Дисциплина: «Эпизоотология и инфекционные болезни животных с основами микробиологии и вирусологии».

Учебная практика № 5

Тема: Аллергическая диагностика туберкулеза сельскохозяйственных животных и птицы.

Цель: освоить технику аллергической диагностики туберкулёза у разных видов сельскохозяйственных животных

Время выполнения:6 часов

Место проведения: аудитория 426, 419, учебный класс мясокомбината.

Дидактическое и методическое обеспечение: Сухой очищенный туберкулин ППД для млекопитающих или стандартный раствор этого туберкулина, 95° спирт, дистиллированная вода, вата, ножницы, 1,0 гр. шприцы и иглы для туберкулинизации, безыгольный инъектор, кутиметр, шприцы 5,0 гр., наставление по применению туберкулина.

Охрана труда на рабочем месте (отдельная инструкция)

Порядок и последовательность выполнения работы:

1. Внеурочная подготовка.
1.1. Самостоятельно подготовьтесь к учебной практике.
Изучите теоретический материал по учебнику Эпизоотология с микробиологией: учеб./В.В.Максимович и др; -Минск: РИПО, 2017 стр.248-254.
Практикум Эпизоотология и инфекционные болезни: учебное пособие /В.В.Максимович и др; - Минск: ИВЦ Минфина, 2015. стр.173-182, 182-190.
1.2. Подготовьте рабочую тетрадь, акт туберкулинизацию, опись.
1.3. Изучите инструкцию по охране труда

2. Работа в лаборатории.
2.1. Пройдите входной контроль.
2.2. Подготовьте рабочее место и оборудование для работы.
2.3. Изучите методические указания и выполните задания:
Задание № 1. Проведите стерилизацию шприцев, игл и рабочей части безыгольного инъектора.
Задание № 2. Приготовьте 200 мл. 70° спирта обработки инъекционного поля.
Задание № 3. Изучите методику введения туберкулина и учёт реакции у крупному рогатому скоту.
Задание № 4. Изучите методику проведения симультанной пробы.
Задание № 5. Изучите методику введения туберкулина свиньям.
Задание № 6. Изучите методику введения туберкулина птицам.
Задание № 7. Изучите методику проведения глазной туберкулиновой пробы лошадям.
Задание № 8. Изучите методику введения туберкулина и учёт реакции у овец и коз.

2.4. Оформите выполненную работу в тетрадь.
2.5. Пройдите выходной контроль.
2.6. Приведите в порядок рабочее место.

3. Вопросы входного контроля: Google-тест

4. Методические указания по выполнению работы:

Задание 1. Проведите стерилизацию шприцов, игл и рабочей части безыгольного инъектора.

Шприцы разбирают и заворачивают в марлевые салфетки каждый по отдельности. Рабочие части безыгольных инъекторов разбирают и заворачивают в салфетки.

Стерилизацию кипячением проводят в электрических стерилизаторах, соблюдая правила электробезопасности. Инструменты укладывают в стерилизатор и заливают холодной дистиллированной водой. Инструменты должны быть покрыты дистиллированной водой полностью.

Стерилизацию проводят в течение 30 минут с момента закипания. После стерилизации воду сливают, просушивают и производят сборку инструментов.

Задание 2. Приготовьте 200 мл. 70° спирта обработки инъекционного поля.

При проведении туберкулинизации применяют только 70° спирт-ректификат, который обладает наивысшими бактерицидными свойствами.

Приготовление спирта проводят по формуле:

$$\frac{X \times 70}{У}$$

Х – необходимое количество 70° спирта

70 – требуемая концентрация

У – имеющаяся концентрация спирта

Берём 148 мл 95 спирта и до 200 мл добавляем дистиллированную воду.

$$\frac{200 \times 70}{95} = 148$$

Задание 3. Изучите методику введения туберкулина и учёт реакции у крупному рогатому скоту.

Основная цель диагностики туберкулеза – своевременное выявление больных и инфицированных животных для предупреждения распространения инфекции, получения безопасных продуктов животноводства и организации эффективных противотуберкулезных мероприятий.

Сначала нужно тщательно изучить наставление по применению туберкулинов для аллергической диагностики туберкулеза млекопитающих и птиц.

