма випуску. Флакони по 20 мл.

Зберігання. В сухому темному приміщенні при 2-15°C.

Термін придатності. 3 роки.

Антиген бруцельозний єдиний для РА, РЗК і РТЗК.

Херсонська державна біофабрика, Україна.

Опис. Прозора рідина сіро-білого кольору з осадом мікробних клітин на дні флакона, при струшуванні якого утворюється рівномірна завесь убитих бруцел у фізіологічному розчині.

Склад. Для виготовлення антигену використовують слабо вірулентний штам бр. абортус № 19.

Застосування. Антиген бруцельозний єдиний застосовують у ветеринарних лабораторіях для діагностики бруцельозу сільськогосподарських тварин методами РА, РЗК і РТЗК. Перед використанням антиген ретельно струшують. Для РА антиген розводять 1:10 0,5 % фенолізованим фізіологічним розчином натрію хлористого з 0,5% фенолу (при випробуванні сироваток крові овець, кіз і оленів) та вносять у кожен пробірку по 0,5 мл, з

тим, щоб після цього в кожній пробірці стало разом з 0,5 мл з відповідного розведення сироватки 1 мл. Для РЗК і РТЗК антиген розводять фізіологічним розчином згідно з робочим титром (1:75) який встановлює підприємство-вигоювлювач.

Форма випуску. Флакони по 20 мл.

Зберігання. В сухому темному місці при 2-10°C.

Термін придатності. 2 роки

Антиген бруцельозний для роз-бенгал проби (РБП).

Херсонська державна біофабрика, Україна.

Опис. Непрозора рідина малиново-рожевого юльору.

Склад. Антиген являє собою суспензію інактивованих нагріванням з фенолом бруцел штаму 19 в буферному розчині пофарбованих бенгальським рожевим в рожевий колір.

1. Загальні положення.

1.1. Пластинчату реакцію аглютинації з бруцельозним роз-бенгал антигеном (Роз-бенгал проба або РБП) використовують при дослідженні сироватки крові для діагностики бруцельозу у великої рогатої худоби, овець, кіз, коней, свиней, верблюдів, північних оленів.

1.2. Кров для дослідження на бруцельоз беруть з яремної вени тварин з додержанням правил асептики. Сироватки крові, що досліджуються, повинні бути прозорі, без домішок еритроцитів, їх досліджують не пізніше 4 діб зберігання при 4-8°C. Дозволяється досліджувати сироватки, що консервовані борною кислотою (2 % борної кислоти до об'єму сироватки). Консервовані сироватки придатні для дослідження протягом 14 діб. Каламутні, пророслі сироватки дослідженню не підлягають. Антиген у флаконах без етикеток (надпису), з тріщинами, вмістом сторонніх домішок, осад, що не розбивається, пластівці, плісень, протермінований або підданий заморожуванню, для використання непридатний. Перед використанням антиген витримують 30-40 хв. при кімнатній температурі, а потім ретельно струшують.

Техніка постановки РБП.

2.1. Реакцію проводять на чистих сухих металевих емальованих пластинках з лунками при 18 – 30°C. На бортиках пластинки проти кожної лунки записують номер досліджуваної сироватки.

2.2. Досліджувані сироватки крові в дозі 0,03 мл вносять на дно лунки за допомогою шприца-напівавтомата (ШПРБ-1) або мікропіпетки. Після внесення кожної сироватки шприц-напівавтомат і мікропіпетку тричі

промивають фенолізованим фізіологічним розчином і підсушують фільтрувальним папером.

2.3. При дослідженні сироваток крові великої рогатої худоби, коней, верблюдів і свиней у кожен лунку поряд з сироваткою за допомогою піпетки-крапельниці вносять 0,03 мл (дві краплі) антигену, а при дослідженні сироватки крові овець, кіз, північних оленів 0,015 мл (одну краплю) антигену. Потім антиген ретельно змішують з кожною краплею сироватки крові активними рухами ручного полізмішувача до одержання однорідної суміші, розподіляючи її при цьому по всій поверхні лунки. Після змішування сироваток кожного ряду лунок (змішувач на 25 проб) змішувач споліскують у фенолізованому фізіологічному розчині й просушують марлевою серветкою або фільтрувальним папером.

2.4. Пластинку з сироватками й антигенами погойдують протягом 4 хв. обережними обертовими рухами вручну або за допомогою автоматичного приладу, що призначений для цієї мети. При позитивній реакції протягом 4 хв. виникають різної величини пластівці аглютинату рожевого кольору.

2.5. З початку роботи ставлять контроль антигену з нативною й позитивною аглютинуючими сироватками в тих самих дозах, а також контроль антигену на спонтанну аглютинацію (до 0,03 мл антигену додають 0,03 мл фізіологічного розчину).

Облік і оцінка реакції.

3.1. Облік реакції проводять неозброєним оком при легкому нахилі пластинки. Аглютинацію протягом 4 хв. після змішування сироватки з антигеном, яке проходить пізніше, ніж через 4 хв., не обліковують. Реакцію вважають позитивною при наявності вираженої аглютинації пофарбованих бруцел антигену у вигляді дрібних або великих пластівців рожевого кольору, що чітко виділяються на білому фоні лунки. При відсутності аглютинації (суміш гомогенна, рівномірно пофарбована) реакцію вважають негативною.

3.2. При одержанні позитивного результату досліджень крові в окремих тварин у благополучних по бруцельозу господарствах діють у порядку, що передбачений п.5 діючої інструкції щодо заходів, профілактики й ліквідації бруцельозу тварин.

