

УПРАВЛЕНИЕ ВЕТЕРИНАРИИ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН



ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УРЕЖДЕНИЕ БАШКИРСКАЯ
НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННАЯ ВЕТЕРИНАРНАЯ
ЛАБОРАТОРИЯ
УЧЕБНЫЙ ЦЕНТР ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО
ОБРАЗОВАНИЯ

Лабораторно-практическое занятие. **Отбор проб и правила доставки
биоматериала на исключение вирусных болезней животных**

УЧЕБНОЕ МЕТОДИЧЕСКОЕ ПОСОБИЕ

Специальность: **Ветеринария**

Курсы повышения квалификации по теме: «Современные методы профилактики, диагностики и лечения болезней животных, птиц и пчел»

Категория слушателей: ветеринарные специалисты

Уфа 2018

УДК 619:616

ББК 48.72

М

Рекомендованы к изданию Учебно-методическим советом Учебного центра ДПО ГБУ Башкирская НПВЛ (протокол № 8 от «7» ноября 2018 г.)

Составитель: руководитель Учебного центра ДПО ГБУ Башкирская НПВЛ, к.в.н., доцент Исмагилов А.М.

Рецензент: зав. отделом бактериологии, паразитологии и микологии, к.б.н., Файзуллина М.Ю.

Ответственный за выпуск: руководитель Учебного центра ДПО ГБУ Башкирская НПВЛ, к.в.н., доцент Исмагилов А.М.

Отбор проб и правила доставки биоматериала на исключение вирусных болезней животных

Цель занятия: научить ветеринарных специалистов действиям при работе с патогенными биологическими агентами (ПБА).

Категория слушателей курсов: ветеринарные специалисты ветеринарных станций, ветучастков, ветпунктов и ветврачи хозяйств.

Слушатели курсов должны знать:

1. Этиологию, патогенез инфекционных заболеваний.
2. Клинические и патологоанатомические признаки болезни.
3. Правила доставки материала и оформления документов для лабораторных анализов.
4. Особенности отбора проб материала при особо опасных инфекционных заболеваниях.

Слушатели курсов должны уметь правильно осуществлять отбор проб образцов материала и доставку его в диагностические отделы ветеринарных лабораторий.

План занятия:

1. Отбор проб и доставки ПБА для ПЦРдиагностики
2. Правила доставки биоматериала на исключение вирусных болезней животных

1 Отбор проб и доставки ПБА для ПЦРдиагностики

1. При отборе образцов материала необходимо соблюдать меры, предупреждающие обсеменение объектов внешней среды.

2. Материал от каждого животного при подозрении на инфекционное заболевание отбирают отдельными инструментами (таблица 1).

3. Образцы на исследование доставляют в опечатанном виде нарочным, в одноразовых пакетах и пробирках.

4. Материал доставляют в лабораторию в день взятия или на следующий день, сохраняя при температуре от 2 до 8⁰С. Допускается хранение материала при температуре не выше минус 16⁰С в течение 30 дней.

(кроме крови и мочи). Кровь и мочу нужно доставлять в день взятия материала!

5. Соскобы со слизистой носоглотки, миндалин и конъюнктивы берут сухими стерильными зондами с ватными тампонами. После забора материала тампоном (рабочую часть зонда с ватным тампоном) помещают в стерильную одноразовую пробирку (типа «Эшпендорф») с 500 мкл стерильного физиологического раствора или раствора фосфатного буфера. Конец зонда отламывают или отрезают, с расчетом, чтобы он позволил плотно закрыть крышку пробирки. Пробирку с раствором и рабочей частью зонда закрывают.

Таблица 1.

