

*П.М. Супрович, І.О. Чорний*

# ЛАБОРАТОРНІ МЕТОДИ ДІАГНОСТИКИ ХВОРОБ ТВАРИН

Навчальний посібник

*Кам'янець-Подільський*

2023



**ЗАКЛАД ВИЩОЇ ОСВІТИ  
«ПОДІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ»**

факультет ветеринарної медицини і технологій у тваринництві  
кафедра гігієни тварин та ветеринарного забезпечення кінологічної  
служби національної поліції України

**Т.М. Супрович, І.О. Чорний**

**ЛАБОРАТОРНІ МЕТОДИ ДІАГНОСТИКИ ХВОРОБ ТВАРИН**

Навчальний посібник

За редакцією  
доктора сільськогосподарських наук, професорки Т.М. Супрович

м. Кам'янець-Подільський

2023

УДК 619:616:542.2 /4(075.8)

**Укладачі:**

**Тетяна СУПРОВИЧ,**

завідувачка кафедри гігієни тварин та ветеринарного забезпечення кінологічної служби Національної поліції України, доктор сільськогосподарських наук, професорка

**Ігор ЧОРНИЙ,**

асистент кафедри гігієни тварин та ветеринарного забезпечення кінологічної служби Національної поліції України.

*Рекомендовано до друку науково-методичною радою  
Закладу вищої освіти «Подільський державний університет»  
(протокол № 2 від 29 березня 2023 р.*

**Рецензенти:**

**Олег ВІЩУР**

завідувач лабораторії імунології Інституту біології тварин НААН, доктор ветеринарних наук, професор

**Микола КУХТИН**

провідний науковий співробітник лабораторії Тернопільської дослідної станції Інституту ветеринарної медицини НААН, доктор ветеринарних наук, професор

**Кирило КОПИЛОВ**

провідний науковий співробітник відділу генетики та біотехнології тварин Інституту розведення і генетики тварин імені М.В.Зубця НААН, доктор сільськогосподарських наук, професор

**Тетяна КАРЧЕВСЬКА**

доцентка кафедри інфекційних та інвазійних хвороб Закладу вищої освіти «Подільський державний університет», кандидатка ветеринарних наук, доцент

Супрович Т.М., Чорний І.О. Навчальний посібник до вивчення курсу «Лабораторні методи діагностики хвороб тварин» для здобувачів другого (магістерського) рівня вищої освіти спеціальності 211 «Ветеринарна медицина». Кам'янець-Подільський: ЗВО «ПДУ», 2023. 187 с.

Уміщені матеріали до вивчення курсу «Лабораторні методи діагностики хвороб тварин». Подані рекомендації щодо формування сучасного креативного професійного світогляду майбутніх працівників ветеринарної медицини лікарів – лаборантів за широким спектром організаційних справ і управлінням технологіями якості лабораторних досліджень.

© ЗВО «ПДУ», 2023

## ЗМІСТ

<b>ВСТУП</b> .....	8
<b>РОЗДІЛ 1. ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ ПРО ЛАБОРАТОРІЮ ДЕРЖПРОДСПОЖИВСЛУЖБИ</b> .....	9
<b>ТЕМА 1. ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ ПРО ЛАБОРАТОРІЮ ДЕРЖПРОДСПОЖИВСЛУЖБИ. ТЕРИТОРІЇ ТА ВИРОБНИЧІ ПРИМІЩЕННЯ ЛАБОРАТОРІЇ.</b> .....	9
1.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА .....	9
1.1.1. Структура та завдання лабораторій Держпродспоживслужби .....	9
1.1.2. Вимоги до професійного підбору персоналу .....	16
1.1.3. Загальний режим роботи в лабораторії .....	21
1.1.4. Зберігання та транспортування вихідних матеріалів .....	23
1.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА .....	25
1.2.1. Державна лабораторія Держпродспоживслужби та її завдання .....	25
<b>ТЕМА 2. ЗАГАЛЬНІ МЕТОДИ ЛАБОРАТОРНОЇ РОБОТИ</b> .....	31
2.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА .....	31
2.1.1. Методи стерилізації .....	31
2.1.2. Робота у автоклавній .....	36
2.1.3. Робота в боксі .....	39
2.1.4. Робота в бактеріологічній кухні .....	40
2.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА .....	41
2.2.1. Організація роботи в лабораторії з культурами мікроорганізмів та хімічними речовинами .....	41
2.2.2. Організація роботи у автоклавній кімнаті .....	45
2.2.3. Організація роботи у секційній та в боксі .....	50
<b>ТЕМА 3. ЗАГАЛЬНІ ПРАВИЛА ВЗЯТТЯ ПАТОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ, КРОВІ ТА ПЕРЕСИЛКА ЇХ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ</b> .....	54
3.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА .....	54
3.1.1. Взяття та пересилка патологічного матеріалу для бактеріологічного та вірусологічного дослідження .....	54
3.1.2. Взяття крові для серологічного дослідження .....	56
3.1.3. Відбір матеріалу для патогістологічного дослідження .....	58
3.1.4. Упаковка та пересилка патологічного матеріалу .....	58
3.1.5. Порядок оформлення і відправки супровідних документів до матеріалу, що направляється для дослідження .....	59
3.1.6. Правила приймання патологічного та інших матеріалів для дослідження .....	60
3.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА .....	61
3.2.1. Відбір матеріалу, та пересилка для лабораторного дослідження .....	61
<b>ТЕМА 4. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ТА ЛАБОРАТОРНІ ТВАРИНИ</b> .....	66

4.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА.....	66
4.1.1. Історична довідка.....	66
4.1.2. Класифікація лабораторних тварин.....	67
4.1.3. Поняття про лінійних лабораторних тварин.....	68
4.1.4. Гнотобіоти («стерильні») лабораторні тварини.....	70
4.1.5. Постнатальний розвиток тварин.....	75
4.1.6. Медико-біологічний експеримент і вибір лабораторних тварин.....	77
4.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА.....	79
4.2.1. Організація роботи у віваріях.....	79
<b>ТЕМА 5. ЗООТЕХНІЧНІ ОСНОВИ УТРИМАННЯ, ГОДУВАННЯ ТА РОЗВЕДЕННЯ ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН.....</b>	<b>87</b>
5.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА.....	87
5.1.1. Розплідники лабораторних тварин, експериментально-біологічні клініки, віварії.....	87
5.1.2. Утримання лабораторних тварин і догляд за ними.....	90
5.1.3. Основи годівлі лабораторних тварин.....	93
5.1.4. Розведення лабораторних тварин.....	95
5.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА.....	97
5.2.1. Лабораторні гризуни, використання їх в експериментах.....	97
<b>ТЕМА 6. ЛАБОРАТОРНІ ГРИЗУНИ. ОСНОВИ ЗООГІЄНИ І ПРОФІЛАКТИКИ ЗАХВОРЮВАНЬ ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН.....</b>	<b>103</b>
6.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА.....	103
6.1.1. Приховані хвороби лабораторних тварин.....	103
6.1.2. Паразитарні і мікозні захворювання лабораторних тварин. Зооантропонози.....	108
<b>РОЗДІЛ 2. ОРГАНІЗАЦІЯ РОБОТИ У ВІДДІЛАХ ЛАБОРАТОРІЇ ДЕРЖПРОДСОЖИВСЛУЖБИ.....</b>	<b>111</b>
<b>ТЕМА 7. БАКТЕРІОЛОГІЧНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....</b>	<b>111</b>
<b>ТЕМА 7. ЕКОЛОГІЯ МІКРООРГАНІЗМІВ.....</b>	<b>111</b>
7.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА.....	111
7.1.1. Правила охорони праці і техніка безпеки у відділі бактеріологічної діагностики.....	111
7.1.2. Підготовка матеріалу для дослідження.....	112
7.1.3. Бактеріоскопічні дослідження.....	114
7.1.4. Виділення і вивчення чистих мікробних культур.....	116
7.1.5. Підготовка матеріалу і піддослідних тварин для проведення біопроби..	118
7.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА.....	120
7.2.1. Організація роботи в бактеріологічному відділі.....	120
<b>ТЕМА 8. ЗАГАЛЬНІ ПРИНЦИПИ РОБОТИ В СЕРОЛОГІЧНОМУ ВІДДІЛІ.....</b>	<b>128</b>

8.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА .....	128
8.1.1. Серологічні методи дослідження .....	128
8.1.2. Дослідження крові .....	132
8.1.3. Реакції імунної дифузії (РІД).....	134
8.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА.....	135
8.2.1. Організація роботи у серологічному відділі .....	135
<b>ТЕМА 9. ЗАГАЛЬНІ ПРИНЦИПИ РОБОТИ В ВІРУСОЛОГІЧНОМУ</b>	
<b>ВІДДІЛІ .....</b>	<b>139</b>
9.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА .....	139
9.1.1. Організація роботи в вірусологічному відділі .....	139
9.1.2. Взяття і пересилка проб та послідовність діагностичних досліджень .....	141
9.1.3. Виділення вірусів на біологічних об'єктах.....	145
9.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА.....	147
9.2.1. Організація роботи у вірусологічному відділі .....	147
<b>ТЕМА 10. ОРГАНІЗАЦІЯ РОБОТИ В ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНОМУ</b>	
<b>ВІДДІЛІ. ДІАГНОСТИКА МІКОЗІВ ТА МІКОТОКСИКОЗІВ....</b>	<b>151</b>
10.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА .....	151
10.1.1. Біохімічні дослідження.....	151
10.1.2. Функції лабораторії .....	153
10.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА.....	154
10.2.1. Організація роботи в хіміко-токсикологічному і в радіологічному відділах.....	154
<b>ТЕМА 11. ОРГАНІЗАЦІЯ РОБОТИ В ПЛР-ЛАБОРАТОРІЇ .....</b>	<b>161</b>
11.1.ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА .....	161
11.1.1. Історія відкриття методу ПЛР .....	161
11.1.2. Області застосування ПЛР .....	163
11.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА.....	166
11.2.1. Принципи організації ПЛР-лабораторії. Комплексне обладнання для ПЛР-лабораторії.....	166
<b>ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ.....</b>	<b>172</b>
<b>ВИКОРИСТАНА ТА РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА.....</b>	<b>183</b>

## ВСТУП

Одним з важливих розділів становлення та розвитку сучасної ветеринарної медицини є достатня об'єктивність якості лабораторних досліджень, своєчасне забезпечення необхідної сучасної лабораторної інформації практичних лікарів.

Навчальна дисципліна «Лабораторні методи діагностики хвороб тварин» є однією із вибіркових дисциплін в процесі підготовки фахівців освітнього ступеня «Магістр» за спеціальністю 211-лікар ветеринарної медицини. Метою вивчення предмету є формування у майбутніх фахівців глибоких теоретичних знань і практичних навичок з питань організації ведення діловодства в лабораторіях Держпродспоживслужби, методів діагностики та специфічної профілактики інфекційних, інвазійних хвороб тварин, мікозів, мікотоксикозів, отруень, а також хвороб незаразного характеру.

Вивчення дисципліни виробляє у здобувачів набуття теоретичних знань, формування професійних навичок та розвиток клінічного мислення при лабораторній діагностиці хвороб тварин.

Навчальний посібник містить 11 тем, в яких висвітлюються основи дисципліни, наведено список рекомендованої літератури та тестові завдання.

За основу побудови посібника взято поділ на два розділи: загальні положення про лабораторію і організація роботи у відділах лабораторії Держпродспоживслужби. За змістом він відображає усі складові частини курсу та лабораторний практикум і складений таким чином, щоб поєднати теоретичні і практичні знання здобувачів. У посібнику надана вся інформація, яка необхідна для підготовки здобувачів до вивчення даної дисципліни: теоретичний матеріал у відповідності до програми курсу; лабораторний практикум, з методиками лабораторного дослідження у всіх підрозділах лабораторії; контрольні питання з кожної теми курсу; тестові завдання.

У посібнику також представлений ілюстративний матеріал у вигляді рисунків, таблиць, що сприятиме поглибленому вивченню та засвоєнню здобувачами теоретичного матеріалу.

Посібник побудований з врахуванням взаємозв'язку з іншими дисциплінами (ветеринарною мікробіологією, ветеринарною вірусологією, ветеринарною клінічною біохімією, епізоотологією, імунологією) що робить його, на думку авторів, досить інформативним.

# РОЗДІЛ 1. ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ ПРО ЛАБОРАТОРІЮ ДЕРЖПРОДСПОЖИВСЛУЖБИ

## ТЕМА 1. ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ ПРО ЛАБОРАТОРІЮ ДЕРЖПРОДСПОЖИВСЛУЖБИ. ТЕРИТОРІЇ ТА ВИРОБНИЧІ ПРИМІЩЕННЯ ЛАБОРАТОРІЇ

### 1.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

#### 1.1.1. Структура та завдання лабораторій Держпродспоживслужби

Лабораторія Держпродспоживслужби (від латинського *laboro* – працюю) це діагностичний заклад Державної служби ветеринарної медицини.

Мета лабораторної діагностики – досягнення гарантії якості лабораторних досліджень на основі вдосконалення та високої достовірності методик дослідження, а також забезпечення необхідної лабораторної інформації для практичної ветеринарної медицини. Її завдання встановити діагноз хвороби, причину загибелі, виключити захворювання або підтвердити здоровий стан тварин, стада. Лабораторія Держпродспоживслужби проводить велику та багатосторонню роботу – діагностичну, профілактичну, протиепізоотичну, консультативну.

Відповідно з рівнем сучасної науки спеціалісти лабораторії діагностують інфекційні та паразитарні хвороби тварин, мікози, мікотоксикози, отруєння, а також хвороби незаразного характеру. Нерідко їм доручають випробування нових засобів та методів лікування тварин, нових біологічних препаратів та вдосконалених методів як лікування, так і діагностики захворювання тварин.

В залежності від обслуговуючої зони розрізняють: райони, міські, міжрайонні, регіональні (обласні, окружні, крайові) та республіканські лабораторії Держпродспоживслужби. Крім того, є ще міжобласні і зональні спеціалізовані лабораторії Держпродспоживслужби (наприклад, зональна спеціалізована державна лабораторія Держпродспоживслужби з хвороб молодняку тварин, зональна спеціалізована державна лабораторія Держпродспоживслужби з хвороб тварин, міжобласна спеціалізована державна лабораторія Держпродспоживслужби з хвороб птиці), а також державна лабораторія Держпродспоживслужби, розташовану за місцезнаходженням суб'єкта господарювання щодо забою тварин, переробки, зберігання, транспортування й реалізації продукції тваринного походження.

*Центральна державна лабораторія Держпродспоживслужби* утворена відповідно до Закону України "Про ветеринарну медицину" і підпорядковується Державному департаменту ветеринарної медицини Міністерства аграрної політики України.

*Регіональна державна лабораторія ветеринарної медицини* Державної служби України з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів створена відповідно до Законів України «Про ветеринарну медицину», «Про основні принципи та вимоги до безпечності та якості

харчових продуктів». Вона підпорядковується головному управлінню Держпродспоживслужби в області та належить до сфери управління Державної служби України з питань безпеки харчових продуктів та захисту споживачів.

Структура та повноваження регіональних державних лабораторій ветеринарної медицини визначені Положенням про регіональну державну лабораторію Державної служби України з питань безпеки харчових продуктів та захисту споживачів, затвердженим Наказом Міністерства аграрної політики та продовольства України №120 від 13.03.2017 р.

Лабораторію очолює директор, який має повну вищу освіту відповідного фахового напрямку підготовки, стаж роботи на посаді лікаря ветеринарної медицини не менше п'яти років, досвід роботи на керівних посадах не менше трьох років, а також відповідну підготовку на курсах підвищення кваліфікації. Він призначається на посаду на умовах контракту Головою Держпродспоживслужби за поданням начальника Головного управління Держпродспоживслужби області на строк не більше ніж три роки.

Директор державної обласної лабораторії має двох заступників, яких він має право призначати та звільняти з посади. Заступники директора, завідувачі відділів, головний бухгалтер призначаються на посади і звільняються з посад директором лабораторії за погодженням з начальником Головного управління Держпродспоживслужби області.

У більшості обласних, регіональних державних лабораторіях ветеринарної медицини є десять відділів:

- вірусологічний;
- бактеріологічний та діагностики туберкульозу;
- імунологічний;
- патоморфологічний;
- ветеринарно-санітарної експертизи;
- хіміко-токсикологічний;
- радіологічний;
- паразитологічний;
- метрології та контролю системи якості;
- організації моніторингових досліджень, реєстрації зразків та оформлення документів.

*Міські, районні, міжрайонні, державні лабораторії ветеринарної медицини.* Міська, районна, міжрайонна державні лабораторії Державної служби України з питань безпеки харчових продуктів та захисту споживачів є державними установами ветеринарної медицини, які створені відповідно до Законів України «Про ветеринарну медицину», «Про основні принципи та вимоги до безпеки та якості харчових продуктів». Вони підпорядковуються головному управлінню Держпродспоживслужби в області та належать до сфери управління Державної служби України з питань безпеки харчових продуктів та захисту споживачів.

Структура та повноваження міських, районних, міжрайонних державних лабораторій ветеринарної медицини визначені Положенням про міську,

районну, міжрайонну державні лабораторії Державної служби України з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів, затвердженим Наказом Міністерства аграрної політики та продовольства України №120 від 13.03.2017 року.

До складу Державних лабораторій можуть входити структурні підрозділи (сектори, відділи, філії), а також державні лабораторії ветеринарно-санітарної експертизи на агропродовольчих ринках.

У більшості міських, районних, міжрайонних державних лабораторіях ветеринарної медицини є чотири відділи: бактеріологічний, серологічний, патоморфологічний і хіміко-токсикологічний, які відповідно мають своїх лікарів ветеринарної медицини. В лабораторіях районів, постраждалих від аварії на Чорнобильській АЕС є додатково радіологічні відділи. Очолює кожен з лабораторій директор державної лабораторії ветеринарної медицини.

Лабораторії повинні мати матеріально-технічну базу (територію і будівлі, лабораторне обладнання та апаратуру, віварій з піддослідними лабораторними тваринами тощо), де у повному обсязі і на сучасному рівні фахівці мають здійснювати патолого-анатомічні, гістологічні, мікроскопічні, мікробіологічні, бактеріологічні, біологічні, хіміко-токсикологічні, біохімічні, мікологічні, серологічні, імунологічні, вірусологічні, гельмінтологічні, гематологічні, радіологічні та інші лабораторні дослідження. Також вони зобов'язані і мають право на державну ветеринарно-санітарну експертизу на агропродовольчих ринках та ярмарках.

Лабораторію очолює директор, який має повну вищу освіту відповідного напрямку підготовки, стаж роботи на посаді лікаря ветеринарної медицини не менше трьох років, а також пройшов відповідну підготовку на курсах підвищення кваліфікації.

Директор лабораторії може бути завідувачем одного з відділів лабораторії, він призначається і звільняється з посади начальником Головного управління Держпродспоживслужби в області за погодженням з директором регіональної державної лабораторії Держпродспоживслужби. Інші працівники лабораторії та її структурних підрозділів призначаються на посади і звільняються з посад директором.

***До компетенції обласних і регіональних державних лабораторій ветеринарної медицини належить:***

1) організація та проведення лабораторно-діагностичних (вірусологічних, бактеріологічних, мікробіологічних, хіміко-токсикологічних, патолого-анатомічних, гістологічних, паразитологічних, радіологічних) та інших досліджень з метою діагностики хвороб тварин; визначення безпечності та окремих показників харчових продуктів та інших об'єктів санітарних заходів, побічних продуктів тваринного походження, кормових добавок, преміксів, кормів, репродуктивного матеріалу, біологічних продуктів та продуктів біотехнології, ґрунту, води питної та води для тварин; дослідження засобів захисту рослин, факторів середовища життєдіяльності людини на виявлення шкідливого впливу на здоров'я населення; забезпечення умов для вивчення якості та незалежної експертизи товарів, якості насіння і

садивного матеріалу, а також інших досліджень (випробувань) шляхом проведення повного комплексу досліджень;

2) мікробіологічний, радіологічний, паразитологічний, хіміко-токсикологічний контроль та інший лабораторний контроль на потужностях з виробництва та/або обігу об'єктів санітарних заходів;

3) участь у відборі зразків;

4) проведення клінічних досліджень тварин з метою профілактики, установлення причин захворювання або їх загибелі, проведення державної ветеринарно-санітарної експертизи на агропродовольчих ринках та ярмарках;

5) участь у проведенні державної санітарно-епідеміологічної експертизи;

6) видача експертних висновків, звітів, протоколів досліджень (випробувань) з рекомендаціями відповідно до законодавства;

7) надання практичної, методичної, консультативної допомоги усім підпорядкованим органам системи Держпродспоживслужби: територіальним, районним, міським, міжрайонним державним лабораторіям, державним лабораторіям ветеринарно-санітарної експертизи на агропродовольчих ринках, спеціалістам державних установ, а також ліцензованим лікарям ветеринарної медицини у разі звернення фізичних та юридичних осіб області оперативна організація допомоги з питань профілактики, діагностики та боротьби з хворобами тварин, проведення відбору зразків та лабораторних досліджень (випробувань); прийняття участі у державній ветеринарно-санітарній експертизі харчових продуктів та їх оцінки;

8) підвищення кваліфікації фахівців, проведення семінарів, стажувань спеціалістів лабораторії;

9) оперативне реагування і направлення на місця спалахів захворювань спеціалістів для уточнення діагнозу;

10) надання практичної допомоги в організації і проведенні протиепізоотичних, ветеринарно-санітарних та санітарних заходів у разі виникнення особливо небезпечних хвороб тварин, у тому числі спільних для тварин і людей;

11) участь в апробації лабораторного обладнання, діагностикумів, тест-систем тощо;

12) впровадження в практику роботи державних лабораторій Держпродспоживслужби області апробованих методик, настанов, нової лабораторної техніки, обладнання, новітніх технологій тощо;

13) аналіз та узагальнення звітів лабораторій ветеринарної медицини області та подання звітів у встановленому порядку;

14) проведення атестації працівників на робочих місцях щодо технічної компетентності та/або організація акредитації районних, міських, міжрайонних державних лабораторій Держпродспоживслужби, державних лабораторій ветеринарно-санітарної експертизи на агропродовольчих ринках;

15) виконання метрологічних вимог та забезпечення режиму роботи з мікроорганізмами II-IV груп патогенності;

16) у встановленому порядку участь у розслідуванні випадків виникнення та поширення інфекційних, у т. ч. спільних для людей і тварин,

масових неінфекційних захворювань, отруєнь та радіаційних уражень людей;  
17) здійснення інших повноважень, встановлених законодавством.

*Лабораторія в межах своєї компетенції має право:*

давати спеціалістам державних установ ветеринарної медицини, а також лікарям ветеринарної медицини, які займаються ветеринарною практикою за ліцензіями, методичні вказівки щодо правил відбору матеріалів і надсилання їх на дослідження, пропозиції і рекомендації з організації заходів, спрямованих на профілактику, діагностику і ліквідацію захворювань тварин, поліпшення якості продукції тваринного походження у ветеринарно-санітарному плані та відповідність її технічним умовам і стандартам;

проводити ветеринарно-санітарну експертизу продукції тваринного, а на ринках і рослинного походження;

проводити лабораторні дослідження продукції тваринного походження за рахунок суб'єктів господарювання, власників тварин за плату згідно з тарифами, затвердженими в установленому порядку;

одержувати від юридичних і фізичних осіб, діяльність яких пов'язана з утриманням, транспортуванням, торгівлею тваринами, а також виробництвом, переробкою, зберіганням, транспортуванням та реалізацією продукції тваринного, а на ринках і рослинного походження документи і матеріали, необхідні для вивчення епізоотичного та ветеринарно-санітарного стану району;

узагальнювати та подавати до Державного департаменту ветеринарної медицини заявку щодо закупівлі ветеринарних лікарських засобів та засобів ветеринарної медицини.

Спеціалісти лабораторії несуть відповідальність за недостовірне і некваліфіковане вирішення питань лабораторної діагностики хвороб тварин, проведення ветеринарно-санітарної експертизи, оцінки якості і безпеки продукції тваринного, а на ринках і рослинного походження, кормів тваринного і рослинного походження, недотримання правил роботи і охорони праці в лабораторії, згідно з чинним законодавством.

Лабораторію очолює директор - лікар ветеринарної медицини, який має досвід практичної роботи за фахом не менше трьох років, пройшов відповідну підготовку на курсах підвищення кваліфікації.

Директор лабораторії за посадою одночасно є лікарем ветеринарної медицини-бактеріологом або серологом, хіміком-токсикологом і державним інспектором ветеринарної медицини.

Директор призначається і звільняється з посади начальником Управління ветеринарної медицини в області, згідно з чинним законодавством.

Інші працівники лабораторії та її структурних підрозділів призначаються на посади і звільняються з посад директором лабораторії.

*Директор лабораторії:*

- організовує роботу лабораторії, розподіляє обов'язки її працівників, затверджує посадові інструкції;

- забезпечує оперативне та достовірне ведення діловодства в лабораторії;

- перевіряє за дорученням Головного державного інспектора ветеринарної медицини району роботу суб'єктів господарювання різних форм власності, у тому числі щодо забою тварин, переробки, зберігання, транспортування і реалізації продукції тваринного походження;

- несе відповідальність за невиконання покладених на лабораторію завдань і функцій, незбереження і неправильне використання майна, у тому числі і коштів згідно з кошторисом на її утримання, згідно з чинним законодавством;

- вносить пропозиції та погоджує призначення директорів державних лабораторій ветеринарно-санітарної експертизи на ринках.

*Директор лабораторії має право:*

- залучати спеціалістів державної лабораторії ветеринарно-санітарної експертизи для виконання діагностичних досліджень та інших лабораторних робіт у разі неповного їх завантаження роботою з ветеринарно-санітарної експертизи, а також в інших необхідних випадках;

- застосовувати в установленому порядку заходи заохочення та дисциплінарного стягнення щодо працівників лабораторії;

- розробляти і здійснювати заходи щодо поліпшення організації, стилю і методів роботи лабораторії, підвищення кваліфікації її працівників;

- вносити пропозиції щодо змін штатної чисельності працівників лабораторії;

- виступати представником з питань, які входять до компетенції лабораторії, у всіх державних підприємствах, установах, організаціях, та суді без особливого на це доручення.

Лабораторія у відповідності до нормативно-правових актів забезпечується спеціальним автотранспортом та іншими матеріально-технічними засобами за встановленими нормативами.

Організаційна структура і штатна чисельність лабораторії та державної лабораторії ветеринарно-санітарної експертизи на ринку визначається у встановленому порядку.

При лабораторії можуть створюватися госпрозрахункові підрозділи для надання ветеринарних послуг на договірній основі.

Лабораторія утримується за рахунок коштів загального та спеціального фондів Державного бюджету.

Ведення бухгалтерського обліку здійснюється згідно з вимогами законодавства.

Лабораторія є юридичною особою, має самостійний баланс, рахунки в установах банків, круглу печатку, фірмові бланки, кутовий штамп зі своїм найменуванням.

Лабораторія у своїй діяльності є державною діагностичною установою ветеринарної медицини і несе повну відповідальність за несвоєчасну і недостовірну діагностику відповідно до законодавства. Іншими словами спеціалісти лабораторії несуть відповідальність за правильні і своєчасні дослідження надісланих проб крові, патологічного матеріалу та інших матеріалів, за точність діагностичних заключень. Установлено максимальні

терміни кожного виду лабораторних досліджень. Весь матеріал, який надходить в лабораторію обов'язково реєструється в журналах єдиної форми, встановленої «Інструкцією по ветеринарному обліку та ветеринарній звітності».

Для забезпечення точного діагнозу дуже важливо строго дотримуватись вимогам по відбору та доставці в лабораторію крові, патологічного та іншого матеріалу. Тому всі спеціалісти ветеринарної медицини та заклади ветмедицини зобов'язані виконувати «Правила відбору зразків патологічного матеріалу, крові, кормів, та пересилання їх для лабораторного дослідження, затвердженні Головою Державного департаменту ветмедицини Мінсільгосппроду України П.П. Достоєвський від 15 квітня 1997 р., №15-14\111. Викладені в законодавстві України про ветмедицину.

Необхідно також правильно заповнювати супровідний документ на матеріал, що направляється в лабораторію. Форми цих документів розміщені в другому томі «Ветеринарного законодавства». Як правило, кров та інший матеріал направляється в лабораторію з нарочним, який повинен бути ретельно проінструктований спеціалістом ветмедицини про запобіжні заходи що до перевезення патологічного матеріалу та проб крові.

Відповідальний момент в роботі лікаря лабораторії – оформлення заключення по експертизі. Органи ветмедицини вимагають від лабораторій, щоб вони давали практичним працівникам вичерпні заключення про результати дослідження, що допомагає розібратися в захворюванні та вжити необхідних заходів що до лікування та профілактики.

*Режим праці та відпочинку.*

Тривалість робочого часу працівників лабораторії встановлюється згідно з Кодексом законів про працю України та Списком виробництв, цехів, професій і посад із шкідливими умовами праці, робота в яких дає право на додаткову відпустку й скорочений робочий день.

Відповідно до Інструкції про протиепідемічний режим роботи з матеріалом, зараженим або підозрілим на зараження збудниками інфекційних захворювань I-II груп, час безперервної роботи з інфікованим або підозрілим у зараженні матеріалом обмежується 3-4 годинами, після чого встановлюється годинна перерва у роботі з цим матеріалом. При потребі проведення термінових досліджень у разі виникнення особливо небезпечних хвороб, ця перерва скорочується до 30 хвилин.

Дослідження у нічний час здійснюється тільки в екстрених випадках.

Дослідження зараженого або підозрілого в зараженні матеріалу після закінчення робочого дня може бути продовжено тільки з дозволу керівника лабораторії за умови присутності не менше двох осіб (лікаря та лаборанта).

Забороняється застосування праці вагітних жінок для роботи з отруйними речовинами, живими вірусами, радіоактивними речовинами та іншими джерелами іонізуючих випромінювань на весь період вагітності, а з радіоактивними речовинами у відкритому вигляді та на весь період годівлі дитини груддю, відповідно до ДНАОП 0.03-1.72-87 та НАОП 9.1.50-1.09-81.

Для запобігання перевтоми та пошкодження зору під час роботи з

мікроскопом та іншими оптичними приладами необхідно:

- забезпечити правильне освітлення поля зору, передбачене для даного мікроскопа або приладу;
- робити перерви на п'ять хвилин через кожні півгодини роботи.

### **1.1.2. Вимоги до професійного підбору персоналу**

До роботи у відділах лабораторії допускаються особи, які досягли 18-річного віку, пройшли попередній медичний огляд, відповідну спеціальну підготовку і детально ознайомлені з правилами роботи з культурами бактерій, вірусів та інших мікроорганізмів, з інфікованим або підозрілим на інфікованість матеріалом, з хімічними речовинами, а також навчені методам роботи з лабораторними тваринами та експлуатації лабораторного обладнання.

До роботи, пов'язаної із зберіганням, відпуском і застосуванням лікарських засобів, допускаються особи, які мають вищу або середню спеціальну ветеринарну або фармацевтичну освіту.

До експлуатації автоклавів та балонів із стиснутими або зрідженими газами можуть бути допущені працівники, які пройшли попередній медичний огляд, навчання за відповідною програмою, атестовані і мають посвідчення на право обслуговування автоклавів чи балонів.

Навчання та атестація персоналу, який обслуговує посудини, що працюють під тиском, повинні проводитися у професійно-технічних училищах, в учбово-курсних комбінатах (курсах), а також на курсах, спеціально створених підприємствами за узгодженням з місцевими органами Держпраці. Індивідуальна підготовка персоналу не допускається.

Для кожної лабораторії повинна бути відведена ділянка з урахуванням розташування на ній необхідних виробничих і допоміжних будівель та споруд. Вибір майданчика під лабораторію повинен проводитися відповідно до вимог ДБН-360 та Державних санітарних правил планування та забудови населених пунктів.

Територія лабораторії за розмірами та характером місцевості повинна відповідати нормам технологічного проектування об'єктів ветеринарної медицини.

Територія лабораторії повинна бути огорожена та утримуватися у відповідному санітарному та протипожежному стані.

Проїзди, пішохідні проходи і під'їзди до виробничих будівель та інших об'єктів на території лабораторії повинні мати тверде вологонепроникне покриття і стоки.

Територія лабораторії повинна охоронятися та освітлюватися в нічний час.

Виробничі, складські та допоміжні приміщення на території лабораторії необхідно розміщувати з урахуванням відповідних умов безпеки.

В'їзд стороннього транспорту і вхід сторонніх осіб на територію лабораторії забороняється.

Будівництво нових і переобладнання наявних виробничих приміщень лабораторії повинно проводитись за типовими або індивідуальними проектами, погодженими з органами державної ветеринарної медицини та державного санітарно-епідеміологічного нагляду.

Види приміщень лабораторного корпусу визначаються характером і обсягом досліджень, які проводяться, і залежать від зони діяльності лабораторії (господарство, район, область).

Лабораторні приміщення розміщують, як правило, в окремих будівлях (комплексі будівель). В окремих випадках дозволяється розміщення лабораторії в одному приміщенні з установами державної ветеринарної медицини за умов ізоляції виробничих приміщень лабораторії від адміністративних. Розміщення на території, або в приміщеннях лабораторії інших установ та організацій не допускається.

Лабораторії ветеринарно-санітарної експертизи необхідно розміщувати в торговельній зоні ринків, в приміщеннях, які мають окремий вхід, або в окремих будівлях.

Приміщення лабораторії повинні мати центральне опалення та, крім боксів, загальну примусову припливно-витяжну вентиляцію, які повинні відповідати ДБН В.2.5-67:2013 та ДНАОП 0.03-3.15-86.

Вентиляція повинна забезпечувати необхідну кратність обміну повітря та мікрокліматичні умови.

У блоці для заразного або підозрілого в зараженні матеріалу на виході припливно-витяжної вентиляції встановлюють біологічний фільтр.

Приміщення хіміко-токсикологічного відділу, де проводять роботу з особливо шкідливими та отруйними речовинами, додатково обладнують місцевою витяжною вентиляцією (витяжною шафою). Вентиляційні пристрої витяжних шаф повинні бути ізольовані від загальної вентиляційної системи.

Бокс обладнують самостійною автоматичною припливно-витяжною вентиляцією з бактеріологічним фільтром. Щоб запобігти надходженню повітря з інших приміщень, вентиляцію влаштовують так, щоб вона автоматично вимикалася при відчиненні дверей боксу. Вікна у боксах повинні бути зачинені наглухо.

Природне і штучне освітлення виробничих і побутових приміщень лабораторії повинно відповідати вимогам ДБН В.2.5-28-2006.

Світильники й арматура у виробничих приміщеннях повинні бути закритого типу і доступними для вологого очищення.

Приміщення лабораторії повинні розташовуватись відповідно до основного потоку технологічного процесу (приймання матеріалу для дослідження, первинна обробка, власне дослідження, знезараження відпрацьованого матеріалу, посуду тощо).

У кожному лабораторному корпусі має бути вхід для працівників лабораторії та окремий вхід (двері) для внесення патологічного та інших матеріалів, що надходять для дослідження. Вхід для внесення патматеріалу повинен вести в кімнату для їхнього приймання та в секційну. Кімнату відділяють від передньої (тамбуру) дверима, в яких є віконце зі стулками.

Секційну, приміщення для посівів та обробки матеріалів розміщують біля кімнати для приймання проб з урахуванням поточності роботи із зараженим матеріалом.

Автоклавні, мийні, лаборантські та кімнати для приготування середовищ необхідно згрупувати в один вузол.