Форма випуску. Флакон по 20 мл.

Зберігання. В темному сухому місці при 12-14°C.

Термін придатності. 18 місяців.

Суша жива вакцина із штаму 19 бруцела абортус проти бруцельозу великої і дрібної рогатої худоби виготовлена із слабо вірулентного

штаму 19. Використовується в системі заходів оздоровлення господарств від бруцельозу з дозволу Державного комітету ветеринарної медицини. Вводять вакцину підшкірно, телицям у віці 5-8 місяців, яркам через 2 місяці після відлучення. Вакцинованих тварин мітять круглим отвором в основі лівого вуха.

Суша жива вакцина з штаму Рев-1 бруцела мелітензіс проти бруцельозу дрібної рогатої худоби виготовлена з слабовірулентного штаму Рев-1. Використовується для оздоровлення вівчарських господарств від бруцельозу. Вакцинують ярочок з 4-х місячного віку. Вакцинованих тварин мітять круглим отвором в основі правого вуха.

VI. ЗАХОДИ З ПРОФІЛАКТИКИ ТА БОРОТЬБИ З БРУЦЕЛЬОЗОМ ТВАРИН.

(Інструкція від 25 січня 2000 р.)

1. Загальні положення

Бруцельоз – небезпечна інфекційна хвороба тварин і людей переважно з хронічним перебігом. Збудник бруцельозу – бактерії роду *Brucella*. Визначають 6 самостійних видів бруцел: *Br. melitensis* (кози, вівці) – 3 біовари, *Br. abortus* (велика рогата худоба) – 9 біоварів, *Br. suis* (свині) – 5 біоварів, *Br. ovis* (вівці), *Br. canis* (собаки), *Br. Neotomae* (пацюки).

На бруцельоз хворіють люди, які заражаються від тварин або через інфіковані продукти тваринництва. Найбільш небезпечним для людей є збудник бруцельозу овець ікіз – *Br. melitensis*, особливо у випадках міграції її у великої рогатої худоби. Інфекційна хвороба овець, збудником якої є *Br. ovis*, відома під назвами "Інфекційний епідидиміт баранів, бруцелоовісна інфекція". Можлива міграція бруцел з тварин одного виду на інший.

Залежно від епізоотичного стану поголів'я тварин ферму, гурт, господарство, населений пункт, район, область вважають неблагополучними чи благополучними щодо бруцельозу.

Благополучними щодо бруцельозу визначають ферми, гурти, господарства, населені пункти, райони, області, в межах яких при дослідженнях на бруцельоз не виявляють жодної хворої тварини. У разі виникнення захворювання неблагополучним оголошують господарство (ферму, гурт) і на період оздоровлення визначають зону загрози можливої міграції збудника.

2. Обов'язки керівників господарств, власників тварин, спеціалістів ветеринарної медицини, органів охорони здоров'я з організації та виконання протибруцельозних заходів і відповідальність їх за невжиття цих заходів

2.1. Керівники господарств незалежно від форми власності та власники тварин забезпечують здійснення організаційно-господарських та спеціальних ветеринарно-санітарних заходів з охорони тварин від зараження бруцельозом, а в разі його виникнення - проведення карантинних заходів та ліквідацію вогнища інфекції.

2.2. Головні державні інспектори ветеринарної медицини районів, міст, а також ветеринарні фахівці агропромислових об'єднань та комбінатів, колективних, фермерських і підсобних господарств тримають на контролі організацію і проведення своєчасної діагностики бруцельозу.

2.3. Управління державної ветеринарної медицини АР Крим, областей, міст Києва та Севастополя, районів, міст зобов'язані здійснювати постійне керівництво і контроль за виконанням заходів, щодо профілактики та ліквідації бруцельозу тварин у разі його виникнення в господарствах і населених пунктах.

2.4. За невиконання або виконання не в повному обсязі профілактичних і оздоровчих проти бруцельозних заходів на винних осіб накладаються адміністративні стягнення. Особи, які допустили порушення ветеринарних правил, що спричинило поширення бруцельозу або інші тяжкі наслідки, можуть бути притягнуті до кримінальної відповідальності згідно з чинним законодавством.

2.5. Підприємства, установи й організації ветеринарної медицини та установи державної санітарно-епідеміологічної служби зобов'язані своєчасно обмінюватись інформацією про випадки захворювання на бруцельоз тварин і людей, проводити спільні медико-ветеринарні та епідеміологічні обстеження в разі виникнення захворювань тварин на бруцельоз, визначати джерела та шляхи поширення збудника хвороби, розробляти, організовувати та проводити спільні заходи з ліквідації вогнища інфекції.

2.6. Фахівці державної санітарно-епідеміологічної служби беруть участь у розробці планів заходів боротьби з бруцельозом і профілактики зараження людей у неблагополучних господарствах, населених пунктах, організовують та проводять медико-санітарні заходи на тваринницьких фермах, підприємствах, що переробляють продукти і сировину тваринного походження, а також здійснюють державний санітарний нагляд за додержанням протиепідемічного режиму.

2.7. Державні органи ветеринарної медицини разом з органами державної санітарно-епідеміологічної служби організують комісії для перевірок на предмет повноти і якості проведення профілактичних та оздоровчих заходів на тваринницьких фермах і переробних підприємствах, видають офіційні приписи про вжиття невідкладних організаційно-господарчих та спеціальних профілактичних заходів.

3. Діагностика бруцельозу

3.1. Дослідження тварин та біологічного матеріалу від них проводять згідно з чинною настановою з діагностики бруцельозу.

3.2. Для дослідження тварин на бруцельоз застосовують серологічний, алергічний та бактеріологічний методи.