Болезнь	Материал
1	2
Бруцеллез	<ul style="list-style-type: none"> -Содержимое брюшной полости и желудка, селезенка, печень от абортрованного плода; -плацента и плодовые оболочки от абортровавших животных; -содержимое бурс, гигром; -кровь и молоко от абортровавших животных и /или животных, в сыворотке которых обнаружены агглютинины и/или комплементсвязывающие антитела.
Сибирская язва	<ul style="list-style-type: none"> -Паренхиматозные органы и лимфоузлы животных; — цельная кровь (5 мл, взятие крови проводится в пробирку с 6% раствором ЭДТА из расчета 1:20); -молоко КРС; -вода (сточная, из водоемов, питьевая); -смывы с воздушных фильтров; -почва; -Порошкообразные вещества (корма для КРС, мука).
Лептоспироз	<ul style="list-style-type: none"> -Цельная кровь (утром натощак в пробирку с 6% раствором ЭДТА из расчета 1:20. Закрытую пробирку с цельной периферической кровью несколько раз переворачивают); — моча (собирается в стерильную посуду); -паренхиматозные органы (легкие, почки); -ткани мозга; -культура бактерий.
Микоплазмоз	<ul style="list-style-type: none"> — назальные, конъюнктивальные смывы, истечения; -синовиальная жидкость суставов; -желток, аллантоисная жидкость эмбрионов; — цельная кровь, в пробирку с 6% раствором ЭДТА из расчета 1:20; -сыворотки (лечебные), культуры клеток; -сперма (не менее 2 мл).
Туберкулез	<ul style="list-style-type: none"> -Кровь (в объеме не менее 0,5мл с 6% раствором ЭДТА в соотношении 1:20. Пробирка закрывается крышкой и переворачивается несколько раз (для перемешивания с антикоагулянтom); -ткани (отбирают в пределах видимых патологических изменений, не менее 1x1x1см) -лимфоузлы (берут целиком); -фарингеальные смывы (не менее 5-10мл); -моча (не менее 5-10мл); -фекалии (2-4 гр.) -молоко (не менее 5-10мл); -носовая слизь -биопсийный и аутопсийный материал

Хламидиоз	<p>-Соскобы со слизистых оболочек (конъюнктивы, уrogenитального тракта),</p> <p>-паренхиматозные органы павших или вынужденно убитых животных (сердце, легкие, селезенка, печень, почки);</p> <p>-кусочки плодовых оболочек;</p> <p>-паренхиматозные органы абортплода;</p> <p>-перевязанный с двух сторон сычуг абортплодов;</p> <p>-сперма замороженная (или пробы эякулята);</p> <p>-моча от производителей.</p>
Грипп птиц	<p>1.при исследовании птиц:</p> <p>-помёт (4-5г) в стерильных контейнерах;</p> <p>-мазки из клоаки, со слизистой глотки и трахеи берут сухими стерильными зондами с ватными тампонами.</p> <p>-трахеальные смывы (получают с помощью физиологического раствора;</p> <p>-внутренние органы (фрагменты трахеи и легких, селезенка, мозг, воздухоносные мешки, кишечник) в одноразовых стерильных контейнерах;</p> <p>-яйцо для исследования отправляют целиком, в герметичном контейнере;</p> <p>-эмбрионы кур целиком в яйце помещают в герметичный контейнер.</p> <p>2. при исследовании свиней и лошадей:</p> <p>-носовые смывы, получают с помощью стерильного физиологического раствора; в одноразовых контейнерах;</p> <p>-бронхиальный экссудат в одноразовых стерильных контейнерах;</p> <p>-внутренние органы (фрагменты трахеи и легких) в одноразовых стерильных контейнерах;</p> <p>3. мясо птиц и субпродукты в одноразовых стерильных контейнерах;</p> <p>4.комбикорма для племенной птицы, сухие корма для непродуктивных животных, находящиеся в мешках или небольших насыпях на складе, отбирают по ГОСТ 13496.0</p> <p>5.при исследовании свинины, продуктов ее переработки и субпродуктов:</p> <p>—пробы мяса, продуктов переработки, субпродуктов в одноразовых стерильных контейнерах;</p>
Классическая чума свиней	<p>Цельная кровь, патматериал (сердце, легкие, селезенка, печень, почки, миндалины), абортплод.</p> <p>— цельная кровь (отбирают не менее 0,5-1 мл в стерильные пробирки с 3% раствором ЭДТА из расчета 10:1).Пробирка закрывается крышкой и переворачивается несколько раз (для перемешивания с антикоагулянтom);</p> <p>— сыворотка крови : забор крови проводится в пробирку без антикоагулянта.</p>