*У лабораторії необхідно передбачити ізоляцію:*

- приміщень для приймання патологічного матеріалу, секційної, віварію, а також вірусологічного, бактеріологічного, серологічного й радіологічного відділів від інших підрозділів;

- приміщень для ізолятора та карантину у віварії від інших приміщень віварію;

- між кормокухнею, секціями для тварин та дезінфекційно-мийним відділенням віварію.

Віварії для утримання здорових (не заражених) і піддослідних (заражених) тварин необхідно розміщувати у відокремлених приміщеннях або в окремо розташованих будівлях.

У виняткових випадках, при розташуванні віварію для заражених тварин в основному лабораторному корпусі, приміщення цього віварію повинні бути повністю ізолювані від інших підрозділів.

При вході до віварію і до кожного з його приміщень, для знезараження взуття повинні бути обладнані дезінфекційні бар'єри на ширину входу і довжиною не менше ніж 1 м.

У лабораторії необхідно додержуватися принципу поділу приміщень, у яких безпосередньо проводиться робота з інфікованим матеріалом, з отруйними хімічними речовинами, а також радіологічні дослідження, та приміщень, у яких проводяться інші роботи, не пов'язані зі шкідливими умовами.

Відділи вірусологічний, хіміко-токсикологічний (хімічний), біохімічний, радіологічний, бактеріологічний, серологічний повинні складатися не менше ніж з двох кімнат, одна з яких служить допоміжним приміщенням (лаборантською для підготовки матеріалу).

Для проведення досліджень харчових продуктів за показниками безпеки необхідно виділити окремий блок з дотриманням вимог під час проведення санітарно-бактеріологічних досліджень (окреме приймання матеріалу, бокс з передбоксом, кімната для роботи з посівами).

Приміщення відділів лабораторії, у яких проводяться роботи із збудниками заразних хвороб, повинні бути ізолювані (окрема будівля або блок з окремим входом). Внутрішнє розміщення приміщень лабораторії повинно максимально забезпечувати безпеку працівників (розподіл на "заразну", "умовно заразну" і "чисту" частини, душ за типом санітарного пропускника тощо та не менше двох окремих входів).

*На "чистій" частині повинні бути окремі приміщення (кімнати) для:*

- радіологічних досліджень;

- приготування живильних середовищ, розчинів тощо;

- стерилізації та автоклавування середовищ, посуду тощо;

- ведення записів та роботи з книгами;
- підготовчих робіт (лаборантська, препаратозна, мийно-дезінфекційна);
- виробництва біологічних препаратів, мікроелементів, лікувальних засобів (окремий блок);
- приймання їжі;
- особистої гігієни;
- туалету та куріння.

*На "умовно заразній" частині повинні бути окремі приміщення для:*

- хіміко-токсикологічних досліджень;
- біохімічних досліджень;
- мікологічних досліджень;
- гематологічних досліджень;
- паразитологічних досліджень;
- гістологічних досліджень;
- досліджень з ветеринарно-санітарної експертизи (дослідження харчових продуктів, сировини та кормів).

*На "заразній" частині повинні бути такі приміщення:*

- санпропускник для переодягання та прийняття гігієнічного душу;
- бактеріологічних досліджень;
- вірусологічних досліджень;
- серологічних досліджень;
- досліджень шкірсировини на сибірку;
- приймання патологічного матеріалу для дослідження;
- секційна для розтину трупів і обробки матеріалів, які надходять для дослідження;
- блок для роботи із зараженими піддослідними тваринами;
- автоклавна для знешкодження патматеріалу та культур;
- крематорій для спалювання трупів тварин, залишків проб та відпрацьованого матеріалу.

Розміщення відповідних приміщень лабораторного корпусу визначається послідовністю роботи з приймання матеріалу, його попередньої обробки, дослідження, знезараження інфікованого матеріалу та інвентарю, а також знешкодження посуду та інвентарю.

Обов'язково повинні бути обладнані ізольовані бокси з передбоксниками в таких приміщеннях:

- бактеріологічних досліджень;
- вірусологічних досліджень;
- серологічних досліджень;
- паразитологічних досліджень;
- мікологічних досліджень;
- досліджень з ветеринарно-санітарної експертизи;
- секційній для розтину трупів тварин і обробки матеріалів, що надходять

для дослідження;

- блоці для роботи із зараженими піддослідними тваринами;
- приготування живильних середовищ, розчинів тощо.

Приміщення лабораторії повинні бути обладнані водогоном гарячої та холодної води та каналізацією відповідно до СНіП 2.04.01-85.

Каналізацію необхідно обладнувати очисними спорудами із знезаражувальними пристроями.

Умивальники у виробничих приміщеннях необхідно обладнувати змішувачами холодної та гарячої води. Безпосередньо біля кожної раковини встановлюють бутель з тубусом, в якому повинен постійно знаходитися 0,5% розчин хлораміну для дезінфекції рук, а також кладуть господарське й туалетне мило, вішають рушник.

Підлога в приміщеннях, де проводиться робота з матеріалом, зараженим або підозрілим у зараженні збудниками I-IV груп патогенності, в хіміко-токсикологічному, радіологічному, мікологічному відділах, а також у коридорах повинна бути встелена вологонепроникним матеріалом (лінолеумом, пластиком тощо).

Підлога в секційній, автоклавній, мийній, боксах, приміщеннях віварію повинна мати нахил до отвору або жолоба каналізації, покриття з гладенької плитки та бортики вздовж стін.

Приміщення лабораторії повинні бути непроникні для гризунів.

Стіни в приміщеннях вірусологічного, бактеріологічного і виробничого відділів, у боксах, секційній, мийній, автоклавній і віварії від підлоги до стелі, або на висоту не менше 2 м, повинні бути облицьовані глазурованою плиткою або плиткою із гладеньких синтетичних матеріалів. Стеля у цих приміщеннях, а також стіни й стеля в решті приміщень і в коридорах, а також двері повинні бути пофарбовані олійною або іншою вологостійкою фарбою світлих тонів. Двері у всіх виробничих приміщеннях повинні бути гладкими, без виступів.

Лабораторні столи і витяжні шафи для проведення робіт, пов'язаних з відкритим вогнем, лугами, кислотами, повинні мати відповідне захисне покриття.

Побутові приміщення дозволяється використовувати тільки за призначенням та обладнуються згідно з ДБН В.2.2-28-2010.

Туалети, умивальники і душові приміщення.

Шафи в гардеробних для зберігання верхнього одягу, чистого спецодягу та взуття повинні бути з вологостійкого матеріалу або з матеріалу з вологостійким покриттям (пластиком). Кількість шаф повинна відповідати кількості працівників.

Кімната для вживання їжі повинна бути обладнана умивальником, стаціонарним кип'ятильником, електричною плитою і холодильником. Площа кімнати визначається із розрахунку 1 м<sup>2</sup> на кожного працівника (відвідувача), але повинна бути не меншою 12 м<sup>2</sup>.

Усі санітарно-побутові приміщення обладнують вентиляцією відповідно до вимог ДБН В.2.5-67:2013 (із заміною ч.5 і додатку 22 на ДБН В.2.5-56:2014).

### 1.1.3 Загальний режим роботи в лабораторії

Робота з матеріалом, зараженим або підозрілим у зараженні збудниками інфекційних захворювань I-IV груп патогенності, можлива при наявності відповідного дозволу, який видається всім лабораторіям і науково-дослідним інститутам на обслуговуваній території, незалежно від відомчої належності та форми власності, обласними, Київською та Севастопольською міськими режимними комісіями установ охорони здоров'я.

Дозвіл на проведення експериментальних робіт із збудниками II-IV груп небезпеки, а також на випуск бактерійних та вірусних препаратів видає Центральна режимна комісія Міністерства охорони здоров'я України.

Дозвіл видається на підставі офіційного листа за підписом керівника лабораторії, акта перевірки лабораторії режимною комісією установ охорони здоров'я, з доданням схеми руху інфікованого матеріалу, клопотання лабораторії вищого рівня, висновків місцевих органів державного санітарно-епідеміологічного нагляду.

Під час роботи з культурами мікроорганізмів та в усіх інших випадках, пов'язаних з їх зберіганням і обігом у межах лабораторії, працівники лабораторії повинні керуватися інструкцією про порядок зберігання, обігу, відпуску, а також вивозу і ввезення із зарубіжних країн культур мікроорганізмів, токсинів і отрути тваринного та рослинного походження.

У всіх відділах та інших підрозділах лабораторії, де проводяться роботи з культурами патогенних мікроорганізмів або зараженими лабораторними тваринами чи матеріалом, вживають необхідних заходів, що виключають зараження працівників і поширення збудників інфекції за межі підрозділів (приміщень).

До початку та після закінчення роботи виробничі приміщення лабораторії потрібно прибирати вологим способом. У приміщеннях, де працюють з інфікованим матеріалом, прибирання проводять з використанням дезінфекційних розчинів.

У санітарно-побутових приміщеннях (туалетах, душових, умивальнях) потрібно систематично проводити дезінфекцію.

Перед тим, як увійти до відділу або до іншого виробничого приміщення лабораторії, працівник повинен одягнути спеціальний одяг (халат, медичну шапочку або білу хустинку), а при вході в бактеріологічний чи вірусологічний відділи, крім цього, - спеціальне взуття.

Працівники лабораторії не повинні:

- виходити за межі лабораторії в спецодязі та в спецвзутті;
- одягати верхній одяг на халат;
- вносити у виробничі приміщення лабораторії сторонні речі;
- курити, пити воду, вживати їжу, жувати гумку, користуватися косметикою у виробничих приміщеннях;
- зберігати у виробничих приміщеннях продукти харчування.

Не допускається викликати з приміщень лабораторії працівників під час їхньої роботи із заразним або підозрілим на зараженість матеріалом.

За кожним працівником бактеріологічного, вірусологічного, серологічного та інших відділів, де проводяться дослідження, закріплюється певне робоче місце.

У кімнатах, де проводиться робота з інфікованим матеріалом, та в боксах заборонено проводити інші види робіт та вирощувати квіти у вазонах.

У лабораторії необхідно запобігати появі мух, інших комах та гризунів.

З метою запобігання алергічним захворюванням працівників роботу з убитими мікроорганізмами, які висушені будь-яким методом, слід проводити тільки в настільних боксах.

Вакцинні штами необхідно зберігати окремо від патогенних у спеціальних шафах, термостатах, холодильниках. Не допускається сумісне зберігання в одному холодильнику живих культур патогенних мікроорганізмів та діагностичних препаратів.

Пробки матраців, флаконів, пробірок потрібно відкривати тільки над полум'ям пальника. Заразний матеріал вносять у посудини так, щоб не інфікувати горловину посудини. Краї отворів посудин прожарюють над полум'ям пальника і закривають пробками.

Усі культури патогенних та виробничих штамів мікроорганізмів (бактерії, віруси та інші культури, зразки, підозрілі на зараженість), виділені у лабораторії, або ті, що надійшли для роботи, підлягають обліку й реєструються в журналі руху інфікованого матеріалу (додаток 1).

У кожній лабораторії наказом керівника призначається особа, відповідальна за облік, зберігання та знезараження культур мікроорганізмів, виділених у лабораторії і таких, що надходять для виробничих потреб.

На посуді, в якому знаходяться культури, повинна бути чітко написана назва культури, номер експертизи та дата надходження, посіву або пересіву матеріалу.

Щоденно, після закінчення робочого дня, інфікований матеріал поміщають у термостат або шафу, які опечатують. Кожну кімнату лабораторії, в якій є об'єкти із заразним матеріалом, замикають та опечатують.

При виявленні пошкодження печатки відповідальний за її зняття повинен негайно повідомити керівника лабораторії або його заступника, в присутності якого проводять огляд шафи (холодильника, термостата) і складають акт.

Працювати з патологічним та іншим досліджуваним матеріалом необхідно в гумових рукавичках, користуючись при цьому інструментом (пінцетом, корнцангом, ножицями тощо). Забороняється торкатися досліджуваного матеріалу руками.

Під час роботи з патологічним матеріалом, патогенними культурами бактерій та вірусів, а також з отруйними речовинами не слід торкатися обличчя руками, підносити руки до рота, носа, очей, волосся та користуватися носовою хусточкою.

Не дозволяється допускати до роботи з мікроорганізмами працівників із свіжими або старими порізами, ураженнями шкіри та з будь-якими відкритими ранами, включаючи ті, які утворилися після видалення зубів.

Після зняття гумових рукавичок слід негайно помити руки теплою водою

з милом. Руки також треба мити після зняття забрудненого захисного одягу, перед виходом із лабораторії, перед уживанням їжі та курінням і протягом дня через інтервали, визначені характером роботи.

Засмоктування у піпетки розчинів хімічних реактивів та рідин, які містять збудників інфекційних захворювань, проводять за допомогою гумової груші або автоматичної піпетки. Засмоктування ротом **забороняється**.

Після закінчення робочого часу нефіксовані мазки, чашки Петрі, пробірки та інший посуд із заразним або підозрілим на зараженість матеріалом необхідно зберігати в опечатаних сейфах, термостатах, холодильниках.

Після закінчення досліджень, пов'язаних з виділенням культури мікроорганізмів, і видачі висновків експертизи виділені культури мікроорганізмів знешкоджують автоклавуванням, дотримуючись належного режиму стерилізації.

Після закінчення роботи з патологічним чи іншим досліджуваним матеріалом (зараженим або підозрілим у зараженні) робоче місце, поверхні столів, прилади, апаратуру, інструмент, пробірки, скло, гумові рукавички та інші предмети необхідно обробити відповідним дезінфекційним розчином. Залишки інфікованого матеріалу (культури) термічно знезаражують (автоклавують або спалюють).

Миття посуду після попередньої дезінфекції потрібно проводити в гумових рукавичках.

Після роботи з інфікованим або підозрілим на зараження матеріалом руки потрібно продезінфікувати 0,5% розчином хлораміну, після чого вимити теплою водою з милом.

Працівники, що працюють з живими культурами збудника сибірки, з зараженими лабораторними тваринами або досліджують матеріал, інфікований збудником сибірки, проходять профілактичне щеплення проти сибірки.

Дозволяється використовувати тільки ті дезінфекційні засоби, які зареєстровані та дозволені до застосування в Україні.

Дезінфекційні розчини використовують тільки один раз.

#### **1.1.4. Зберігання та транспортування вихідних матеріалів**

1. Кислоти, луги та інші хімічні речовини, що надходять до лабораторії, необхідно обліковувати і зберігати у спеціальних приміщеннях з дотриманням відповідних умов і запобіжних заходів, передбачених Правилами зберігання, обліку і відпуску отруйних і сильнодіючих лікарських засобів, призначених для ветеринарних цілей.

2. Вогнебезпечні та вибухонебезпечні речовини слід зберігати за межами основних приміщень, у спеціальних приміщеннях з вентиляцією та природним освітленням. У відділах їх можна мати тільки в кількостях, потрібних для роботи на один день.

3. У приміщенні, де зберігаються хімічні речовини, повинні бути ящик з

сухим піском, вода й аварійні розчини для нейтралізації кислот і лугів.

4. Отруйні та сильнодіючі препарати необхідно зберігати в спеціально виділених для цієї мети приміщеннях, вікна яких обладнують металевими ґратами, а двері обшивають бляхою.

5. Отруйні й сильнодіючі засоби списків А і Б, що застосовуються як реактиви, необхідно обліковувати і зберігати під замком у спеціально виділених для цього сейфах, металевих чи обшитих металом дерев'яних шафах або ящиках.

6. Реактиви, що містять отруйні речовини (крім титрованих розчинів), після закінчення роботи зберігають в окремих шафах, що замикаються на замок. Стандартні розчини пестицидів зберігають у холодильниках.

7. Тверді реактиви у вигляді порошків або кристалів повинні зберігатися у банках з притертими пробками.

8. Дезінфекційні засоби необхідно зберігати в закритих складських приміщеннях у міцній непошкодженій тарі з маркуванням, із зазначенням заводу-виготовлювача, дати виготовлення, номера партії, маси тощо.

9. Діетиловий (сірчаний) ефір необхідно зберігати ізольовано від інших речовин у холодному й темному приміщенні, тому що під час зберігання на світлі утворюється вибухова речовина - перекис етилу.

10. Легкозаймисті та горючі рідини необхідно доставляти зі складу в закритому посуді, з матеріалу, що не б'ється, поміщеному в футляр.

11. Дезінфекційні речовини, які надійшли до складу, підлягають контролю на їх бактерицидні властивості. Речовини, не використані впродовж року після контролю, підлягають повторному контролю. Результати контролю заносять у журнал.

У лабораторії **забороняється** зберігати:

- вибухо- і вогненебезпечні речовини разом із сильно отруйними;
- спільно, в безпосередній близькості одна від однієї, речовини, які можуть впливати одна на одну і викликати, внаслідок хімічної взаємодії, пожежу або вибух (наприклад, азотна кислота і будь-яка органічна речовина);
- хімічні речовини в тарі, що не має напису з назвою речовини. Якщо такі речовини будуть виявлені, то вони підлягають вилученню з лабораторії.

Облік і видачу особливо отруйних речовин повинен проводити працівник, призначений наказом по лабораторії.

Реактиви та інші шкідливі хімічні речовини відпускають підрозділам лабораторії з дозволу керівника лабораторії на підставі письмової вимоги.

Відповідальність за зберігання реактивів та інших хімічних речовин у відділах лабораторії покладається на одного із спеціалістів підрозділу.

Реактиви, що розкладаються під дією світла, потрібно зберігати в посуді з темного скла в шафі з непроникними для світла стінками або в картонних коробках.

Реактиви, які роз'їдають скло (фтористоводнева кислота та її солі), зберігають у тарі з ебоніту, поліетилену, пластмаси або у скляному посуді, покритому всередині шаром парафіну.

Леткі кислоти необхідно зберігати в приміщенні з постійною

вентиляцією, оскільки перегрівання посуду з цими кислотами може викликати його розрив. Забороняється зберігати вказані кислоти близько від нагрівальних приладів або під дією сонячних променів і наповнювати ними бутлі більш як на 0,9 їх місткості.

Бутлі з кислотами повинні бути без пошкоджень, щільно закриватися, щоб рідина з них не вихлюпувалася, а кошики, в яких вони вміщені, повинні мати міцні та надійні ручки. Простір між бутлем і кошиком заповнюється дерев'яною стружкою або іншим м'яким матеріалом.

Бутлі з кислотами необхідно переносити тільки удвох, тримаючи за ручки кошика, або перевозити на спеціальних візках. Перед транспортуванням необхідно перевірити справність тари. Не можна переносити бутлі, тримаючи їх перед собою або на спині.

Великі ємкості з кислотами потрібно зберігати у спеціальному ізольованому приміщенні.

Для розливання кислот та їдких лугів необхідно обов'язково застосовувати скляні сифони з грушами або спеціальні штативи, що нахиляються.

Під час роботи з хімічними речовинами і при їх зберіганні необхідно враховувати їх взаємодію між собою та з іншими матеріалами, щоб запобігти виникненню пожеж або інших небезпечних явищ.

Посудини Дюара з рідким азотом необхідно зберігати в закритих приміщеннях із природною вентиляцією. Допускається зберігання посудин за межами приміщень під навісом у заводській неушкодженій тарі.

Посудини зберігати тільки у вертикальному положенні, забороняється зберігати в нахиленому чи горизонтальному положенні.

Не допускається зберігання посудин в атмосфері, насиченій парами кислот та лугів.

Для уникнення підвищеного випаровування рідкого азоту з посудин не рекомендується розміщувати їх поблизу опалювальних приладів та на прямому сонячному світлі.

Зберігання та транспортування імунобіологічних препаратів необхідно проводити згідно з інструкціями з їхнього використання. Знищення цих препаратів із простроченим терміном використання необхідно проводити шляхом автоклавування під тиском в 0,2 МПа протягом 1 години.

## **1.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА**

### **1.2.1. Державна лабораторія Держпродспоживслужби та її завдання**

**Мета заняття.** Ознайомити здобувачів з структурою лабораторії її завданнями, класифікацією лабораторій відносно обслуговуючої зони, нормативними документами, якими керується лабораторія ветеринарної медицини. Засвоїти загальні правила охорони праці та техніки безпеки в лабораторіях ветеринарної медицини. Ознайомити здобувачів з організацією що до планування лабораторно-діагностичних досліджень та звітністю.

Лабораторія Держпродспоживслужби – це самостійна структурна одиниця в системі служби ветеринарної медицини району, області, країни. Основні завдання лабораторії: організація і проведення ветеринарної лабораторної діагностичної роботи; встановити діагноз хвороби, причину загибелі, виключити захворювання або підтвердити здоровий стан тварин, стада.

Лабораторії проводять велику та багатосторонню роботу – діагностичну, профілактичну, протиепізоотичну, консультативну.

Відповідно з рівнем сучасної науки спеціалісти лабораторії діагностують інфекційні та паразитарні хвороби тварин, мікози, мікотоксикози, отруєння, а також хвороби незаразного характеру. Нерідко їм доручають випробування нових засобів та методів лікування тварин, нових біологічних препаратів та вдосконалених методів як лікування, так і діагностики захворювання тварин.

В залежності від обслуговуючої зони розрізняють: районні, міські, міжрайонні, регіонарні (окружні, крайові) та республіканські лабораторії ветеринарної медицини. Крім того, є ще міжобласні і зональні спеціалізовані лабораторії ветмедицини (наприклад, зональна спеціалізована державна лабораторія ветеринарної медицини з хвороб молодняку тварин, зональна спеціалізована державна лабораторія ветеринарної медицини з хвороб тварин, міжобласна спеціалізована державна лабораторія ветеринарної медицини з хвороб птиці), а також державна лабораторія ветеринарної медицини, розташовану за місцезнаходженням суб'єкта господарювання щодо забою тварин, переробки, зберігання, транспортування й реалізації продукції тваринного походження.

Структуру і штати регіонарних, міжобласних, зональних і республіканських лабораторій встановлюють в індивідуальному порядку. В них може бути від 5 до 17 відділів – бактеріологічний, діагностичний, серологічний, вірусологічний, хіміко-токсикологічний, епізоотичний, паразитологічний, біохімічний, мікологічний, радіологічний, патоморфологічний, відділи по діагностиці та боротьбі з лейкозом, ветсанекспертизи, виробничий та ін. Виробничий відділ (цех) створюють для виготовлення лікувально-профілактичних препаратів, які реалізують за плату.

**Завдання 1.** Вивчити та законспектувати основні завдання лабораторії ветеринарної медицини, класифікацію лабораторій що до обслуговуючої зони.

Контроль за діяльністю РДЛВМ здійснює управління ветеринарної медицини в районі, а методичне забезпечення лабораторної діагностики - обласна державна лабораторія ветеринарної медицини.

РДЛВМ у своїй діяльності керується Конституцією України, іншими законами України, актами Президента України, Кабінету Міністрів України, Міністерства аграрної політики України, Державного комітету України з питань технічного регулювання та споживчої політики. Державного

департаменту ветеринарної медицини, управління ветеринарної медицини в області, районі та Положенням про району державну лабораторію ветмедицини.

**Завдання 2.** Ознайомитися з нормативними документи, якими керується лабораторія ветеринарної медицини.

Безпека проведення робіт у лабораторіях повинна забезпечуватися відповідно до вимог ГОСТ 12.3.002-75, Правила охорони праці в лабораторіях ветеринарної медицини. Державний нормативний акт про охорону праці та інших чинних нормативних актів.

На робочих місцях для кожного виду обладнання, що використовується у лабораторіях, повинна бути інструкція заводу-виготовлювача з експлуатації цього обладнання.

У лабораторії повинні бути розроблені та затверджені інструкції з охорони праці. Інструкції повинні бути вивішені на кожному робочому місці.

Біологічна безпека повинна бути забезпечена відповідно до вимог ДСТУ 7748:2015.

Препарати для проведення лікувальних, профілактичних, діагностичних і санітарних заходів повинні відповідати технічним умовам на їх виготовлення та відповідним стандартам і використовуватися лише в строки, зазначені на упаковці.

У процесі виконання робіт у лабораторіях на працівників можуть діяти небезпечні та шкідливі виробничі фактори (ДЕСТ 12.0.003-74).

1. Під час роботи з культурами мікроорганізмів та в усіх інших випадках, пов'язаних з їх зберіганням і обігом у межах лабораторії, працівники лабораторії повинні керуватися інструкцією про порядок зберігання, обігу, відпуску, а також вивозу і ввезення із зарубіжних країн культур мікроорганізмів, токсинів і отрути тваринного та рослинного походження.

2. У всіх відділах та інших підрозділах лабораторії, де проводяться роботи з культурами патогенних мікроорганізмів або зараженими лабораторними тваринами чи матеріалом, вживають необхідних заходів, що виключають зараження працівників і поширення збудників інфекції за межі підрозділів (приміщень).

3. До початку та після закінчення роботи виробничі приміщення лабораторії потрібно прибирати вологим способом. У приміщеннях, де працюють з інфікованим матеріалом, прибирання проводять з використанням дезінфекційних розчинів.

4. Перед тим, як увійти до відділу або до іншого виробничого приміщення лабораторії, працівник повинен одягнути спеціальний одяг (халат, медичну шапочку або білу хустинку), а при вході в бактеріологічний чи вірусологічний відділи, крім цього, - спеціальне взуття.

5. Працівники лабораторії не повинні:

- виходити за межі лабораторії в спецодязі та в спецвзутті;
- одягати верхній одяг на халат;

- вносити у виробниче приміщення лабораторії сторонні речі;
- курити, пити воду, вживати їжу, жувати гумку, користуватися косметикою у виробничих приміщеннях;
- зберігати у виробничих приміщеннях продукти харчування.

6. Не допускається викликати з приміщень лабораторії працівників під час їхньої роботи із заразним або підозрілим на зараженість матеріалом.

7. За кожним працівником бактеріологічного, вірусологічного, серологічного та інших відділів, де проводяться дослідження, закріплюється певне робоче місце.

8. У кімнатах, де проводиться робота з інфікованим матеріалом, та в боксах заборонено проводити інші види робіт та вирощувати квіти у вазонах.

9. У лабораторії необхідно запобігати появі мух, інших комах та гризунів.

10. З метою запобігання алергічним захворюванням працівників роботу з убитими мікроорганізмами, які висушені будь-яким методом, слід проводити тільки в настільних боксах.

11. Вакцинні штами необхідно зберігати окремо від патогенних у спеціальних шафах, термостатах, холодильниках. Не допускається сумісне зберігання в одному холодильнику живих культур патогенних мікроорганізмів та діагностичних препаратів.

12. Пробки матраців, флаконів, пробірок потрібно відкривати тільки над полум'ям пальника. Заразний матеріал вносять у посудини так, щоб не інфікувати горловину посудини. Краї отворів посудин прожарюють над полум'ям спиртівки і закривають пробками.

13. Під час роботи з патологічним матеріалом, патогенними культурами бактерій та вірусів, а також з отруйними речовинами не слід торкатися обличчя руками, підносити руки до рота, носа, очей, волосся та користуватися носовою хусточкою.

14. Не дозволяється допускати до роботи з мікроорганізмами працівників із свіжими або старими порізами, ураженнями шкіри та з будь-якими відкритими ранами, включаючи ті, які утворилися після видалення зубів.

15. Після зняття гумових рукавичок слід негайно помити руки теплою водою з милом. Руки також треба мити після зняття забрудненого захисного одягу, перед виходом із лабораторії, перед уживанням їжі та курінням і протягом дня через інтервали, визначені характером роботи.

16. Засмоктування у піпетки розчинів хімічних реактивів та рідин, які містять збудників інфекційних захворювань, проводять за допомогою гумової груші або автоматичної піпетки. Засмоктування ротом **забороняється**.

17. Після закінчення роботи з патологічним чи іншим досліджуваним матеріалом (зараженим або підозрілим у зараженні) робоче місце, поверхні столів, прилади, апаратуру, інструмент, пробірки, скло, гумові рукавички та інші предмети необхідно обробити відповідним дезінфекційним розчином. Залишки інфікованого матеріалу (культури) термічно знезаражують (автоклавують або спалюють).

18. Миття посуду після попередньої дезінфекції потрібно проводити в гумових рукавичках.

19. Після роботи з інфікованим або підозрілим на зараження матеріалом руки потрібно продезінфікувати 0,5% розчином хлораміну, після чого вимити теплою водою з милом.

**Завдання 3.** Вивчити та законспектувати загальні правила охорони праці та техніки безпеки в лабораторіях ветеринарної медицини.

Плани лабораторно-діагностичних досліджень розробляються з урахуванням епізоотичного та ветеринарно-санітарного стану тваринництва району, завдань Управління ветеринарної медицини в області, погоджуються з обласною державною лабораторією ветеринарної медицини і затверджуються Управлінням ветеринарної медицини в районі. Плани складають на рік і розписуються по кварталах. Кожного місяця лабораторія передає звіт про проведену роботу відповідно по кожному відділу. Крім того звітує про проведенні дослідження по квартално, за 1-е півріччя і за рік.

Один раз на рік лабораторія звітує по формі №4-ВЕТ в такому порядку: - зональні, міжобласні спеціалізовані, Республіканська АР Крим, обласні державні лабораторії ветеринарної медицини – Державному науково-дослідному інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи до 4 січня поточного року після звітнього періоду;

- науково-дослідні інститути з питань ветеринарної медицини, факультети ветеринарної медицини учбових закладів, Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи надсилають звіти Державному науково-дослідному контрольному інституту біотехнологій і штамів мікроорганізмів – до 10 січня поточного року після звітнього періоду;

- державний науково-дослідний контрольний інститут біотехнологій і штамів мікроорганізмів надсилає зведений звіт до 1 лютого Головному управлінню Держпродспоживслужби України ("Інформація про наявність та рух патогенних та непатогенних культур мікроорганізмів, токсинів та отрут тваринного і рослинного походження").

Вихідними даними для складання звіту по формі №4-ВЕТ є записи в журналах про наявність та рух патогенних та непатогенних культур мікроорганізмів, токсинів та отрут тваринного і рослинного походження.

Для складання сумарного звіту дані звітів, що надійшли від районних, міжрайонних, обласних та інших лабораторій, додаються у відповідних лабораторіях в порядку подання звітів.

Звіт супроводжується пояснювальною запискою, в якій відображають наступні дані:

- забезпечення лабораторії кадрами;
- забезпечення приміщеннями, транспортом, обладнанням діагностикумами, живильними середовищами, реактивами, лабораторними тваринами;
- кількість матеріалів, що надійшли та проведених досліджень в

порівнянні з минулим періодом;

- аналіз результатів досліджень по розділах в порівнянні з минулим періодом;

- затрати робочого часу на виїзди в господарства по діагностичним питанням, епізоотології, загальним питанням тваринництва;

- застосування нових методів лабораторних досліджень;

- проведення методичної роботи;

- підвищення кваліфікації лабораторних працівників;

- ветеринарно-освітня робота;

- передовий досвід роботи;

- пропозиції що до покращення діагностичної роботи лабораторії.

**Завдання 4.** Ознайомитися та законспектувати з організацією планування лабораторно-діагностичних досліджень та звітністю.

### ***Контрольні запитання::***

1. Основні завдання лабораторії ветеринарної медицини.
2. Як поділяються лабораторій відносно зони обслуговування?
3. Якими нормативними документи, керується лабораторія ветеринарної медицини?
4. Загальні правила охорони праці та техніки безпеки в лабораторіях ветеринарної медицини.
5. Організація планування лабораторно-діагностичних досліджень та звітність.

## ТЕМА 2. ЗАГАЛЬНІ МЕТОДИ ЛАБОРАТОРНОЇ РОБОТИ

### 2.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

#### 2.1.1. Методи стерилізації

*Стерилізація* (від лат. *sterilis* – неплідність, знепліднювання) – знищення всього живого у будь-якому середовищі чи на поверхні предмета. Стерилізації піддають живильні середовища, що використовуються для вирощування мікробів, посуд, інструменти. Для стерилізації застосовують фізичні і хімічні методи. До фізичних відносяться дія високої температури, ультрафіолетового проміння, фільтрування через бактерійні фільтри. Хімічні методи засновані на дії різних антисептик. Їх застосовують для консервації сироваток, вакцин і ін. Найбільш часто використовують для стерилізації високу температуру.

*Стерилізують сухим жаром* (гарячим повітрям) в печі Пастера весь скляний посуд, пастерівські піпетки, скляні шприци, марлю, вату, папір в маленьких пакетиках. Перед стерилізацією сухі і чисті пробірки, колби, флакони закривають ватними пробками. Пробірки завертають в папір по 10–15 або ставлять в дротяні сітки. Бактеріологічні чашки, градуйовані піпетки, воронки по одній або по декілька, пастерівські піпетки по 10–20 і більш завертають в папір. Чашки і піпетки можна поміщати в пенали і футляри, не завертаючи в папір. В них вони зберігаються і після стерилізації. Підготовлений матеріал розміщують на полицях шафи і стерилізують при температурі 150°C не менше 2 год, вважаючи початком час, коли термометр покаже цю температуру, при 170°C – 45хв, 180°C – тільки 15 хв, при 200°C – 5 хв. При 170°C вата і папір жовтіють, при більш високих температурах вони обвуглюються і посуд псується. Після закінчення стерилізації шафу вимикають, щоб вона остигла, і лише тоді відкривають її, інакше скляні предмети можуть лопнути через різке коливання температури.

*Стерилізацію текучою парою* застосовують для об'єктів, що змінюються від дії сухого жару або від вологої стерилізації при температурі вище 100°C – гума, вата, марля, деякі живильні середовища та ін. в апараті Коха, що є металевим циліндром, обшитим теплоізоляційним матеріалом (азбестом, лінолеумом, войлоком). Матеріал, призначений для стерилізації, кладуть у відерка, які ставлять на підставки. Час стерилізації залежить від кількості матеріалу. В середньому від 30 хв до 1 год, приймаючи за початок стерилізації час, коли температура підніметься до 100°C. При цьому гинуть вегетативні форми мікробів, але не спорів. Для знищення спор застосовують дробову стерилізацію: матеріал стерилізують три дні підряд при 100°C по 20–30 хв щоденно з проміжком в 18–20 год. В проміжку матеріал витримують при кімнатній температурі або в термостаті, щоб із спор могли розвинутися вегетативні форми, котрі будуть знищені подальшими нагріваннями. Текучою парою можна стерилізувати і в автоклаві.

*Стерилізація парою під тиском* швидко і надійно вбиває вегетативні і

спорові форми бактерій, для чого використовують автоклави простої і складної конструкції, але принцип пристрою їх один і той же. Автоклав складається з двох мідних казанів, вкладених один в інший, зовнішній покритий кожухом. Автоклав герметично закривається масивною кришкою, загвинчується декількома відкидними гвинтами. В кришці або з боку металевої стінки кожуха вмонтовані трубки з кранами для випуску повітря і пари, манометр для визначення тиску пари усередині казана і запобіжний клапан для автоматичного видалення пари у випадку, якщо тиск усередині автоклава перевищить максимально робочий. Деякі автоклави забезпечені термометром. Між обома казанами є простір, в який наливають воду через вставлені зовні воронку з кранами і водомірну скляну трубку (на кожусі смужкою фарби показаний необхідний рівень води –  $\frac{1}{4}$  всієї висоти казана, він не повинен бути вищим  $\frac{3}{4}$  і нижче  $\frac{1}{3}$  за висоту водомірного скла). У внутрішній казан поміщають матеріал для стерилізації, кришку загвинчують, кран для випуску повітря відкривають і нагрівають через електромережу, Коли вода в автоклаві закипить, пара підіймається між стінками циліндрів, через отвори в стінці, проникає у внутрішній циліндр і виходить, витісняючи повітря, через відкритий кран спочатку переривистим струменем – вологий, а потім сильним безперервним струменем з свистом – суха пара. Це свідчить про повне видалення з циліндра повітря, і вивідний кран закривають. Пара затримується в циліндрі, тиск і температура починають підвищуватися. Коли висота тиску досягне потрібного рівня, відзначають час і регулюють нагрів так, щоб тиск утримувався під час стерилізації на цьому рівні протягом 15–20 хв, іноді і більше, залежно від характеру матеріалу. Зазвичай стерилізацію здійснюють при показах манометра 0,1 МПа, тобто при температурі 120,6°C. При двох атмосферах (по манометру), тобто при температурі 134,18°C, бактерії і їх спори гинуть майже вмить. Потрібно мати на увазі те, що на манометрі вказаний тільки надмірний тиск, нормальний тиск позначений знаком 0. Якщо покази манометра перевищують граничний тиск і запобіжний клапан не випускає пар, слід злегка підвести кілька разів важіль клапана і цим продути засмічений отвір. У разі підвищення тиску і після цього необхідно припинити стерилізацію.