Велику рогату худобу, яків, зебу, буйволів досліджують серологічним методом (роз-бенгал проба – РБП або реакція аглютинації – РА або реакція зв'язування комплементу – РЗК або реакція тривалого зв'язування комплементу – РТЗК або кільцева реакція з молоком – КР) і алергічним;

овець, кіз, оленів – серологічним (РБП, РА, РЗК, РТЗК) і алергічним;

свиней – серологічним (РБП, РЗК, РТЗК) і алергічним;

коней – серологічним (РБП, РА, РЗК);

верблюдів – серологічним (РБП, РА, РЗК);

собак і тварин інших видів – серологічним (РА, РЗК).

3.3. Планові профілактичні серологічні дослідження на бруцельоз бугаїв-плідників, корів, нетелів, телиць віком понад один рік, буйволів, баранів-плідників, вівцематок, що лишилися без приплоду, кнурів-плідників та основних свиноматок проводять у всіх господарствах один раз на рік за роз-бенгал пробою (РБП). При одержанні позитивних результатів за РБП діагноз уточнюють додатковим дослідженням за РЗК (РТЗК) і РА.

Корів, бугаїв-плідників, телиць віком понад рік, свиноматок, від яких приплід продається населенню, овець та кіз громадян, які проживають на території господарств чи в окремих населених пунктах, досліджують на бруцельоз один раз на рік комплексно за РБП та РЗК.

3.4. Обов'язковому комплексному серологічному дослідженню за РБП (РА) і РЗК (РТЗК) на бруцельоз підлягають тварини всіх видів в період 30 денного профілактичного карантину при виведенні або введенні їх у господарство незалежно від форми власності, а також при їх продажу або купівлі.

3.5. У зоні можливого заносу бруцельозу планові серологічні дослідження маточного поголів'я проводять за РБП (РА) двічі на рік – навесні і восени.

3.6. При виявленні тварин, які позитивно реагують, повторне дослідження на бруцельоз всієї групи тварин проводять через 15-20 днів серологічними методами РБП, РА, РЗК (РТЗК) і алергічно. При потребі використовують також кільцеву реакцію з молоком.

3.7. Корів (нетелів), буйволиць, верблюдиць досліджують незалежно від терміну вагітності; вівцематок і свиноматок – через 1-2 місяці після окоту чи опоросу.

3.8. Серологічні та алергічні дослідження на бруцельоз проводять не раніше як через 45 днів після останнього щеплення проти інфекційних захворювань, проти паразитарних та інших профілактичних ветеринарних обробок.

3.9. При виявленні клінічних ознак захворювання бруцельозом (аборти, мертвонародження, орхіти, артрити та інше) хворих тварин ізолюють і обов'язково досліджують двічі – за РБП(РА) і РЗК(РТЗК) – на бруцельоз з інтервалом 15-20 днів і алергічною пробою. При потребі цими самими методами досліджують інших тварин стада (ферми), а вівцепоголів'я додатково на інфекційний епідидиміт баранів.

3.10. Коней досліджують серологічно за РБП та РЗК на бруцельоз у разі виявлення клінічних ознак хвороби (бурсит, нагній холки, тендовагініт, артрит та інше), а також у разі контакту з неблагополучним поголів'ям інших видів тварин у бруцельозному вогнищі.

3.11. Диких тварин (лосі, кабани, козулі та інші) досліджують на бруцельоз серологічно за РБП і РЗК та бактеріологічно – після вибіркового діагностично-ліцензійного відстрілу.

3.12. У звірівництві контроль щодо бруцельозу проводять на підставі бактеріологічних досліджень абортіваних плодів.

3.13. Планові серологічні дослідження та клінічне обстеження на інфекційний епідидиміт баранів-плідників проводять один раз на рік до парувальної компанії, а також перед формуванням отар для відгону на випас і після повернення, під час профілактичного карантину у разі продажу племінних баранів (баранчиків) чи вівцематок (ярок) або при міжгосподарчому обміні. Для дослідження застосовують реакцію тривалого зв'язування комплементу (РТЗК) з бруцелоовісним антигеном або реакцію імунодифузії (РІД).

3.14. Бактеріологічні дослідження на бруцельоз, з обов'язковим проведенням біопроби на морських свинках, проводять з біоматеріалом від сільськогосподарських тварин при наявності підозри на захворювання бруцельозом (аборти, орхіти, артрити та інше), а також при діагностичному

забої для уточнення діагнозу у серопозитивних тварин благополучного господарства.

Абортовані плоди, що надходять до лабораторій ветеринарної медицини для дослідження на трихомоноз, кампілобактеріоз, сальмонельоз, лептоспіроз, хламідіоз, підлягають обов'язковому дослідженню на бруцельоз.

3.15. На інфекційний епідидиміт баранів бактеріологічно досліджують статеві залози та їх придатки від клінічно хворих чи серологічно позитивних баранів після діагностичного забою або кастрації, а також абортовані плоди, цервіко-вагінальні виділення у вівцематок після абортів.

3.16. Діагноз на бруцельоз вважають встановленим, якщо:

- виділено культуру бруцел із біоматеріалу або одержано позитивні результати біопроби на морських свинках;

- виявлено позитивні серологічні, алергічні реакції у тварин з клінічними ознаками бруцельозу;

- виявлено зростання титрів антитіл за РА і РЗК у повторних пробах сироваток крові, відібраних з інтервалом 15-20 діб, а також позитивну алергічну реакцію та збільшення загальної чисельності тварин, які позитивно реагують.