	<p>— Соскобы (мазки) со слизистой носоглотки и миндалин.</p> <p>-ткани (отбирают в пределах видимых патологический изменений, не менее 1х1х1см), помещают в стерильный контейнер.</p> <p>-лимфоузлы (берут целиком);</p> <p>-фекалии (5 г отбирают в стерильный пластиковый контейнер);</p>
Африканская чума свиней	<p>Цельная кровь, сыворотка крови, патматериал (сердце, легкие, селезенка, печень, почки, лимфоузлы), абортплод.</p> <p>— цельная кровь (отбирают не менее 0,5-1 мл в стерильные пробирки с 3% раствором ЭДТА из расчета 10:1).Пробирка закрывается крышкой и переворачивается несколько раз (для перемешивания с антикоагулянтом);</p> <p>— сыворотка крови: забор крови проводится в пробирку без антикоагулянта.</p> <p>— Мазки (соскобы) со слизистой носоглотки и миндалин.</p> <p>-ткани, продукты свиного происхождения (отбирают в пределах видимых патологический изменений, не менее 1х1х1см), помещают в стерильный контейнер.</p> <p>-лимфоузлы (берут целиком);</p>
Вирусная диарея	<p>-цельная кровь (отбирают не менее 0,5-1 мл в стерильные пробирки с 3% раствором ЭДТА из расчета 10:1).Пробирка закрывается крышкой и переворачивается несколько раз (для перемешивания с антикоагулянтом);</p> <p>-сыворотка крови (забор крови в стерильные пробирки без антикоагулянта),</p> <p>— патматериал (миндалины, легкие, печень, селезенка и др.);</p> <p>-фекалии (5 г отбирают в стерильный пластиковый контейнер);</p> <p>-мазки со слизистой носоглотки и миндалин (берут сухими стерильными зондами с ватными тампонами;</p> <p>-лимфоузлы берут целиком;</p>
Инфекционный ринотрахеит	<p>-сперма (отбирают в объеме не менее 2 мл в стерильные пробирки);</p> <p>-мазки со слизистой носовой полости (берут стерильным зондом, помещая собранный материал в пробирку, содержащую 500мкл стерильного физиологического раствора);</p> <p>-мазки из влагалища (берут стерильным зондом с использованием стерильных гинекологических инструментов, помещая собранный материал в пробирку, содержащую 500мкл стерильного физиологического раствора;</p> <p>-лифоузлы берут целиком;</p>

	-из тканей и органов (селезенки, легкие) вырезают кусочки размером 1x1x1 см и помещают в стерильный контейнер.
Орнитоз	-мазки со слизистых оболочек (конъюнктивы, ротоглотки, клоаки) - берут сухими стерильными зондами с ватными тампонами. После забора материала тампоном (рабочую часть зонда с ватным тампоном) помещают в стерильную одноразовую пробирку с 500мкл стерильного физиологического раствора или раствора фосфатного буфера. Конец зонда отламывают или отрезают, с расчетом, чтобы он позволил плотно закрыть крышку пробирки. Пробирку с раствором и рабочей частью зонда закрывают. -помет птиц берут в стерильные контейнеры в количестве 1-3 г. В связи с непостоянным выделением возбудителя у инфицированной птицы, рекомендуется исследовать не менее трех образцов патматериал (сердце, легкие, почки, печень, селезенка).
ГМО (генетически модифицированные организмы)	Материалом для исследования служат: -фрукты и овощи; -пищевые продукты, содержащие компоненты растительного происхождения; -пищевое сырье растительного происхождения; -биодобавки, содержащие компоненты растительного происхождения. Материалом для исследования НЕ могут служить: -осветленные соки; -сахара; -рафинированные растительные масла.

2 Правила доставки биоматериала на исключение вирусных болезней животных

Для проведения серологических лабораторных исследований в вирусологическом отделе методами ИФА, РТГА, РНГА необходимо отобрать сыворотку крови в объеме: от животных 1-3 мл, от птиц — не менее 0,5 мл. Её необходимо доставить в лабораторию не позднее суток со дня взятия крови при условии хранения сыворотки при температуре +4+6°C. Мутные, проросшие, гемолизированные сыворотки исследованию не подлежат. Допускается однократное замораживание сыворотки крови.

Для исследования биоматериала методами ИФА, РИФ, РГА его необходимо отобрать в период максимального проявления клинических признаков болезни или не позже 2-3 часов после гибели животного. Масса материала должна быть не менее 10-20 г., отрезок кишечника -10-12 см

(лигированный с двух сторон). Пробу упаковать во влагонепроницаемую тару и положить в термос со льдом.