Після закінчення стерилізації нагрів припиняють. Коли стрілка манометра опуститься до 0, через кран випускають пару. Потім відгвинчують гвинти і кришку обережно відкривають. Залишати автоклав закритим надовго не можна, оскільки пари води при конденсації просочують ватні пробки. Після закінчення нагрівання можна зразу ж відкрити кран (заздалегідь надівши на нього гумову трубку і опустивши її у відро з холодною водою) і спустити пару, якщо стерилізувався посуд. Окрім посуду в автоклаві стерилізують інструменти, живильні середовища, за виключенням желатин, молока і середовищ з вуглеводами, а також знешкоджують інфекційний матеріал. Перевіряють роботу автоклава, а саме відповідність тиску на манометрі, певній температурі, поміщаючи в автоклав вертикально між матеріалом, що стерилізується, скляні трубочки, наповнені речовиною з певною точкою плавлення: бензофтал – 110°C, антипірин – 113°C, резорцин і сірка – 119°C,

бензойна кислота—120°C. Одна з цих речовин з невеликою домішкою фарби (метиленового синього, фуксину або іншої фарби з розрахунку 0,01 г сухої фарби на 100 г речовини) засинають в скляну трубочку завдовжки 5–6 см на  $\frac{1}{3}$  або на  $\frac{1}{2}$  об'єму і запаюють її кінці. Якщо температура в автоклаві відповідає точці плавлення речовини, вона розплавиться і яскраво забарвиться. Перевірити роботу автоклава можна, помістивши в середину шовкові нитки, змочені спороутворюючою культурою, підсушені і загорнені в папір. Частину таких ниток для контролю залишають при кімнатній температурі. Після автоклавування їх (і контрольні теж) переносять на агар в бактеріологічні чашки і витримують в термостаті дві діб. Навкруги автоклавних ниток не повинно бути зростання мікроорганізмів.

Між стерилізаціями автоклав потрібно тримати відкритим. Кришка його повинна бути відкритою. Залишки води з автоклава випускають.

*Пастеризація.* Метод запропонований Л. Пастером. застосовується для знезараження сільськогосподарських продуктів (молоко, м'ясні, рибні та овочеві консерви), забезпечує зберігання необхідних смакових, поживних та вітамінних якостей. Суть методу полягає в одноразовому прогріванні продукту з наступним швидким його охолодженням (до 4 - 8°C). При цьому вегетативні форми бактерій гинуть, спорові проростають, тому пастеризацію не слід відносити до методів стерилізації. Щоб уникнути проростання спор простерилізовані об'єкти необхідно берегти на холоді.

На практиці застосовують тривалу (30 хв при температурі 65°C), короткочасну (15-20 с. при 72-78°C) та миттєву (при температурі 85-90°C без витримки) пастеризацію.

*Стерилізація фільтруванням.* Застосовується для стерилізації речовин, які не можна нагрівати (сироватки крові, антибіотики, вітаміни, суспензії для вірусологічних досліджень), застосовують механічну стерилізацію, яка полягає у фільтрації рідкого матеріалу через різні дрібнопористі фільтри – вату, азбест, фільтрувальний папір, бактерійні фільтри.

Найпоширенішими бактеріальними фільтрами є свічки системи Пастера – Шамберлана з пресованого і обпаленого при 120°C каоліну. Свічки мають позначення від L1, L2 тощо. до L13. Цифрами позначені величини пор, які зменшуються відповідно до порядкової нумерації.

Для фільтрування невеликих кількостей рідини придатні маленькі свічки, вмонтовані в спеціальні скляні апарати і свічки ультрафільтрувальні.

Багаторамні фільтри, що виготовляються вітчизняною промисловістю, застосовують на біофабриках для фільтрації великої кількості живильних середовищ. Фільтруючою частиною в них є азбестові пластинки, закладені між рамами фільтру. Через такі пластинки можна пропускати живильні середовища, сироватки, токсини і ін.

Тонкий шар тальку, каоліну, інфузорної землі, тваринного вугілля, крейди успішно замінюють в деяких випадках фільтрувальні прилади.

Мембранні фільтри є тонкими (0,1–0,2 мм товщиною) пластинками, що нагадують пергамент, з колодія або нітроцелюлози. Завдяки найдрібнішим порам їх використовують для ультрафільтрації.

У виробничих умовах фільтрацію часто проводять через воронки з ватою. Цей спосіб застосовується головним чином для фільтрування напіврідких середовищ і агар-агару, розплавленого при температурі не нижче 70°C.

Для цього використовують автоклав з поточною парою або апарат Коха.

Матеріал, що містить вірус, фільтрують через різні фільтри:

- а) тверді керамічні;
- б) азбестові;
- в) колоїдні мембранні (ультрафільтри);
- г) мембранні змішаного типу.

Фільтрація через керамічні і азбестові фільтри дає можливість відділити віруси від мікроорганізмів і лише приблизно визначити розміри вірусів, тому цей спосіб фільтрації в основному застосовується для очищення вірусів від мікробного забруднення.

*Тверді керамічні фільтри.* Фільтри Шамберлана (свічки) мають форму подовженого порожнистого циліндра, закритого з одного кінця. Виготовляють їх з каоліну (водного алюмосилікату) з домішкою кварцового піску і обпалюють при високій температурі. Фільтри мають різну пористість, яку позначають згідно встановленій на фабриці шкалі. Свічки L1–найбільш пористі, вони пропускають всі мікроби, L1bis і L2 затримують великі мікроби і пропускають найдрібніші – L3 затримують бацили дифтерії і спори правцю. Свічки подальших номерів характеризуються все меншою пористістю, і є справжніми фільтрами. Вони затримують всі бактерії.

*Фільтри Беркефельда* є порожнистими циліндрами, закритими з одного кінця а на другому кінці кріпиться металева або фарфорова головка. Вони бувають трьох ступенів пористості: нормальної пропускної спроможності, малої пропускної спроможності і дуже пористі (величина пор:  $W = 3-4$  мк,  $N = 5-7$ ,  $V = 8-12$  мк).

*Фільтри азбестові.* На даний час в практиці широко застосовуються фільтри Зейтца, що складаються з пластинчастих азбестових кружечків різної величини, вставлених в спеціальні металеві утримувачі. Великі за площею пластинки дають можливість фільтрувати великий об'єм рідини. Азбестові фільтри різноманітної пористості, яку позначають: ЕК – істинний фільтр, але пропускає видимі мікроорганізми; ЕК1–ультрафільтр, затримує видимі мікроби, але пропускає бактеріофаг і так звані фільтруючі форми бактерій; ЕК2 – ультрафільтр більш дрібнопористий, ніж ЕК1, пропускає бактеріофаг і фільтруючі форми бактерій.

Монтування фільтрів і апаратури для фільтрації. Кожний фільтр приєднують до приймача, в який збирається фільтрат. Фільтр-свічку вставляють в гумову пробку, щільно замикаючи приймач. Інший отвір останнього пристосований для приєднання вакуумної трубки з розріджувачем насосом.

Кожну свічку, навіть нову, до вживання перевіряють на цілісність. Для цього її відкритий отвір з'єднують гумовою трубкою з гутаперчевою грушою. Свічку цілком занурюють у воду (включаючи верхівку). Грушу сильно здавлюють, при цьому жоден пухирець накачуваного всередину свічки

повітря не повинен показатися на її поверхні. Якщо це відбувається, свічку бракують.

Для монтування пластинчастих фільтрів Зейтца служать звичайні фільтрувальні апарати Зейтца, які можна використовувати при роботі як з негативним, так і з позитивним тиском. В останньому випадку до апарату Зейтца за допомогою нарізки приєднують верхній кран. Фільтрувальний апарат Зейтца з нікельованого металу складається з двох частин – верхньої циліндрової без дна і нижньої, служить дном апарату і пригвинчується особливими гвинтами. Між обома частинами апарату туго затискають азбестову пластинку, яку накладають на металеву сітку-опору. Рідину, призначену для фільтрування, наливають в циліндричну частину, звідки вона, фільтруючись через пластинку, поступає в приймач.

Мембранні фільтри часто вмонтовують в установку для фільтрів Зейтца. Спочатку в неї кладуть кільце з тонкої гуми, потім на підтримуючу сітку – фільтрувальний папір, потім – фільтр, зверху знову фільтрувальний папір і, нарешті, друге гумове кільце. Фільтрувальний папір, розташований зверху, затримує грубі частинки, нижня – ізолює від сітки тонку плівку мембранного фільтру. Гумові кільця оберігають фільтр від розривів при загвинчуванні. Після монтажу місця зіткнення пробки з приймачем і фільтром заливають парафіном.

Стерилізація фільтрів перед використанням. Фільтрувальні свічки Шамберлана і Беркефельда стерилізують вмонтованими в апарат шляхом 20-30-хвилинного прогрівання їх в автоклаві при 110-120°C (0,05 МПа). Азбестові пластинки стерилізують також в автоклаві 30 хв при 120°C (пластинки заздалегідь вмонтовують у фільтрувальний апарат Зейтца), а мембранні фільтри – кип'ятінням протягом 20 хв в дистильованій воді. Всі частини металевого фільтру Зейтца стерилізують наперед, фільтр з мембранною пластинкою для збереження стерильності вмонтовують в стерильній кімнаті біля полум'я спиртівки або під ультрафіолетовим опромінюванням.

Фільтрування проводять при негативному тиску, який створюють за допомогою насоса (електричного, ручного). Тиск не повинен бути дуже високим (не вище 40 мм. рт. ст.), оскільки через пори фільтру, що знаходиться під високим тиском, можуть проходити дрібні бактерії.

Тиск при фільтрації міняють дуже поволі, запобігаючи цим явищу блокування, тобто одночасного надходження в пори великої кількості частинок, що викликають закупорку найдрібніших отворів.

Загальна кількість фільтрованої рідини при поперечнику пластинки в 35 мм не повинна перевищувати 10 мл. Одержаний фільтрат висівають на живильні середовища для перевірки на стерильність. За посівами спостерігають протягом п'яти днів.

Використані один раз азбестові і мембранні пластинки викидають. Керамічні фільтри (свічки) придатні для повторних фільтрацій, але заздалегідь їх слід обробити – спочатку витримати протягом 10 год в 3% розчині карболової кислоти, потім промити звичайною водою і 2% щавлевій

(2 год), після чого щіткою в 10% соляній кислоті (2 год). Кислоту з фільтрів відмивають в проточній воді протягом доби (до повного зникнення реакції на хлор) і залишають на ніч в дистильованій воді. Відмиті свічки сушать в термостаті.

Більш радикальної обробки свічок досягають наступним способом. Вживані свічки кип'ячать у водопровідній воді 0,5 - 1 год., потім висушують в термостаті, кладуть в муфельну піч, нагрівають до темно-червоного кольору і поступово охолоджують. Оброблені у такий спосіб свічки знову придатні для використання.

### 2.1.2. Робота у автоклавній

Ці правила поширюються на електричні, парові та вогневі автоклави (вітчизняні чи імпорتنі) незалежно від їх типу та призначення.

1. На кожний автоклав, що надходить до лабораторії, має бути паспорт установленої форми, до якого повинна бути прикладена інструкція з монтажу та експлуатації (додаються до кожного автоклава заводом-виробником).

2. Установлення, введення в експлуатацію та експлуатація автоклавів повинна здійснюватися відповідно до вимог ДНАОП 0.00-1.07-94 та Правила охорони праці в лабораторіях ветеринарної медицини. Міністерство праці та соціальної політики.

3. Автоклави, до пуску їх у роботу, повинні бути зареєстровані в експертно-технічних центрах (ЕТЦ). Автоклави 1-ї групи, що працюють при температурі не вище 200°C, в яких добуток тиску в МПа (кгс/см<sup>2</sup>) на місткість у м<sup>3</sup> (літрах) не перевищує 0,05 (500), а також посудини 2, 3 і 4-ї груп, що працюють при зазначеній вище температурі, в яких добуток тиску в МПа (кгс/см<sup>2</sup>) на місткість у м<sup>3</sup> (літрах) не перевищує 1 (10000), реєстрації в ЕТЦ не підлягають (група посудини визначається за вимогами НПАОП 0.00-1.81-18 «Правила охорони праці під час експлуатації обладнання, що працює під тиском»).

4. Автоклави, на які поширюється дія НПАОП 0.00-1.81-18, підлягають технічному огляду до пуску в роботу, періодично в процесі експлуатації і, в разі потреби - позачерговому.



5. Дозвіл на введення в експлуатацію автоклава, що не підлягає реєстрації в ЕТЦ, видається особою, призначеною наказом по лабораторії для здійснення нагляду за технічним станом і експлуатацією автоклавів, на підставі документації підприємства-виготовлювача після технічного огляду і перевірки організації обслуговування.

Дозвіл на введення автоклава в експлуатацію записується в паспорті автоклава.

6. Відповідальність за справний стан і безпечну експлуатацію автоклавів, їх ремонт та нагляд за технічним станом покладається на призначеного наказом по лабораторії працівника, який має інженерно-технічну освіту та в межах його компетенції пройшов перевірку знань вимог НПАОП 0.00-1.81-18.

7. При виявленні несправностей, а також порушень правил та інструкцій під час експлуатації автоклавів, відповідальний за нагляд повинен вжити заходів щодо усунення цих несправностей або порушень, і в разі необхідності припинити експлуатацію автоклавів.

8. Автоклави необхідно встановлювати в окремих приміщеннях (автоклавних), площею не менше 10 м<sup>2</sup>.

9. В автоклавній, на видному місці, повинна бути вивішена інструкція з експлуатації автоклавів.

10. Приміщення автоклавної повинно мати природне освітлення та примусову витяжну вентиляцію, фрамугу, квартиру.

11. Підлога у приміщенні для електричного автоклава повинна бути з ізолювального матеріалу - дерева або лінолеуму (допускається з плитки або асфальту за умови покриття її на робочих місцях спеціальними ізолювальними гумовими килимками, як передбачено вимогами ДНАОП 0.00-1.21-98 та ПТЕ).

12. Двері автоклавної повинні відчинятися назовні. Під час роботи автоклава не можна замикати двері. Не допускається встановлювати в автоклавній заклені двері.

13. Приміщення автоклавних використовують тільки за прямим призначенням. Не допускається проведення в них будь-яких інших робіт, не пов'язаних із використанням автоклава.

14. Не допускається зберігати в автоклавній сторонні предмети, захаращувати та забруднювати приміщення.

15. Вхід до автоклавної під час роботи дозволяється тільки обслуговуючому персоналу та особам, спеціально допущеним для нагляду за автоклавом.

16. Автоклав устанавлюється так, щоб його зручно було обслуговувати з усіх боків. Відстань від стін до автоклава повинна бути не менше 0,8 м. Шафові автоклави встановлюють на відстані не менше 1,5 м від стіни (в бік відкривання кришки).

17. Автоклави підключають до електричної мережі згідно з електротехнічними правилами та нормами. Їх підключають через електрощит з рубильником, запобіжниками, контрольними приладами - амперметром та

вольтметром. Електрощит встановлюється на висоті 1,5 м від підлоги та не далі як за 1 м від автоклава. Забороняється підключати до цього щита інші споживачі електроенергії. Не допускається вмикання електричного автоклава у штепсельну розетку.

18. Автоклав повинен мати справний манометр, який встановлюють так, щоб його показання були чітко видно обслуговуючому персоналу

19. На шкалі манометра власником автоклава наноситься червона риска на поділках, які відповідають робочому тиску в автоклаві. Замість червоної риски дозволяється прикріплювати до корпусу манометра металеву пластинку, що пофарбована в червоний колір і щільно прилягає до скла манометра.

20. Перевірка манометрів із їх пломбуванням або клеймуванням повинна проводитися не рідше ніж один раз у 12 місяців. Крім цього, не рідше одного разу в 6 місяців власник автоклава має проводити додаткову перевірку робочих манометрів контрольним манометром із занесенням результатів до журналу контрольних перевірок. Якщо немає контрольного манометра, допускається додаткову перевірку проводити перевіреним робочим манометром, який має однакову шкалу й клас точності з манометром, що перевіряється.

21. Манометр не дозволяється застосовувати, якщо:

- відсутня пломба або клеймо з відміткою про проведення перевірки;
- прострочений термін перевірки;
- стрілка манометра під час його виключення не повертається на нульову відмітку шкали на величину, яка перевищує половину погрішності, що допускається для цього приладу;
- розбите скло або є інші пошкодження, що можуть позначитися на правильності його показань.

22. Автоклави під час експлуатації повинні через кожний рік підлягати технічному огляду та гідравлічному випробуванню відповідно до вимог НПАОП 0.00-1.81-18.

23. Технічний огляд та гідравлічне випробування автоклавів, які не підлягають реєстрації в ЕТЦ, проводяться комісією, яку очолює особа, відповідальна за нагляд за технічним станом та експлуатацію автоклавів. Комісія призначається наказом керівника лабораторії.

24. Ремонт автоклава дозволяється проводити тільки спеціалісту, який має посвідчення на право ремонту приладів, які працюють під тиском (автоклавів).

25. Працівник, який відповідає за безпечну роботу автоклава, або завідуючий бактеріологічною кухнею перед тим, як допустити призначену особу до роботи з автоклавом, повинен ознайомити її з правилами безпеки та інструкцією з експлуатації автоклава.

26. Про проведену стерилізацію інфікованого матеріалу (культур, токсинів, заражених тварин тощо) в автоклаві роблять запис у журналі обліку стерилізації інфікованого матеріалу (додаток 3).

27. Роботу автоклавів перевіряють хімічними тестами або

максимальними термометрами при кожному завантаженні автоклава і щомісячно - бактеріологічним методом.

Речовини, які застосовуються для хімічних тестів під час стерилізації у паровому автоклаві (стерилізаторі) або сухим жаром, наведені в додатку 4.

Перевірку роботи автоклавів (стерилізаторів) бактеріологічним методом виконують згідно з методикою, наведеною у додатку 5.

28. Персонал, який обслуговує автоклав, не повинен:

- залишати працюючий автоклав без нагляду;
- відкривати автоклав або заливати в нього воду, коли він перебуває під тиском;
- працювати з автоклавом, який має дефекти;
- допускати в автоклавну осіб, робота яких не пов'язана з роботою автоклава.

### 2.1.3. Робота в боксі

У вірусологічному відділі обладнують бокси площею не менше ніж 9 м<sup>2</sup> і передбоксники - не менше ніж 4 м<sup>2</sup>, а в бактеріологічному, серологічному, мікологічному, паразитологічному відділах, у блоці для досліджень з ветеринарно-санітарної експертизи, у секційній, віварії для роботи із зараженими піддослідними тваринами, у кімнаті для приготування поживних середовищ, у відділі з виробництва біологічних препаратів - бокс площею 3-5 м<sup>2</sup> і передбоксник площею не менше ніж 2 м<sup>2</sup>.



Бокс і передбоксник повинні бути розділені між собою скляною перегородкою. Двері боксу повинні бути розсувними.

Перед тим, як приступити до роботи в боксі потрібно в передбокснику одягнути санітарний одяг і там же проводяться допоміжні роботи.

У передбокснику розміщують медичну шафу для зберігання стерильного матеріалу та шафу для халатів і одягу.

В бокс і передбокснику вмонтовують опромінювачі бактерицидні стельові ОБС-300 або (і) настінні – ОБН-150, вимикачі яких повинні знаходитися, відповідно, поза і передбоксником.

Перед початком роботи бокс опромінюють бактерицидною лампою протягом 1-2 годин із розрахунку 1,5-2,5 Вт на 1 м<sup>3</sup> приміщення. Після

опромінювання заходити до боксу можна тільки через 30-60 хвилин.

У боксах необхідно щотижня робити бактеріологічний аналіз повітря.

Роботу з культурами та патологічним матеріалом проводять, дотримуючись заходів особистої безпеки, забезпечуючи чистоту посіву та запобігаючи розсіюванню збудників інфекції у навколишньому середовищі. Маніпулювати заразним матеріалом необхідно над кюветою.

Використані піпетки поміщають в банку з 5% розчином хлораміну, карболової кислоти або лізолу, потім разом із використаним посудом та інструментом знешкоджувати автоклавуванням або кип'ятінням.

При виділенні з патологічного матеріалу збудників сибірки або спорових анаеробних хвороб їх знезаражують автоклавуванням протягом 1 години під тиском в 0,2 МПа або протягом 2 годин під тиском в 0,15 МПа з наступним контрольним висівом на відповідні живильні середовища.

Такій самій обробці підлягає інструментарій, скло та інші предмети, які були в контакті з інфікованим матеріалом.

При виділенні неспоривих збудників або при негативних результатах бактеріологічних досліджень знезараження проводять автоклавуванням протягом 1 години під тиском в 0,15 МПа. При цьому інструментарій, скло та інші предмети, які були в контакті з інфікованим матеріалом, знезаражують кип'ятінням протягом 30 хвилин у 2% розчині гідрокарбонату натрію.

У передбокснику встановлюють центрифугу для роботи з рикетсіозним або вірусним матеріалом. Рідину розливають у склянки або центрифужні пробірки з тугоплавкого скла, плексигласу або металу і обов'язково закривають пробками або загвинчують кришками.

Під час роботи двері в боксі та в передбокснику двері повинні бути щільно зачинені. У цей час заборонено виходити з боксу, а також заходити до передбокснику іншим працівникам лабораторії.

Після закінчення роботи в боксі необхідно прибрати робоче місце, стіл, кювету та спиртівку продезінфікувати, винести відпрацьований матеріал і предмети, які не належать до боксового інвентарю, провести вологе прибирання боксу, після чого підлогу, стіни й меблі протерти дезрозчином.

Приміщення боксів не менш як один раз на тиждень миють гарячою водою з милом, дезінфекційними засобами і витирають насухо.

Після закінчення роботи й прибирання, приміщення боксів опромінюють бактерицидними лампами протягом 30-60 хвилин. Потужність опромінення повинна бути 2,5 Вт на 1 м<sup>3</sup> приміщення.

Якщо необхідно залишити в боксі матеріал до наступного дня, то в кінці робочого часу бокс опечатують.

#### **2.1.4. Робота в бактеріологічній кухні**

В приміщеннях кухні міститися наступне обладнання:

а) в кімнаті для приготування живильних середовищ – лабораторний стіл, шафи для зберігання сухих живильних середовищ, реактивів, посуду, холодильник, газова плита або декілька електричних плит, а в боксі – стіл на

кронштейнах і бактерицидна лампа;

б) в автоклавній – не менше двох автоклавів (один – для стерилізації середовищ та іншого матеріалу, другий – для знешкодження відпрацьованого матеріалу і культур) та лабораторний стіл (звичайний або на кронштейнах);

в) в кімнаті для стерилізації посуду – сушильні шафи, дистильатор, лабораторний стіл і шафа для зберігання посуду. Середовища, посуд та інший матеріал для знешкодження здають на бактеріологічну кухню в біксах або в іншому водонепроникному металевому посуді з кришкою. Поки не буде проведено знешкодження з таким матеріалом потрібно поводитися, як з інфікованим.

## **2.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА**

### **2.2.1. Організація роботи в лабораторії з культурами мікроорганізмів та хімічними речовинами**

**Мета.** Ознайомити здобувачів із загальними вимогами при роботі з культурами мікроорганізмів із журналом руху інфікованого матеріалу, журналом обліку виділених культур та їх знищення; із роботою з хімічними речовинами та із заходами у разі аварії при роботі з культурами мікроорганізмів, заразним матеріалом, кислотами, лугами й іншими хімічними речовинами.

При роботі з культурами мікробів і вірусів, а також при їх зберіганні працівники лабораторії зобов'язані керуватися «Інструкцією про порядок зберігання, обігу, а також вивозу і ввезення із зарубіжних країн культур мікроорганізмів, токсинів і отрут тваринного і рослинного походження».

У кожній лабораторії наказом керівника призначається особа, відповідальна за облік, зберігання та знезараження культур мікроорганізмів, виділених у лабораторії і таких, що надходять для виробничих потреб.

На посуді, в якому знаходяться культури, повинна бути чітко написана назва культури, номер експертизи та дата надходження, посіву або пересіву матеріалу.

Щоденно, після закінчення робочого дня, інфікований матеріал поміщають у термостат або шафу, які опечатують. Кожну кімнату лабораторії, в якій є об'єкти із заразним матеріалом, замикають та опечатують.

При виявленні пошкодження печатки відповідальний за її зняття повинен негайно повідомити керівника лабораторії або його заступника, в присутності якого проводять огляд шафи (холодильника, термостату) і складають акт.

Після закінчення роботи і видачі заключення по експертизі культури мікроорганізмів знищують автоклавуванням, дотримуючись вимог режиму, і складають акт по встановленій формі (відносно штамів збудників I і II груп).

**Завдання 1.** Вивчити та законспектувати загальні вимоги при роботі з культурами мікроорганізмів. Ознайомитись із журналами «Рух інфікованого

матеріалу» (табл. 1), та «Облік виділених культур і їх знищення» (табл.2).

1. Кислоти, луги та інші хімічні речовини, що надходять до лабораторії, необхідно обліковувати і зберігати у спеціальних приміщеннях з дотриманням відповідних умов і запобіжних заходів, передбачених Правилами зберігання, обліку і відпуску отруйних і сильнодіючих лікарських засобів, призначених для ветеринарних цілей.

2. Вогнєнебезпечні та вибухонебезпечні речовини слід зберігати за межами основних приміщень, у спеціальних приміщеннях з вентиляцією та природним освітленням. У відділах їх можна зберігати тільки в кількості, необхідній для роботи на один день.

3. У приміщенні, де зберігаються хімічні речовини, повинні бути ящик з сухим піском, вода й аварійні розчини для нейтралізації кислот і лугів.

4. Отруйні та сильнодіючі препарати необхідно зберігати в спеціально виділених для цієї мети приміщеннях, вікна яких обладнують металевими ґратами, а двері обшивають бляхою.

У лабораторії **забороняється** зберігати:

- вибухо- і вогнєнебезпечні речовини разом із сильно отруйними;
- спільно, в безпосередній близькості одна від однієї, речовини, які можуть впливати одна на одну і викликати, внаслідок хімічної взаємодії, пожежу або вибух (наприклад, азотна кислота і будь-яка органічна речовина);
- хімічні речовини в тарі, що не має напису з назвою речовини. Якщо такі речовини будуть виявлені, то вони підлягають вилученню з лабораторії.

Облік і видачу особливо отруйних речовин повинен проводити працівник, призначений наказом по лабораторії.

Реактиви та інші шкідливі хімічні речовини відпускають підрозділам лабораторії з дозволу керівника лабораторії на підставі письмової вимоги.

Відповідальність за зберігання реактивів та інших хімічних речовин у відділах лабораторії покладається на одного із спеціалістів підрозділу.

Реактиви, що розкладаються під дією світла, потрібно зберігати в посуді з темного скла в шафі з непроникними для світла стінками або в картонних коробках.

Реактиви, які роз'їдають скло (фтористоводнева кислота та її солі), зберігають у тарі з ебоніту, поліетилену, пластмаси або у скляному посуді, покритому всередині шаром парафіну.

Під час роботи з хімічними речовинами і при їх зберіганні необхідно враховувати їх взаємодію між собою та з іншими матеріалами, щоб запобігти виникненню пожеж або інших небезпечних явищ.

Не допускається зберігання хімічних речовин в атмосфері, насиченій парами кислот та лугів.

Для уникнення підвищеного випаровування рідкого азоту з посудин не рекомендується розміщувати їх поблизу опалювальних приладів та на сонячному світлі.

Зберігання та транспортування імунобіологічних препаратів необхідно проводити згідно з інструкціями з їхнього використання. Знищення цих препаратів із простроченим терміном використання необхідно проводити



В підрозділах лабораторії, де працюють з культурами бактерій і вірусів або з рідким заразним матеріалом, необхідно мати набір предметів для ліквідації наслідків аварії (дезінфекції місця аварії, обробки рук, взуття, прибирання інфікованого матеріалу: бак, емальований таз, пінцет, гігроскопічну вату, 5% розчин хлораміну, гумові рукавички, калоші).

Для нейтралізації кислот і лугів у разі аварії слід мати 2% розчин двовуглекислої соди, 1% лимонної або оцтової кислоти, насичений розчин борної кислоти, а також ватно-марлеві тампони і марлевий бинт.

Якщо під час роботи розбився посуд, що містить заразний матеріал (культуру, емульсію, кров), або пролився рідкий інфікований матеріал, працівник, у якого це відбулося, повинен негайно обробити 5% розчином хлораміну руки, забруднені ділянки тіла і місце, залите культурою. При цьому він залишається на місці, викликає лаборанта і прибиральницю (санітара) зі всіма необхідними предметами для дезінфекції місця аварії і прибирання матеріалу.

Підлогу на місці аварії (якщо матеріал пролитий на підлогу) добре зволожують 5% розчином хлораміну. Потерпілий після обробки рук в рукавичках надягає чисті і знімає спецодяг.

Місце аварії знезаражує лікар або лаборант під контролем лікаря (обов'язково в гумових рукавичках, калошах, а при роботі з вірусами — в додатковому халаті). Санітар (прибиральниця) виконує підсобну роботу і проводить прибирання після знезараження.

Рідку частину інфікованого матеріалу збирають пінцетом з гігроскопічною ватою і складають в емальований таз, осколки посуду – в той же таз також пінцетом і совочком. Все зібране поміщають у водонепроникний посуд (бак), а потім здають для автоклавування.

Місце, де відбулася аварія, спочатку на 1-2 години покривають шаром гігроскопічної вати, змоченої 5% розчином хлораміну, потім обережно обпалюють. У разі попадання кислоти або лугу на шкіру рекомендується уражене місце спочатку промити струменем води з водопровідного крана, потім, якщо це кислота – 2% розчином двовуглекислої соди або 1% розчином аміаку, а якщо луг – 1% розчином лимонної або оцтової кислоти і накласти на це місце суху пов'язку.

При попаданні кислоти або лугу в очі негайно і ретельно промивають їх водою, потім — розчином двовуглекислої соди, якщо це кислота, і насиченим розчином борної кислоти, якщо луг.

**Завдання 3.** Вивчити та законспектувати заходи у разі аварії при роботі з культурами мікроорганізмів, заразним матеріалом, кислотами, лугами і іншими хімічними речовинами.

#### ***Контрольні запитання:***

1. Як проводиться робота з культурами мікроорганізмів, які ведуться журнали?
2. Як проводиться робота з хімічними речовинами?

3. Які заходи проводяться у разі аварії при роботі з культурами мікроорганізмів, заразним матеріалом, кислотами, лугами і іншими хімічними речовинами?

4. Які аварійні розчини повинні бути у відділах лабораторії?

### 2.2.2. Організація роботи у автоклавній кімнаті

**Мета.** Ознайомити здобувачів із роботою автоклава, із журналом «Обліку стерилізації інфікованого матеріалу»; речовинами, які застосовуються для хімічних тестів під час стерилізації у паровому автоклаві (стерилізаторі) або сухим жаром, та методикою проведення бактеріологічного контролю роботи автоклава.

**Завдання 1.** Ознайомитись та записати зразок оформлення журналу «Облік стерилізації інфікованого матеріалу» (табл.1).

Про проведену стерилізацію інфікованого матеріалу (культур, токсинів, заражених тварин тощо) в автоклаві проводять запис у журналі «Облік стерилізації інфікованого матеріалу».

Таблиця 1

Облік стерилізації інфікованого матеріалу

Дата	Підрозділ установи, звідки надійшов матеріал	Найменування матеріалу	Кількість опломбованих ємностей	Підпис особи, яка здала матеріал	Номер автоклава	Час автоклавування		Режим автоклавування (тиск, температура)	Результати контролю		Підпис особи, яка провела автоклавування
						початок	кінець		Хімічне тестування	Бактеріологічний контроль	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

*Автоклавування* – стерилізація парою під тиском з високою температурою. Здійснюють в спеціальному апараті – автоклаві. В основі цього засобу лежить нагрівання матеріалу, поміщеного в автоклав герметично закритою кришкою, чистою насиченою парою під тиском вище атмосферного. При зустрічі насиченої пари з більш холодним об'єктом пара конденсується перетворюючись на воду, в результаті чого виділяється велика кількість тепла, і температура об'єкту стерилізації швидко підвищується.

Промисловість випускає автоклави вертикальні і горизонтальні. Вертикальний автоклав являє собою двостінний металевий котел циліндричної форми, що закривається герметично кришкою. Через спеціальний кран з виводом між стінками заливають воду до певного рівня.



Внутрішня стінка котла в верхній частині має отвір, в нижній частині котла – кран, через який при нагріванні води пара витісняє повітря з котла. Автоклав нагрівають включенням в електромережу. Автоклав завантажують матеріалом, кришку закривають герметично, закривають кран, через який заливають воду, нижній кран тимчасово залишається відкритим.

При закипанні води між стінками автоклаву пара, що утворюється піднімається доверху і через верхній отвір внутрішньої стінки потрапляє всередину котла, поштовхами витісняючи повітря через нижній відкритий кран. Коли повітря все витиснеться і пара починає виходити рівним струменем, нижній кран закривають. В результаті тиск пари всередині автоклаву підвищується.

Початком стерилізації вважають момент досягнення показань манометра заданої величини. Нагрів регулюють протягом усієї стерилізації, підтримуючи тиск пари на одному рівні. При надмірному підвищенні тиску всередині автоклаву передбачений запобіжний клапан, через який автоматично надлишок пари виходить назовні.

При підвищенні тиску пари відповідно підвищується і температура в автоклаві:

тиск	температура
$0,5 \cdot 10^5$ Па	110-112 <sup>0</sup> С
$1,0 \cdot 10^6$ Па	120-121 <sup>0</sup> С
$1,5 \cdot 10^6$ Па	124-126 <sup>0</sup> С
$2,0 \cdot 10^6$ Па	132-133 <sup>0</sup> С

Манометр показує тиск пари без врахування навколишнього атмосферного тиску (760 мм. рт. ст.). По закінченні часу стерилізації автоклав відключають. Після охолодження при нульовій позначці манометру відкривають кран для того, щоб випустити пару. Кришку відкривають обережно на себе, не заглядаючи в котел, уберігаючи очі від можливої залишкової пари. До повного виходу пари відкривати кришку не можна, бо при швидкому падінні тиску всередині автоклаву простерилізовані рідкі середовища закипають, корки з пробірок виштовхуються разом з рідиною.

В автоклаві стерилізують живильні середовища, що витримують нагрівання вище 100<sup>0</sup>С (МПА, МПБ, фізрозчин).

Крім того, в автоклаві знезаражують використані бактеріальні культури, посуд. В цих випадках тиск пари і експозиція стерилізації повинні бути тривалішими (0,15 МПа - 1 год), ніж при стерилізації чистого матеріалу (0,05 МПа – 30-40 хв). Для перевірки якості роботи автоклаву, відповідність показів манометра і температури пару використовують різноманітні хімічні речовини (бензонафтол, сірка), які мають певну температуру плавлення.