3.17. Діагноз на інфекційний епідидиміт баранів вважають встановленим, якщо виділено культуру збудника хвороби – *Bt. ovis*, або виявлено позитивну РТЗ (РІД) з бруцелоовісним антигеном.

3.18. У неблагополучних щодо бруцельозу господарствах та в загрозовій зоні тварини, які позитивно реагують, вважаються хворими і підлягають забою.

3.19. Виділені культури бруцел обов'язково направляють до Інституту експериментальної і клінічної ветеринарної медицини (м. Харків, Пушкінська, 83) для визначення виду та біовару збудника хвороби.

4. Профілактика бруцельозу та інфекційного епідидиміту баранів

4.1. На територію України не дозволяється завозити поголів'я великої рогатої худоби, овець, кіз, свиней або сперму, зиготи, ембріони з неблагополучних щодо бруцельозу господарств, а також – тварин, щеплених бруцельозними вакцинами.

4.2. Імпортних племінних тварин (рогату худобу, овець та свиней) після карантину утримують відокремлено не менше 12 місяців до одержання благополучного щодо бруцельозу розтелення, окоту та опоросу, негативних результатів реакцій серологічних досліджень.

4.3. Керівники і власники господарств усіх форм власності, спеціалісти ветеринарної медицини зобов'язані:

- 4.3.1. Не допускати придбання тварин та введення їх у господарства без погодження з головним державним інспектором ветеринарної медицини району.
- 4.3.2. Обов'язково досліджувати тварин на бруцельоз та інфекційний епідидиміт у період 30-денного профілактичного карантину, при їх вводиті і виводі з господарства.
- 4.3.3. При виявленні тварин, які позитивно реагують на бруцельоз або інфекційний епідидиміт, слід проводити уточнення діагнозу. Без уточнення діагнозу забороняється реалізація племінної продукції з ферм, гуртів, отар.
- 4.3.4. Дотримуватись ветеринарно-санітарних правил при комплектуванні, годівлі, утриманні та використанні тварин. Будувати потрібні об'єкти ветеринарного та санітарного призначення. Дотримуватись застережних заходів при заготівлі кормів з метою виключення контамінації їх бруцелями.
- 4.3.5. Молоко, заготовлене від тварин, які є власністю населення, відправляти на молокозаводи у спеціально маркованій тарі, не завозячи на ферму.
- 4.3.6. Не дозволяти доступ сторонніх осіб та транспорту на тваринницькі ферми.
- 4.3.7. Не допускати контакту здорового поголів'я тварин на пасовищі або водопої з худобою неблагополучних на бруцельоз ферм.
- 4.3.8. Пред'являти тварин для огляду і дослідження, виділяти для виконання цих робіт підсобних робітників та створювати умови, потрібні для своєчасного дослідження.

5. Організація проти бруцельозних заходів

5.1. При встановленні захворювання на бруцельоз окремі гурти, ферми, господарства, бригади, а також населені пункти оголошують, у встановленому порядку, неблагополучними на бруцельоз, в них, з подання головного інспектора державної ветеринарної медицини районів (міст), розпорядженням органу самоврядування негайно вводяться відповідні обмеження. Про прийняття такого розпорядження повідомляються населення, підприємства, установи та організації в карантинній зоні, відповідні органи державної ветеринарної медицини та виконавчої влади суміжних районів та областей, а також - районну, міську санепідемстанцію.

5.2. Попередні обмеження, до прийняття рішення щодо встановлення карантинних обмежень, можуть бути введені приписом головного державного інспектора ветеринарної медицини району, міста, області або їх заступниками.

5.3. Заходи щодо профілактики та ліквідації захворювання тварин бруцельозом у неблагополучному пункті здійснюють згідно з планом, який

розробляється головним державним інспектором ветеринарної медицини району, міста за участю фахівців районної, міської санітарно-епідеміологічної станції.

Плани оздоровчих проти бруцельозних заходів у господарстві, населеному пункті, районі, місті, області затверджує державна адміністрація (місцевий орган виконавчої влади).

5.4. Керівники господарств зобов'язані:

- на неблагополучній фермі терміново обладнати ветеринарно-санітарні об'єкти (санпропускник, дезбар'єри, параформалінову камеру та інше), обгородити її територію;
- устаткувати побутові приміщення для персоналу (шафи для чистого одягу і взуття, умивальники тощо), облаштувати санітарну кімнату для жінок;
- забезпечити робітників ферм спецодягом, взуттям та іншими речами особистої гігієни для захисту від зараження бруцельозом;
- забезпечити щоденне знезараження та прання спецодягу, встановити контроль за якістю цієї роботи та заборонити винесення одягу поза межі неблагополучної ферми;
- організувати регулярне проведення робіт з очищення, дезінфекції тваринницьких приміщень і території ферм;
- не вводити здорову худобу в приміщення неблагополучної ферми;
- організувати знезараження молокопродукції;
- забезпечити необхідну допомогу спеціалістам ветеринарної медицини у проведенні діагностичних досліджень, дезінфекції, дератизації - виділяти транспорт, підсобних робітників і потрібну техніку;
- в разі необхідності – виділяти матеріально-технічні засоби для виконання заходів щодо оздоровлення від бруцельозу гуртів худоби, яка належить приватним власникам, що мешкають у населених пунктах на території цих господарств.

5.5. Перевірку повноти виконання проти бруцельозних заходів на оздоровленій фермі, у господарстві, населеному пункті перед зняттям карантинних обмежень проводять комісійно за участю представника управління ветеринарної медицини та місцевих закладів державної санітарно-епідеміологічної служби.