Пробы фекалий помещают в пенициллиновые флаконы, закрывают резиновыми пробками. Смывы со слизистых оболочек берут стерильными тампонами во флаконы с 1-2 мл физ. раствора. Биоматериал необходимо доставить не позднее 1 суток с момента его взятия. Допускается хранение биоматериала при температуре +4-6 °С - 2 суток, при температуре -30 °С — не более 10 дней. Пробы замораживают и доставляют в термосе со льдом.

В сопроводительном документе необходимо указать: наименование и адрес отправителя, вид животного, анамнестические и клинико-эпизоотологические данные, сведения о вакцинации животных.

Таблица 2.

Название болезни	Исследуемый биоматериал	Метод исследования
Болезни, общие для всех видов животных		
Бешенство	Патологический материал (головной мозг)	МФА, ИФА, РДП, биопроба на белых мышах
	Нижняя челюсть с зубами	Люминесцентная микроскопия (обнаружение антибиотиков тетрациклинового ряда)
Болезнь Ауески	Патологический материал (внутренние органы, головной, спинной мозг, лимфатические узлы, абортплоды, плацента)	Биопроба на кроликах
	Сыворотка крови	РНГА (напряженность иммунитета)
Оспа	Глубокие соскобы с пораженных участков кожи	Световая микроскопия, заражение К.Э.
Хламидиоз	Биоматериал (плацента, влагалищная слизь, сперма, абортплоды, паренхиматозные органы павших животных)	Световая, люминесцентная микроскопия, заражение К.Э.
Болезни крупного рогатого скота		
Парагрипп-3 (ПГ-3)	Сыворотка крови	РТГА (выявление титра антител)
	Биоматериал (кусочки носовой перегородки, легких, трахеи, мазки со слизистой носовой перегородки)	РИФ (выявление вирусного антигена ПГ-3)
Инфекционный ринотрахеит (ИРТ)	Сыворотка крови	РНГА (выявление титра антител)
Вирусная диарея (ВД)	Сыворотка крови	РНГА (выявление титра антител)
	Биоматериал (носовая перегородка, миндалины,	ИФА (выявление антигена вируса диареи)

	трахея, носовая перегородка, фрагменты тонкого и толстого кишечника павших животных, носовая слизь, фекалии)	
Респираторно-синцитиальная инфекция (РСИ)	Сыворотка крови	РНГА (выявление титра антител)
Коронавирусный энтерит	Биоматериал (фрагменты тонкого и толстого кишечника, фекалии)	ИФА (выявление коронавируса антигена)
Ротавирусный энтерит	Биоматериал (фрагменты тонкого и толстого кишечника павших животных, фекалии больных телят)	ИФА (выявление ротавирусного антигена)
Болезни свиней		
Классическая чума свиней (КЧС)	Сыворотка крови	ИФА (выявление специфических антител у не вакцинированных животных; оценка напряженности иммунитета после вакцинации)
Трансмиссивный гастроэнтерит свиней (ТГС)	Сыворотка крови	ИФА (выявление антител у не вакцинированных животных; оценка напряженности иммунитета после вакцинации)
	Фекалии	ИФА (выявление антигена вируса)
Ротавирус свиней (РВС)	Фекалии	ИФА (выявление антигена вируса)
Цирковирус свиней второго типа (ЦВС-2)	Сыворотка крови	ИФА (выявление антител к ЦВС-2)
Репродуктивно-респираторный синдром свиней (РРСС)	Сыворотка крови	ИФА (выявление антител у не вакцинированных животных; оценка напряженности иммунитета после вакцинации)
Парвовирусная болезнь свиней	Сыворотка крови	РТГА (выявление специфических антител)
	Абортированные плоды длиной не более 15 см (до	РГА (выявление парвовирусного антигена)