Горизонтальний автоклав відрізняється від вертикального конструкцією, але принцип роботи той же.

**Завдання 2.** Ознайомитись та записати речовини, які застосовуються для хімічних тестів під час стерилізації у паровому автоклаві (стерилізаторі) або сухим жаром (табл. 2).

Роботу автоклавів перевіряють хімічними тестами або максимальними термометрами при кожному завантаженні автоклава і щомісячно - бактеріологічним методом.

*Контроль ефективності стерилізації* є одним з ключових етапів приготування середовищ. Неправильно вибраний режим стерилізації або не відрегульована робота автоклаву може призводити до перегріву поживних середовищ. Короткий період дії високої температури викликає більший летальний ефект та невелику хімічну деградацію середовища, ніж тривале прогрівання за нижчими температурами. Перегрів поживних середовищ супроводжується зміною рН, потемнінням, утворенням осаду, послабленням міцності гелю та погіршенням біологічних властивостей середовища. Стерилізація середовищ, що мають значення рН, відмінні від нейтрального, небажана, тому що такі середовища чутливі до перегріву. За умов високих температур відбуваються незворотні зміни: агар гідролізується та втрачає міцність гелю, вуглеводи карамелізуються тощо. Тому середовища рекомендується стерилізувати при нейтральному значенні рН, а після цього доводити рН до необхідного значення за допомогою стерильних розчинів кислоти або лугу. Перед стерилізацією усі компоненти середовища повинні бути розчинені, агаризовані середовища необхідно стерилізувати зразу після розплавлення агару, не дозволяючи йому застигнути. Небажано стерилізувати у великих ємностях (більше 2000 см<sup>3</sup>), тому що виникає ризик локального перегріву.

Якість стерилізації перевіряється використанням термо- та біоіндикаторів. Перші, у вигляді смужок, наклеюються на пакувальний папір і реагують на температуру у середині камери зміною кольору (табл.2). Їх використовують для контролю автоклавування посуду та інструментів.

Під час автоклавування рідин (поживних середовищ) необхідно використовувати рідкі ампульні біоіндикатори, що містять дозовану кількість терморезистентної тест-культури *B. stearothermophilus*, яка є міжнародним референтним індикатором у відповідності до стандарту EN 556.

Таблиця 2

Речовини, які застосовуються для хімічних тестів під час обробки в паровому автоклаві

Найменування речовини	Точка плавлення	Режим, МПа
Бензонафтол	110	0,05
Антипірин	112-115	0,075
Сірка	119	0,11
Бензойна кислота	120-121	0,11
Безводна фталієва кислота	126	0,15
Сечовина	132	0,2
Глюкоза	146	Сухим жаром
Сахароза	160	Те ж
Винна кислота (1,2 - діоксиянтарна)	170-180	

**Завдання 3.** Вивчити та законспектувати методику проведення бактеріологічного контролю роботи автоклава.

Бактеріологічний контроль автоклавів здійснюється згідно з Методичними вказівками щодо контролю парових стерилізаторів (автоклавів) у лікувальних установах (типу "АВ", "АГ", "АЩ", "АОВ").

*Методика проведення бактеріологічного контролю роботи автоклаву.*

1. Для бактеріологічного контролю роботи автоклаву використовують заздалегідь підготовлені біологічні зразки ґрунту.

2. Пронумеровані зразки ґрунту, загорнуті в пергаментний та фільтрувальний папір, закладають у стерилізаційні коробки в матеріал, що стерилізується, разом з максимальними термометрами. У кожену коробку поміщають не менше трьох проб ґрунту. По дві проби закладають зовні коробок у верхній та нижній частинах стерилізаційної камери автоклаву.

3. Режим стерилізації під час контролю реєструють у протоколі, де записують місце розміщення проб ґрунту, максимальних термометрів та їх показання, а також результати бактеріологічних досліджень.

4. Після закінчення роботи, проби ґрунту в той же день відправляють до бактеріологічної лабораторії. Бікси зі стерилізованим матеріалом, де були термометри й проби ґрунту, підлягають повторній стерилізації.

5. У бактеріологічній лабораторії, із дотриманням асептичних умов, кожену пробу засівають у дві широкогорлі пробірки: в першу з 20 см<sup>3</sup> м'ясопептонного цукрового бульйону, в другу - 20 см<sup>3</sup> напіврідкого м'ясопептонного агару. Під час посіву розгортають зовнішню обгортку із фільтрувального паперу, стерильними ножицями обрізають куточок пакета і над полум'ям пальника висипають ґрунт у пробірки. Посіви витримують у

термостаті при температурі 37°C протягом 7 діб. Одну пробу ґрунту (контрольну) залишають у лабораторії і засівають її після посіву дослідних проб.

6. З пробірок, в яких є ріст, проводять посів на м'ясопептонний агар для підтвердження росту спорової культури. Ріст вегетативних форм (коків, сарцин) не враховують, вважаючи, що їхня мікрофлора внесена в процесі посіву.

7. При наявності росту спорової культури, хоча б в одній пробірці, бактеріологічний контроль повторюють. Коли ж і при повторній роботі виявляються нестерильні проби, припиняють використовувати автоклав для стерилізації і проводять ретельну перевірку технічного стану автоклава, контрольно-вимірювальних приладів, термостійкості мікрофлори, яка міститься у пробах ґрунту, і знову проводять бактеріологічний контроль ефективності стерилізації в цьому автоклаві.

*Приготування біопроб для бактеріологічного контролю роботи автоклава.*

1. Ґрунт, який беруть з городу, клумби, в садку, висушують при кімнатній температурі, подрібнюють у ступі і просівають через дрібне сито або один шар марлі (поза приміщенням бактеріологічної лабораторії).

2. Зразки ґрунту, вагою по 3 г кожна, загортають послідовно в пергамент, а потім у фільтрувальний папір (як лікарський порошок).

3. Зразки ґрунту, не менше трьох від наявного зразка, поміщують в автоклав, розташовуючи їх на кришці порожньої стерилізаційної коробки (для попередження змочування конденсатом).

4. Після продувки доводять тиск пари в автоклаві до 0,11 МПа (1,1 кгс/см<sup>2</sup>) (температура 120±1°C) і через 5 хвилин випускають пару. Підймання тиску проводять максимум протягом 8 хв., випускання - 3 хв. Обмеження часу підймання тиску й випускання пари потрібно для зменшення часу дії пари на мікрофлору проб ґрунту до і після експозиції.

5. Після обробки проб ґрунту їх піддають бактеріологічному дослідженню так, як вказано в п.п.4 і 5 «Методики проведення бактеріологічного контролю».

6. Якщо при експозиції в 5 хв. у всіх пробірках з засіяними пробами ґрунту немає росту, то при наступній перевірці експозицію скорочують до 3 хвилин. Коли й при цій експозиції всі проби ґрунту виявляються стерильними, цей зразок ґрунту вважають непридатним для контролю роботи автоклавів.

7. Ґрунт, який вміщує термостійкі сапрофіти, підсушений і просіяний, зберігається в банках з притертими корками при кімнатній температурі в темному місці. Термін використання його для бактеріологічного контролю роботи автоклавів становить 6-7 місяців. Через 3-4 місяці належить перевірити збереження термостійкості мікрофлори в цьому ґрунті.

### ***Контрольні запитання:***

1. Як називається журнал, в якому проводять запис про проведену стерилізацію інфікованого матеріалу?
2. Які речовини застосовуються для хімічних тестів під час стерилізації у паровому автоклаві (стерилізаторі) або сухим жаром?
3. В якому порядку здійснюється бактеріологічний контроль роботи автоклавів?
4. Як приготувати патматеріал для автоклавування?

### **2.2.3. Організація роботи у секційній та в боксі**

**Мета.** Ознайомити здобувачів із обладнанням, яке повинно бути у секційній та в боксі, спец одяг для працівників, які працюють у секційній, порядок проведення розтину та дослідження трупів тварин, проведення роботи в боксі.

**Завдання 1.** Ознайомитись та законспектувати яке необхідне обладнання повинно бути у секційній, та спецодяг для працівників, які працюють у секційній.

У секційній повинно бути таке обладнання: секційний стіл для розтину трупів тварин і птиці, столик з інструментарієм, столик для записів, шафа для зберігання інструментарію, лабораторного посуду та предметного скла, шафа для спецодягу, умивальник, свіжоприготовлений дезрозчин у достатній кількості для миття рук.

Секційний стіл (висота 80-90 см, довжина 175 см, ширина 80 см) повинен бути покритий оцинкованим залізом, алюмінієм, пластиком або штучним каменем і мати бортик, а в центрі покриття - отвір для стоку рідини, з'єднаний із деззбірником.

У секційній обладнують бокс для проведення первинних посівів.

Перед входом у секційну розміщують дезкилимочок.

Секційний стіл повинен бути укомплектований двома газовими пальниками або спиртівками, шпателями та підставкою для їхнього прожарювання, стерильними пастерівськими піпетками, банкою з ватою, олівцями або чорнилом по склу, банкою з предметним склом, ножицями, пінцетами, скальпелями у фарфоровому стакані, ватними тампонами в банці з притертою пробкою, банками з дезрозчинами (5% розчином карболової кислоти, хлораміну чи лізолу) для відпрацьованих піпеток та для інструментів.

Працівників, які працюють у секційній, крім спецодягу забезпечують комплектом санітарного одягу і захисних засобів (комбінезон, халат бавовняний, ковпак або косинка, фартух прогумований, рукавички гумові анатомічні або хірургічні, нарукавники клейонкові, чоботи гумові або калоші, окуляри захисні, ватно-марлева маска, рушник).

**Завдання 2.** Законспектувати організацію проведення розтину та дослідження трупів тварин.

Для розтину та дослідження трупи тварин поміщають у кювети.

Трупи дрібних тварин під час розтину фіксують голками на дошці або парафіновому блоці, який знаходиться у кюветі.

Перед розтином труп тварини занурюють у 3% мильний розчин, а потім протирають ватним тампоном, змоченим у воді і віджатим.

Після закінчення розтину трупи спалюють у печі або автоклавують. Стіл, на якому проводили розтин, і предмети, які торкалися інфікованого матеріалу, дезінфікують.

При випадковому пораненні розтин припиняють, миють руки, рану дезінфікують розчином йоду, покривають лейкопластиром, перев'язують, змінюють рукавички і продовжують роботу. Після закінчення розтину трупа рану дезінфікують повторно.

При підозрі на особливо небезпечні хвороби роботу з патматеріалом необхідно проводити в гумових рукавичках, захисних окулярах і в масці.

Посіви з патологічного матеріалу, приготування мазків, відбір матеріалу для зараження лабораторних тварин потрібно проводити над кюветою.

Мазки, пробірки, чашки з посівами та пересівами, пробірки з матеріалом, узятим для зараження - підписують, вказуючи дату й назву матеріалу (тканини, органу), відібраного чи посіяного.

Після закінчення роботи стіл необхідно ретельно продезінфікувати 5% розчином хлораміну, відпрацьовані піпетки, інструмент, інші предмети, якими торкалися до інфікованого матеріалу, зібрати в стерилізатор або бікси для знезараження.

Інструмент загортають у марлю і дезінфікують кип'ятінням у 2% розчині питної соди протягом 30 хвилин.

Гумові фартухи, нарукавники, чоботи обробляють хлораміном і миють водою з милом. Рукавички знезаражують не скидаючи з рук, насухо витирають, потім, посипавши тальком, знімають вивертаючи.

Після роботи секційну необхідно прибрати, підлогу змити гарячою водою і продезінфікувати.

Стіни секційної необхідно дезінфікувати не рідше одного разу на тиждень.

Для знезараження стін та підлоги застосовують один із вказаних дезрозчинів: розчин хлорного вапна із вмістом 2-4% активного хлору, зоостерил, дезокс, 2% розчин формальдегіду, 4% гарячий розчин гідроксиду натрію.

Трупи тварин та інший матеріал після дослідження автоклавують або спалюють у печі. Режим автоклавування встановлюють у кожному окремому випадку залежно від виду інфекції.

**Завдання 3.** Ознайомитись та законспектувати з організацією роботи в боксі.

У вірусологічному відділі обладнують бокси площею не менше ніж 9 м<sup>2</sup> і передбоксники - не менше ніж 4 м<sup>2</sup>, а в бактеріологічному, серологічному, мікологічному, паразитологічному відділах, у блоці для досліджень з ветеринарно-санітарної експертизи, у секційній, віварії для роботи із зараженими піддослідними тваринами, у кімнаті для приготування поживних середовищ, у відділі з виробництва біологічних препаратів - бокс площею 3-5 м<sup>2</sup> і передбоксник площею не менше ніж 2 м<sup>2</sup>.

Бокс і передбоксник повинні бути розділені між собою скляною перегородкою. Двері боксу повинні бути розсувними.

Перед тим, як приступити до роботи в боксі потрібно в передбокснику одягнути санітарний одяг і там же проводяться допоміжні роботи.

У передбокснику розміщують медичну шафу для зберігання стерильного матеріалу та шафу для халатів і одягу.

В бокс і передбокснику вмонтовують опромінювачі бактерицидні стельові ОБС-300 або (і) настінні - ОБН-150, вимикачі яких повинні знаходитися, відповідно, поза і передбоксником.

Перед початком роботи бокс опромінюють бактерицидною лампою протягом 1-2 годин із розрахунку 1,5-2,5 Вт на 1 м<sup>3</sup> приміщення. Після опромінювання заходити до боксу можна тільки через 30-60 хвилин.

У боксах необхідно щотижня проводити бактеріологічний аналіз повітря.

Роботу з культурами та патологічним матеріалом проводять, дотримуючись заходів особистої безпеки, забезпечуючи чистоту посіву та запобігаючи розсіюванню збудників інфекції у навколишньому середовищі. Маніпулювати заразним матеріалом необхідно над кюветою.

Використані піпетки поміщають в банку з 5% розчином хлораміну, карболової кислоти або лізолу, потім разом із використаним посудом та інструментом знешкоджувати автоклавуванням або кип'ятінням.

При виділенні з патологічного матеріалу збудників сибірки або спорових анаеробних хвороб їх знезаражують автоклавуванням протягом 1 години під тиском в 0,2 МПа або протягом 2 годин під тиском в 0,15 МПа з наступним контрольним висівом на відповідні живильні середовища.

Такій самій обробці підлягають інструменти, скло та інші предмети, які були в контакті з інфікованим матеріалом.

При виділенні неспорових збудників або при негативних результатах бактеріологічних досліджень знезараження проводять автоклавуванням протягом 1 години під тиском в 0,15 МПа. При цьому інструменти, скло та інші предмети, які були в контакті з інфікованим матеріалом, знезаражують кип'ятінням протягом 30 хвилин у 2% розчині гідрокарбонату натрію.

У передбокснику встановлюють центрифугу для роботи з рикетсіозним або вірусним матеріалом. Рідину розливають у склянки або центрифужні пробірки з тугоплавкого скла, плексигласу або металу і обов'язково закривають пробками або загвинчують кришками.

Під час роботи двері в боксі та в передбокснику двері повинні бути щільно зачинені. У цей час заборонено виходити з боксу, а також заходити до

передбокснику іншим працівникам лабораторії.

Після закінчення роботи в боксі необхідно прибрати робоче місце, стіл, кювету та спиртівку продезінфікувати, винести відпрацьований матеріал і предмети, які не належать до боксового інвентарю, провести вологе прибирання боксу, після чого підлогу, стіни й меблі протерти дезрозчином.

Приміщення боксів не менш як один раз на тиждень миють гарячою водою з милом, дезінфекційними засобами і витирають насухо.

Після закінчення роботи й прибирання, приміщення боксів опромінюють бактерицидними лампами протягом 30-60 хвилин. Потужність опромінення повинна бути 2,5 Вт на 1 м<sup>3</sup> приміщення.

Якщо необхідно залишити в боксі матеріал до наступного дня, то в кінці робочого часу бокс опечатують.

### ***Контрольні запитання:***

1. Яке необхідне обладнання повинно бути у секційній, та спец одяг для працівників, які працюють у секційній?
2. Організація проведення розтину та дослідження трупів тварин.
3. Проведення завершальних робіт у секційній.
4. Організація роботи в боксі.

## **ТЕМА 3. ЗАГАЛЬНІ ПРАВИЛА ВЗЯТТЯ ПАТОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ, КРОВІ ТА ПЕРЕСИЛКА ЇХ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ**

### **3.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА**

#### **3.1.1. Взяття та пересилка патологічного матеріалу для бактеріологічного та вірусологічного дослідження**

Коли необхідно визначити причину захворювання або загибелі тварин (включаючи птицю, звірі, бджоли, рибу) при підозрі на інфекційне, інвазійне захворювання, на отруєння лікар ветеринарної медицини зобов'язаний відібрати відповідний патологічний матеріал та направити його в лабораторію ветеринарної медицини для дослідження.

Крім того в лабораторію направляють корма, а також кров та інший матеріал. В усіх випадках взяття та пересилання матеріалу спеціаліст зобов'язаний дотримуватись перелічених далі правил, а також відповідних інструкцій по боротьбі з хворобами тварин.

Патологічний матеріал відбирають стерильними інструментами в стерильний посуд. При цьому поверхню органу (тканини) на місці розрізу потрібно припекти полум'ям або нагрітою металеву пластинкою.

Патологічний матеріал відбирають в перші години після смерті або забивають хору тварину, яку не лікували.

Патологічний матеріал відправляють в лабораторію в не консервованому вигляді, якщо це неможливо зробити на протязі 24 годин його відправляють в консервованому вигляді або заморожують у термосі з льодом.

Для бактеріологічного дослідження патологічний матеріал (органи або їх частини) консервують 30% водним розчином хімічно чистого гліцерину або стерильним вазеліновим маслом. Воду попередньо стерилізують кип'ятінням або автоклавуванням на протязі 30 хв. Патматеріал заливають консервованою рідиною в кількості, що перевищує в 4-5 разів його об'єм.

Для вірусологічних досліджень матеріал відбирають не пізніше 2 годин після загибелі тварин (птиці), упаковують у поліетиленовий пакет і вміщують у термос з льодом, або консервують 30-50% розчином хімічно чистого гліцерину на стерильному фізіологічному розчині, попередньо простерилізованому в автоклаві при 120°C на протязі 30 хв. Невеликі трупи тварин, що загинули (поросят, ягнят), а також дрібних тварин краще надсилати цілими у водонепроникній тарі.

Трубчасті кістки надсилають на дослідження цілими, з непошкодженими кінцями, та ретельно очищеними від м'язів та сухожилок. Кістки загортають у марлю або полотно, змочені дезінфікуючим розчином (5% розчином карболової кислоти) або пересипають кухонною сіллю та загортають у полотно або марлю.

Для бактеріологічного та вірусологічного дослідження відбирають ділянки кишечника з найхарактернішими патологічними змінами. Звільняють

від фекальних мас, а кінці перев'язують. Його кладуть в банки окремо від інших органів. При необхідності консервують 40% водним розчином гліцерину або насиченим водним розчином кухонної солі. Кількість консервуючої рідини повинна перевищувати об'єм взятого матеріалу в 5-7 разів.

Фекалій для дослідження відправляють в стерильних стаканах, або банках, які добре закривають пергаментним папером. Від трупів тварин його можна надсилати в відрізьку кишечника який ще не розтинали, але його зав'язують з обох кінців. Цей матеріал доставляють в лабораторію не пізніше 24 год після взяття.

Шкіру для дослідження беруть із найбільш уражених місць розміром 5x5 см. Надсилають в стерильній, герметично закритій посудині.

Кров, гній, слиз, ексудат, сечу, жовч і інший рідкий патологічний матеріал для бактеріологічного і вірусологічного дослідження направляють в стерильних пробірках або у флаконах, добре закритих стерильними гумовими пробками. З крові, гною, виділень з різних порожнин і природних отворів для мікроскопічного дослідження (виявлення в них мікробів, кровопаразитів і визначення лейкоцитарної формули) готують мазки.

Предметні скельця заздалегідь кип'ятять протягом 10-15 хв в 1-2% водному розчині соди, потім добре промивають чистою водою і витирають насухо. Сухі скельця поміщають в розчин спирт-ефіру, які беруть в рівних частинах, де і зберігають до наступного використання.

У тварин кров беруть з вени вушної раковини або краю верхівки вуха, у птахів – з гребня або підкрильцевої вени. Шерсть на місці взяття крові вистригають або виголюють, шкіру ретельно протирають ватними тампонами, змоченими спочатку спиртом, а потім ефіром. Інструменти (голки, скальпель) повинні бути стерильними.

Першу краплю крові знімають стерильною ватою (за винятком дослідження крові на бабезіоз, коли для мазка беруть першу краплю крові), а наступну краплю що виступила беруть на заздалегідь підготовлене предметне скло шляхом швидкого і легкого дотику до краплі поверхні скла.

Потім скло швидко повертають вгору краплею і утримують між пальцями лівої руки в горизонтальному положенні. До лівого краю краплі під кутом 45° торкаються шліфованим краєм іншого предметного (або покривного) скла. Як тільки крапля рівномірно розподілиться по його ребру, її швидко розтягують по поверхні предметного скла зліва направо, не доводячи до краю на 0,5-1 см. Ширина мазків не повинна доходити до країв предметного скла. Для кожного нового мазка беруть свіжу краплю крові.

Готові мазки висушують на повітрі, підсушувати над полум'ям або на сонці не рекомендується. В холодну пору року їх готують в теплому приміщенні або на склі, підігрітому на кришці стерилізатора. Метод фіксації мазків залежить від мети дослідження.

Правильно підготовлені мазки крові повинні бути тонкими, рівномірними, достатньої довжини. На них гострим предметом пишуть номер

або кличку тварини і дату виготовлення мазка.

Мазки з тканин, гною, органів і різних виділень готують шляхом розмазування матеріалу на склі стерильною паличкою або ребром іншого предметного скла до тонкого шару. Частинки органів щільної консистенції, тверді вузлики, а також в'язкий матеріал доцільно поміщати між двома предметними скельцями, після розтирання яких стекла роз'єднують в протилежні сторони по горизонталі і одержують два досить тонких мазки. Іноді готують препарати-відбитки. Для цього вирізаний гострим скальпелем шматочок органу захоплюють пінцетом і вільною поверхнею шматочка роблять на склі декілька тонких відбитків.

При взятті пунктату з лімфатичного вузла тварину добре фіксують, на місці пункції вистригають шерсть, шкіру протирають ватним тампоном, змоченим у спирті або розчині йоду. Лівою рукою відтягують лімфатичний вузол і утримують між великим і вказівним пальцями. Потім у глибину вузла вводять стерильну голку, надівають на неї шприц і відсмоктують лімфу. Потім шприц від'єднують, голку витягують, а вміст шприца витискають поршнем на предметне скло. Роблять тонкі мазки і висушують. Місце пункції дезінфікують розчином йоду.

### **3.1.2. Взяття крові для серологічного дослідження**

Відбір крові для серологічного дослідження. У коней, великої рогатої худоби, верблюдів, оленів, овець і кіз кров беруть з яремної вени у верхній третині шиї в стерильні пробірки по 5-7 мл. Голки перед взяттям крові обов'язково стерилізують кип'ятінням. Шерсть на місці взяття крові ретельно вистригають, шкіру дезінфікують спиртом або 3% розчином карболової кислоти. Перед тим, як брати кров стерильні пробірки бажано змочити фізрозчином. Потрібно стежити, щоб кров стікала в пробірку по стінці струменем, а не краплями, інакше вона спініться, швидше гемолізується і результати досліджень будуть неточні.

Не можна допускати, щоб кров потрапляла на землю. У свиней кров беруть з вени вуха (голкою або шприцом) або з кінчика хвоста, очного синуса, краніальної порожнистої вени. Хвіст заздалегідь обмивають водою з милом і дезінфікують спиртом або 3% розчином карболової кислоти, а потім кінчик його відрізають ножицями. Після узяття крові кінчик хвоста обробляють йодом, перев'язують лігатурою, яку знімають через 10 – 12 годин або припікають.

У птиці кров беруть з підкрильцевої вени або з гребінця. У лисиць, песців – із стегнової вени. Кров бажано брати вранці, до годівля тварин.

Пробірки з кров'ю нумерують (проставляють порядковий номер та номер тварини).

Одержану кров витримують близько години при температурі 20-30°C для зсідання, потім згусток крові відокремлюють від стінок пробірки металевією спицею (дротиком), яку пропалюють над спиртівкою. Через 18–24 години відстояну сироватку (2 – 3 мл) переливають в сухі стерильні пробірки (краще

Флоринського) і етикують так само, як і пробірки з кров'ю.

Далі матеріал направляють в свіжому або консервованому вигляді. Пробірки з сироваткою закривають стерильними гумовими корками і ставлять у вертикальному положенні для пересилання (пробірки Флоринського у однойменних штативах). Сироватку крові доставляють в лабораторію не пізніше перших діб і у виняткових випадках на третій день після узяття крові.

При пересилці сироватки на велику відстань, особливо влітку, її необхідно консервувати 5% розчином карболової кислоти на фізіологічному розчині з розрахунку на кожні 9 мл сироватки 1 мл розчину карболової кислоти або 1-2 краплі на 1 мл сироватки. Розчин карболової кислоти необхідно підливати по краплях при постійному струшуванні пробірки з сироваткою.

Сироватку або кров можна консервувати також борною кислотою (в порошку) з розрахунку 0,05-0,07 г (на кінчику скальпеля) на одну пробірку. (4% до об'єму сироватки) до отримання насиченого розчину і утворення на дні пробірки невеликого осаду кристалів.

Можна одноразово заморожувати (для дослідження на вірусні інфекції до мінус 20°C).

Неконсервована сироватка придатна для дослідження протягом 6 днів з моменту взяття крові, якщо її зберігати при температурі 4 – 8°C.

Сироватка, консервована борною кислотою, придатна для дослідження протягом 30 днів; заморожена – протягом 3 – 4 днів після одноразового розморожування.

Каламутна, проросла, гемолізована сироватка дослідженню не підлягає.

Для серологічного дослідження в лабораторію можна відправляти і цільну кров, не відділяючи сироватки, але за умови, що в дорозі її не струшуватимуть і вона не піддається гемолізу.

Але зараз все частіше кров беруть в одноразові шприци. Для дослідження достатньо 4-5 мл крові щоб отримати достатню кількість сироватки. Після того, як взяли кров поршень шприца потрібно відтягнути до самого верху, але не виймати, голку загнути і вставити в ковпачок і в такому вигляді доставити в лабораторію.

У норку кров беруть у скляні капіляри. Для цього норку фіксують і зрізають ножицями кіготь або м'якуш одного з пальців задньої кінцівки. До краплі, що виступила, підставляють скляний капіляр, тримаючи його горизонтально. Після заповнення кров'ю капіляр з одного боку закривають пластиліном і ставлять у спеціальний штатив з пронумерованими гніздами. Після відбору проб штатив з капілярами переносять у тепле місце (краще термостат) при 38°C на 40-50 хвилин для зсідання крові, а потім центрифугують при 1500-3000 хв<sup>-1</sup> протягом 5-10 хвилин. Того ж дня ставлять реакцію.

Перед відправленням у лабораторію складають опис проб (два примірники).

### **3.1.3. Відбір матеріалу для патогістологічного дослідження**

Для патогістологічного дослідження матеріал (органи і тканини, в яких ті чи інші патологічні зміни) беруть із свіжих трупів або забитих тварин. З різних ділянок патологічно змінених органів (тканин) вирізують невеличкі шматочки завтовшки 1-2 см. Матеріал повинен вміщувати патологічно змінену тканину та розміщену поряд нормальну.

При вирізуванні шматочка враховують мікроскопічну будову органа і тканини. Так, шматочки з нирки повинні складатися з коркового і мозкового шарів. При вирізуванні проб із органів однакової будови захоплюють і їх капсули.

Відразу ж після відбору матеріал переносять у фіксуючу рідину, об'єм якої в 10-20 разів повинен перебільшувати об'єм взятого матеріалу. Для фіксації найчастіше використовують 10% водний нейтральний розчин формаліну, що є в продажу, або 96% етиловий спирт. Спирт застосовують для фіксації шматочків тканини завтовшки не більше 0,5 см. У всіх випадках фіксуючу рідину змінюють через добу.

Патологічний матеріал фіксують у скляному посуді. Головний і спинний мозок фіксують у 10% нейтральному формаліні, що є в продажу. Формалін нейтралізують сухою крейдою або вуглекислою магnezією у співвідношенні 1 : 10 – 1 : 20 від об'єму формаліну. Шматочки мозку можна зберігати у 96% етиловому спирті рідині Карнуа або суміші Буена.

Для гістохімічних досліджень патологічний матеріал фіксують у 96% етиловому спирті рідині Карнуа (спирт абсолютний – 60 мл, хлороформ – 30 і льодяна оцтова кислота – 10 мл) або рідині Буена (концентрована пікринова кислота – 15 мл, формалін – 5, льодяна оцтова кислота – 1 мл). На етикетці обов'язково вказують фіксуючий розчин.

При транспортуванні взимку патологічний матеріал, зафіксований формаліном, перекладають у 30–50% розчин гліцерину на 1% розчині формаліну або у 70% етиловий спирт чи в насичений розчин кухонної солі.

На банку з шматочками органів і тканини наклеюють етикетку, на якій вказують номер чи кличку тварини, всередину посуду опускають етикетку із щільного паперу чи картону, на якій простим (не хімічним) олівцем вказують номер тварини.

В одну банку можна поміщати декілька проб від різних тварин при умові, якщо кожна з них зав'язують у марлю разом з окремою етикеткою.

### **3.1.4. Упаковка та пересилка патологічного матеріалу**

Трупи дрібних тварин, частини трупів великих тварин і окремі органи в свіжому (не консервованому) вигляді відправляють для дослідження в лабораторію тільки нарочним. Матеріал особливо від тварин, в яких підозрюють інфекційне захворювання, повинен бути ретельно упакований в щільний дерев'яний або металевий ящик, щоб попередити можливість розсіювання інфекції в дорозі. Перед упаковкою матеріал необхідно загорнути в поліетиленову плівку, полотно або мішковину, змочену

дезінфікуючим розчином (фенолового креоліну, лізолу, вапняного молока), і поміщають в ящик із стружками, половиною або тирсою.

Проби консервованих органів, тканин можна доставляти в лабораторію нарочним або пересилати поштою. При цьому матеріал поміщають у скляний посуд, що герметично закривається притертим скляним, пластмасовим або гумовим корком. Останній закріплюють дротом, шпагатом і заливають сургучем, парафіном або воском. Потім посуд ставлять у міцний щільний ящик і обкладають ватою.

Скляний посуд з матеріалом, підозрілим на наявність збудників особливо небезпечних хвороб (сап, сибірка, емфізематозний карбункул, бруцельоз, туляремія, перипневмонія і чума великої рогатої худоби, чума свиней, псевдочума птахів, ящур, сказ), поміщають у металеву коробку, яку запаюють, пломбують або опечатують, а потім запаковують ще в дерев'яний ящик. При цьому складають супровідний документ.

Якщо при розкритті посилки в лабораторії буде встановлена невідповідність супровідному документу або зіпсований патологічний матеріал, про це складають акт, копію якого направляють лікарю ветеринарної медицини, який направив матеріал в лабораторію. В цьому випадку, а також при надходженні матеріалу без супровідного листа дослідження не проводять.

### **3.1.5. Порядок оформлення і відправки супровідних документів до матеріалу, що направляється для дослідження**

Порядок оформлення і відправки супровідних документів до матеріалу, що направляється на дослідження. На кожний матеріал, що відправляється в лабораторію, заповнюють супровідний документ по формах.

Супровідний документ надсилають нарочним в запечатаному конверті одночасно з матеріалом. В ньому вказують: вид, стать і вік тварини, від якої узятий матеріал для дослідження, її інвентарний номер або кличку, скільки банок з матеріалом, на яке дослідження його надсилають, короткий опис клінічних ознак і патологоанатомічних змін.

При необхідності до документу додають додаткові відомості про надану тварині допомогу, вживані лікарські засоби, з якого часу і які корма згодовували тваринам тощо.

До супровідного документа на проби крові, що направляються в плановому порядку для серологічного або гематологічного дослідження, додають опис проб в двох екземплярах.

Досліджують патологічний матеріал у ветеринарних лабораторіях в порядку його надходження, а при підозрі на гострозаразні хвороби (сибірка, емфізематозний карбункул, чума, рожа свиней та ін.), а також м'ясо тварин – поза чергою. негайній обробці піддають також матеріал, час придатності якого для дослідження обмежено (патматеріал для бактеріологічного дослідження на лептоспіроз, вібріоз, трихоманоз, диплококову септицемію та ін.). Весь матеріал що поступає у лабораторії ветмедицини реєструють у

відповідних журналах (форми журналів і порядок їх заповнення приведені в «Інструкції по ветеринарному обліку і ветеринарній звітності»).

Про результати дослідження лабораторії зобов'язані повідомляти організації, установи, господарства і підприємства, що надіслали матеріал, строго у встановлені терміни по формах згідно додаткам 3, 4. (на практичних).

У разі встановлення особливо небезпечної інфекційної хвороби в матеріалі, надісланому фахівцем господарства (підприємства), ветеринарної ділянки, лабораторія зобов'язана одночасно повідомити про це головного лікаря ветмедицини району (міста) по місцю знаходженню господарства.

Відповідь лабораторії про результати дослідження повинна бути докладною і зрозумілою. В експертизі вказують причини захворювання або загибелі тварини, заходи боротьби, що рекомендуються, зі встановленою хворобою, а в необхідних випадках дають вказівки про доставку патматеріалу для додаткового дослідження.

### **3.1.6. Правила приймання патологічного та інших матеріалів для дослідження**

Правила прийому патологічного і інших матеріалів на дослідження. Патологічний і інші матеріали, що надходять у відділи лабораторії на дослідження приймає один відповідальний працівник. Він проходить інструктаж по техніці безпеки в кожному з підрозділів лабораторії. В районних ветеринарних лабораторіях приймати патологічний матеріал і кров можуть лаборанти відповідних підрозділів.

В кожному лабораторному корпусі повинен бути окремий вхід (двері) для внесення патологічних і інших направлених патологічних і біологічних матеріалів на дослідження, ведучий в спеціальну кімнату для їх прийому і у секційну. Кімнату відділяють від передпокою (тамбура) дверима, в яких є вікно із стулками.

Приймальну кімнату необхідно ізолювати від інших приміщень лабораторії дверима, що закриваються, з вікном. В ній обладнають раковину з кранами, що відкриваються натиском ліктя, а також встановлюють 2–3 столи (або стелажу), покриті оцинкованим залізом або пластиком, стійким до лугів і кислот, шафа для спецодягу. Тут же бережуть розчини дезінфікуючих засобів.

Матеріал передають фахівцям відповідних відділів через вікно із стулками, що щільно закриваються. Внутрішня поверхня підвіконня цього вікна покрита стійким до лугів, кислот і коливань температур матеріалом (пластиком).

Лаборанта, відповідального за приймання патологічного матеріалу, забезпечують спецодягом (халат, ковпак, гумові чоботи або калоші, гумові рукавички і ін.), милом, рушником і дезрозчином.

Зареєструвавши матеріал, що поступив, і з'ясувавши, з якою метою він доставлений, характер необхідних досліджень, лаборант приймає і обережно розставляє його в закріплені за підрозділами (відділами) лотки, гніздові контейнери (залізні ящики) або штативи на відповідних столах (стелажках).

Якщо під час приймання і розстановки матеріал випадково пролили або

знайшли підтікання рідини, його негайно перекладають в стерильний посуд, а забруднені і стикалися з ним поверхні обробляють дезрозчином або ретельно фламбують. При цьому лаборант повинен повідомити про те, що трапилося відповідного фахівця.