5.6. Тваринницьку ферму, господарство, населений пункт визнають оздоровленими від бруцельозу після забою всіх хворих і підозрюваних у захворюванні тварин разом з приплодом від цих тварин та після проведення комплексу завершальних організаційно-господарських, санітарно-протиепідемічних і ветеринарних заходів. Про оздоровлення

неблагополучного пункту складається акт, на підставі якого головний державний інспектор ветеринарної медицини району (міста) вносить у місцевий орган виконавчої влади подання про зняття карантинних обмежень на бруцельоз.

5.7. У господарстві після його оздоровлення і зняття карантинних обмежень зберігаються обмеження стосовно продажу або показу тварин на виставках протягом 24 місяців для великої рогатої худоби і 12 місяців для овець, кіз, свиней.

5.8. Про проведені заходи спеціалістами ветеринарної медицини повинен бути складений відповідний акт.

6. Карантинні і ветеринарно-санітарні заходи

6.1. При в'їзді на неблагополучну ферму господарство вивішує сповіщувальний знак "КАРАНТИН! В'ЇЗД ЗАБОРОНЕНО", обладнує санпропускник, дезбар'єр, встановлює пост, на якому забезпечує цілодобове чергування.

6.2. Забороняється:

- 1) провозити (проганяти) тварин через територію ферми, вводити або виводити з неї сприйнятливих до бруцельозу тварин, крім вивозу на санітарну бойню м'ясокомбінату, з дотриманням вимог, що гарантують нерозповсюдження збудника хвороби у навколишнє середовище під час перевезення;
- 2) перегруповувати тварин без відома головного лікаря ветеринарної медицини господарства;
- 3) заготовляти на карантинній території корми для вивозу їх у інші господарства;
- 4) проводити ярмарки, аукціони, виставки тварин, включаючи хутрових звірів, собак, птицю;
- 5) проводити зоотехнічну роботу з відтворення худоби;
- 6) використовувати хворих, які позитивно реагують, або підозрюваних у захворюванні тварин і їх приплід для відтворення стада;
- 7) продавати населенню тварин з неблагополучної ферми для вирощування і відгодівлі;
- 8) використовувати з неблагополучних щодо бруцельозу ферм "прифермівських" коней і собак;
- 9) випасати або переганяти неблагополучне щодо бруцельозу поголів'я.

6.3. Тварин усіх видів, які позитивно реагують при дослідженні на бруцельоз або у яких виникли клінічні ознаки захворювання (аборти), негайно ізолюють і здають на санітарну бойню м'ясокомбінату - незалежно

від віку, вагових кондицій, вагітності. Категорично забороняється організація ферм-ізоляторів чи пунктів концентрації тварин, хворих на бруцельоз.

6.4. Вводити тварин на оздоровлену територію ферм дозволяється тільки з дозволу головного державного інспектора ветеринарної медицини району, міста не раніше як через 6 місяців після виводу неблагополучного поголів'я і проведення всіх дій, передбачених планом оздоровчих заходів.

6.5. Худобу, яку закуплено населенням з господарств, неблагополучних по бруцельозу, впродовж 6 місяців до встановлення діагнозу і накладання карантинних обмежень на господарство, негайно здають на забій незалежно від вагових кондицій.

6.6. Пасовища, на яких перебувало неблагополучне поголів'я худоби, або зібране з таких угідь сіно дозволяється використовувати не раніше як через 3 місяці для поголів'я тварин цього ж господарства.

6.7. Забороняється доїння овець і кіз, обробка незнезаражених смушкових шкірок, а також заготівля бринзи, тушок, сичугів на неблагополучних щодо бруцельозу фермах.

Смушкові шкірки після зняття з тушки дезінфікують і консервують у встановленому порядку, а тушки спалюють або здають на завод з виробництва м'ясо-кісткового борошна за умови непоширення збудника.

6.8. Стриження овець чи кіз проводять після вилучення з отари тварин, які позитивно реагують на бруцельоз, з додержанням стригальями правил особистої гігієни. Стригалі перед кожним виходом з неблагополучної ферми повинні проходити обов'язкову санітарну обробку. Приміщення, майданчики та стригальський інструмент, спецодяг персоналу після закінчення стрижки очищують і дезінфікують.

6.9. Вовну з неблагополучних на бруцельоз отар знезаражують у господарстві бромистим метилом під плівкою згідно з Інструкцією з дезінфекції вовни, неблагополучної щодо бруцельозу і ящуру, бромистим метилом. Після обробки вовну вивозять на промислову переробку без обмежень.

6.10. Забій у господарстві хворих на бруцельоз тварин забороняється. Неблагополучне поголів'я перевозять на м'ясокомбінат на автомашинах з водонепроникним кузовом у погоджені терміни згідно з графіком під наглядом спеціаліста ветеринарної медицини.

6.11. Від тварин із неблагополучних з бруцельозу господарств та тих, що реагують серологічно в благополучних господарствах, забороняється використовувати їхнє м'ясо та продукти забою у незнезараженому вигляді, зокрема для годівлі звірів або птиці також.

6.12. Абортвані плоди та посліди негайно збирають, засипають хлорним вапном і спалюють або захоронюють на скотомогильнику.

6.13. Корів з клінічними ознаками бруцельозу (аборти, ендометрити та інше) доїти забороняється.

6.14. Молоко з неблагополучної щодо бруцельозу великої рогатої худоби ферми знезаражується у господарстві до повної ліквідації хвороби і зняття карантину.

6.14.1. Молоко від корів, які позитивно реагують на бруцельоз, знезаражують кип'ятінням 30 хвилин і використовують для годівлі тварин у межах господарства.