Основным методом прижизненной диагностики туберкулеза является аллергический, для проведения которого используют следующие туберкулины:

ППД – Протеин – Пурифиед – Дериват (сухой очищенный)

КАМ – Комплекс Атипичных Микобактерий

♦ ППД туберкулин для млекопитающих, который выпускают двух видов:

в виде стандартного раствора и сухого туберкулина.

В виде стандартного раствора ППД туберкулин для млекопитающих представляет собой стерильный фильтрат культуры возбудителя туберкулеза бычьего вида и продуктов его жизнедеятельности, выращенного на синтетической питательной среде Сотона.

Сухой ППД туберкулин для млекопитающих — это стерильный фильтрат культуры возбудителя туберкулеза бычьего вида и продуктов его жизнедеятельности, выращенного на синтетической питательной среде Сотона и подвергнутого лиофильному высушиванию.

При проведении внутрикожной туберкулинизации животных исследуют на туберкулез, начиная с 6 недельного возраста. Коров исследуют независимо от периода беременности. Самок других видов животных — через 1-2 недели после родов. Не разрешается исследовать животных в течение 3 недель после вакцинации их против инфекционных болезней.

Перед введением туберкулина волосяной покров у животных выстригают, кожу обрабатывают 70%-м этиловым спиртом — 1 мл на обработку.

Туберкулин вводят внутрикожно, в дозе 0,2 мл, крупному рогатому скоту—в середине шеи, на месте пересечения продольной и поперечной линии, быкам — в подхвостовую складку.

Место инъекции выбривают (выстригают), кутиметром измеряют толщину кожной складки и фиксируют ее в акте на проведение исследования, протирают кожу тампоном, смоченным 70° спиртом-ректификатом.

Туберкулин вводят в дозе 5000 МЕ (2000 IU) или 10 000 МЕ (4000 IU) в объеме 0,2 см ^{3} в центр подготовленного участка градуированным 1 см ^{3} шприцом с короткой стерильной иглой, располагая ее скошенным краем наружу под углом, в глубокий слой кожи или безыгольным инъектором. В коже в месте инъекции при правильном введении должно образоваться горошинообразное утолщение.

Результаты туберкулинизации учитывают через (72±3) ч путем пальпации и измерения кожной складки в месте инъекции.

Животных по результатам учета реакции разделяют на:

- Реакция на туберкулин считается отрицательной при утолщении кожной складки не более чем на 2 мм, при отсутствии отека, экссудации, некроза, болезненности или воспаления лимфатических сосудов и узлов в этой области.

± Реакция на туберкулин считается неопределенной при утолщении кожной складки более 2 мм, но менее 4 мм и отсутствии отека, экссудации, некроза, болезненности или воспаления лимфатических сосудов и узлов в этой области.

+ Реакция на туберкулин считается положительной при утолщении кожной складки на 4 мм и более или наличии отека, экссудации, некроза, болезненности или воспаления лимфатических сосудов и узлов в области инъекции препарата.

Результаты замеров кожных складок до и после введения туберкулина с указанием инвентарных (идентификационных) номеров животных фиксируют в акте, в котором указывают наименование организации, фермы стада, вида и количества обследованных животных, выходных данных туберкулина и заключение по результатам исследования.

У быков (волов), коз, овец, свиней — при образовании ощутимой припухлости в

месте введения туберкулина.

В хозяйствах, неблагополучных по туберкулезу крупного рогатого скота, в том числе принадлежащих населению, допускается для более полного выявления больных животных применять двукратную туберкулиновую пробу. В этих случаях животным, не реагирующим на первую инъекцию туберкулина, препарат через 72 ч, т. е. при читке реакции, вводят в то же место и в той же дозе. Реакцию на повторное введение туберкулина учитывают через 24 ч и оценивают, как указано выше.

Задание 4. Изучите методику проведения симультанной пробы.

Симультанную пробу применяют:

- ✔ для первичной диагностики туберкулеза в стадах официально признанных свободными от туберкулеза, в которых было установлено инфицирование животных нетуберкулезными микобактериями;
- ✔ при установлении статуса стада путем проведения симультанного исследования с перепроверкой особей с неопределенной реакцией через 42 дня после выявления реагировавших животных;
- ✔ для оценки эпизоотической ситуации на завершающих этапах оздоровления стад от туберкулеза.