Навіть у разі великого завантаження працівників лабораторії (при масових серологічних дослідженнях крові) доручати нарочним розкладати проби патматеріалу або кров в штативи і контейнери забороняється. При необхідності додатково виділяють лаборанта з відповідного підрозділу або відділу. Приймальне приміщення сполучають телефоном або сигналізацією з підрозділами лабораторії

Патологічний і інший матеріал з приймальні дозволяється доставляти в підрозділи тільки їх співробітникам. Лотки, штативи, контейнери повертають в приймальню тільки після їх знезараження безпосередньо в підрозділах. У разі потреби їх автоклавують. В кінці робочого дня лаборант, відповідальний за приймання патологічного матеріалу, повинен продезінфікувати внутрішню поверхню вікон (службовців для приймання і передачі матеріалу) і поверхню столів (стелажів), а при кожному виході з приміщення знімати спецодяг і ретельно обробляти дезрозчином руки, потім добре вимити їх теплою водою з милом.

## 3.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА

### 3.2.1. Відбір матеріалу, та пересилка для лабораторного дослідження

**Мета.** Ознайомити здобувачів із правилами відбору та пересилки патологічного матеріалу для бактеріологічного та вірусологічного дослідження, та відбором матеріалу для патогістологічного дослідження. Навчитись упаковувати та пересилати патологічний матеріал в лабораторію

Відмітка державної лабораторії ветеринарної  
медицини \_\_\_\_\_  
Дата надходження матеріалу \_\_\_\_\_  
Доставлено проб \_\_\_\_\_  
Забраковано \_\_\_\_\_  
"\_\_\_" \_\_\_\_\_ 20\_р.

#### СУПРОВІДНА

До \_\_\_\_\_ державної лабораторії ветеринарної медицини

Адреса \_\_\_\_\_

При цьому надсилаємо \_\_\_\_\_ проб крові (сироватки) від

\_\_\_\_\_ (вид тварин), що належать \_\_\_\_\_

(господарство, населений пункт, район), згідно опису, що додається, для \_\_\_\_\_

(вид дослідження) Дослідження на \_\_\_\_\_ (назва захворювання).

Господарство, бригада, табун \_\_\_\_\_

(благополучне чи неблагополучне, щеплені тварини чи ні, назва вакцини і дата щеплення)

Дослідження проводиться первинно чи вдруге (підкреслити) \_\_\_\_\_

Дата і наслідки попереднього дослідження \_\_\_\_\_

Дата взяття проб крові \_\_\_\_\_

для дослідження, та оформляти супровідні документи. Ознайомитись з правилами приймання патологічного та інших матеріалів для дослідження.

**Завдання 1.** Ознайомити здобувачів із супровідними документами, які оформляють на патологічний матеріал, до проб крові та до проб шкір сировини.

### Список тварин, від яких взята кров для дослідження

№ з/п	Назва господарства, або прізвище та ініціалів власника тварин	Стать	Вік, масть	Кличка та інвентаризаційний номер	Результати досліджень				
					РА		РЗК	РМА	
					позитивні, сумнівні, негативні	титр	позитивні, сумнівні, негативні	сероти пи	титр

Лікар (фельдшер) ветеринарної медицини  
(прізвище та ініціали), що надіслав проби

\_\_\_\_\_

(підпис, прізвище та ініціали)

Лікар ветеринарної медицини  
(прізвище та ініціали), що проводив дослідження

\_\_\_\_\_

(підпис, прізвище та ініціали)

### СУПРОВІДНА ВІДОМІСТЬ №

В \_\_\_\_\_ державну лабораторію ветеринарної медицини  
Адреса \_\_\_\_\_

При цьому направляються для дослідження за реакцією преципітації на сибірку проби шкіряної (хутрової) сировини, що належать \_\_\_\_\_

Адреса і телефон організації (підприємства) \_\_\_\_\_

Вид сировини	Консервування	№ серії	№ тюка, табеля	№ проб від ____ до ____	Кількість проб	Примітка
1	2	3	4	5	6	7

Проби надсилаються (посильним, поштою) \_\_\_\_\_  
запаковані \_\_\_\_\_ і опломбовані \_\_\_\_\_.

(вказати тару)

Лікар ветеринарної медицини \_\_\_\_\_  
(прізвище, підпис)

**Примітка.** Відомість заповнюється в двох примірниках, один з яких залишається в лабораторії, а другий повертається назад з розпискою про доставлені проби.

**СУПРОВІДНА**

До \_\_\_\_\_ державної лабораторії ветеринарної медицини  
Адреса \_\_\_\_\_

При цьому направляється

для \_\_\_\_\_  
(вид досліджень)

патологічний матеріал (зазначити який) \_\_\_\_\_

від \_\_\_\_\_, що належить \_\_\_\_\_  
(вид і вік тварини) (господарство, ферма, відділок, прізвище  
власника тварини)

Дата захворювання (*птиці, тварин, бджіл, риб, звірів*) \_\_\_\_\_

Дата падежу \_\_\_\_\_

Клінічна картина хвороби \_\_\_\_\_

Дані патологоанатомічного розтину \_\_\_\_\_

Попередній діагноз \_\_\_\_\_

Дата направлення  
матеріалу \_\_\_\_\_

За проведені дослідження оплату гарантуємо.

Наш рахунок \_\_\_\_\_

Директор (*керівник*) підприємства \_\_\_\_\_  
(посада, ПП) (підпис)

Головний лікар \_\_\_\_\_  
(ПП, підпис)

**Завдання 2.** Ознайомитись та законспектувати правила приймання патологічного та інших матеріалів для дослідження.

Патологічний та інший матеріал, який надходить у відділи (підрозділи) лабораторії для дослідження приймає один відповідальний працівник. Він проходить інструктаж по техніці безпеки в кожному з підрозділів лабораторії. В районних лабораторіях ветеринарної медицини приймати патологічний матеріал і кров можуть лаборанти відповідних підрозділів.

В кожному лабораторному корпусі повинен бути окремий вхід (двері) для внесення патологічного та іншого матеріалу для дослідження, який веде в спеціальну кімнату для їх приймання і у секційну. Кімнату відділяють від передпокою (тамбура) дверима, в яких є вікно із стулками. Приймальну кімнату необхідно ізолювати від інших приміщень лабораторії дверима, що закриваються, з вікном. В ній обладнують раковину з кранами, що відкриваються натиском ліктя, а також встановлюють 2-3 столи (або стелажі), покриті оцинкованим залізом або пластиком, стійким до лугів і кислот, шафа для спецодягу. Тут же зберігають дезінфікуючі розчини. Матеріал передають фахівцям відповідних відділів через вікно із стулками, які щільно закриваються. Внутрішня поверхня підвіконня вікна покрита стійким до лугів, кислот і коливань температур матеріалом (пластиком).

## ОПИС

Проб крові \_\_\_\_\_, що належать \_\_\_\_\_  
кількість проб \_\_\_\_\_ Дата взяття крові \_\_\_\_\_

№ п/п	Назва г-ва, прізвище власника	Стать	Вік	Масть	Інвен. номер	Результати дослідження	Примітка

Лаборанта, відповідального за приймання патологічного матеріалу, забезпечують спецодягом (халат, ковпак, гумові чоботи або калоші, гумові рукавички та ін.), милом, рушником і дезрозчинами.

Зареєструвавши матеріал, що поступив, і з'ясувавши, з якою метою він доставлений, характер необхідних досліджень, лаборант приймає і обережно розставляє його в закріпленні за підрозділами (відділами) лотки, гніздові контейнери (залізні ящики) або штативи на відповідних столах (стелажах).

Якщо під час приймання і розкладання матеріал випадково пролили або знайшли підтікання рідини, його негайно перекладають в стерильний посуд, а забруднені і поверхні, які з ним стикалися обробляють дезрозчином або ретельно фламбують. При цьому лаборант повинен повідомити про те, що трапилося відповідного фахівця.

Приймальне приміщення з'єднують телефоном або сигналізацією з підрозділами лабораторії

Патологічний і інший матеріал з приймальні дозволяється доставляти в підрозділи тільки їх співробітникам. Лотки, штативи, контейнери повертають в приймальню тільки після їх знезараження безпосередньо в підрозділах. У разі потреби їх автоклавують.

В кінці робочого дня лаборант, відповідальний за приймання патологічного матеріалу, повинен продезінфікувати внутрішню поверхню вікон (через які приймали і передавали матеріал і поверхню столів (стелажів), а при кожному виході з приміщення знімати спецодяг і ретельно обробляти дезрозчином руки, потім добре вимити їх теплою водою з милом.

**Завдання 3.** Ознайомити здобувачів із оформленням експертиз на результати лабораторних досліджень.

## ПРОТОКОЛ розтину трупа тварини

Вид і стать \_\_\_\_\_

Порода \_\_\_\_\_ Вік \_\_\_\_\_

Масть і особливі прикмети \_\_\_\_\_

Тваринна належність \_\_\_\_\_

Дата загибелі \_\_\_\_\_

Дата і місце розтину \_\_\_\_\_

Розтин проводив \_\_\_\_\_

(прізвище, посада, місце роботи)

При розтині присутні \_\_\_\_\_

(місце роботи, посада)

1. Анамнестичні дані \_\_\_\_\_

(коли захворіла тварина, чи піддавалась лікуванню і де, номер запису в

амбулаторному журналі, коротка інформація про утримання, догляд і годівлю та вгодованість до захворювання)

2. Прижиттєвий діагноз \_\_\_\_\_

3. Загальний опис трупа \_\_\_\_\_

(зовнішні пошкодження, заклякання, стан природних отворів, тілобудова, вгодованість)

4. Видимі слизові оболонки \_\_\_\_\_

5. Підшкірна клітковина, м'язи, поверхневі лімфовузли \_\_\_\_\_

6. Черевна порожнина \_\_\_\_\_

(вміст, розміщення органів, стан очеревини)

7. Органи травлення \_\_\_\_\_

а) ротова порожнина, глотка, стравохід \_\_\_\_\_

б) шлунок \_\_\_\_\_

в) тонкий відділ кишечника \_\_\_\_\_

г) товстий відділ кишечника \_\_\_\_\_

1. Селезінка \_\_\_\_\_

2. Печінка \_\_\_\_\_

3. Сечостатеві органи \_\_\_\_\_

(нирки, сечоводи, сечовий міхур)

(сечовипускний канал, статеві органи)

4. Грудна порожнина \_\_\_\_\_

(вміст, стан пристінної плеври)

5. Легені \_\_\_\_\_

6. Перикард \_\_\_\_\_

(вміст, його стан)

7. Серце і великі кровоносні судини \_\_\_\_\_

8. Кров \_\_\_\_\_

9. Головний мозок \_\_\_\_\_

10. Спинний мозок \_\_\_\_\_

11. Лабораторний висновок \_\_\_\_\_

12. Патологоанатомічний діагноз \_\_\_\_\_

13. Після розтину \_\_\_\_\_

(труп, шкура, трупні залишки)

направлені \_\_\_\_\_

14. ЗАКЛЮЧЕННЯ \_\_\_\_\_

Підпис ветпрацівника, що проводив розтин \_\_\_\_\_

Підпис осіб, присутніх при розтині \_\_\_\_\_

### ***Контрольні запитання:***

1. Як проводиться взяття та пересилка патологічного матеріалу для бактеріологічного та вірусологічного дослідження?
2. Як проводиться взяття крові для серологічного дослідження?
3. Відбір матеріалу для патогістологічного дослідження.
4. Упаковка та пересилка патологічного матеріалу. Оформлення і відправка супровідних документів до матеріалу, що направляється для дослідження.
5. Правила приймання патологічного та інших матеріалів для дослідження.
6. Оформлення результатів лабораторних досліджень.

## ТЕМА 4. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ТА ЛАБОРАТОРНІ ТВАРИНИ

### 4.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

#### 4.1.1. Історична довідка

Існують дані про те, що ще у V столітті до нашої ери використовували тварин для вивчення морфологічної будови організму та функцій органів та систем, для розуміння причин та механізмів захворювання людини та свійських тварин та пошуків заходів їх лікування.

Для постановки різного роду експериментів ще з давнини використовували ссавців, особливо домашні та сільськогосподарські тварини (собаки, коти, кролики, кози, вівці, телята, свині, коні), дикі тварини (маври, вовки, лисиці, ведмеді, гризуни та ін.), домашні (кури, гуси, індички), та дика птиця (горобці, канарейки) риби, земноводні, різноманітні кишковопорожнинні та комахи.

Цікаві спостереження над тваринами та цінні відкриття в області біології та медицини було зроблено Цельсом, Гарвеєм, Геленом, Гунтером. Неоцінімі заслуги перед наукою мають експерименти на тваринах, виконані на протязі XIX ст. Мажанді, Клодом Бернаром, І.М.Сеченовим, І.П.Павловим та ін. В XX ст. Бурному розвитку мікробіологічної науки та хіміотерапії сприяли багаточисельні спостереження над тваринами, проведені Л.Пастером, Р.Кохом, І.І.Мечніковим, Д.К.Заболотним, П.Ерліхом.

Кожин вид існуючих на планеті тварин можна використовувати для різних досліджень як з науковою так і з педагогічною метою і відповідно, кожна тварина може стати піддослідною (експериментальною) твариною. На теперішній час для експериментів використовують 250 видів тварин. Для проведення наукових досліджень і педагогічного процесу лабораторних тварин отримують із спеціальних господарств (розплідники), де їх вирощують з врахуванням досягнень зоотехнії та тваринництва. Використовуються лише практично здорові тварини, які пройшли ветеринарний огляд, мають індивідуальний або груповий паспорт в якому вказані профілактичні заходи, які проводились в розпліднику.

Необхідність в лабораторних тваринах з кожним роком зростає. На лабораторних тваринах моделюють більше 250 захворювань людей. На даний час зусиллями вчених багатьох країн світу завдяки кропітким багаторічним дослідженням із застосуванням методу тісного інбридингу (близького внутріродового схрещування) і ретельному селекційному відбору вдалося вивести більше 250 ліній мишей, понад 60 ліній щурів, 10 ліній морських свинок, кроликів, собак, мініатюрних свиней. Кожній лінії властиві свої особливості і властивості, що передаються по спадковості (підвищена або знижена чутливість до пухлин, до певних інфекційних захворювань і т. д.). Лінійні тварини, подібно однойцевим близнюкам, гомозиготні. Вони цінні тим, що є генетично однорідними і відрізняються від нелінійних тварин постійними реакціями на дію фізіологічних, хімічних і патогенних чинників.

Експериментальні роботи вітчизняних авторів свідчать про те, що дотепер найбільш широко використовуються для проведення науково-дослідних робіт нелінійні миші і щури. Лінійні тварини, не дивлячись на їх високі якості як об'єктів експериментування, все ще недостатньо широко застосовуються.

Проте як лінійні, так і нелінійні тварини є носіями збудників багатьох вірусних, бактерійних і паразитарних захворювань, які ускладнюють виконання точних наукових досліджень. В процесі експерименту, особливо тривалого, переважаючи збудники в організмі можуть активуватися і в результаті перемінити характер реакцій тварини на випробовуваний агент. У зв'язку з цим виникла потреба в лабораторних тваринах які позбавлені мікроорганізмів і паразитів або тих тварин які мають в організмі контрольовану мікрофлору.

Сучасний рівень науки і техніки дозволяє вирощувати і утримувати в абсолютно стерильних умовах протягом всього життя лабораторних тваринних, абсолютно позбавлених мікроорганізмів і паразитуючих в їх організмі тварин (гнотобіотів) або заражених одним-двома-трьома відомими мікроорганізмами. Таким чином, виникла нова галузь біологічної науки – гнотобіологія. Робота на лінійних тваринах і гнотобіотах наблизила експериментальну біологію і медицину до категорії точних наук. Великі фінансові витрати на виведення лінійних і стерильних тварин окупилися новими науковими відкриттями в області фізіології, біохімії, імунології, онкології і інших біологічних наук.

Однак здоров'я – один з головних критеріїв якості лабораторних тварин як об'єктів медико-біологічного експерименту – обумовлено не тільки генетичними і санітарно-гігієнічними чинниками. Воно багато в чому залежить від умов годівля, утримання, а також від віку.

#### **4.1.2. Класифікація лабораторних тварин**

Беручи до уваги історичні аспекти використання різних тварин в науковому експерименті і в педагогічних цілях, їх походження і якість (генетичну однорідність, контрольованість по мікрофлорі і паразитам), умовно можна виділити наступні групи експериментальних лабораторних тварин:

1. Традиційні (звичайні, конвенціональні) лабораторні тварини. До цієї групи входять ті види тварин, які протягом 50-100 років використовуються для проведення науково-дослідної роботи і педагогічного процесу (собаки, кішки, кролики, морські свинки, нелінійні білі миші і щури, мавпи, жаби) і вирощуються в звичайних умовах.

2. Домашні і сільськогосподарські тварини, що використовуються як лабораторні, наприклад, свині, кози, вівці (барани), телята, коні, кури, гуси тощо.

3. Генетично контрольовані тварини (інбредні і конгенні лінії, гібриди різних ліній).

4. Тварини, контрольовані по мікрофлорі і паразитам. До цієї групи входять безмікробні (стерильні) миші, щурі, морські свинки, собаки, мініатюрні свині, телята, а також миші, щурі і інші тварини, позбавлені патогенної мікрофлори і паразитів (SPF-тварини), і безлейкозна птиця (кури, перепелиці). Розведення і використання цих тварин стало можливим завдяки розвитку гнотобіології, методи якої дозволяють одержувати, вирощувати і годувати лабораторних тварин в безмікробних (стерильних) умовах.

5. Нові види лабораторних тварин. В цю групу входить цілий ряд дрібних лабораторних гризунів, перш за все з родини хомякоподібних, підродина хом'яків (хом'яки: золотистий, сірий, джунгарський), підродина піщанок (піщанка монгольська), підродина полівок (полівки: звичайна, руда, степова, темна, форель, економка) і родини білок (білка, бурундук, ховрах, сурик), морські тварини (дельфіни, морські зірки, їжаки, зайці, восьминоги), сумчасті (кенгуру, опосуми), броненосець, риби, плазуни (крокодили, ящірки), земноводні, комахи. Як нові лабораторні тварини використовуються різні види мавп, які раніше не застосовувалися для експериментальних цілей.

Нові види лабораторних тварин необхідні для моделювання найадекватніших захворювань людини і тварин, перш за все серцево-судинних, пухлинних, інфекційних, що дозволить більш детально розкрити їх етіологію і патогенез, розробити методи їх профілактики, а також використати їх для вивчення токсичності, фармакодинаміки і механізму дії лікарських препаратів, для вирішення питань трансплантації тощо.

Розширення контингенту видів тварин для експериментальних, цілей дасть біології і медицині цінні природні моделі, дозволить розкрити нові факти в пізнанні законів життєдіяльності організмів, у виникненні і ліквідації захворювань. Це питання розробляється в багатьох лабораторіях нашої країни і в зарубіжжі. Як приклад можна навести, що створені генетиками лабораторні мініатюрні свині виявилися цінними для вирішення питань патогенезу, профілактики і лікування захворювань серцево-судинної системи. Монгольська піщанка використовується для вивчення порушення мозкового кровообігу, новозеландські миші – природна модель для вивчення ревматизму і автоімунних захворювань.

Генетично контрольовані тварини. На теперішній час в практиці для проведення наукових досліджень все частіше використовуються лінійні тварини різних видів.

#### **4.1.3. Поняття про лінійних лабораторних тварин**

В тваринництві лінією називається велика група гомозиготних тварин однієї і тієї ж породи, яка походить від одного цінного по своїх якостях, високопродуктивного самця – виробника (родоначальника лінії). Ця група тварин, або лінія, володіє тими ж цінними якостями, які були у її родоначальника і які передаються по спадковості. Тварини однієї лінії мають схожість з своїм родоначальником і між собою як по статурі і зовнішньому вигляду, так і по продуктивності і біологічним якостям (здоров'я, плідність,

стійкість проти захворювань або чутливість до них і ін.). При лінійному розведенні цінні якості тварини стійко передаються по спадковості нащадкам.

Лінійних (інбредних) тварин одержують методом безперервного тісного інбридингу, тобто при спаровуванні близьких родичів, частіше всього братів з сестрами або батька з дочками. З метою виведення певної лінії лабораторних мишей, щурів або інших тварин здійснюють братсько-сестринське схрещування протягом більше двадцяти послідовних поколінь і лише тоді досягають 100% гомозиготності. Отже, гомозиготність по всіх генах можна отримати у тих тварин, інбредний вік яких складає 20 і більше. Такі лінійні тварини є генетично контрольованими. Лінійні тварини виведені штучно, чистих ліній серед диких тварин не існує.

Внаслідок зменшення життєздатності тварин, вирощених методом тісного інбридингу (внутрішньородинного спаровування), робота по виведенню і збереженню ліній вимагає значної уваги і високої кваліфікації фахівців, яким доручають це відповідальне завдання. Далі після виведення лінії братсько-сестринське спаровування обов'язково продовжують без перерви, щоб не допустити мутації.

Інбридинг сприяє підтримці генетичної постійності в кожній лінії, прискорює елімінацію мутації. Братсько-сестринське схрещування можна замінити спаровуванням дітей з одним, більш молодим батьком. На виведення лінії затрачується не менше 8–10 років ретельно виконуваної роботи.

Характерні ознаки лінійності лабораторних тварин торкаються не тільки зовнішніх, добре помітних особливостей (масть, аномалії розвитку і т. д.), але також і своєрідності біохімічних, імунологічних, морфологічних показників, вираженості специфічних реакцій на хімічні (лікарські) речовини і фізичні дії (радіаційні).

Внаслідок виникнення інбридингової депресії лінійні тварини характеризуються зниженою життєздатністю, низькою плодючістю, сповільненим розвитком. Маса тіла їх менша в порівнянні з нелінійними, вони більш схильні до захворювань, тривалість життя їх скорочена. Якщо після 10–12 поколінь братсько-сестринського спаровування лабораторні тварини зберігають життєздатність, що вказує на відсутність в лінії летальних мутацій, то при подальшому схрещуванні цим методом явища інбридингової депресії послаблюються.

Знижена життєздатність інбредних ліній лабораторних тварин є недоліком цих цінних біологічних моделей. Вони володіють виключно високою чутливістю до змін умов зовнішнього середовища. Навіть неістотні зміни різних чинників зовнішнього середовища, які ще не спричиняють ніякого впливу на гетерозиготних (нелінійних) тваринах, у гомозиготних (інбредних) тварин можуть викликати істотні зміни в організмі.

Важливо дотримуватись високих вимог стандартизації умов утримання, годівлі, догляду за лінійними тваринами. Недотримання цих правил може у експериментаторів викликати помилкові висновки, засновані на недостовірних даних і артефактах. Ось чому, не маючи нагоди створити оптимальний мікроклімат, стандартні умови утримання і годівлі

лабораторних тварин, багато науковців вимушені відмовлятися від ведення наукових досліджень на лінійних лабораторних тваринах.

Нашадки тваринних інбредних ліній, у яких через різні причини припинено розведення методом тісного інбридингу, втрачають лінію, оскільки у них нагромаджуються мутації, а гомозиготність популяції знижується. Зменшення гомозиготності при цьому прогресує від покоління до покоління, а ознаки, специфічні для даної лінії, можуть бути втрачені, ослаблені або збочені.

Так, У. Лейн-Петер (1964) наводить приклад, що в Кембриджі була виведена лінія морських свинок, високочутливих до збудника туберкульозу. Наявність такої лінії дозволяла швидше отримати діагностичну відповідь після щеплення досліджуваного матеріалу. При передачі цієї високочутливої до туберкульозу лінії морських свинок в іншу лабораторію, де не проводилася селекційна робота по підтримці високої чутливості тварин до збудника цього захворювання, їх специфічна особливість була втрачена. Чутливість до туберкульозної палички раніше лінійних тварин через декілька поколінь вже не відрізнялася від чутливості до нього звичайних нелінійних морських свинок. Використовуючи спадкову схильність або стійкість до виникнення злоякісних пухлин і інших захворювань до різних збудників інфекційних захворювань, вдалося одержати різноманітні інбредні лінії лабораторних тварин. Кожній лінії властиві свої певні якості.

Лінійні (інбредні) лабораторні тварини – незамінні природні біологічні моделі, які широко використовуються для сучасного наукового експерименту. Так, патогенез спадкових хвороб людини можна успішно вивчати на лабораторних тваринах шляхом відтворення у них різних аномалій, що передаються по спадковості.

У лабораторних тварин відомі, наприклад, наступні спадкові хвороби обміну речовин: акаталазія, амілоїдоз, гіпербілірубінемія, остеопороз (мармурова хвороба), порфірія, ожиріння, цукровий і нецукровий діабет, які вельми схожі з природженими порушеннями обміну речовин у людини та тварин.

Лінійних тварин потрібно постійно контролювати на гомозиготність методом трансплантації шкіри і по генах забарвлення. Здійснюють цей контроль фахівці по лінійному розведенню тварин під керівництвом генетиків.

#### **4.1.4. Гнотобіоти («стерильні») лабораторні тварини**

Гнотобіоти – тварини, вирощені в спеціальних повністю ізольованих від зовнішнього світу умовах, позбавлені мікроорганізмів і інших форм життя («стерильні» тварини). Терміни «гнотобіоти», «гнотобіологія» за пропозицією Т.Д. Лускеу (1963) утворені від коренів двох слів: «*гнот*» – відомий і «*біота*» – флора і фауна.

Організм гнотобіотів або абсолютно позбавлений мікроорганізмів, найпростіших і паразитів, або має певну, строго контрольовану дослідниками

мікрофлору.

Ще в Л. Пастера виникла думка про можливість виведення в штучному середовищі тварин, позбавлених мікроорганізмів. Він розробив схему отримання стерильних курчат.

Л. Пастер вважав, що життя тварин не може протікати нормально без мікроорганізмів, тоді як деякі його сучасники припускали, що мікрофлора завдає макроорганізму тільки шкоду. Пошуки безмікробних тварин, що мешкають на землі, не увінчалися успіхом, але доведено, що ряд птахів і тварин Арктики володіють дуже мізерною мікрофлорою.

Дослідження по вирощуванню гнотобіотів показали, що життя тварин можливе без супутніх мікроорганізмів, які постійно мешкають в кишечнику і інших порожнинах організму.

Першими гнотобіотами стали на початку ХХ ст. курчата і морські свинки, тобто тварини, які відразу після народження можуть поїдати корм.

Гнотобіологія – нова галузь науки, яка успішно стала розвиватися в сорокових роках завдяки досягненням науки і техніки, створенню складних, дорогих і точних пристосувань (камер-ізоляторів), що забезпечують повну стерильність утримання і годівлі тварин.

В 1944 р. в Нью-Йорку був проведений перший симпозіум по виведенню і використанню безмікробних тварин. Гнотобіологічний експеримент ґрунтується на безперервному забезпеченні безмікробних умов життя гнотобіотів. Для підтримки стерильності і заданої мікрофлори основним обладнанням в гнотобіологічних лабораторіях служать ізолятори різних розмірів і конструкцій (з неіржавіючої сталі, акрилових пластмас, полівінілхлоридної плівки) з використанням комплексу методичних прийомів. Такі ізолятори мають камери для утримання гнотобіотів, пристрої стерильного повітрообміну, шлюзову систему, за допомогою якої в камеру, де перебувають гнотобіоти, вносять стерильний матеріал, а з неї видаляють залишки корму і кал. Камера, в якій живуть гнотобіоти, обладнана маніпуляційними рукавичками, що дозволяють захоплювати тварину, робити їй ін'єкції тощо.

Одержують безмікробних тварин від вагітних самок, яким проводять кесаревій розтин в певний період перед пологами. Існують наступні два прийоми отримання гнотобіотів. Перший – гістеректомія, коли у вагітної самки під наркозом ампутують матку з плодами, перев'язуючи її в області шийки, після чого проводять через гідрошлюз ізолятора (він заповнений 5% розчином хлораміну або іншим дезінфікуючим розчином) в безмікробний простір камери, після чого плоди витягують, звільняють їх від оболонок, перев'язують пуповину, осушують, а матку з плацентою видаляють. Другий спосіб – гістеротомія – більш вдосконалений, оскільки при ньому відсутній контакт матки і плодів з навколишнім середовищем. Досягається це завдяки спеціальному хірургічному ізолятору, який на дні камери має операційний отвір, цей отвір герметично закривається еластичною плівкою типу «Саран». Плоди з матки витягують усередині камери-ізолятора через плівку і склеєні з нею шкірні покриви самки. Новонароджених поміщають на утеплену

підстилку в клітку. Корм, воду, підстилку і інші матеріали, необхідні для забезпечення життєдіяльності безмікробних тварин, піддають стерилізації у вакуумному автоклаві.

В роботі з гнотобіотами вибір дезінфекції і стерилізації має важливе значення, оскільки постійна стерильність повинна бути забезпечена у всіх ланках безмікробної системи і на всіх етапах експерименту стерилізації піддаються кормові продукти, ізолятор, інструменти тощо.

Як хімічні засоби стерилізації і дезінфекції в гнотобіології використовують газоподібні (окис етилену, хлор і ін.) і рідкі (пероцтовій кислота, формалін, хлорамін, лізол) речовини. З фізичних методів стерилізації застосовують обробку сухим жаром, автоклавування, опромінювання, фільтрування. В практиці гнотобіології використовують поєднання вказаних методів. Кормові продукти піддають автоклавуванню або опромінюванню; повітря, що подається в гнотобіотичний ізолятор, звичайно стерилізують. Із засобів хімічної стерилізації перевагу віддають пероцтовій кислоті (надоцтовій), яка стабільна, має достатній діапазон між стерилізуючою і токсичною дозою, тобто володіє вираженою бактерицидністю при незначній токсичності. Для її отримання оцтовий ангідрид підливають до перекису водню (співвідношення 45 : 10) у присутності сірчаної кислоти. Для дезінфекції ізолятора використовують аерозолі – 2%-го розчину пероцтової кислоти. Звичайно витрачають 1 л розчину на 1 м<sup>3</sup>. При зберіганні пероцтової кислоти в температурних умовах кімнати її бактерицидна активність ослаблюється на 2%.

На теперішній час в стерильних умовах гнотобіотичних ізоляторів одержані для медико-біологічних експериментів безмікробні миші, щурі, морські свинки, хом'яки, кролики, кішки, собаки породи бігль, ягнята, козенята, поросята і мавпи. Останніми роками замість оперативних методів отримання гнотобіотів стали розроблятися і знаходять все більше визнання консервативні методи отримання безмікробних тварин – методи деконтамінації (P. Heidt, 1978).

*Розрізняють наступні види гнотобіотів:*

- повністю позбавлені мікроорганізмів
- безмікробні (монобіоти) і гнотоформні тварини, тобто заражені одним (діобіоти) або декількома видами (полібіоти) мікробів,
- тварини, вільні від природних патогенних збудників інфекційних і інвазійних захворювань (СПВ-тварини, SPF-тварин, що означає *Specific pathogen free*).

До безмікробних відносять також біологічно чистих безвірусних і безантигенних тварин. Безмікробних і безантигенних тварин при необхідності піддають дії певних відомих видів мікроорганізмів або антигенів і одержують відповідно гнотобіофори і гнотобіоантигенофори.

У випадках, коли безмікробних тварин переводять в мікробне середовище, тобто здійснюють конвенціоналізацію, одержують категорію лабораторних екс-безмікробних тварин.

Тварини, вільні від специфічних патогенних збудників (СПВ- тварини,

SPF- тварини), знаходяться між звичайними лабораторними тваринами і гнотобіотами.

Збудники лейкозу птахів (віруси) широко поширені в природі. Нерідко вони потрапляють у вакцини, що готуються з курячих ембріонів, а їх присутність в ембріональних тканинних культурах дезорієнтує дослідників. За допомогою методу вирощування безмікробних тварин розроблені способи отримання безлейкозних птахів і безлейкозних ембріонів.

Протягом декількох років в безмікробних умовах розводять собак породи бігль. В умовах гнотобіологічних ізоляторів одержано більше 30 поколінь дрібних лабораторних гризунів (мишей, щурів та ін.).

Доведено, що у гнотобіотів маса внутрішніх органів, об'єм циркулюючої крові зменшені, знижений вміст води в тканинах. Маса тонкого кишечника безмікробних тварин складає всього  $\frac{1}{3}$  маси кишечника тварин того ж віку і статі, що живуть в звичайних умовах. Одна з найхарактерніших анатомічних особливостей безмікробних тварин – великі розміри сліпого відділу кишечника. Причини цього феномену повністю не встановлені, але, можливо, важливе значення в його виникненні мають гіпотонія мускулатури і застій кормових мас. Сироватка крові безмікробних тварин в порівнянні із звичайними має низький рівень бета- і гамма-глобулінів. Інші глобулінові фракції змінювалися залежно від годівлі; наголошується також компенсаторне збільшення альбумінів і альфа-глобулінів.

Для безмікробних тварин характерна гіпоплазія лімфоїдної тканини по ходу дихальних шляхів і травного апарату, що пояснюється відсутністю контакту з мікрофлорою. У гнотобіотів знижено утворення імуноглобулінів і антитіл (в лімфатичних вузлах і селезінці відсутні вторинні гермінативні центри), знижується рівень гуморальних чинників неспецифічного імунітету (гамма-глобуліни, лізоцим, комплемент). Рівень природних антитіл також знижений, а у безмікробних поросят відсутній. Для гнотобіотів характерно послаблення лімфоцитопоеза в групових лімфатичних фолікулах і в лімфовузлах брижі (в селезінці лімфоцитопоез не міняється), знижений вміст в периферичній крові числа лейкоцитів, що вказує на ослаблення клітинних механізмів імунітету, а також на ослаблення фагоцитарної активності лімфоцитів і пов'язано з недостатньою кількістю опсонінів в сироватці крові. Гнотобіоти проявляють стійкість до деяких токсинів, а при введенні патогенних мікробів вони в одних випадках виявляються несприйнятливими до них, а в інших – проявляють підвищену чутливість.

Дослідження на безмікробних тваринах дозволили встановити роль травної системи і дихальних шляхів в захисних механізмах організму. Зокрема, доведено, що в епітелії і підслизовій основі цих органів розвивається фізіологічне запалення, яке є бар'єром для інфекцій. Життєвий цикл клітин слизової оболонки кишечника у безмікробних тварин в два рази менший, оскільки відсутній їх контакт з мікроорганізмами.

Асептична запальна реакція гнотобіотів значно сповільнена, процеси ексудації, інфільтрації лейкоцитів і інші компоненти запалення виражені слабше, ніж у звичайних тварин, що вказує на недосконалість клітинних

відповідей у безмікробних тварин. У щурів-гнотобіотів знижена функціональна активність клітин печінки, в тому числі ретикулоендотеліальної (моно-нуклеарно-фагоцитарної) системи.

Гнотобіоти використовуються для вивчення аутоімунних процесів і участі тканинних і бактерійних антигенів в процесах аутоенсибілізації. Так, спеціально проведені дослідження на гнотобіотах дозволили встановити в слизовій оболонці товстого відділу кишечника антиген, який реагує з антитілами сироватки крові хворих на виразковий коліт.

У гнотобіотів загоєння ран протікає швидше і не супроводжується нагноєнням. В дослідях на безмікробних тваринах доведено, що інтоксикація при опіковій травмі обумовлена продуктами тканинного розпаду, а також те, що мікроби відіграють важливу роль в утворенні висококанцерогенних метаболітів в травній системі.

Спонтанні і індуковані злоякісні пухлини у тварин-гнотобіотів виникають рідше, і протікають вони більш доброякісно, ніж у тварин, що виростили в природних умовах.