6.14.2. Молоко (вершки) від тварин, які від'ємно реагують на бруцельоз, з неблагополучного гурту знезаражують у господарстві шляхом пастеризації при 70°C протягом 30 хвилин, при 85-90°C протягом 20 хвилин або кип'ятінням. При використанні пастеризатора інфрачервоного електронагріву при 77,5°(+,-0,5°), без витримування.

6.14.3. Молоко (вершки) від корів ферми (гурту), неблагополучної одночасно з бруцельозу і з туберкульозу, знезаражують, як встановлено при туберкульозі.

6.14.4. Використання незнезараженого молока від неблагополучного поголів'я для годівлі тварин забороняється.

6.14.5. Молочні відвійки (в тому числі і з молокопереробних підприємств) при використанні для годівлі тварин необхідно знезаражувати способами, зазначеними у пункті 6.14.2.

6.14.6. Сколотини "маслянку" і молочні відвійки, одержані при виготовленні топленого масла, використовують для годівлі тварин тільки в межах неблагополучної ферми.

6.14.7. Районні державні лабораторії ветеринарної медицини зобов'язані здійснювати контроль за якістю знезараження молока і молочних відвійок щодаки.

6.15. Для дезінфекції приміщень застосовують дезінфектанти в концентрації: 20%-й розчин свіжогашеного вапна або освітлений розчин хлорного вапна не менше як з 2% активного хлору, препарат ДП-2, гарячий 2%-й розчин їдкого лугу, гарячий 5%-й розчин кальцинованої соди, 2%-й розчин формальдегіду, 3%-й розчин каустичної содопоташної суміші, розчин нейтрального гіпохлориду кальцію або тексаніту з 3% активного хлору.

Для аерозольної дезінфекції герметично зачинених приміщень у відсутності тварин та людей застосовують 2%-й водний розчин формальдегіду.

Поверхню ґрунту вигульних дворів обробляють 3%-м розчином формальдегіду.

Перевірку якості дезінфекції приміщень проводять згідно з методикою бактеріологічного контролю.

6.16. Гній, підстилку і рештки кормів, що залишилися від годівлі тварин на неблагополучних фермах, знищують або знезаражують біологічним, хімічними чи фізичними методами (Рекомендації зі знезараження гною в господарствах, неблагополучних щодо туберкульозу). Господарське використання гною дозволяється не раніше як через 24 місяці після біотермічного знезараження.

7. Оздоровлення господарств, неблагополучних щодо бруцельозу великої рогатої худоби, овець, кіз, свиней

7.1. При встановленні захворювання вперше на бруцельоз у неблагополучному пункті припиняють відтворення стада і оздоровлення здійснюють методом повної заміни всього поголів'я ферми з приплодом.

7.1.1. У першу чергу здають на забій тих тварин, які мають клінічні ознаки, і тих, які позитивно реагують. Решту поголів'я неблагополучної ферми (всіх видів тварин) не досліджують і також здають на забій разом з приплодом у термін до 30 днів. На свинокомплексах повну санітарну заміну неблагополучного поголів'я дозволяється проводити протягом 6 місяців.

7.1.2. Поголів'я худоби, яке утримується на благополучних фермах цього господарства, досліджується на бруцельоз серологічно за РБП (РА) і РЗК двічі з інтервалом 30 днів до отримання двічі підряд негативних результатів по усім стадам. У подальший шестимісячний контрольний період серологічні дослідження проводять двічі з інтервалом 3 місяці. У господарствах зони загрози (територіально суміжні або такі, що придбали чи продали худобу у виявлене неблагополучне господарство) проводять дослідження того виду тварин, які хворіють у цей час на бруцельоз у неблагополучному господарстві.

7.2. Щеплення тварин протибруцельозними вакцинами забороняється.

7.3. Молоко знезаражують кип'ятінням або пастеризацією в встановленому порядку.

7.4. На свинокомплексах з поголів'ям більше 12 тис. голів при встановленні бруцельозу забивають усіх тварин тільки тих неблагополучних технологічних груп, які утримуються у блоках або свинарниках. Після санації неблагополучних приміщень технологічний цикл продовжується.

7.5. При встановленні захворювання на бруцельоз у сільськогосподарських тварин, що є у користуванні населення, хворих разом

з іншими тваринами приватного господарства забивають, а поголів'я населеного пункту досліджують за РБП (РА) і РЗК з інтервалом 30 днів до отримання двічі підряд негативних результатів щодо всього стада. Надалі у межах шестимісячного контрольного періоду серологічні дослідження проводять двічі з інтервалом 3 місяці.

7.6. М'ясо від тварин з неблагополучної на бруцельоз ферми (отари) перероблюють на ковбаси або консерви, які потребують термічної обробки, незалежно від серологічних показників.

Туші тварин, які мали клінічні ознаки бруцельозу або патологічні зміни в органах, підлягають проваренню.

З рештою продуктів забою і сировиною чинять згідно з Правилами ветеринарного огляду забійних тварин і ветеринарно-санітарної експертизи м'яса і м'ясних продуктів.

8. Оздоровлення звірівницьких і мисливських господарств, неблагополучних з бруцельозу

8.1. При встановленні бруцельозу в хутрових звірів проводять серологічне дослідження поголів'я за РА у розведенні сироватки крові 1:10 один раз на місяць до одержання двічі підряд негативних результатів. Звірів (самиць разом з приплодом), які позитивно реагують, утримують в ізоляторі до забою на хутро. Хутрові шкурки дезінфікують і консервують відповідно до Інструкції з дезінфекції сировини тваринницького походження і підприємств з його заготівлі. Карантинні обмеження знімають після забою тварин, які реагують, санації приміщень та інвентарю і одержання двічі підряд негативних результатів серологічних досліджень.