Для симультанной пробы применяют:

- туберкулин очищенный для млекопитающих в дозе 10 000 МЕ (4000 IU) в объеме 0,2 см ^{3};
- ППД туберкулин для птиц в дозе 10 000 МЕ в объеме 0,2 см ^{3} (или комплексный аллерген из атипичных микобактерий, КАМ в дозе 1350 ЕД в объеме 0,2 см ^{3}).

Аллергены вводят с правой и левой стороны шеи в соответствии с пунктами 14, 15 настоящих Правил.

Результаты симультанной пробы учитывают через (72±3) ч путем пальпации и измерения кожной складки в месте инъекции.

 + Положительным результатом считается реакция на туберкулин, превышающая реакцию на птичий туберкулин (КАМ) на 4 мм и более, либо в месте инъекции туберкулина развились клинические признаки воспалительного отека.

 ± Неопределенным результатом считается положительная или неопределенная реакция на туберкулин для млекопитающих, превышающая реакцию на туберкулин для птиц (КАМ) на 1–4 мм, при отсутствии клинических признаков воспалительного отека.

 - Отрицательным результатом считается отрицательная реакция на туберкулин для млекопитающих либо положительная или неопределенная, равная или меньшая реакции на туберкулин для птиц (КАМ), а также при отсутствии воспалительного отека в местах введения обоих аллергенов.

Результаты замеров кожных складок до и после введения аллергенов с указанием инвентарных (идентификационных) номеров животных фиксируют в акте, в котором указывают наименование организации, фермы стада, вида и количества обследованных животных, выходных данных аллергенов и заключение по результатам исследования.

Задание 5. Изучите методику введения туберкулина свиньям.

Туберкулез у свиней протекает преимущественно бессимптомно. Для выявления инфицированных животных проводят аллергические исследования в соответствии с Санитарными и Ветеринарно-санитарными правилами по профилактике и ликвидации заболеваний, общих для человека и животных. Туберкулез, утвержденными и введенными в действие постановлением Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 23 февраля 2018 г. № 32.

Гранулематозные поражения, не отличимые от туберкулезных, у свиней, наряду с M.bovis и M.tuberculosis, могут вызывать микобактерии комплекса M.avium–M.intracellulare и некоторые другие виды нетуберкулезных микобактерий, поэтому для аллергического исследования симультанно применяют туберкулины для млекопитающих и для птиц (содержимое двух 10 см ^{3} флаконов ППД туберкулина для птиц растворяют в одном 20 см ^{3} флаконе растворителя).

Место введения туберкулинов обрабатывают 70-градусным этиловым спиртом.

Туберкулины вводят внутрикожно градуированным 1 см ^{3} шприцом с короткой стерильной иглой, свиньям в возрасте 2-3 месяцев туберкулин лучше вводить безыгольным инъектором в кожу поясничной области, слева и справа в 5-8 см от позвоночника, располагая ее скошенным краем наружу под углом в глубокий слой кожи в объеме 0,2 мл области наружной поверхности уха в 2–3 см от его основания. В кожу одного уха вводят туберкулин для млекопитающих, а симметрично в кожу другого уха – туберкулин для птиц. При правильном введении в коже в месте инъекции должно образоваться горошинообразное утолщение.

Учет и оценку реакции проводят через 48 часов. Реакция оценивается как положительная при образовании ощутимой припухлости в месте введения туберкулина.

Свиней, реагирующих на туберкулины, подвергают диагностическому убою с осмотром лимфатических узлов и внутренних органов.

У свиней, больных туберкулезом, на вскрытии находят обызвествленные узелки в брыжеечных, в заглоточных, подчелюстных, бронхиальных, средостенных лимфатических узлах, редко – в легких и в печени. Такие же поражения бывают при заражении микобактериями комплекса M.avium – M.intracellulare, поэтому по результатам вскрытия диагноз туберкулез у свиней не ставится.

В обязательном порядке отбирают патологический материал, который подвергают бактериологическому исследованию (с посевом на яичные питательные среды), при необходимости ставят биопробу.

Задание 6. Изучите методику введения туберкулина птицам.