Методи і принципи гнотобіології успішно стали використовувати в практичній медицині. Наприклад, незаразних хворих в спеціальних поліхлорвінілових боксах або наметах ізолюють від мікроорганізмів навколишнього середовища і в таких умовах здійснюють лікувальні заходи, передаючи їжу і медикаменти через спеціальний бактерицидний шлюз. В такому безмікробному просторі добрі терапевтичні результати дають лікування хворих з підвищеною чутливістю до інфекції (природжена імунологічна недостатність), призначення цитотоксичних препаратів і імунодепресантів, лікування опіків і злоякісних пухлин і загоєння після пересадки органів і тканин.

В гнотобіотичні ізолятори поміщають хворих, на небезпечні заразні захворювання, з метою запобігти зараженню інших пацієнтів і обслуговуючий персонал.

Все частіше вдаються хірурги до часткової ізоляції тих ділянок тіла, які піддаються оперативному втручанню. Виконання операцій в абсолютно стерильному середовищі сприяє якнайшвидшому одужанню хворих, запобігає ускладненням.

Розміщення частини тіла в гнотобіотичний ізолятор веде до прискорення загоєння ран.

Успіхи гнотобіології полягають в тому, що освоєні складні методи отримання безмікробних (стерильних) тварин, встановлені особливості функціонування різних систем безмікробних тварин і зроблені висновки про стан реактивності їх організмів. Безмікробні тварини, і особливо тварини з конкретною мікрофлорою, стали використовуватися в експериментальній медицині для вирішення важливих задач теорії і практики охорони здоров'я.

Шляхом відбору і ізоляції за допомогою бар'єрної системи виконана робота по отриманню безлейкозного стада курей. Курячі ембріони безлейкозних курей використовуються для виготовлення вірусних вакцин і вивчення їх імуногенності. Необхідність отримання безлейкозних курей і їх

ембріонів викликана тим, що комерційні курячі ембріони часто контаміновані вірусами лейкозу і іншими мікроорганізмами.

Контамінація безмікробних морських свинок представниками нормальної кишкової мікрофлори – *Staphylococcus albus* – супроводжувалася збільшенням гамма-глобулінів до рівня контрольних тварин. При контамінації *Bacillus mesentericus* відзначено зниження фракції альфа-глобулінів, що вказує на неоднаковий вплив різних мікроорганізмів мікрофлори на білки сироватки крові тварин.

Поза всяких сумнівів, що безмікробні тварини є цінними і точними біологічними моделями, наукова робота на яких відкриє нові горизонти в області мікробіології, вірусології, імунології, фармакології, онкології, хірургії, а також ветеринарії. Використання гнотобіотів дозволить з'ясувати значення мікрофлори кишечника в біосинтезі і метаболізмі біологічно активних сполук і токсинів, ролі мікроорганізмів в перетворенні лікарських речовин і виникненні пухлин та інших захворювань.

SPF-тварини широко використовуються для вивчення фармакологічної активності і оцінки токсичності лікарських препаратів.

Таким чином, гнотобіоти через дорожнечу використовуються лиш для проведення спеціальних, найважливіших і відповідальних досліджень.

#### **4.1.5. Постнатальний розвиток тварин**

*Класифікація вікових періодів лабораторних тварин.* Питання про класифікацію вікових періодів лабораторних тварин майже не відображено в літературі. Не враховувати і не указувати в наукових роботах вік тварин означає в ряді випадків свідомо ставити під сумнів достовірність висновків проведеної роботи і позбавляти можливості зіставляти факти, одержані в різних лабораторіях. Це витікає з того, що вельми часто одні і ті ж дії (фізіологічні, фармакологічні, патологічні) у тваринних різних вікових груп викликають не тільки кількісно, але і якісно неоднотипні, в тому числі парадоксальні, реакції.

Нерідко наголошується значна різниця в реакціях тварин на дію фармакологічних речовин, коли, здавалося б, не великого розриву у віці лабораторних тварин.

Важливість створення класифікації вікових періодів лабораторних тварин, що часто використовуються в експерименті, диктується багатьма обставинами, і перш за все необхідністю адекватного зіставлення даних; одержуваних різними дослідниками Правда, розробка вікової періодизації лабораторних тварин вельми складна через відсутність чітких критеріїв для оцінки віку. У зв'язку з цим вимушеним і неминучим є допущення ряду умовних характеристик, термінів і ознак. Так, маса тварин і довжина їх тулуба лише вельми приблизно можуть служити показниками віку, оскільки вони залежать від особливостей утримання і годівлі, генотипу.

Було зроблено спробу розробити класифікацію вікових періодів індивідуального розвитку собак, кішок, кроликів, морських свинок, щурів,

мишей і золотистих хом'яків. В основу цієї періодизації узяті анатомо-фізіологічні особливості тварин, інтенсивність їх росту, поведінкові реакції, зміни в статевій сфері тощо.

*Постнатальний розвиток тварин розділений на чотири періоди:* молочної годівлі, статевого дозрівання, репродуктивний і період виражених старечих змін. У свою чергу, кожний з вказаних періодів розділений на роки.

Зразкові характеристики кожного періоду і віку наступні:

I. *Період молочної годівлі.* Тварини знаходяться в гнізді і годуються молоком матері. Дистантні рецептори не функціонують або функціонують недостатньо. З'являється шерстний покрив. Прорізуються молочні зуби. Інтенсивне зростання. Середній щоденний приріст маси тіла – 5-15%; довжини тіла – 2-8%.

1. Вік новонароджений (новонароджені тварини). Шерстний покрив відсутній. Годуються тварини молозивом. Зуби відсутні. (Морські свинки народжуються з шерстним покривом, мають всі зуби, добре пересуваються, дистантні рецептори функціонують. Крильчата при народженні мають 16 зубів).

2. Вік підсисний (сосуни). З'являються пігментація шкіри і шерстний покрив. Відкриваються вуха, очі. Починають функціонувати дистантні рецептори. Реалізується поза стояння. Тварини пересуваються по гнізду. У самок з'являються грудні соски. У щенят на 20-30-й день з'являються ікла.

II. *Період статевого дозрівання.* Самостійна годівля. Тварини залишають гніздо, їх відсаджують від матері. Добре розвинені рухові акти. З'являються вторинні статеві ознаки. Молочні зуби змінюються постійними. Інтенсивне лінійне зростання. Шерстний покрив густий, глясовий. Очі блищать. Середній щоденний приріст: маси тіла – 1-10%, довжини тіла – 0,5-2%.

3. Вік статевонезрілий (інфантильні тварини). Тварини не вимагають відходу матері. Удосконалюються рухові акти. Намічається диференціація вторинних статевих ознак (самці крупніше за самок). У частини самок відкривається вагіна, а у самців відбувається опускання сім'яників в мошонку. У собак на 45–60-й день з'являється третій корінний зуб, а молочні зуби змінюються постійними.

4. Вік передслучний (ювенільні тварини). Добре виражені вторинні статеві ознаки: у самок відкрита вагіна, у самців завершено опускання сім'яників в мошонку. Виявляється статеве полювання. У собак змінюються різці, з'являється шостий зуб. У кішок закінчується зміна зубів.

III. *Період репродуктивний.* Завершений розвиток статевих органів, диференційовані вторинні статеві ознаки, У самок встановилися статеві цикли. Інтенсивне розмноження. Значно понижено лінійне зростання. Тварини фізично міцні. Шерстний покрив густий, глясовий. Середній щоденний приріст; маси тіла 0,15-1,5%, довжини тіла – 0,01-0,15%.

5. Вік молодий (молоді тварини). Тварини допускаються в злучку. Розмноження інтенсивне. Приплід численний. Зуби білі без ознак стирання.

6. Вік зрілий (дорослі тварини). Інтенсивність розмноження знижується.

Зуби білі без нальоту, на них наголошуються перші ознаки стирання.

*IV. Період виражених старечих змін.* Різде зниження або припинення статевого полювання і репродуктивної функції. Настання менопаузи. Зростання тіла значно сповільнено або припинено. Рухова активність понижена. Поверхня зубів стерта. Шерстний покрив рідкісний, без глянцеу. Очі позбавлені блиску. Виражена атрофія м'язів і шкіри. Часто виникають пухлини. Наголошуються значні гіпофункції внутрішніх органів, ослаблення адаптації і процесів метаболізму. Середній щоденний приріст; маси тіла 0,01-0,2%, довжини тіла 0,001-0,005%.

7. Вік передстаречий (передстарі тварини). Значно знижується розмноження. Приплід малий і часто нежиттєздатний, У самок порушується регулярність тічки. Кігті великі, викривлені.

8. Вік старечий (старі тварини). Розмноження різко понижено або повністю припиняється. У більшості самок настає менопауза. Шерстний покрив рідкісний. На зубах коричневий наліт, їх ріжучі поверхні стерті. Кігті довгі, викривлені.

9. Вік гранично старечий (гранично старі тварини). Статева функція припинена. Значне облісіння. Маса тіла знижується. У кішок і собак коронки зубів стерті. Наголошується загальне постаріння організму.

#### **4.1.6. Медико-біологічний експеримент і вибір лабораторних тварин**

Медико-біологічний експеримент, включає дві системи: технічну і біологічну.

З прогресом науки і техніки постійно удосконалюється технічна система експерименту. Високочутлива і точна вимірювальна апаратура все частіше і ширше використовується при проведенні наукових досліджень на тваринах для виконання складних досліджень в області біології і експериментальної медицини з метою пізнання тонких механізмів і закономірностей життєдіяльності окремих кліток, органів і систем цілісного організму, для виявлення механізмів захворювання і одужання (патогенезу і саногенезу).

Використовування сучасної апаратури дозволило здійснювати тонкі експерименти на молекулярному рівні, успішно проводити дослідження по генній інженерії. Високий рівень наркотичної апаратури і хірургічної техніки дає можливість науковцям виконувати складні і тривалі операції на серці, судинах, легких і інших органах лабораторних тварин.

Залучення електронно-обчислювальних машин дало можливість розробляти математичне моделювання біологічних систем.

Вдосконалення біологічної системи медико-біологічного експерименту йде значно більш повільним темпом, ніж технічної системи. Головною ланкою в біологічній системі експерименту є лабораторні тварини. Вид вибраних для проведення медико-біологічного наукового експерименту лабораторних тварин, їх анатомо-фізіологічні особливості, якість (здоров'я, генетична однорідність, відсутність прихованих збудників інфекційних і паразитарних захворювань) а також умови відходу, зміст і годівля багато в

чому зумовлюють фактичні результати, а отже, і висновки по експериментальній роботі.

Медико-біологічний експеримент ґрунтується також на даних порівняльного вивчення біохімічних, функціональних і морфологічних особливостей лабораторних тваринних різних видів, ліній і категорій, які дозволяють створювати біологічні моделі різноманітних станів і захворювань людини і домашніх тварин.

В круг питань по вивченню біологічної системи медичного експерименту входять з'ясування етіології, патогенезу і особливостей прояву захворювань у лабораторних тварин.

Спонтанні інфекційні і паразитарні захворювання лабораторних гризунів, кішок, собак, мавп і інших лабораторних тварин можна розглядати з різних позицій:

- 1) лабораторну тварину як джерело вірусів, мікробів, паразитів;
- 2) захворювання тварин як природна модель такої ж патології у людини;
- 3) лабораторні тварини як можливі переносники інфекційних і інвазійних захворювань людини;
- 4) вивчення бактеріо-вірусо-паразитарних контамінації організму експериментальних тварин з метою розробки контролю експерименту і заходів профілактики самого захворювання.

До виконання експериментальних досліджень на тваринах допускаються особи, що мають вищу медичну, ветеринарну, зоотехніку, фармацевтичне або біологічне освіту, після того, як ними освоєні правила поводження з лабораторними тваринами і придбані практичні навички.

Особи, що мають середню медичну, ветеринарну або зоотехніку освіту, лаборанти, а також студенти медичних, зооветеринарних інститутів, фармацевтичних і біологічних факультетів після знайомства з правилами поводження з лабораторними тваринами і придбання певних навичок можуть виконувати нескладні і безболісні процедури на тваринах тільки під контролем наукових співробітників.

Відповідальність за підготовку наукових співробітників і лаборантів до проведення експериментальних досліджень і дотримання ними правив і норм гуманного відношення до піддослідних лабораторних тварин несе керівник наукового підрозділу (кафедри, відділу, лабораторії, кабінету), в яких працюють експериментатори.

Особливо слід звертати увагу на те, щоб процедури на тваринах, що супроводжуються больовими подразниками або травмами, проводилися під місцевою анестезією або наркозом (за винятком спеціальних форм експерименту і випадків використання тварин для отримання біологічних препаратів, використання їх як контроль при виконанні імунологічних досліджень). Необхідно пам'ятати, що м'язові релаксанти знерухомлюють, але не позбавляють тварин від болю і тому їх призначення обов'язково слідує поєднувати із знеболюючими або наркотичними засобами.

При підборі лабораторних тварин для проведення довготривалих досліджень, у тому числі для визначення нешкідливості або хронічної

токсичності різних речовин (харчових, лікарських тощо), а також при вивченні впливу різних чинників на середню тривалість життя необхідно враховувати наступне:

- 1) лабораторні тварини повинні бути стійкі до інфекційних захворювань;
- 2) необхідно мати свій в розпорядженні відомості про середню тривалість життя і індивідуальні коливання цього показника не тільки для тварин даного вигляду, але і для даної лінії;
- 3) мати відомості про каріотип, особливостях статевих кліток, імунної системи тваринних, узятих в досвід;
- 4) анатомо-фізіологічні показники і генез відтворній у тварин патології винні максимально відповідати таким у людини;
- 5) особливості живлення і діяльність органів травлення піддослідних тварин повинні бути схожими з такими у людини;
- б) утримання піддослідних тварин і догляд за ними повинні бути простими і економічно вигідними.

Враховуючи вказані вимоги, для проведення довготривалих досліджень частіше за все використовують дрібних лабораторних гризунів (мишей, щурів, морських свинок і хом'яків), а також собак і мініатюрних свиней.

Для проведення досліджень по вивченню процесів старіння і впливу різних чинників на тривалість життя використовують інбредних тварин, виведених в середовищі, позбавленому патогенних збудників, в умовах ізольованої («закритої») колонії. Для отримання переконливих даних при вивченні процесів старіння такі дослідження слід проводити паралельно не менше ніж на двох лініях, а також на їх гібридах.

Науковим дослідженням на лабораторних тваринах винен передувати період введення в експеримент, тобто підготовка тварин до початку наукової програми досліджень на них. Тривалість цього періоду визначається задачами дослідження, вибором об'єкту наукового експерименту, обстановкою, в якій проводитимуться досліди, і іншими умовами.

Протягом цього періоду тварин слід приручати до дослідника і обслуговуючого персоналу, вони повинні звикнути до експерименту і до нової обстановки лабораторії.

## **4.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА**

### **4.2.1. Організація роботи у віваріях**

**Мета.** Ознайомити здобувачів із правилами роботи із здоровими (не зараженими) тваринами. Ознайомитись із правилами роботи у віварії для заражених тварин

Для забезпечення протиепідемічного та протиепізоотичного режимів мінімальний набір приміщень для віварію повинен включати два надійно ізольовані приміщення для окремого утримання здорових та заражених тварин, приміщення ізолятора, карантину, для зберігання і приготування

кормів, для очищення і дезінфекції кліток (дезінфекційно-мийне приміщення).

Забороняється вхід до віварію особам, робота яких не пов'язана з доглядом та спостереженням за лабораторними тваринами.

Чищення і миття кліток та інвентарю необхідно проводити щоденно, після попереднього знезараження. При цьому забруднену підстилку та інші відходи з кліток збирають у спеціальні металеві бачки з кришками. Бачки щільно закривають і переносять у мийно-дезінфекційне приміщення. Відходи підлягають знезараженню або спалюванню. Методи дезінфекції, дезинсекції та режим автоклавування встановлюються у кожному окремому випадку в залежності від стану тварин (здорові чи заражені), а також від виду інфекції.

Інвентар для чищення кліток та прибирання приміщень віварію повинен бути закріплений за кожним приміщенням.

Забороняється мити та дезінфікувати клітки, годівниці та поїлки безпосередньо у секціях.

Для уникнення поранення рук під час роботи з тваринами необхідно:

- крілів брати правою рукою, притискуючи їх вуха до шиї і захоплюючи разом зі шкірою холки;
- морську свинку брати, накриваючи спинну частину долонею, стискуючи пальці навколо тулуба;
- щурів та мишей брати за хвіст довгим пінцетом;
- при перенесенні тварин захищати руки гумовими рукавицями.

**Завдання 1.** Ознайомитись та законспектувати правила приймання патологічного та інших матеріалів для дослідження. Ознайомитися з журналом реєстрації надходження та розподілу лабораторних тварин в ЕБК (віварію).

### ***Організація роботи із здоровими (не зараженими) тваринами***

Поповнення віварію лабораторними тваринами дозволяється тільки із спеціалізованих розплідників (віваріїв), благополучних щодо інфекційних захворювань, з дотриманням відповідних ветеринарно-санітарних правил.

Придбання тварин в інших організаціях, а також у приватних осіб допускається, як виняток, з дозволу вищої організації ветеринарної медицини.

На тварин, одержаних з розплідника або з іншого господарства, має бути паспорт, де вказана дата відправки та отримання тварин, номер клітки, кількість, вік та вага тварин, дата та результати клінічного огляду.

Тварин, одержаних із спеціалізованого розплідника (розміщеного в тому ж місті, районі), утримують в умовах ізоляції 3 дні для адаптації. Наступні строки ізоляції або карантину для цих тварин, а також карантину для тварин, одержаних із розплідників, розміщених в інших містах (районах), або із неспеціалізованих розплідників, установлюють відповідно до інкубаційного періоду найбільш поширених хвороб для цих тварин. Вони повинні становити:

- для мишей та щурів - 14 діб;
- для морських свинок та кролів - 21 добу;
- для інших тварин (птахів) - 21 добу.

Під час карантину за тваринами необхідно вести щоденний клінічний нагляд.

При підозрі на інфекційні хвороби тварин піддають лабораторному дослідженню. При підтвердженні інфекційної хвороби всю партію тварин, яка надійшла, знищують і повідомляють про це господарство чи розплідник, звідки були одержані ці тварини.

Заборонено виносити із карантинних приміщень корми, спецодяг, інвентар.

Приміщення карантину, після кожної партії переданих для роботи тварин і після кожного випадку виявлення інфекційної хвороби, прибирають і дезінфікують.

Щоб запобігти травмуванню працівників, дрібних лабораторних тварин з віварію або ізолятора необхідно переносити в спеціальних ящиках з висувною кришкою.

### **Журнал Реєстрація надходження та розподілу лабораторних тварин в ЕБК (віварію)**

Дата поступлення	Вид тварин	Стать	Вага і вік	Постачальник	Розподілення (№ клітки)	Результати спостереження під час карантину	Дата закінчення карантину	Кому (куди) видані тварини

**Завдання 2.** Законспектувати правила організації роботи із зараженими тваринами

#### ***Організація роботи у віварії для заражених тварин***

Заражених лабораторних тварин утримують у закритому ізольованому приміщенні з окремим входом.

При проведенні вірусологічних досліджень, для утримання тварин, заражених вірусом або вірусним матеріалом, виділяють окреме ізольоване приміщення (кімнату).

Персонал, який обслуговує заражених тварин, повинен поверх спецодягу одягати халат, прогумований фартух, нарукавники, гумові рукавиці, взувати гумові чоботи або калози, а при потребі користуватися захисними окулярами і ватно-марлевою маскою.

В ізоляторі віварію повинен бути металевий бак для збору заразного матеріалу з кліток, стіл з металевим покриттям, який встановлюють у кімнаті для зараження лабораторних тварин, 5% розчин карболової кислоти для

дезінфекції інструменту, дезрозчин для дезінфекції рукавиць та ємність із дезрозчином для знезараження кліток.

Зараження тварин повинен проводити тільки лікар ветеринарної медицини з помічником, який фіксує їх загальноприйнятими методами, що виключають можливість нанесення травм тваринами (укусів, подряпин тощо).

Інфікований матеріал вводять стерильним шприцом, попередньо підібраним і перевіреном на придатність (притертість поршня циліндра, прохідність голки).

При підозрі на інфікованість патологічного матеріалу збудником особливо небезпечної хвороби, зараження тварин проводять у гумових рукавичках, захисних окулярах та ватно-марлевій масці.

Заражених тварин поміщають у клітки або банки з кришками, які добре закриваються. На клітки та банки прикріплюють етикетки, де вказують номер експертизи, дату зараження, найменування матеріалу або культури та кількість заражених тварин.

Щоденний нагляд за тваринами веде лікар ветеринарної медицини або лаборант.

Кількість заражених тварин, метод зараження, матеріал, дозу та результат спостережень за тваринами заносять у журнал бактеріологічних досліджень (ф.12-вет.) або в журнал вірусологічних досліджень (ф.13-вет.).

Персонал, який доглядає тварин, при виявленні їхніх трупів повинен повідомити про це лікаря ветеринарної медицини або лаборанта, який веде нагляд за зараженими тваринами.

Рештки кормів та гній спалюють у спеціальній печі. Стічні води спускають у спеціальний закритий приймач для подальшого знезараження.

Трупи тварин із віварію до секційної переносять у вологонепроникній тарі.

Клітки, банки, годівнички із залишками корму, напувалки, підстилку та інші предмети з-під загиблих тварин, які були заражені споровими збудниками, автоклавують протягом 1 години під тиском в 0,2 МПа, або протягом 2 годин під тиском в 0,15 МПа або двічі по 1 годині під тиском в 0,15 МПа з інтервалом в 24 години.

При зараженні тварин неспорOVOю мікрофлорою та при негативних результатах досліджень клітки разом із підстилкою та рештками корму занурюють у 5% розчин карболової кислоти, лізолу або в 4% гарячий розчин гідроксиду натрію та залишають на 24 години. Банки з рештками кормів та підстилкою автоклавують протягом 1 години під тиском в 0,15 МПа або вщерть заливають 5% розчином карболової кислоти або лізолу на 24 години, після чого рідину зливають, а банки миють гарячою водою.

Про кожну заражену тварину на основі експертизи повинні бути зроблені записи в журналі про те, забита вона чи загинула і на який день, записи про знищення тощо.

Заражених мишей необхідно тримати у скляних банках, розміщених в металевих клітках у кімнаті віварію для заражених тварин, яка недоступна для гризунів. Цю кімнату зачиняють на ключ і опечатують.

У кімнатах, де розміщені тварини, заражені вірусним матеріалом, необхідно щоденно проводити вологе прибирання з 5% розчином хлораміну.

Очищення кліток і банок, в яких утримуються дослідні тварини, заражені вірусним матеріалом, проводять обов'язково в гумових рукавицях, які після очищення кожних 3-5 кліток (банок) знезаражують зануренням, не знімаючи з рук, в 5% розчин хлораміну або 4% розчин гідроксиду натрію. По закінченні роботи рукавиці і руки дезінфікують, потім рукавиці поміщають у розчин хлораміну. Банки, в яких утримувались піддослідні тварини, після очищення наповнюють 5% розчином хлораміну або 4% розчином гідроксиду натрію і залишають на 24 години. Зовнішні поверхні банок дезінфікують перший раз після видалення з них піддослідних тварин і другий раз - після виливання дезрозчину.

До закінчення дослідження не проводять прибирання у клітках, де утримуються тварини, яким вводили матеріал, підозрілий в зараженні збудником сибірки або сказу.

Заражених кролів, морських свинок і щурів утримують у металевих клітках, установлених на металевих фарбованих або оцинкованих піддонах. Під час прибирання піддони дезінфікують 5% розчином карболової кислоти або 10% розчином гідроксиду натрію.

Використаний посуд разом із зараженим матеріалом поміщають на місці роботи у бачки з кришками і заливають 1-2% мильним розчином. Бачки закривають на замок, опечатують, реєструють у спеціальному журналі і автоклавують. Якщо з будь-яких причин знезаражений посуд не можна піддати автоклавуванню, його обробляють кип'ятінням.

Трупи лабораторних тварин спочатку занурюють у бачки з дезрозчином, а в кінці робочого дня спеціально призначений працівник збирає їх у загальний бак і спалює. Якщо немає можливості спалити трупи на місці, їх разом з бачками автоклавують.

У спеціальному журналі реєструють загальну кількість знищених тварин.

Сміття з кліток зволожують 5% розчином лізолу чи 10% розчином гідроксиду натрію, збирають у бачки з кришками і разом з бачками знезаражують в автоклаві, після чого сміття спалюють.

**Завдання 3.** Законспектувати правила організації роботи із зараженими тваринами, ознайомитися з журналом реєстрації полеглих або вимушено забитих тварин ЕБК (віварію).

Щоб підвищити якості лабораторних тварин (плодючість, міцну конституцію, підвищену стійкість до захворювань та ін.), необхідно проводити відповідний племінний відбір. На плем'я необхідно відбирати кращих тварин.

Наукою і практикою тваринництва вироблені наступні **методи штучного відбору**: методичний (системний), безсистемний, індивідуальний і масовий. Методичний відбір застосовується в великомасштабному тваринництві. Суть його полягає в тому, що розробляється методика селекції, встановлюється бажаний тип тварини і у ряді поколінь відбирають тварин, які найбільш

відповідають цьому типу. Він застосовується більше при створенні нових порід тваринних. В лабораторному тваринництві більш застосовний безсистемний відбір.

При безсистемному відборі без жодної методики відбирають на плем'я більш цінних тварин, а менш цінних реалізують.

Масовий відбір виражається в тому, що відбирають тварин по якій-небудь ознаці, наприклад по екстер'єру. При індивідуальному ж відборі відбирають тварин по їх індивідуальних племінних і продуктивних якостях і по нащадках, тобто за якістю їх приплоду.

Для відбору лабораторних тварин на плем'я необхідно проводити їх бонітування. *Бонітування* – якісна оцінка придатності тварин для племінної роботи по комплексу ознак: по екстер'єру і конституції (враховується статура, розвиток), продуктивності, походженню, а також по здатності передавати своїм нащадкам цінні якості. Бонітування тварин проводиться один раз в рік (з вересня по грудень) тільки для здорових тварин (всіх хворих тварин видаляють із стада). Перед бонітуванням всі тварини повинні бути помічені. В результаті великих тварин розділяють на 4-5 класів, а дрібних, тобто лабораторних, на 3 класи: I, II і III.

Тварин I класу беруть на плем'я в першу чергу, а решту тварин двох класів використовують переважно для лабораторних досліджень. Відбір кращих тварин сам по собі не дає належних результатів, він повинен бути закріплений відповідним підбором батьків для спаровування.

Племінний відбір повинен здійснюватися за принципом однорідності: «хороше з хорошим дає хороше». Це означає, що до кращих класних самок необхідно підбирати для спаровування кращих, елітних (першокласних) самців. Особливу увагу надається підбору, який закріплює собою відбір, його результати і веде до поліпшення тварин. Відомо, наприклад, що один і той же самець з одними самками дає прекрасний приплід, а з іншими — значно гірший.

В селекційній кімнаті самки містяться по одній в клітці. На клітці є трафаретка, на якій вказаний номер самки, дати народження і родів, кількість народжених і відняли дитинчат; крім того, самки помічені вушними номерами. Спаровування проводиться в клітках самця, куди по черзі підсаджують самок. Після спаровування самку відсаджують в її клітку.

Новонароджених містять з міткою протягом всього лактаційного періоду, після чого їх відсаджують. Відлучених сортують на дві групи.

В першу групу відбирають тварин, які підуть в селекційну і племінну кімнати. Сюди відбирають молодняка від другого - четвертого окотів і винятково від маток, які дали приплід 9-10 голів і повністю його вигодували. В другу групу йде приплід від самок з меншою плодючістю і збереженням молодняка менше 100%. Тварин другої групи використовують для реалізації.

Відібраний молодняк розсаджують за статтю на дорощення. Після досягнення статевозрілого віку молодняка з першої групи розсаджують поодиноці в клітку в селекційній кімнаті і по шість (один самець і п'ять самок) в племінній кімнаті замість тих, яких вибраковують з різних причин (невелика плодючість, погане збереження приплоду тощо).

**Обов'язки лікаря ветмедицини ЕБК (віварію).** В штаті сучасної ЕБК або віварію повинен бути лікар ветеринарної медицини, який призначається на роботу за узгодженням з директором (ректором) наукової установи, з державним інспектором міста (району). Лікар ветеринарної медицини підкоряється завідувачому ЕБК (віварію), а при їх відсутності – директору (ректору) установи і разом з ними несе відповідальність за благополуччя і ветеринарно-санітарний стан. Із спеціальних питань лікар ЕБК (віварію) підкоряється державному інспектору міста (району).

На лікаря ветеринарної медицини ЕБК (віварію) покладаються наступні завдання:

- розробка і здійснення плану діагностичних, профілактичних і ветеринарно-санітарних заходів щодо ЕБК (віварію);
- організація ветеринарної справи, проведення ветеринарно-санітарних заходів, направлених на забезпечення благополуччя тварин, а також на вирішення питань при появі захворювання (ізоляція, карантинування, ліквідація захворювання тощо);
- впровадження і контроль за виконанням ветеринарно-санітарних правил;
- контроль за виконанням обслуговуючим персоналом правил внутрішнього розпорядку ЕБК (віварію);
- нагляд за ветеринарно-санітарним станом всіх приміщень і території ЕБК (віварію);
- карантинування тварин, що надходять відповідно до санітарних правил;
- щоденний клінічний огляд тварин, вибраковування і знищення хворих, результати огляду і заходи попередження захворювань відзначають в журналі; проведення профілактичних щеплень, діагностичних досліджень, дегельмінтизації та іншої ветсанобробки тварин;
- проведення дезінсекцій, дератизації, дезінвазії, дезінфекції приміщень, обладнання і інструментів (кліток, годівниць, предметів догляду за тваринами);
- складання заявок і придбання обладнання дезрозчинів, медикаментів і інших ветеринарних товарів. При цьому ветлікар ЕБК (віваріях) відповідає за їх зберігання, приготування і використання;
- відбір і відправка проб змивів з оброблених поверхонь, предметів, трупів тварин, патологічного матеріалу, кормів для дослідження в міську лабораторію ветмедицини. При необхідності лікар ветмедицини проводить деякі дослідження (мікроскопічні, гематологічні, копрологічні, люмінесцентні тощо) на місці;
- організація санітарного дня в ЕБК (віварії) згідно плану-графіку;
- організація своєчасного прибирання ЕБК (віварію), вивезення трупів тваринних, гною, сміття, а також прибирання території.

Лікар ветмедицини або завідувачий ЕБК (віварію) повинен проводити заняття з експериментаторами і робітниками з ветеринарно-санітарних питань відповідно до річного плану ветсанпросвітрова, погодженого з службою ветмедицини міста (району); вимагати від експериментаторів і обслуговуючого персоналу гуманного поводження з тваринами і дотримання техніки безпеки. Крім того, лікар ветмедицини зобов'язаний своєчасно представляти в державне управління району звіти за формою 1-Вет і 2-Вет.

**Журнал**  
**Ресстрація полеглих або вимушено забитих тварин ЕБК**  
**(віварію)**

---

Дата	Вид тварин	Секція, № клітки	Попередній діагноз	Результат патологоанатомічного розтину	Хто проводив розтин	Результат експертизи

***Контрольні запитання:***

1. Як проводиться взяття та пересилка патологічного матеріалу для бактеріологічного та вірусологічного дослідження?
2. Як проводиться взяття крові для серологічного дослідження?
3. Відбір матеріалу для патогістологічного дослідження.
4. Упаковка та пересилка патологічного матеріалу. Оформлення і відправка супровідних документів до матеріалу, що направляється для дослідження.
5. Правила приймання патологічного та інших матеріалів для дослідження.
6. Оформлення результатів лабораторних досліджень.

## ТЕМА 5. ЗООТЕХНІЧНІ ОСНОВИ УТРИМАННЯ, ГОДУВАННЯ ТА РОЗВЕДЕННЯ ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН

### 5.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

#### 5.1.1. Розплідники лабораторних тварин, експериментально-біологічні клініки, віварії

Багато видів диких тварин, яких спеціально стали вирощувати в неволі для того щоб використовувати їх в експерименті, успішно адаптувалися, приручилися і добре розмножуються в штучних умовах, які створює їм людина. Деякі лабораторні тварини в умовах розплідників розвиваються інтенсивніше, ніж на волі, а тривалість життя їх не тільки не скорочується, але навіть збільшується. Яскравим прикладом адаптації в умовах неволі є золотисті хом'яки, які майже повністю вимерли, а в умовах експериментально-біологічних клінік і віваріїв вони дуже добре розмножуються.

Особливість лабораторних тварин полягає в тому, що вони, на відміну від своїх диких родичів, вельми обмежені в русі і переміщенні. Все життя більшості лабораторних тварин проходить на невеликій площі, в клітці. Ось чому при проектуванні приміщень, в яких будуть утримуватися і розмножуватися лабораторні тварини, перш за все потрібно створити для них сприятливий мікроклімат, тобто враховувати розміри і форми кімнат, підтримку чистоти і температури повітря.

Крім розплідників лабораторні тварини утримуються в експериментально-біологічних клініках і віваріях. Віварієм (від лат. *vivus* – живий) називають приміщення, де під контролем фахівців лабораторного тваринництва утримується невелика кількість тварин, яких використовують для експериментальною (науковою) або навчальною метою, а також для практики охорони здоров'я.

Структура віварію залежить від задач, що стоять перед ним, і в першу чергу від виду тварин, які повинні в ньому утримуватися. В окремих випадках, при можливості і наявності фахівців, у віваріях може бути організовано розведення дрібних гризунів або інших тварин для часткового задоволення потреб установи. Частіше всього віварії не спеціалізовані (тобто не призначені для одного виду тварин), а загальні (комплексні), в яких містяться різні види теплокровних лабораторних тварин, а також птиця, земноводні, риби.

Останніми роками через використання великої кількості високоякісних, у тому числі лінійних, лабораторних тварин різного виду і для вирішення різноманітних наукових питань біології, медицини і практики гігієни, клінічної медицини і медичної промисловості створюються спеціалізовані підрозділи для утримання і часткового розведення декількох видів лабораторних тварин. Це експериментально-біологічні клініки (ЕБК). В них передбачені приміщення з урахуванням сучасних вимог для утримання і розведення різних видів лабораторних тварин, а також для проведення на них

різноманітних маніпуляцій (узяття крові, сечі, введення різних препаратів і речовин тощо), оперативних втручань, післяопераційного нагляду, проведення окремих видів експериментальних досліджень.

Організацію сучасних вимог по догляду, утриманню, годуванню і розведенню лабораторних тварин в ЕБК здійснюють досвідчені фахівці лабораторного тваринництва (ветлікарі або зоотехніки). На них покладаються обов'язки що до дотримання правил і вимог Ветеринарного законодавства, якому підкоряються всі організації (і приватні особи), що утримують тварин.

Сучасні ЕБК повинні забезпечувати найсприятливіші умови для експериментальних тварин з урахуванням обов'язкового проведення в повному об'ємі заходів профілактики захворювань (інфекційних, інвазійних та незаразних), автоматизації годівля, поїння і прибирання, а також постійного контролю ветлікаря за станом їх здоров'я.