8.2. При встановленні бруцельозу серед диких тварин (кабани, козулі, лосі та інше) мисливських господарств за результатами бактеріологічних досліджень комісійно, за участю представників адміністрації природоохоронних об'єктів, ветеринарної та егерської служб, визначається зона заселення неблагополучної популяції тварин, а також - усі шляхи їх можливої міграції. Рішенням обласної державної адміністрації збільшується квота ліцензійно-санітарного відстрілу дорослих тварин до 50% від їх оптимальної кількості щорічно протягом 3-х років.

8.3. У неблагополучних щодо бруцельозу зонах забезпечуються заходи охорони свійських тварин від контакту з дикими: приділяють увагу огороженню ферм і місць зберігання кормів, уникають розміщення літніх таборів свійських тварин у зонах інтенсивного заселення дикими тваринами. При встановленні фактів парування диких тварин зі свійськими останніх ізолюють і здають на забій. Решта тварин цієї групи повинна бути під

ветеринарним наглядом і досліджена на бруцельоз протягом 6 місяців не менше двох разів з одержанням негативних результатів на бруцельоз.

9. Оздоровлення господарств, неблагополучних з інфекційного епідемії баранів

9.1. При встановленні захворювання на інфекційний епідемії вівчарське господарство, ферму, племінну станцію штучного запліднення, окрему отару оголошують неблагополучними і встановлюють обмеження з цього захворювання.

9.1.1. Забороняється:

- 1) реалізація племінної продукції (сперма, племмолодняк, дорослі тварини) за межі господарства;
- 2) використання баранів-плідників з неблагополучної отари для запліднення (докриття) вівцематок або ярок;
- 3) використання баранів-пробників або баранів для докриття вівцематок (ярок) з товарних отар, що їх утримують для одержання вовни.

9.2. Оздоровлення неблагополучних отар проводять шляхом виявлення і забою клінічно хворих тварин (епідемії, орхіт, аборт, прохолостіння), а також тварин, які позитивно реагують за РТЗК або РІД з бруцелоовісним антигеном.

9.2.1. При встановленні захворювання серед племінних баранів-плідників або серед племінного молодняка додатково серологічно досліджують вівцематок у отарах, які мали контакт з цими баранами або від яких було одержано племмолодняк, який позитивно реагує.

9.2.2. Серологічне і клінічне дослідження баранів-плідників неблагополучної отари (пальпація сім'яних залоз та їх придатків) проводять з інтервалом 20 днів до одержання двічі підряд негативних серологічних результатів. Клінічно хворих або тварин, які позитивно реагують, терміново ізолюють і здають на забій. Надалі отару утримують на контролі протягом 6 місяців, серологічно досліджуючи двічі з інтервалом 3 місяці до одержання негативних результатів.

Тільки при одержанні під час контрольного терміну негативних результатів дослідження отару баранів-плідників вважають оздоровленою і дозволяють використання тварин для запліднення.

9.2.3. При оздоровленні неблагополучних отар вівцематок діагностичні дослідження проводять серологічно за РТЗК двічі – через 1 і 2 місяці після окоту, а також – за один місяць допокриття.

Тварин, які позитивно реагують, разом з приплодом здають на забій, вибраковуюють і також здають на забій тварин, що абортували та "холостих" вівцематок.

Отару вівцематок вважають оздоровленою, якщо протягом року не було абортів бруцелоовісної етіології, а при дворазовому дослідженні сироватки крові овець після окоту – не виявлено тварин, які позитивно реагують.

9.2.4. Ярок з 10-12-місячного віку досліджують у ті самі терміни, що і вівцематок, якщо вони утримуються в одних отарах. У разі формування окремих ремонтних отар ярк їх оздоровлення проводять шляхом щомісячного дослідження до одержання двічі підряд негативних результатів за РТЗК.

9.2.5. Молодих баранчиків від вівцематок неблагополучних отар товарних господарств для відтворення не використовують, у 2-3 тижневому віці каструють і надалі не досліджують.

9.2.6. Молодих баранчиків у племінних господарствах утримують у відокремлених отарах ізольовано від дорослих тварин і оздоровлюють так, як зазначено у п. 9.2.2. Серологічні дослідження баранчиків за РТЗК проводять з 10-12-місячного віку. Вибракуваних баранчиків за зоотехнічними показниками каструють і утримують відокремлено від племінної отари.

9.2.7. Товарні отари баранів для одержання вовни у неблагополучних господарствах розміщують відокремлено від основного стада, не досліджують і поступово замінюють валухами. Використання баранів з таких отар для докриття або як пробників категорично забороняється.

9.2.8. При виявленні в отарах (групах) баранів-плідників або баранчиків 10-12-місячного віку 25% і більше хворих клінічно та таких, які позитивно реагують за РТЗК, усю отару (групу) здають на забій.

9.3. Відтворення стада у неблагополучній отарі вівцематок здійснюється штучним заплідненням після вилучення овець, які позитивно реагують та є безплідними. Для докриття дозволяється вводити здорових баранів із благополучної отари баранів-плідників. Загальний термін парувальної компанії не повинен бути більшим 2-х місяців. Після закінчення парувальної компанії таких баранів утримують окремо від вівцематок та інших груп баранів. Через 1-2 місяці їх досліджують клінічно і серологічно, тварин, які реагують позитивно, здають на забій, а решту досліджують, як вказано у п. 9.2.2. Використання цих баранів для запліднення вівцематок в інших отарах не дозволяється.