Заболевание встречается у всех видов куриных (курица, индейка, цесарка, фазан, куропатка), реже у голубей и водоплавающих птиц (утка, гусь, лебедь) и проявляется преимущественно у птиц старше 6–8 месяцев.

Туберкулез у птиц протекает хронически с нехарактерными клиническими признаками. Генерализованная форма болезни проявляется угнетением, вялостью, снижением яйценоскости, истощением (атрофия грудных мышц). При поражении кишечника и печени наблюдают поносы, желтушность слизистых оболочек и кожного

покрова. Иногда отмечают хромоту и опухолеподобные образования на подошвенной поверхности конечностей.

Для выявления больных и инфицированных птиц используют аллергическую пробу с туберкулином для птиц (сухой ППД туберкулин для птиц перед применением растворяют из расчета 1 флакон сухого препарата на один флакон прилагаемого растворителя).

Перед введением кожу обрабатывают 70-градусным этиловым спиртом. Туберкулин вводят внутрикожно в объеме 0,1 мл (2500 МЕ) градуированным 1 см ^{3} шприцом с короткой стерильной иглой, располагая ее скошенным краем наружу под углом, в глубокий слой кожи:

- курам – в бородку;
- индейкам – в подчелюстную сережку;
- гусям, уткам – в межчелюстную складку;
- фазанам (самкам), павлинам, попугаям, голубям, журавлям, цаплям и другим птицам – в области наружной стороны голени (предварительно удалив перья);
- фазанам-самцам туберкулин вводят в пещеристое тело на голове позади наружного угла глаза.

Учет и оценку реакции проводят через 30–36 часов.

Реакцию оценивают как положительную при образовании ощутимой припухлости в месте введения туберкулина.

Задание 7. Изучите методику проведения глазной туберкулиновой пробы лошадям.

Глазную туберкулиновую пробу проводят двукратно с интервалом 5-6 суток между первым и вторым введением туберкулина. Туберкулин в количестве 3-5 капель наносят пипеткой на конъюнктиву при оттянутом нижнем веке. Учет и оценку реакции проводят после первого введения через 6, 9, 12 и 24 ч, после повторного введения туберкулина 3, 6, 9 и 12 часов.

У реагирующих на туберкулин животных отмечают: гиперемию и возможный отек конъюнктивы, накапливание в конъюнктивальном мешке гнойного и слизисто-гнойного секрета и вытекание его из внутреннего угла глаза в виде шнура.

Для постановки диагноза решающими являются результаты вскрытия (обнаружение макроскопических туберкулезных изменений) и бактериологического исследования патологического материала в соответствии с настоящими Правилами.

Задание 8. Изучите методику введения туберкулина и учёт реакции у овец и коз.

Козам и овцам туберкулин вводят пальпебрально (в толщу нижнего века), отступя от края на 1,5-2 см (в дозе 0,2 мл).

Учет результатов туберкулинизации у овец и коз — через 48 часов;

У овец и коз при читке пальпебральной туберкулиновой пробы сравнивают веки

левого и правого глаза.
Животных по результатам учета реакции разделяют на:

- реагирующих на туберкулин;
- не реагирующих на туберкулин.

У быков (волов), коз, овец, свиней — при образовании ощутимой припухлости в месте введения туберкулина.

5. Вопросы выходного контроля:
5.1. Куда вводят туберкулин различным видам животных?
5.2.Через, сколько часов производят учет реакции на туберкулин у крупного рогатого скота, овец и свиней?
5.3.Чем характеризуется положительная реакция на туберкулин у коров и овец?
5.4.Как проводят исследование на туберкулез лошадей?

Литература:

1. Учебник Эпизоотология с микробиологией: учеб./В.В.Максимович и др; -Минск: РИПО, 2017. стр.248-254.
2. Учебник Частная Эпизоотология В.В.Максимович и др; -Минск: ИВЦ Минфина 2010. стр.22-34.
3.Практикум Эпизоотология и инфекционные болезни: учебное пособие /В.В.Максимович и др; - Минск: ИВЦ Минфина, 2015. стр.173-182, 182-190.
4. Электронный образовательный ресурс: Эпизоотология goreglad.blogspot.com