Як правило, розплідник і віварій повинні мати спеціальні ізольовані приміщення (будівлі) і прилеглу до них вільну територію. Будівлі (комплекс будівель) розплідника, ЕБК і віварію слід будувати на підвищеній місцевості з глибокозалягаючими ґрунтовими водами. Ділянка повинна бути добре захищена від пануючих вітрів і достатньо освітлюватися сонцем. Будівлі необхідно будувати відособлено від інших споруд. Не можна допускати їх будівництва поблизу галасливих проїжджих доріг. В приміщеннях розплідників, ЕБК, віваріїв максимально допустимий рівень шуму 70-85 дБ. Шумові чинники негативно позначаються на поведінці і розмноженні лабораторних тварин, особливо дрібних, які сприймають високочастотний шум. Приміщення повинні бути добре вентильованими, з рівномірною температурою повітря, світлими і сухими.

Приміщення розплідника, ЕБК і віварію повинні бути такими, щоб в них не проникали дикі гризуни, а також домашні тварини і птиця. Залежно від профілю розплідника його будівля і допоміжні приміщення можуть бути різними для окремих видів лабораторних тварин, але одного типу в рамках кожного виду тварин, що окремо розводиться (наприклад, тільки для кроликів).

Якщо немає можливості побудувати спеціальний віварій, то його можна розміщувати в будь-якому з поверхів, в напівпідвальному приміщенні або на пристосованому горищі. Для собак краще вибирати горищне приміщення, ніж підвальне, щоб гавкіт собак і запах з віварію не заважали жителям сусідніх будинків.

При розміщенні віварію (ЕБК) на верхніх поверхах лабораторних корпусів його слід надійно ізолювати від інших службових кімнат. В цокольних і підвальних приміщеннях теплокровних лабораторних тварин розміщувати не можна, в них утримують жаб, тритонів, риб, тобто влаштовують акваріуми або тераріуми (басейни з острівцями).

Всі кімнати повинні мати надійну вентиляцію (не допускати протягів!) з рівномірною температурою повітря. При будівництві приміщень для лабораторних тварин перевагу слід віддавати невеликим одноповерховим будівлям, в яких легше підтримувати чистоту; в них менше шуму, легше

здійснювати заходи профілактики. Кімнати для розміщення тварин повинні бути невеликими, хоча в окремих випадках слід передбачити індивідуальні кімнати-клітки для мавп або великі кімнати для утримання кліток з курьми тощо.

Споруда розплідників, ЕБК, віваріїв може здійснюватися за принципом одно- або двокоридорного типу конструкцій.

В цих конструкціях передбачається обов'язкове виділення «чистої» частини службового приміщення, приміщення для тварин і «брудної» частини. В «чистій» частині, окрім побутових кімнат, контори, кабінетів фахівців, аптеки, розміщені склади, кормокухня, установка для вентиляції. В приміщенні для тварин необхідно виділяти кімнати для утримання піддослідних тварин і в окремих кімнатах розводити тварин. Ці кімнати повинні мати площу 12-18 м<sup>2</sup>, а висоту стелі – 3-3,5 м.

В «брудній» частині можна розмістити контейнери для використаної підстилки, брудні клітки, мийну, дезкамеру. Незалежно від типу віварію його приміщення повинно складатися з 5 основних частин:

- карантинного відділення.
  - відділення для утримання лабораторних тварин.
  - маніпуляційних і операційних кімнат.
  - дезінфекційно-мийного відділення з кімнатою для зберігання чистих кліток.
- Загальна площа приміщень перерахованих в пункті 5, складає приблизно 50% загальної площі секцій, зайнятих тваринами. Правда, у великих ЕБК (віваріях) вона може бути дещо зменшена.

В ЕБК (віваріях) повинні бути виділені кімнати з ванною для проведення санітарної обробки (купання) тварин, місце для розтину і зберігання трупів полеглих тварин, піч для спалювання сміття і трупів.

Для літнього утримання кроликів, морських свинок, собак слід обладнати вольєри (вигули).

Проведення досліджень, необхідних для контролю якості тварин, якості кормів, здійснюють в діагностичному кабінеті. Зберігають і заповнюють документацію в кабінеті завідуючого ЕБК (віварію) або в кімнаті фахівців лабораторного тваринництва.

В приміщенні ЕБК (віварію) виділяють місце для холодильної камери, технічного вузла для кондиціонерів, вентиляційних, електротехнічних і інших спеціальних установок.

Кормокухню розміщують в двох суміжних кімнатах, призначених для переробки і виготовлення кормів. Кожне приміщення кормокухні повинно мати самостійний вихід в коридор.

В дезінфекційно-мийному відділенні передбачаються дві кімнати, сполучені прохідним автоклавом або прохідною сухожаровою камерою.

Підлоги приміщень для утримання лабораторних тварин, їх карантинування, для ізоляторів, операційних і передопераційних, маніпуляційної, кормокухні, дезінфекційно-мийного відділення, санітарного блоку, складу чистого інвентаря будують з водонепроникного матеріалу, без плінтусів з ухилом до отворів або жолобів, сполучених з каналізацією. Стіни

вказаних приміщень, а також діагностичного кабінету і холодильної камери від стелі до підлоги покриваються глазурованою плиткою. В цих кімнатах повинна бути гаряча і холодна вода, приєднані до каналізації. Стелі виробничих і побутових кімнат, стіни і стелі в решті приміщень і коридорів, а також двері фарбують фарбою білого кольору. Верхню, частину дверей необхідно склити. Санітарно-технічне устаткування в приміщеннях ЕБК і віварію встановлюють так, щоб забезпечувати вільний підхід обслуговуючого персоналу до стелажів і кліток і зручність для прибирання і обробки приміщень.

Опалювання повинно бути центральним і підтримувати температуру в приміщенні 18-22°C. Приточно-витяжну вентиляційну систему приміщення слід обладнати автоматичним пусковим реле і забезпечити 10-12-кратний обмін повітря в годину.

В кожній секції для утримання тварин, а також в складських кімнатах і на кухні необхідно мати бактерицидні лампи; з їх допомогою проводиться періодичне знезараження повітря.

ЕБК і віварій повинні щодня контролюватися ветеринарним лікарем.

Для забезпечення лабораторними тваринами наукових експедицій в польових умовах створюються пересувні віварії. Розроблені методичні рекомендації по утриманню лабораторних тварин в умовах плавання.

Утримання лабораторних тварин і догляд за ними. Умови утримання і годівля лабораторних тварин в ЕБК і віваріях повинні забезпечити сприятливий біологічний фон для їх нормального розвитку і розмноження. Основними умовами для цього є утримання тварин у вентильованих, добре освітлюваних і теплих приміщеннях, забезпечення їх повноцінними кормами і свіжою водою у необхідній кількості, постійне дотримання вимог зоогієни.

### **5.1.2. Утримання лабораторних тварин і догляд за ними**

Правилами утримання лабораторних тварин передбачено розміщення в кожній кімнаті тільки одного виду тварин. Проте при вимушеному сумісному утриманні в одному приміщенні тварин різного виду клітки з ними повинні бути розміщені на різних стелажах.

Керівник науково-дослідного інституту, вузу або іншої установи, в якій є ЕБК (віварій), затверджує розпорядок дня що до утримання лабораторних тварин, догляд за ними і їх годівля. В розпорядку дня роботи ЕБК (віварію) необхідно вказати час, виділений на прибирання приміщень, кліток, санітарну обробку їх, час роздачі кормів і проведення експериментальних робіт.

Клітки, як основний мікрокліматичний об'єкт для утримання лабораторних тварин, повинні забезпечувати їм вільне пересування і відповідати наступним санітарно-гігієнічним вимогам:

- 1) бути легкими і міцними;
- 2) виготовлятися з матеріалу, який тварини не могли б погризти;
- 3) бути стійкими до дії будь-яких дезінфікуючих засобів.

Клітки для дрібних лабораторних тварин слід розміщувати на стелажах в

декілька ярусів. Перший ярус кліток повинен знаходитися на відстані 30-70 см від підлоги. Полиці з клітками необхідно покривати ізоляційним матеріалом (толем), що оберігає клітки нижнього ярусу від попадання сечі. Для економії часу на прибирання кліток їх будують з сітчастим дном, під яке протягують обмотувальний папір з рулону. Фекалії і сеча збираються на папері, і прибирання кліток обмежується тим, що щодня обривають використаний шматок паперу і спалюють його разом з фекаліями. Крім того, рекомендується під дно кожної сітки вставляти спеціальні, дека що виймаються, в яких збираються кал і сеча. Під час прибирання дека виймаються, звільняються від виділень.

Кролики добре переносять морози, і їх можна, утримувати в клітках розміщених у дворі.

Слід пам'ятати, що в клітках лабораторних гризунів температура на 3-4 °С перевищує температуру кімнати, в якій розміщені тварини. Характер мікроклімату в клітках залежить від щільності утримання в них тварин і відзначається на рості, розвитку і здоров'ї тварин.

Кожна клітка, а також бокс або вольєра обов'язково повинні мати свої етикетки. На цих етикетках необхідно зазначити основні дані про лабораторних тварин (вид, лінія, стать, вік, маса) з вказівкою, якій лабораторії (відділу) належать тварини, хто проводить експерименти (прізвище наукового співробітника), дати надходження тварин, початок експерименту, а також інші відмітки.

Клітки для лабораторних тварин і птиці можуть мати суцільне або сітчасте дно. В клітках з сітчастим дном повинен бути піддон (деко). Обслуговуючий персонал зобов'язаний чистити клітки щодня, збираючи в спеціальні металеві бачки з кришками забруднену підстилку і різні відходи. Після прибирання приміщення металеві бачки із сміттям щільно закривають кришками і передають в дезінфекційно-мийне відділення.

В клітках з сітчастим дном піддони, ізольовані від кліток, 1–2 рази на тиждень замінюють чистими. При використуванні кліток з суцільним дном тварин 1–2 рази на тиждень пересаджують в чисті; продезінфіковані клітки, в яких знаходяться незаражені підстилка, напувалка і годівниці.

Брудні клітки разом з годівницями, напувалками, підстилкою і піддонами піддаються очищенню і дезінфекційній обробці в дезінфекційно-мийному відділенні.

Лабораторні гризуни (миші, щури, морські свинки, хом'яки і кролики) розміщуються в клітках, які встановлюються на металевих стелажах. Рекомендується використовувати стелажі такої конструкції, які мають знімні кронштейни і рухомі полиці, що дозволяє переобладнати їх під клітки різних розмірів, призначені для різного виду лабораторних тварин. Стелажі встановлюють переважно уздовж стін.

Існує черговість обслуговування різних видів лабораторних тварин, якщо їх обслуговує один і той же працівник. Спочатку він повинен проводити прибирання і обробляти клітки, в яких знаходяться морські свинки, потім послідовно клітки з мишами, щурами і кроликами і в останню чергу

приміщення, в яких містяться собаки і кішки.

В кінці кожного робочого дня в приміщеннях віварію (ЕБК) службовці повинні проводити вологе прибирання підлоги 1% розчином хлораміну або розчином інших дезінфікуючих речовин.

З метою контролю якості повітряного середовища і мікроклімату приміщень слід не менше двох-трьох разів на місяць визначати насиченість їх аміаком і вуглекислим газом, максимально допустимі концентрації яких складають відповідно 0,01 мг/л і 0,15 об.%. В приміщеннях, де утримуються свині, вівці або кози, концентрація аміаку допускається до 0,02 мг/л, а концентрація вуглекислоти – до 0,20 об.%. При утриманні курей максимально допустима концентрація аміаку – 0,03 мг/л, а вуглекислоти – 0,10 об.%.

Лабораторних тварин необхідно забезпечити сухою і чистою підстилкою. Підстилковим матеріалом для лабораторних гризунів (при клітковому їх утриманні) можуть бути сухий подрібнений, волокнистий торф, дрібна солома, крупна деревна тирса, а при відсутності їх – сухе листя.

Слід враховувати те, що тирса хвойних дерев (сосни, ялини та ін.) містить велику кількість летючих речовин, які можуть впливати на організм і змінювати реакцію тварин на досліджувані хімічні і фармакологічні речовини; з цієї причини вони не використовуються в практиці лабораторного тваринництва.

Нагляд за експлуатацією і санітарним станом ЕБК, розплідника, віварію здійснює ветеринарна і санітарно-епідеміологічна служби міста (району, області). У зв'язку з цим плани профілактичних заходів, умови збору, зберігання, вивозу і утилізації гною, залишків корму, трупів тварин обов'язково повинні бути погоджені з вказаними органами.

Наукові співробітники, що виконують роботу в ЕБК (віваріях) на лабораторних тваринах, зобов'язані дотримуватись встановлених правил розпорядку дня і підкорятися затвердженому режиму роботи. Коли за умов експериментального дослідження вимагається змінити режим утримання або годівля тварин, то це питання завчасно слід погоджувати з керівником, або з ветлікарем ЕБК.

Для дотримання норм санітарії загальну кількість обслуговуючого персоналу розраховують, виходячи з того, що на одного робочого ЕБК (віварію) покладаються обов'язки по обслуговуванню наступної кількості лабораторних тварин: мишей – 300-1000, щурів – 600-700 (розміщених в 80-100 клітках), хом'яків 600 (розміщених в 60-70 клітках), морських свинок 400 (розміщених в 50-70 клітках), кроликів 80, собак 18-20, що містяться в індивідуальних клітках, і кішок 35-40. Якщо один робітник віварію зобов'язаний одночасно обслуговувати декілька видів лабораторних тварин, то, виходячи з вищенаведених норм, проводять відповідний розрахунок.

При встановленні норм навантаження робітника по догляду за тваринами обов'язково слід також враховувати ступінь механізації виробництва, використання натуральних або гранульованих кормів, періодичність годівля, характер і особливості наукових досліджень тощо. Так, якщо на тваринах вивчається дія радіоактивних речовин, збудників особливо небезпечних

інфекцій і ін., то норми обслуговування значно скорочуються і встановлюються керівником наукової установи на основі хронометражу окремих операцій і з урахуванням діючих правил і інструкцій Міністерства охорони здоров'я, Міністерства сільського господарства і інших компетентних організацій. Документами, що регламентують роботу віваріїв в особливих умовах, є: інструкція по режиму роботи з матеріалом, зараженим або підозрілим на зараженість збудниками чуми, холери, сапа, натуральної віспи, сибірської язви, туляремії і бруцельозу, інструкція по роботі з вірусами епідемічного енцефаліту, інструкція по боротьбі з сказом, інструкція про порядок вилову, транспортування і утримання диких хребетних і членистоногих тварин при проведенні експериментальних робіт і основні санітарні правила роботи з радіоактивними речовинами і іншими джерелами іонізуючого випромінювання.

Проектування і будівництво віваріїв (ЕБК), а також реконструкції існуючих необхідно здійснювати, керуючись Санітарними правилами.

### **5.1.3. Основи годівлі лабораторних тварин**

Важливою умовою при вирощування міцних і здорових лабораторних тварин є організація повноцінного, нормованого годівля, забезпечення їх, згідно кормовим нормам, всіма необхідними поживними речовинами. Таке годівля (групове або індивідуальне) повинно бути обов'язковим у всіх розплідниках і віваріях.

Повноцінне годівля в поєднанні з хорошими умовами утримання забезпечує добрий приріст, розвиток і розмноження тварин. Воно підвищує стійкість тварин проти захворювань, що дуже важливо для високоякісного проведення наукових досліджень.

При годівлі лабораторних тварин необхідно користуватися кормовими нормами і раціонами, розробленими науково-дослідними установами і затвердженими міністерствами охорони здоров'я і сільського господарства. Кормова норма – загальна кількість поживних речовин, які необхідно дати тварині за добу відповідно його живій масі і продуктивності. Кормові норми виражаються в кормових одиницях і в кількості перетравного протеїну або білка. На підставі кормових норм, встановлених для кожного виду і окремих груп лабораторних тварин, необхідно складати кормові раціони на той або інший період.

Раціони для годівлі лабораторних тварин повинні складатися з урахуванням особливостей обміну лабораторних тваринних різних видів і різних ліній одного і того ж виду, а також різного віку і ґрунтуватися на знаннях потреби організму в різних поживних речовинах. При цьому слід враховувати потреби тварин не менше ніж в 70-80 речовинах.

Раціони годівлі повинні бути повноцінними, тобто забезпечувати тварин всіма необхідними поживними речовинами: білками, жирами, вуглеводами, клітковиною, безазотистими екстрактними, мінеральними речовинами і вітамінами. До складу раціонів лабораторних тварин потрібно вводити

повноцінні білки, тобто білки, які містять незамінні амінокислоти: лейцин, ізолейцин, лізин, аргінін, метіонін, треонін, тирозин, триптофан і гістидин. Повноцінні білки – це переважно білки тваринного походження, що містяться в молоці, м'ясі, рибі, яєчному порошку, китовій, кров'яній, рибній і м'ясо-кістковому борошні.

При годівлі лабораторних гризунів застосовують переважно корми рослинного походження (зелений корм, сіно, коренеплоди, зерно, макухи) з додаванням вказаних вище кормів тваринного походження. Для годівля кішок і собак застосовуються переважно тваринні корми. Як джерело мінеральних речовин використовують кухонну сіль, подрібнену крейду, кісткове борошно або кістки (для кішок і собак), а також 0,02-0,04% розчин хлориду кальцію або мінеральні води. Раціони повинні бути різноманітними.

Крілів, морських свинок, білих щурів і білих мишей можна годувати зерном пшениці, ячменю, вівса і кукурудзи. Із зернового корму можна готувати суміші. З крупи необхідно варити круту кашу, до якої додають кухонну сіль і риб'ячий жир або дріжджі.

Лабораторним тваринам також згодовують спеціальні комбікорми, що готуються на комбікормових заводах.

Для собак, кішок і щурів як корм можна використовувати конину, а також м'ясо лабораторних тварин, що використовувались для досліджень, виключаючи ті випадки, коли на тваринах відтворювали інфекційні захворювання або їм вводили отруту. М'ясо слід давати у вареному вигляді.

Молоко для годівлі лабораторних тварин слід брати з господарств, благополучних по туберкульозу і бруцельозу, лейкозу або ж згодовувати його в пастеризованому або кип'яченому вигляді. Дуже цінним поживним, а також профілактичним і лікувальним продуктом служить ацидофільне молоко (ацидофілін), який одержують з пастеризованого коров'ячого молока. Згодовування ацидофіліну підвищує ріст і розвиток молодняка, позбавляє лабораторних тварин від шлунково-кишкових захворювань і попереджує виникнення ряду інфекцій.

Лабораторним тваринам необхідно давати корми, багаті вітамінами (капуста, морква, салат, шпинат, трави), а взимку обов'язково вводити в раціон вітаміни. Для цього до основного корму додають риб'ячий жир, опромінені дріжджі, томатний сік або синтетичні вітамінні препарати (аскорбінову і нікотинову кислоти, тіамін ін.). Останні використовують у вигляді свіжоприготовленого 0,05-0,1% розчину, яким змочують корм. Замість риб'ячого жиру можна давати томатний сік в такій кількості: мишам – 0,1-0,3 мл, щурам і кроликам – 0,3-0,5 мл, морським свинкам – 0,4-0,8 мл (мінімальні кількості томатного соку приведені для молодняка, а максимальні – для дорослих тварин).

Іноді в розпліднику або віварії немає корму, вказаного в раціоні. Щоб не порушувати кормову цінність раціону, доводиться замінювати бракований корм іншим. Взаємозамінність кормів можлива з урахуванням поживності корму, вираженої в кормових одиницях і перетравному протеїні.

Слід пам'ятати, що в організмі кішок не синтезується нікотинова

кислота, а організм морських свинок не виробляє аскорбінової кислоти (вітаміну С). У зв'язку з цим у них легко може наступити дефіцит вказаних вітамінів і розвинутися відповідний гіпо- або авітаміноз. Для їх профілактики слід вводити в раціон кішок ніотинову кислоту (2-5 мг), а морським свинкам в зимовий час – аскорбінову кислоту (5-10 мг). Для збагачення корму білками і вітамінами проводять дріжджування кормів і пророщування зерна.

Дешевим кормом для лабораторних тварин є відходи пивоварної промисловості – солодові паростки, в яких на 100 г паростків міститься 18 г перетравного протеїну (а на 100 г вівса всього 8 г). Вартість 1 кг солодових паростків в 10-11 разів дешевше 1 кг вівса. В умовах розплідника і віварію до 25% зернових кормів можна замінювати солодовими паростками.

Останніми роками в тваринництві з великим успіхом стали використовувати антибіотики для росту і збільшення продуктивності домашніх тварин і птиці, особливо молодняку. Додавання 10-30 г антибіотика (біомицину) на 1 кг корму різко підвищує продуктивність сільськогосподарських тварин. За даними Н. В. Курілова, Н. А. Ліпатової, М. І. Мурашко, надбавка біомицину в дозі 0,5 мг на кролика збільшувало приріст маси кроленят на 40%.

Кращим, найекономнішим і раціональним кормом для лабораторних щурів і мишей слід визнати стандартний концентрований корм, що випускається у вигляді брикетів в дозованих кількостях, який містить всі необхідні поживні речовини, у тому числі вітаміни і мікроелементи. Брикетований корм особливо необхідний при постановці ряду дослідів, коли тварини повинні знаходитися строго на однаковому харчовому режимі. За допомогою такого стандартного корму вдається повністю досягти стандартизації годівля не тільки окремих піддослідних і контрольних груп експериментальних тварин, але і цілої популяції (лінії) або всього виду тварин, які утримуються в ЕБК (розпліднику, віварії).

#### **5.1.4. Розведення лабораторних тварин**

Багатівікова практика тваринництва виробила цілий ряд методів розведення, які застосовують в роботі по вдосконаленню існуючих і виведенню нових порід тваринних.

Розрізняють внутрішньопородне, або чисте, розведення (розведення в собі), міжпородне розведення, або схрещування тваринних різних порід (метизацію), і гібридизацію, або схрещування окремих видів, а не порід. При внутрішньопородному розведенні злучаються самці і самки лише однієї породи. При міжпородному розведенні, навпаки, злучаються матки з виробниками не однієї, а різних порід. При гібридизації беруть самок і самців різних видів тваринних.

Кожний із вказаних видів розведення має свої особливості і свої методи. Так, при внутрішньопородному розведенні користуються лінійним методом, принцип якого описаний вище. Особливо цінними є інбредні лінії лабораторних тварин, які є гомозиготними по всіх генах.

При міжпорідному розведенні залежно від поставленої мети застосовують поглинаюче, введене («підливання крові»), відтворююче, промислове і перемінне схрещування.

Для лабораторних тварин можна застосовувати як внутрішньопородне, так і міжпорідне розведення.

При тривалому внутрішньопородному розведенні практикується лінійний метод і метод крос ліній (схрещування тварин різних ліній). Застосовуючи лінійний метод вдається закріпити і далі удосконалити цінні якості тварин. В лабораторному тваринництві за допомогою лінійного методу розведення одержано багато цінних ліній мишей, щурів, морських свинок, золотистих хом'яків, кроликів, мініатюрних свиней, собак і інших лабораторних тварин.

При внутрішньопородному розведенні і розведенню по лініях доводиться застосовувати родині спаровування тварин, у тому числі близькородині, або тісний інбридинг (спарювати братів з сестрами, батька з дочками і ін.), і помірне родинне спаровування. Проте тривале користування тісним інбридингом може привести до депресії, тобто до отримання приплоду з низькою життєздатністю і ослабленою конституцією.

При розведенні лабораторних тварин методом інбридингу депресія виявляється на третьому поколінні і звичайно найбільш виражена на п'ятому – сьомому поколіннях.

Щоб ослабити шкідливий вплив близькородинного спаровування, тварин (близьких родичів) для спаровування слід брати з різних сезонів народження, наприклад самця зимового, а самку літнього або весняного періоду народження. Крім того, самців слід годувати більш концентрованими кормами, а в раціон самок вводити більше соковитих кормів.

Для отримання здорового приплоду з високою життєздатністю при тривалому внутрішньопородному розведенні застосовують метод «оновлення крові». Суть його полягає в тому, що маткове поголів'я того або іншого виду тварин покривають самцями тієї ж самої породи, але не родинними самкам і вирощеними в інших умовах. Кращі результати виходять, якщо для «оновлення крові» самців і самок беруть з різних розплідників і різних сезонів народження.

Міжпородне розведення переслідує мету: одержати схрещуванням тварин двох або декількох порід нові форми тварин із збагаченою але зміненою спадковістю, або підвищити якість тварин однієї породи за рахунок іншої.

Для покращення якості, тобто підвищення продуктивності однієї якої-небудь низькопродуктивної породи, застосовують поглинаючий метод схрещування. При цьому самок низькоякісної породи покривають самцями іншої, високоякісної або поліпшуючої породи. Приплід від такого спаровування називається помісями першого покоління. Самців першого покоління усувають з розведення, а самок цього ж покоління знову спаровують з іншими самцями, але тієї ж поліпшуючої породи. Третє покоління розводять в собі, тобто самок третього покоління покривають

самцями того ж (третього) покоління. Вводним схрещуванням, або «підливанням крові», переслідується мета підвищити якусь одну якість породи, виправити якийсь один недолік її. Наприклад, кролик російський горностаєвий є цінною породою, але має недолік – тварини дрібні. Жива вага дорослого кролика цієї породи – близько 2 кг. Поставлена мета зберегти цю породу в чистоті, тобто зберегти її цінні якості–гарне хутро, міцну конституцію, високу скороспілість і велику стійкість проти захворювань, але підвищити живу вагу. Для цього самок горностаєвої породи спарюють з самцями близької до неї за якістю, але великої породи білий велетень. Жива вага дорослих кроликів породи білий велетень 6 кг. Від такого схрещування помісі першого покоління матимуть всі якості, властиві породі горностаєвого кролика, але їх вага (дорослих кролів) буде вже не 2, а 3 або 4 кг. Надалі тварин цього першого покоління розводять в собі. Таким чином, порода горностаєвого кролика збережена в чистоті, але шляхом того, що «підливання крові» білого велетня жива вага його збільшилася майже в два рази.

Відтворююче схрещування застосовують при виведенні нових порід. Відтворююче схрещування двох порід є простим, трьох і більше порід – складним. В лабораторному тваринництві воно застосовується рідко.

Промислове схрещування базується на біологічному явищі гетерозису (пишного розвитку). Гетерозис характеризується різким підвищенням ознак в потомстві першого покоління в порівнянні з батьками, які відрізняються один від одного спадковими якостями. Помісі від такого схрещування відрізняються від своїх батьків підвищеною життєвістю: міцним здоров'ям, підвищеним апетитом, скороспілістю, плодючістю і іншими цінними якостями. При подальшому розведенні таких помісей першого покоління в собі гетерозис втрачається і всі вказані якості приходять до початкових. Цей метод схрещування також може бути застосований і в лабораторному тваринництві.

Гібридизація, або схрещування тваринних окремих зоологічних видів, в лабораторному тваринництві майже не застосовується.

## **5.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА**

### **5.2.1. Лабораторні гризуни, використання їх в експериментах**

**Мета.** Ознайомити здобувачів із наркотичними препаратами які використовують для наркотизування лабораторних гризунів, із методами введення лікарських речовин, методами взяття крові. та методами евтаназії.

**Завдання 1.** Ознайомитись та законспектувати як відбувається наркотизування лабораторних гризунів.

Крілі надто чутливі до хлороформу і швидко гинуть від нього. Невеликими концентраціями етилового ефіру можна викликати неглибокий наркоз. Для отримання глибокого наркозу ефір потрібно добавляти

невеликими порціями, обережно, тому що при однократній дачі великої дози ефіру може наступити зупинка дихання і смерть. Краще користуватися сумішшю ефіру з киснем.

Кролики добре переносять уретановий наркоз. Уретан вводять по 0,6-1 г на 1 кг маси внутрічеревне і внутрішньом'язово (20-40% розчин).

Хлоралгідрат вводять у вигляді 10-12% розчину внутрішньовенно в дозі 100-150 мг/кг або ректально в дозі 300-500 мг/кг. Суміш хлоралгідрату з одним з наркотичних анальгетиків (промедолом, фентонилом, дроперидолом) вводять внутрішньом'язово.

Щурів, яких наркотизують, прив'язують до операційного столика або до спеціального верстата.

Інгаляційний наркоз за допомогою етилового ефіру. Тварину поміщають під невеликий ковпак, в камеру або ексікатор, куди кладуть ватку, змочену ефіром, і стежать за настанням наркозу. В ексікатор або камеру для запобігання задухи в них слід подавати повітря або кисень. Таким же методом можна наркотизувати морських свинок, та мишей.

При виконанні операцій на серці, легенях, аорті щурі повинні знаходитися на штучному диханні і їм вводять ендотрахіальний наркоз.

Неінгаляційний - підшкірно або внутрішньочеревне вводять етамінал (внутрішньочеревинна 40-50 мг/кг), барбаміл (підшкірно 50-80 мг/кг), хлоралгідрату (200-250 мг/кг) та інші наркотики. Морським свинкам для відтворення наркозу використовують також барбітурати короткочасної (гексанал, тіопентал) і середньої (етамінал, барбаміл) дії. Хлоралгідрат краще вводити разом з одним з наркотичних анальгетиків (з промедолом), можуть бути використані також і інші нелеткі наркотики; гексанал, тіопентал, уретан. Мишам вводять гексанал, барбаміл, уретан.

**Завдання 2.** Вивчити та законспектувати методи введення лікарських речовин лабораторним гризунам.

*Оральне введення.* Помічник фіксує тварину, утримуючи її головою вгору. В рот тварини вставляють кляп, крізь отвір якого просувають гумовий зонд. Перед введенням зонда його необхідно змастити гліцерином або рідким вазеліном. Для введення препаратів в шлунок кроликам можна користуватися вушним металевим катетером, одягненим на шприц. Рідини або розведені порошкоподібні речовин морським свинкам можна вводити з допомогою металевого зонда (голка від шприца, у якої сточений гострий край і напаяна головка з олова), не користуючись послугами помічника. Рідини можна вводити і без зонда, поступово вливаючи їх в рот піпеткою або з чайної ложечки. Подрібнені тверді речовини домішують до корму.

*Інтраназальне введення.* В порожнину носа через тоненький катетер можна ввести морським свинкам 0,2-0,4 мл досліджуваного розчину, кроликам до 1 мл, щурам до 0,4 мл, мишам до 0,1мл.

*Ректальне введення.* Перед введенням проводять очисну клізму. Крілям при допомозі сечового катетера, який вводять в пряму кишку на глибину 4-5

см, вводять 5-10 мл рідини. Морським свинкам при допомозі гумового катетера вводять 4 мл рідини, щурам – 1 мл. Мишам при допомозі металевого зонду з наконечником або тоненької піпетки вводять до 0,5 мл рідини.

*Шкірне введення.* Тварину фіксують в руках так, щоб задні кінцівки були витягнутими. Скарифікаційною голкою або скальпелем на задній кінцівки, або задній частині спини (мишам) наносять подряпини, після чого втирають інфекційний матеріал.

*Внутрішньошкірне введення.* Місцем введення може бути ділянка шкіри в області спини і живота, позбавлена шерсті. Зручним місцем також є внутрішня поверхня задніх кінцівок. Тоненькою голкою в товщу шкіри вводять розчин до утворення здуття кроликам – 0,1 мл., щурам 0,02 – 0,04 мл., мишам 0,03 мл.

*Підшкірне введення.* Перш ніж провести ін'єкцію, належить вистригти шерсть і шкіру продезінфікувати спиртом або йодом. Ін'єкцію проводять в ділянці спини в один з боків або в області живота (на спині шкіра дуже товста і прокол слід проводити міцною голкою). Мишам в ділянці спини, або під шкіру живота збоку. Перед проколом шкіру необхідно узяти в складку і в створений карман ввести голку. Морським свинкам можна вводити до 15 мл рідини, кроликам до 30 мл., щурам до 10 мл., мишам не більше 1 мл.

*Внутрішньо м'язове введення.* Ін'єкцію проводять в м'язи стегна. Морським свинкам до 1 мл розчину. Кроликам до 8-12 мл., щурам до 5 мл., мишам не більше 0,5 мл.

*Внутрішньочеревне введення.* Проводять в задній третині живота, дещо відступивши від серединної лінії. Під час внутрішньочеревинного введення голова тварини повинна знаходитися нижче за тулуб, щоб внутрішні органи і кишки змістилися до діафрагми.

Експериментатор пальцями лівої руки бере в складку шкіру живота каудальніше пупка і у основи цієї складки проколоне черевну стінку, проводячи голку паралельно напруженій складці. Момент попадання голки в черевну порожнину відчувається як раптове зникнення перешкоди. Кролику можна вводити до 30 мл розчину., щурам до 5 мл., мишам 2 мл.

*Внутрішньовенне введення.* Морським свинкам можна проводити в підшкірну вену гомілки. Тварину, яка знаходиться під легким ефірним наркозом, фіксують спиною вгору, ножицями Купера зрізають шкіру по ходу вени вище за скакальний суглоб і відпрепаровують її від навколишньої тканини. Вену здавлюють джгутом або помічник пережимає її пальцями вище за відпрепаровану ділянку. У вену вводять тоненьку голку. Перед ін'єкцією насмоктують кров в шприц переконуються, чи знаходиться вона в порожнині судини, після чого проводять введення рідини. Розчин, що вводиться, при цьому легко видавлюють з шприца. Якщо тканини починають набухати, це свідчить про те, що голка вийшла з судини або пройшла крізь її стінки.

Під наркозом внутрішньовенні введення можна проводити в стегнову або зовнішню яремну вени. Дорослим кроликам допустимо вводити внутрішньовенно до 20 мл рідини, але при введенні великих доз необхідно вести контроль за диханням і роботою серця. Іноді у окремих тварин за

наявності добре виражених вен вуха можна в них вводити випробовувані розчини. Для цієї мети користуються дуже тонкою голкою. Максимально допустимий об'єм рідини при внутрішньовенному введенні морським свинкам складає 4 мл.

Щурам і мишам внутрішньовенні ін'єкції проводять в бічну вену хвоста тонкою голкою. Для розширення вен хвіст протирають ваткою, змоченою теплою водою, або опускають в теплу воду (45-55°C). Місце уколу висушують і дезінфікують. Хвіст утримують пальцями лівої руки, а в правій тримають шприц. Помічник здавлює вену біля кореня хвоста. Прокол роблять по можливості периферичніше, причому голка повинна йти поверхнево по ходу вени. Якщо ін'єктована рідина не зустрічає опору і в місці знаходження кінчика голки не має здуття під шкірою, то це вказує, що голка знаходиться в судині. Вводять до 6 мл.

*Внутрішньо серцеве введення.* У морських свинок, що знаходяться в стані легкого наркотичного сну, викликаного ефіром або барбітуратами, в другому міжребір'ї зліва, відступивши на 2 мм від краю грудини, проводять пункцію серця і, переконавшись в тому, що кінець голки знаходиться в порожнині серця, поволі проводять ін'єкцію. Об'єм рідини, що вводиться, не повинен перевищувати 1 мл. У кроликів місце уколу знаходиться в третьому міжребір'ї в 2-3 мм від лівого краю грудини вводять до 4-5 мл рідини. Щурам вводять 1 мл, мишам 0,1 мл.

*Субоципітальне введення.* Тварина повинна знаходитися під наркозом. Максимально згинають голову. Проводять пункцію в ділянці між потиличним горбом і остистим відростком атланта. При правильно проведеній пункції після витягання мандрена з голки витікає спинномозкова рідина. Витягують 0,2- 0,4 мл ліквора, після чого вводять досліджуваній розчин. Допустимо вводити морським свинкам до 0,2 мл рідини, кроликам до 0,5 мл., щурам 0,05 – 0,15 мл.

*Внутрішньомозкове введення.* Під ефірним наркозом у морської свинки проводять трепанацію черепа. Місце трепанації повинне знаходитися на лінії, що сполучає зовнішні кути очей, дещо убік від серединної лінії, щоб не пошкодити фронтальний синус. Рекомендується ін'єктувати рідину не поспішаючи, щоб вона не витікала. Допустимо вводити морським свинкам до 0,2 мл розчину. кроликам до 0,4 мл., мишам 0,02 мл.