9.4. У неблагополучних господарствах, де штучне запліднення організувати неможливо (відгонне вівчарство), для запліднення використовують досліджених здорових баранів-плідників, яких закріплюють за неблагополучними отарами вівцематок до повного їх оздоровлення. Після закінчення парувального сезону баранів утримують відокремлено від вівцематок і досліджують так, як зазначено у п. 9.2.2. Об'єднувати групи баранів, що запліднювали різні отари вівцематок, без попереднього дослідження не дозволяється.

9.5. У літній час неблагополучні отари виводять з кошар на табірне утримання. У приміщеннях проводять санітарне очищення і дезінфекцію.

9.6. М'ясо тварин, які позитивно реагують на інфекційний епідидиміт, при відсутності у них клінічних (аборту чи орхіту) ознак перед забоєм випускають без обмежень, м'ясо від клінічно хворих – знезаражують проваренням.

10. Охорона людей від зараження бруцельозом

10.1. Всі працівники, які безпосередньо обслуговують тварин, неблагополучних щодо бруцельозу ферм, повинні дотримуватись правил особистої гігієни за рекомендаціями медичних спеціалістів та спеціалістів ветеринарної медицини.

10.2. Для дезінфекції рук використовують 0,5%-й розчин хлораміну або кальцинованої соди. Спецодяг та спецвзуття перед кожним виходом з ферми здають у параформалінову камеру для знезараження.

10.3. Керівники господарств різних форм власності та підпорядкування зобов'язані забезпечити своєчасне проходження тваринниками медичних обстежень на бруцельоз. Не слід допускати до обслуговування хворих тварин осіб, що не пройшли медичне обстеження. Забезпечити усіх працівників тваринництва санітарним та спеціальним одягом і взуттям. Устаткувати робочі місця рукомийниками, дезрозчином, милом, рушниками, аптечкою першої допомоги. Організувати на фермі прання та зберігання спецодягу і спецвзуття.

Не допускати підлітків до 18 років, вагітних жінок та годувальниць до обслуговування бруцельозних тварин.

Обслуговування неблагополучних отар з бруцельозу овець (кіз) дозволяється тільки особам, вакцинованим проти бруцельозу.

10.4. На кожній фермі у спеціальному журналі записуються вказівки і пропозиції медичних фахівців та фахівців ветеринарної медицини щодо гігієни праці і профілактики захворювання, а також - про проведення спеціалістами інструктажу про заходи безпеки.

VII. КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ.

1. Збудник бруцельозу та його характеристика.
2. Джерело збудника інфекції.
3. Фактори передачі збудника.
4. Шляхи зараження.
5. Характерні клінічні ознаки бруцельозу у сільськогосподарських тварин.
6. Методи лабораторної діагностики бруцельозу.
7. Алергічний метод діагностики бруцельозу.
8. Імунобіологічні препарати для діагностики бруцельозу.
9. Імунобіологічні препарати для специфічної профілактики бруцельозу.
10. Які методи дослідження на бруцельоз застосовують у великої і дрібної рогатої худоби, свиней, коней, собак.
11. Організація протибруцельозних заходів.
12. Ветеринарно-санітарні заходи в неблагополучних по бруцельозу господарствах.
13. Оздоровлення неблагополучних господарств щодо бруцельозу великої рогатої худоби, овець, кіз, свиней.
14. Оздоровлення звірівницьких і мисливських господарств, неблагополучних з бруцельозу.

VIII. РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА.

1. Інфекційні хвороби тварин /Б.Ф. Бессарабов, А.А. Сидорчук, Є.С. Воронін; Під ред. А.А. Сидорчука. – М.: Колос, 2007. – 671 с.

2. Карішева А.Ф. Спеціальна епізоотологія: Підручник. – К.: Вища освіта, 2002. – 703 с.

3. Кісера Я.В. Нормативно-правові акти щодо профілактики та ліквідації інфекційних захворювань спільних для кількох видів тварин /Я.В. Кісера, Л.Я. Божик //Навчальний посібник з грифом Міністерства освіти і науки України. – Львів: В-во «Сполом». – 2013. – 170с.

4. Кісера Я.В. Інфекційні хвороби собак і котів. Навчальний посібник для студентів спеціальності 8.11010101 „Ветеринарна медицина”. /Я.В. Кісера, Л.Я. Божик. – Львів, 2016. – 196 с.

5. Кісера Я.В. Імунобіологічні препарати /Я.В. Кісера, Л.Я. Божик, Ю.В. Мартинів, Т.С. Матвіїшин, Т.О. Пундяк //Навчальний посібник з грифом ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького. – Львів: В-во «Сполом». – 2020. – 358с.

6. Кравців Р. Інфекційні хвороби великої рогатої худоби /Р. Кравців, Я. Злонкевич, Б. Корж, І. Олексюк –Львів, 2001. – 394 с.

7. Кузьмин В. А. Инфекционные болезни животных: учебное пособие для студентов /В.А. Кузьмин.; под ред.: А.А. Кудряшова, А.В. Святковского. – СПб.: Лань, 2007. – 235 с.

8. http://www.diaproph.com.ua/pdf/metodichky/ua/9_brucell_knizhka.pdf.

9. <http://portal.nauu.kiev.ua/vet/sep.nsf/b3266a3c17f9bb7085256b870069c0a9/88aaf9ef18de0650c225724e00549715!OpenDocument>.

10. <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0524-02#Text>