	65- го дня внутриутробного развития)	
Болезни птиц		
Грипп птиц (ВГП)	Сыворотка крови	РТГА (обнаружение антител у не вакцинированной птицы; определение напряженности поствакцинального иммунитета)
		ИФА (выявление специфических антител у не вакцинированных кур; оценка напряженности иммунитета после вакцинации)
Болезнь Ньюкасла (НБ)	Сыворотка крови	РТГА (обнаружение антител у не вакцинированной птицы; определение напряженности поствакцинального иммунитета)
Инфекционный бронхит кур (ИБК)	Сыворотка крови	ИФА (выявление антител)
	Пробы тканей и органов-трахеи, слизистой оболочки носовой полости, почек, легких от убитой или павшей птицы, от взрослой птицы- почек и яйцеводов	Заражение КЭ
Инфекционная бурсальная болезнь (ИББ)	Сыворотка крови	ИФА (выявление антител)
Инфекционный ларинготрахеит (ИЛТ)	Сыворотка крови	ИФА (выявление антител)
	Патологический материал (часть слизистой оболочки гортани, трахеи, конъюнктивы, носовых ходов (включая экссудаты) и легких)	Заражение КЭ
Реовирусная инфекция	Сыворотка крови	ИФА (выявление антител)
Энцефаломиелит птиц (ИЭМ)	Сыворотка крови	ИФА (выявление антител)
Микоплазмозы птиц (<i>Mycoplasma gallisepticum</i> , <i>Mycoplasma synoviae</i>)	Сыворотка крови	ИФА (выявление антител)
Синдром снижения яйценоскости (ССЯ-76)	Сыворотка крови	РТГА (выявление антител у не вакцинированной птицы; определение напряженности поствакцинального иммунитета)
Болезни плотоядных		
Чума собак	Дефибринированная кровь, участки головного мозга,	ИФА (выявление антигена вируса)

	конъюнктивальные и назальные смывы	
Аденовирусная инфекция плотоядных	Пробы фекалий, моча, носовые и фарингеальные смывы, дефибринированная кровь, фрагменты печени	ИФА (выявление антигена вируса)
Парвовирус собак, вирус энтерита норок	Пробы фекалий, дефибринированная кровь, участки тонкого и толстого отделов кишечника	ИФА (выявление антигена вируса)
Панлейкопения кошек	Пробы фекалий, дефибринированная кровь, участки тонкого и толстого отделов кишечника	ИФА (выявление антигена вируса)

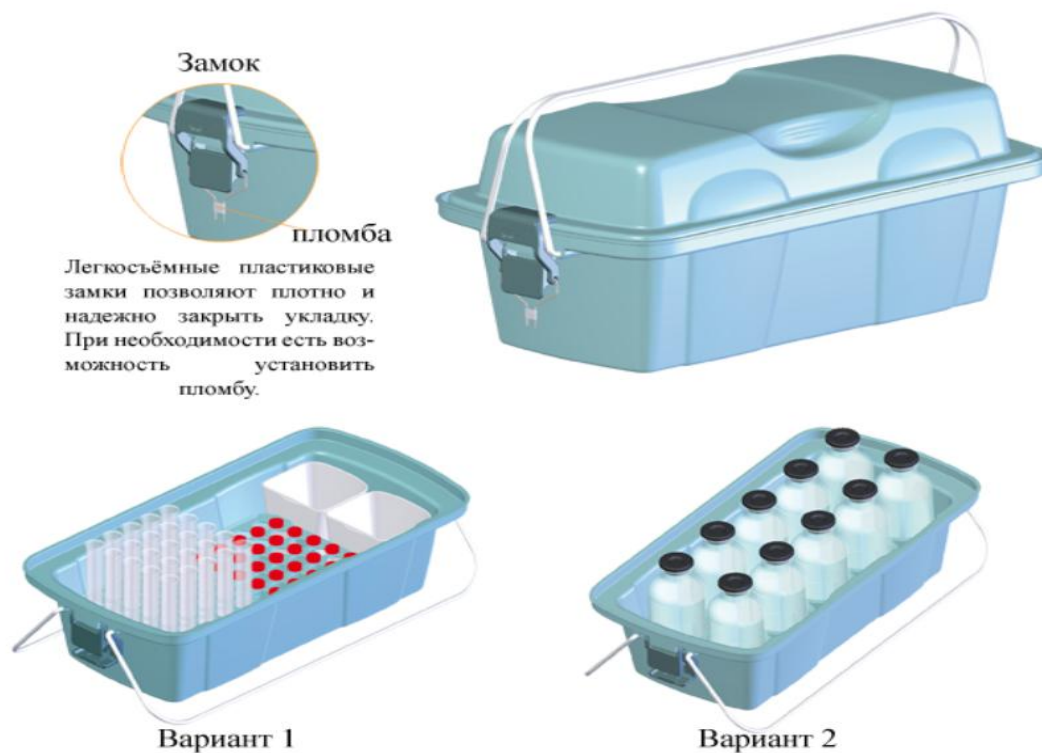


Рис.1 Контейнеры для перевозки биоматериала



Рис. 2 Сумка-контейнер для перевозки биоматериала