**Завдання 3.** Вивчити та законспектувати методи взяття крові у лабораторних гризунів.

Взяття невеликої кількості крові можна проводити після нанесення насічок на край вуха або проколу ступні. Для попередження швидкого згортання крові вушну раковину покривають тонким шаром парафіну.

Одержати велику кількість крові у тварин, що не наркотизують, можна за методом Р.В. Федорова. На лапці в області кисті бритвою роблять розріз і просовують її крізь гумову манжету в товстостінну пробірку, з якої вакуумним насосом відкачують повітря. Кров збирається на дні пробірки.

Таким методом легко вдається одержати 1-4 мл крові, не піддаючи небезпеці життя піддослідної тварини. Вакуумним насмоктуванням можна одержати кров з вушної вени.

Кров у морських свинок, що наркотизують, як і у інших лабораторних тварин, можна брати із очного синуса. Для цього у внутрішній кут ока, між орбітою і очним яблуком, проводять голку уздовж кістки в горизонтальному напрямі і шприцом насмоктують кров (Р. Ребігер).

У щурів невелику кількість крові вдається взяти з вушних раковин. Для цього помічник лівою рукою фіксує щура, міцно затискаючи кінцівки, а великим і вказівним пальцями натягує шкіру шиї, здавлюючи судини цієї області і створюючи застій крові і гіперемію вушних раковин. З вушної раковини можливі повторні забори крові через 3-5 діб. Вміст еритроцитів, лейкоцитів і лейкоцитарна формула крові при повторному узятті крові з вушної раковини щурів залишається без змін, тоді як при повторному узятті крові після ампутації кінчика хвоста через виникаючу запальну реакцію збільшується число лейкоцитів. Можна обрізати кінчик хвоста, після чого збирають кров, яка витікає із рани. Можна брати кров із берцової вени під наркозом. Вену препарують.

У щурів та мишей можна брати із ретробульбарного венозного сплетіння при допомозі пастерівської мікропіпетки. Щура наркотизують, кінцем піпетки проколюють кон'юнктиву внутрішнього кута ока і проводять її на глибину 1-2мм за очне яблуко, де знаходиться венозне сплетіння. У мишей можна взяти кров із під'язичного венозного сплетіння.

У мишей невелику кількість вдається отримати шляхом проколу лапи або ампутуючи кінчик хвоста.

**Пункція серця.** Маніпуляцію проводять під наркозом. Перед пункцією вистригають шерсть і дезінфікують шкіру. Місцем пункції у морських свинок служить друге міжребір'я зліва на 1-1,5 см краніальніше від кінця *processus xiphoides*. Від лівого краю грудини відступають на 2 мм і вертикальним уколом проколюють грудну клітку. У кроликів визначають серцевий поштовх і проколюють грудну клітку, відступивши 2-3 мм від лівого краю грудини. Прокол проводять в третьому міжребір'ї. Голку вводять на глибину 2-2,5 см. Якщо голка знаходиться в шлуночку серця, то при потягуванні поршня кров поступає в порожнину шприца. Якщо в шприц поступають пухирці повітря або серозної рідини, це вказує, що голка знаходиться в легенях. В таких випадках голку потрібно витягнути дещо назад. У щурів пальпаторно визначають місце кінцевого поштовху серця. На 1 см краніальніше від встановленої точки, відступивши на 1-2 см від лівого краю грудини, роблять укол, тримаючи голку вертикально. У мишей пальпаторно визначають місце поштовху і на 4-5 мм краніальніше від цього місця у лівого краю грудини проводять прокол.

Пункцією серця у великих морських свинок можна одержати до 10-12 мл крові. Забір слід проводити не частіше одного разу на тиждень: у кроликів 25 – 30 мл, у мишей до 0,5 мл.

**Завдання 4.** Вивчити та законспектувати методи евтаназії.

Кролів забивають нанесенням удару по черепу, тримаючи їх за задні кінцівки вниз головою. Проте краще користуватися внутрішньовенним введенням хлороформу, ефіру або повітря, а також пропусканням електричного струму з міської мережі через спинний і головний мозок (один електрод у вигляді затиску Пеана накладають на кут рота, а інший у вигляді голки вводять під шкіру в області крижів). Час дії струму 3-5 с.

Морських свинок та щурів, мишей гільйотинують. А також використовують: хлороформ, ефір (вводять інгаляційно, внутрішньочеревне та в легені), а також пропусканням електричного струму.

***Контрольні запитання:***

1. Як відбувається наркотизування лабораторних гризунів?
2. Які є методи введення лікарських речовин лабораторним гризунам?
3. Які є методи взяття крові у лабораторних гризунів?
4. Які є методи евтаназії?

## **ТЕМА 6. ЛАБОРАТОРНІ ГРИЗУНИ. ОСНОВИ ЗООГІГІЄНИ І ПРОФІЛАКТИКИ ЗАХВОРЮВАНЬ ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН**

### **6.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА**

#### **6.1.1. Приховані хвороби лабораторних тварин**

Незважаючи на своєрідний спосіб життя лабораторні тварини особливо схильні до інфекційних захворювань. Потрібно вживати заходи для того, щоб їх не допустити. Цього можна досягти при дотриманні правил зоогігієни, високій свідомості і кваліфікації обслуговуючого персоналу, а також належному зооветеринарному обслуговуванні. При роботі з лабораторними тваринами не можна допускати помилок, не можна забувати про дрібниці, які можуть обернутися великою бідою – спалахом інфекційних захворювань і загибеллю всього поголів'я.

Обслуговуючий персонал повинен проходити медогляд на бацилоносійство, оскільки людина може стати носієм збудників інфекцій для лабораторних тварин. Працівники розплідника і віварію повинні звертати особливу увагу на виконання правил особистої гігієни і користуватися спеціальним одягом і взуттям.

Необхідно дотримуватись чистоти посуду, кліток і всього приміщення. За кожним відділенням розплідника або віварію повинно бути закріплено майно і приладдя, яке потрібно зберігати в окремих ящиках або шафах. У жодному випадку не можна переносити приладдя з одного відділення в інше. Не можна переставляти годівниці і напувалки з однієї клітки в іншу.

Перед входом у відділення розплідника або віварію слід класти килимок, призначений для дезінфекції взуття. Двічі в день його змочують дезінфікуючим 3-5%-м розчином фенолу, лізолу або креоліну.

Після прибирання приміщень і кліток і перед роздачою корму тваринам необхідно мити руки милом або дезінфікуючими розчинами (2% хлораміну, 3% фенолу тощо). Потрібно постійно проводити заходи щодо ліквідації носіїв інфекційних хвороб лабораторних тварин (блох, вош, клопів, мух і кліщів).

Спецодяг обслуговуючого персоналу (халати, чоботи, косинки і ін.) повинні зберігатися в окремих шафах кожного відділення розплідника, і неприпустимо, щоб службовці в цьому одязі переходили в інші відділення, оскільки можливе перенесення інфекції. Систематично, один або двічі в тиждень, а також після прання або миття одяг і інвентар обробляють в дезкамері.

Зерновий корм перед годівлею лабораторних тваринних автоклавують, обробляють гарячою парою або прогрівають в сушильній шафі 15-20 хв для знищення яєць гельмінтів та ін. патогенних збудників, які могли потрапити в корм з фекаліями диких гризунів.

Категорично забороняється входити в розплідник або віварій стороннім особам.

З метою профілактики захворювань лабораторних тварин в ЕБК

(віваріях) слід дотримуватися певних правил прийому нових тварин.

Завозити лабораторних тварин необхідно із спеціалізованих розплідників, в яких розводять даних тваринних, але за умови, що в цих розплідниках немає спалахів інфекційних захворювань. Можна проводити закупівлю і завозити лабораторних тварин, що розводяться в колгоспах, радгоспах, а птицю – із птахіфабрик. Лише як виняток дозволяється купувати собак і кішок від приватних осіб, але при наявності заключення про стан здоров'я тварин.

Необхідною умовою при прийомі нових тварин є ветеринарне свідоцтво, накладна або груповий паспорт.

Груповий паспорт заповнюється в двох екземплярах, один з яких залишається в розпліднику, а другий передається в інститут або лабораторію, які придбали тварин. Лабораторні тварини повинні, як правило, підбиратися з однієї секції. Вік щурів, хом'яків, морських свинок і мишей співробітники розплідника зобов'язані указувати в днях, а їх вагу в грамах. Вік кроликів указують в місяцях, а вагу в кілограмах.

Для попередження занесення інфекцій в приміщення ЕБК (віварію) всі тварини, які поступили повинні бути ізольовані для адаптації до нових умов і пройти карантин, для чого їх поміщають в карантинне відділення. Перш ніж прийняти нових тварин, потрібно провести ретельний огляд (у собак з термометрією) на предмет виявлення захворювань, оцінки їх загального стану, вгодованості, віку. Бажано систематично проводити зважування тварин. Дані ці заносять в спеціальний журнал. Хворих тварин приймати у віварій категорично забороняється.

За період проходження тваринами карантину у них проводять мікроскопічні дослідження на виявлення бацилоносійства і наявність гельмінтів, для виключення інфекційних і інвазійних захворювань. Якщо знаходять яйця паразитів, то проводять дегельмінтизацію.

Тривалість карантину залежить від того, звідки придбані тварини і чи немає серед них хворих. Якщо тварини завезені з того ж міста (району), то достатньо триденної ізоляції, щоб тварини адаптувалися до нових умов їх утримання, за умови що дана група тварин благополучна по інфекційних хворобах. Тривалість ізоляції лабораторних тварин, вирощених в розплідниках, віддалених від ЕБК (віварію), які поступили, визначається з урахуванням багатьох чинників: відстані і умов перевезення, умов утримання тварин, характеру наукового експерименту тощо.

Ветеринарним законодавством передбачені наступні терміни карантину для лабораторних тварин, придбаних не із спеціалізованих розплідників: для собак і кішок – 30 днів; для мишей і щурів – 10-14 днів; для морських свинок, кроликів, птахів і інших лабораторних тварин – 21 день.

Терміни карантину можуть бути скорочені в тих випадках, коли необхідно виконувати наукові дослідження на вагітних самках, новонароджених або нестатевонезрілих тваринах, а також у випадках, коли потрібно проводити короткострокові експерименти, але за наявності умов надійної їх ізоляції від основного поголів'я.

Після звільнення карантинного відділення від тварин його приміщення піддається дезінфекції, яку особливо ретельно проводять, коли виявляють інфекційні захворювання.

При підозрі на інфекційні захворювання проводять бактеріологічні дослідження. Якщо результати бактеріологічного дослідження підтверджують наявність інфекційного захворювання, то всі кролики, морські свинки, щури, хом'яки, миші партії, що поступила, повинні бути знищені, а за собаками, кішками і іншими домашніми тваринами проводиться подальший нагляд і терміни карантину продовжуються залежно від характеру виявленого інфекційного захворювання.

В тих випадках, коли виникають масові захворювання лабораторних тварин, які знаходяться на карантині, і серед тих які узяті в досліди, а також при спалахі особливо небезпечних для тварин і людини інфекційних захворювань проведення експериментів на тваринах повинно бути терміново припинено для здійснення комплексу профілактичних заходів, направлених на припинення спалаху інфекційного захворювання. Хворих тварин знищують, про що записують в спеціальному журналі.(на лабораторних)

Працівники, які обслуговують тварин, що знаходяться на карантині, зобов'язані в спеціальному журналі щодня описувати результати клінічного огляду цих тварин, у тому числі дані термометрії (для великих лабораторних тварин), причини загибелі. Журнал (на лабораторних).

В приміщенні, де утримуються лабораторні тварини, проводять щоденне вологе прибирання.

Завідуючий ЕБК (віварію) призначає санітарний день для прибирання всіх приміщень.

Профілактичну дезінфекцію приміщення віварію проводять не рідше двох разів на рік (краще восени і весною). При цьому ретельно миють підлогу і стіни, а потім обробляють їх 3% розчином лугу. Дезінфекцію годівниць і напувалок проводять щодня миттям в теплом 3-5% содовому розчині або кип'ятінням один раз на тиждень.

Клітки чистять щодня, а один раз в 10-15 днів проводять профілактичну дезінфекцію. При цьому тварин слід перевести в чисті запасні клітки. Поточну дезінфекцію годівниць і напувалок проводять один раз в день миттям в гарячій воді, краще – 3-5% розчином соди або лугу. Приладдя, яке використовується для чищення кліток і приміщень, обробляють розчинами фенолу, лізолу, крезолу, хлорного вапна, їдкою натрію. Клітки краще всього дезінфікувати крутим кип'ятком, гарячою парою або гарячим розчином 10% їдкою натрію і полум'ям газового пальника або паяльної лампи. При таких способах дезінфекції гинуть не тільки патогенні бактерії, але і яйця глистів і ооцисти збудників кокцидіозу і інших паразитарних захворювань. З хімічних речовин для дезінфекції кліток застосовують хлорне вапно, негашене (їдку) вапно, фенол, лізол, креолін, формалін, хлорамін. Ефект хімічного способу дезінфекції залежить від стійкості збудника захворювання, концентрації протимікробного засобу, температури розчину і тривалості дезінфекції.

Інфіковані відходи обов'язково піддаються знезараженню

автоклавуванням або дезінфікуючими розчинами.

Хворих тваринних слід ізолювати, а при несприятливому діагнозі (підтвердженому лабораторією ветмедицини) знищувати.

Випадки загибелі тварин або вимушеного їх забою через підозру на інфекційне захворювання констатують в журналі реєстрації полеглих тварин. Загибла тварина підлягає патологоанатомічному розтину, яке проводить виконавець наукової теми у присутності лікаря ветмедицини або завідуючого ЕБК (віварієм). Зберігати трупи тварин в приміщенні віварію (на підлозі) або залишати в клітках неприпустимо. До проведення патологоанатомічного розтину трупи тварин зберігають в спеціальних холодильниках протягом доби, після чого їх вивозять або спалюють.

Зміни температури навколишнього середовища, вологості повітря, надмірний вміст газів при поганій вентиляції викликають значні зміни біохімічних показників, функціонування внутрішніх органів і систем, що, впливає на результати наукових досліджень. При розміщенні лабораторних тварин в кімнатах із зниженою температурою у них підвищується обмін речовин, а при високій температурі, малій рухливості повітря і підвищеній вологості пригнічується тепловіддача і виникає перегрів організму, при якому обмін речовин знижується, унаслідок чого збільшується рівень молочної кислоти в крові, порушується обмін вітамінів. Тварини стають млявими, втрачають апетит, у них знижується стійкість до захворювань.

Порушення правил зоогієни годівля і утримання, а також утримання приміщення, кліток і посуду в брудному стані, недостатня дезінфекція і дератизація можуть стати причиною спалаху епізоотії, які завдають розпліднику великих збитків.

При дезінфекції і дезінсекції інвентаря і приміщень безперечно перевагу мають термічні способи (обробка полум'ям паяльної лампи, газового пальника та ін.). Приміщення віваріїв можна обкурювати сірчистим ангідридом.

Лабораторних тварин при дезінфекції і дезінсекції переміщають в інше приміщення або в іншу частину будівлі.

Комплектування і поповнення розплідників і віваріїв лабораторними тваринами, а також профілактичні заходи проводять під контролем лікаря ветмедицини.

*Приховані хвороби лабораторних тварин.* Утримання лабораторних тварин в клітках обмежує їх в русі, що є однією з основних причин ослабленої реактивності. В порівнянні з своїми дикими родичами лабораторні тварини більш схильні до гострих інфекційних і простудних захворювань. Носіями збудників інфекційних і паразитарних захворювань є багато лабораторних тварин, які використовуються для проведення експериментів і вважаються здоровими.

Здорові на вигляд лабораторні тварини можуть бути інфіковані великою кількістю збудників інфекційних, вірусних, мікозних або паразитарних захворювань, які протікають приховано. Бактеріо- і вірусоносійство, а також зараження організму найпростішими, грибами, паразитами у багатьох лабораторних тварин на протязі тривалого періоду може залишатися

безсимптомним. За даними В.Л. Беляніна, бактеріологічне, паразитологічне і морфологічне обстеження великої кількості нелінійних мишей вирощених в розплідниках, дозволило виявити у більшості тварин ознаки інфекційних процесів, які протікають переважно приховано, і які характеризувалися більш менш вираженими патологічними змінами. У мишей масою 14-18 г вони виявлялися у вигляді риніту (в 13,3% випадків), отиту (26,6%), дрібно вогнищевих пневмоній (25%), периваскулярних інфільтратів в легенях (83,3%), осередковими пошкодженнями з наявністю гранулем в печінці (80%).

Характерне те, що, вказані патологічні зміни в різних органах у практично здорових лабораторних тварин далеко не завжди підтверджуються виявленням патогенної флори при вживанні бактеріологічних досліджень на простих живильних середовищах, що використовуються в лабораторній практиці.

У молодих мишей вагою 8–10 г патологічні зміни виявлялися рідше, ніж у більш дорослих тварин. Зараженість кокцидіями виявили в 5%, карликовим цип'яком в 2%, круглими гельмінтами в 64% випадків. Під час хронічних дослідів або при дослідженнях, що супроводжуються інтенсивними стресовими, хімічними або фізичними навантаженнями, після оперативних втручань і складних маніпуляцій, а також при переміщеннях лабораторних тварин в кімнати з неоднаковими температурними режимами і при транспортуваннях з віварію (ЕБК) в лабораторію і назад в зимові, осінні або жаркі літні дні, опірність організму знижується, унаслідок чого збудники латентних інфекцій і паразитарних захворювань можуть активізуватися. Вказані чинники загострюють інфекційне (паразитарне) захворювання у піддослідних тварин. Експериментатору, особливо початківцю, майже неможливо точно встановити причину гематологічних, біохімічних, функціональних і морфологічних зсувів або загибель тварин в піддослідній групі. Вони можуть наступити і від застосованих подразників, і від загострення інфекційного (паразитарного) захворювання, яке протікає зазвичай приховано.

Латентні інфекції не тільки перевертають показники експериментальних досліджень, що проводяться в області токсикології, фармакології, вірусології, імунології тощо, але і є серйозною проблемою лабораторного тваринництва через можливість спалаху інфекцій. З цієї причини дані, одержані на лабораторних тваринах, позбавлених патогенної мікрофлори і збудників паразитарних захворювань (SPF-тварини), нерідко відрізняються від даних, одержаних на тваринах того ж вигляду, віку і статі, які є носіями вірусів, бактерій, найпростіших або збудників паразитарних захворювань. Із наведених досліджень зрозуміло, наскільки цінне наукове значення мають дослідження, виконані на безмікробних або SPF-тварин. При цьому потрібне менша кількість тварин, а кількість артефактів зводиться до нуля.

Небезпека вірусоносійства збудника грипу лабораторними тваринами полягає в тому, що він може розповсюджуватися аерогенним шляхом, а не тільки при контакті. Мала кількість збудника обумовлює перебіг тривалої прихованої грипоподібної інфекції, яка майже нічим не виявляється. Такі

інфіковані тварини мають вид здорових, вони добре поїдають корм, їх маса збільшується, у них немає гіпертермії. і вони не відрізняються від здорових. Проте використання тварин-вірусоносіїв в експериментальній роботі, особливо при проведенні досліджень з вірусами грипу або іншими вірусами, призводить до не достовірних результатів. Такі тварини відрізняються високою резистентністю до гомологічного вірусу. При роботі з іншими вірусами на тваринах, заражених прихованою вірусною інфекцією, можливі взаємодії чинника, що вивчається, з персистентним вірусом.

При приготуванні вакцин і сироваток слід пам'ятати, що лабораторні тварини можуть бути носіями вірусів-контамінатів, бактерій, найпростіших. Так, за даними Т.А. Бородіної, в мозку новонароджених щурів виявляються цисти енцефалітозоона (*Encephalitozoon*) до 25% випадків, оскільки самки щурів були носіями цього найпростішого.

Клінічно здорові лабораторні тварини (щери, миші і ін.) можуть бути носіями мікозів, небезпечних не тільки для інших лабораторних тварин, але і для людини.

Патологічні зміни в органах і тканинах лабораторних тварин при прихованих інфекціях, паразитарних захворюваннях і виникаючих при цьому функціональних і морфологічних змінах обов'язково повинні братися до уваги при аналізі результатів наукового дослідження.

Для боротьби з латентними захворюваннями лабораторних тварин необхідно перш за все проводити безжальне вибраковування хворих і підозрілих тварин, а також неухильно дотримувати всі строгі заходи зоогієни.

Одним з проявів прихованих інфекцій у лабораторних тварин може бути недостатній приріст молодняка в підсосний період.

Для попередження прихованих інфекцій необхідно вести нещадну боротьбу з носіями захворювань – дикими гризунами, мухами, клопами, тарганами, а також паразитуючими комахами.

### **6.1.2. Паразитарні і мікозні захворювання лабораторних тварин. Зооантропонози**

Паразитарні і мікозні захворювання лабораторних тварин. В організмі лабораторних тварин досить часто знаходяться найпростіші (*Protozoa*), багато хто з яких є патогенним і вражає травний апарат, центральну нервову систему, нирки, легкі, лімфатичні вузли. Інші найпростіші набувають патогенних властивостей під впливом певних умов. Найпростіші різного виду впливають на функціональний стан клітин, тканин і органів, які вони вражають, часто взаємодіючи між собою, вони підсилюють або зменшують патогенну дію один на одного.

Найбільш часто вражає і відповідно впливає на здоров'я лабораторних тваринних енцефалітозоон – найпростіший, який відноситься до класу спорозоа, відділ мікроспоридій. Паразит має вид коротких паличок із заокругленими кінцями завдовжки біля 5мкм. Паразитує в головному мозку,

печінці, нирках, легенях і лімфатичних вузлах мишей, щурів, кроликів, собак та інших тварин.

В головному мозку енцефалітозоон утворює цистоподібні скупчення без оболонки, навкруги яких розростаються гранулеми, що викликають менінгоенцефальні явища.

Саркоспоридії, найпростіші роду *Sarcocystis*, вражають м'язи серця, скелетні м'язи, стравохід лабораторних ссавців, птахів, рептилій.

Токсоплазми (*Toxoplasma*) вражають печінку та інші органи кроликів і морських свинок.

Клосиєлла (*Klossiella*) – найпростіше, яке паразитує в епітеліальних клітинах каналців нирок і ендотеліальних клітинах капілярів кровоносних судин нирок, а також в легенях, селезінці морських свинок і мишей. Збудник може викликати нефрит.

Кокцидіями (*Eimeria* та інші роди) заражаються переважно крілі і миші через ооцисти. Ооцисти захищені надійною оболонкою.

Мешканцями травного апарату багатьох лабораторних тварин є наступні паразитуючі організми: амеби, джгутикові, кокцидії, інфузорії, гельмінти. Весь комплекс паразитуючих організмів, що мешкають в організмі тварин і людини, прийнято розглядати як паразитоценоз.

Недостатній облік паразитофауни лабораторних тварин у ряді випадків веде до помилкового трактування результатів дослідження.

У лабораторних тварин часто можуть виникати мікозні захворювання шкіри, які зустрічаються у людей і домашніх тварин. Епізоотії дерматофітозів в розплідниках, віваріях, експериментально-біологічних клініках представляють велику небезпеку в епідеміологічному відношенні через можливість зараження обслуговуючого персоналу і експериментаторів. Уражені мікозними захворюваннями лабораторні тварини непридатні для ведення на них наукових досліджень; вони беззастережно вибраковуюються і знищуються.

Епізоотологічне і епідемічне значення в розповсюдженні інвазії і мікозів мають головним чином забруднені корми, до яких мають доступ дикі гризуни, а також хворі лабораторні і домашні тварини. З метою профілактики необхідно активно виявляти і ретельно вибраковувати хворих і підозрілих тварин при знаходженні їх в карантинному відділенні, а також в процесі всієї роботи. Крім того, обов'язково слід систематично проводити дератизацію, дезінсекцію і повний об'єм строгих профілактичних заходів на всіх етапах обслуговування лабораторних тварин. Інфіковані корми слід або знищувати, або піддавати серйозній термічній обробці.

**Зооантропонози.** Заразні захворювання, які передаються від тварин до людини, прийнято називати зооантропонозами. Під терміном зоонози слід розуміти ті інфекції, які вражають тільки тварин і не передаються людям (чума собак, хвороба Ауескі, рикетсіозний моноцитоз рогатої худоби і собак). Зооантропонози залежно від збудника вірусні, бактерійні, мікозні і паразитарні.

З інфекційних (що викликаються вірусами і бактеріями) зооантропонозів

найбільш часто виникає сальмонельоз. Сальмонельози – поширені інфекційні хвороби людей і лабораторних тварин, які викликаються бактеріями роду сальмонел. Рід цей включає близько двох тисяч представників, з числа яких лише декілька десятків видів викликають захворювання у людини. Сальмонельоз – одне з поширених інфекційних захворювань лабораторних тварин, яке завдає великих збитків розплідникам лабораторних тварин, ЕБК і віваріям.

До групи інфекційних зооантропонозів входять також: сказ, бруцельоз, геморагічна лихоманка, туляремія, сибірка, орнітоз, туберкульоз, псевдотуберкульоз, лептоспіроз, лістеріоз. З цієї групи зооантропонозів велику небезпеку представляє сказ, збудник якого викликає у людей захворювання найчастіше під час укусів хворих тварин.

До групи інвазійних зооантропонозів відносяться гельмінтози (ехінококоз, альвеококоз), протозоозни (лямбліоз, балантидоз, амебіоз, лейшманіоз, токсоплазмоз), арахнози (саркоптоз, отодектоз). Збудники перерахованих зооантропонозів (віруси, бактерії, паразити або їх яйця) потрапляють в організм людини безпосередньо від хворих тварин (собак, кішок, свиней, лабораторних гризунів). Окрім цього, існують паразитарні зооантропонози (опісторхоз, дипілідіоз, дифілоботріоз, трихіноз), які характеризуються тим, що зараження людини від хворих тварин відбувається не безпосередньо, а після вживання зараженої їжі, води.

Велику небезпеку для людей, що працюють з лабораторними тваринами, представляють також зооантропонози, що викликаються мікозними збудниками. Спільними для людини і лабораторних тварин мікозами є трихофітія, парша, актиномікоз, бластомікоз. Інфікування походить від хворих лабораторних тварин, від клінічно здорових міконосців, а також від зараженого одягу, приладдя. Описані випадки, коли під час епізоотії трихофітії у білих мишей близько 70% обслуговуючого персоналу віварію, а також наукові співробітники перехворіли цим захворюванням.

## **РОЗДІЛ 2. ОРГАНІЗАЦІЯ РОБОТИ У ВІДДІЛАХ ЛАБОРАТОРІЇ ДЕРЖПРОДСОЖИВСЛУЖБИ**

### **ТЕМА 7. БАКТЕРІОЛОГІЧНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ**

#### **7.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА**

##### **7.1.1. Правила охорони праці і техніка безпеки у відділі бактеріологічної діагностики**

Бактеріологічні дослідження – основний вид робіт у державних лабораторіях Держпродспоживслужби. З них починалася діяльність перших ветеринарних лабораторій. В недалекому минулому вони так і називалися – ветеринарно-бактеріологічні лабораторії. Пізніше на них покладалося проведення інших видів досліджень – серологічних, паразитологічних, вірусологічних та ін. Тепер бактеріологічні дослідження здійснюють не тільки при діагностиці хвороб бактерійної етіології, але й у ветсанекспертизі, вірусології з метою виключення бактерійних інфекцій і перевірки стерильності для визначення чутливості мікроорганізмів до лікарських препаратів, визначення якості дезінфекції та інших робіт.

Для проведення бактеріологічного дослідження необхідно мати кімнату, обладнане місце або бокс для роботи з чистими культурами, а також місце для приготування розчинів, фарб і підготовки інших матеріалів.

На робочих місцях необхідно постійно мати скло (предметні в банці і покривні в біксі), бактеріологічні петлі, банки з ватою, стерильні пастерівські піпетки, пінцет, ножиці, скальпель, банки з дезрозчинами для відпрацьованого предметного скла і піпеток, спиртівку, олівці або маркери для скла; пробірки з фізіологічним розчином, груші гумові, а на робочому місці лікаря, крім того, мікроскоп з освітлювачем та імерсійну олію.

Для фарбування мазків обладнають спеціальне місце з набором фарб і фіксуєчих розчинів, пісочним годинником на 1, 2 і 5 хв, бутлем з тубусом або промивалкою з дистильованою водою, конічною чашкою (кювета або інша ємкість) з мастикою, спиртівкою, пінцетом і фільтрувальним папером.

Матеріал, що поступає для бактеріологічного дослідження, повинен розглядатися як інфікований.

Посіви і пересіви проводять петлею або пастерівською піпеткою над полум'ям спиртівки. Після посіву петлю і нижню частину петлетримача фламбують спочатку у нижній, а потім у верхній третині полум'я, а пастерівські піпетки поміщають в банку з дезрозчином.

Проводячи посіви з доставленого матеріалу і пересіви культур пастерівськими піпетками, насмоктувати рідини треба тільки за допомогою гумової груші. Для переливання інфікованої рідини з посуду в посуд використовують піпетки, стежачи за тим, щоб не переливати рідину через край. Всі маніпуляції з культурами збудників особливо небезпечних хвороб або підозрілим в зараженні цими збудниками матеріалом, проводять над

кюветою.

Мазки з патологічного матеріалу або культур до фіксації і забарвлення необхідно берегти під скляним ковпаком. Первинні посіви і суспензії (шматочки органів), узяті для зараження, а також первинні мазки зберігають до отримання остаточної відповіді.

Працюючи з культурами і патологічним матеріалом, необхідно строго дотримуватись особистих запобіжних засобів і користуватися прийомами, що забезпечують чистоту посівів і розсіювання збудників інфекції в навколишньому середовищі.

Після закінчення досліджень відпрацьовані посіви (в пробірках, чашках та ін.), шматки або суспензії органів, узяті для зараження тварин, пастерівські піпетки, трупи лабораторних тварин знезаражують. При виділенні з патологічного матеріалу збудника сибірки або спорових анаеробних хвороб - автоклавують при 0,15 МПа протягом 2 год з подальшим контрольним висівом на відповідні живильні середовища. Використані піпетки спочатку поміщають в банку з 5% розчином карболової кислоти або лізолу, потім разом з інструментарієм, склом та іншими предметами, які мали контакт із інфікованим матеріалом, знезаражують таким же способом. При виділенні неспоривих збудників або отриманні негативних результатів бактеріологічного дослідження патматеріал, посуд, піпетки автоклавують при 0,15 МПа 1 год. При цьому інструментарій, скло та інші предмети знезаражують кип'ятінням на протязі 30 хв. в розчині соди.

Про проведену стерилізацію патматеріалу проводять запис в спеціальному журналі. В ньому указують дату стерилізації, скільки і якого матеріалу знезаражене, режим стерилізації, підпис ставить особа, яка проводила знезараження, відзначають результати контрольного висіву.

Відповідальність за правильне проведення стерилізації матеріалу і посуду покладається на лікаря ветеринарної медицини (завідуючого відділом), а за наявності в установі централізованої автоклавної – завідуючого або чергового лаборанта автоклавної.

### **7.1.2. Підготовка матеріалу для дослідження**

Патологічний і біологічний матеріал, що надходить для дослідження в лабораторії, повинен приймати лікар ветеринарної медицини або лаборант, що пройшов інструктаж по техніці безпеки у відділі бактеріологічної діагностики. Патматеріал звільняють від зовнішньої упаковки, звіряють з супровідною і записують у вхідний журнал лабораторії під черговим номером експертизи. Такий же номер ставлять тушшю або восковим олівцем на посуді з матеріалом.

Якщо вмістиме посилки відповідає супровідній, після реєстрації його передають у секційну. При виявленні невідповідності між пробами і описом в супровідній або псування патматеріалу складають акт, копію якого пересилають відправнику.

*Методи посівів і пересівів.* Для отримання культур мікробів з різного

патологічного матеріалу (кров, гній, органи та інші) частину цього матеріалу вносять на живильне середовище. Процес зараження стерильного живильного середовища досліджуваним матеріалом називається посівом або висівом.

Первинні посіви з патологічного і клінічного матеріалу проводять у секційній або в її боксі на окремому столі в умовах, що гарантують відсутність забруднень матеріалу мікробами із зовні і в той же час виключають розсіювання, в зовнішнє середовище.

Посів з органу проводять піпеткою, заздалегідь проведеною через полум'я пальника. Поверхню органів, з яких проводять посів, заздалегідь обпалюють ватним змоченим спиртом тампоном, що горить, або припікають нагрітим металевим шпателем, потім обломлюють кінець піпетки і вводять її до досліджуваного органу. Насмоктують в капіляр небагато пульпи або крові, швидко беруть в ліву руку пробірки з середовищами, тримаючи їх похило догори, захоплюють пробки між долонею і двома останніми пальцями правої руки, виймають їх над полум'ям, фламбуючи краї пробірок. В піпетку з матеріалом насмоктують близько 0,5 мл бульйону і відразу ж видують назад, залишивши в капілярі 2-3 краплі суспензії, яку випускають в другу пробірку у верхній частині скошеного агару або розподіляють штрихами по його поверхні. Повторно фламбують краї пробірок і закривають їх пробками, а використану піпетку опускають в посудину з дезінфікуючим розчином.

Посів суспензії з органів. Патологічно змінені, стерильно вирізані шматочки органів (3-4 г) поміщають в стерильну ступку, вливають стільки ж фізіологічного розчину і розтирають товкачем до кашкоподібного стану, додаючи при цьому ще 3 об'єми фізіологічного розчину. Ретельно перемішують, накривають стерильним папером і відстоюють 10-15 хв. Пастерівською піпеткою беруть 0,5-1 мл верхнього шару суспензії і більшу частину вносять в бульйон, а меншу - на скошений агар.

Посів з трупа лабораторної тварини. Дрібні трупи фіксують на дощці, в кюветі або на парафіновому блоці за допомогою голок. Дезінфікують шкіру живота і грудей. Розкривають черевну і грудну порожнини і проводять посіви на живильні середовища.

Посів в чашки з агаром. 2-3 краплі слизу або суспензії з органу, відбиток з органу або пульпи наносять на живильне середовище біля краю чашки. Профламбованим і остудженим скляним шпателем розтирають матеріал по всій поверхні середовища.

Дробовий посів в чашки за Дригальським. 0,2-0,3 мл суспензії вносять в чашку і розсіюють шпателем по всій поверхні агару. Потім залишки мікробної маси на шпателі висівають послідовно ще на 2-3 чашки.

Пересівання мікробних культур. Пересівання (тобто перенесення частини культури, що виростає, в стерильне середовище) проводять тими ж технічними прийомами, що і при посівах.

Пересіви з агару на агар. В ліву руку беруть 2 пробірки, в праву – петлю, прожарюють до почервоніння і 2-3 рази проводять через полум'я. Відкривають пробірки, вводять всередину петлю, охолоджують до стінки пробірки,

забирають трохи бактерійної маси і переносять в другу пробірку із стерильним середовищем. Штрихами проводять посів. Пробірки закривають і спалюють на петлі мікробну масу, що залишилася.

Пересіви з бульйону в агар. Пробірку з культурою струшують, посів проводять петлею так, щоб всю культуральну рідину перенести на агар, не торкаючись вушком петлі стінок пробірки і розсівають рідину штрихами.

Пересів з агару в бульйон проводять також петлею. Бактерійну масу змивають з петлі, похитуючи її в бульйоні. Закрити пробірку з пересівом струшують для роздроблення грудок мікробів.

Пересів з бульйону в бульйон проводять петлею або пастерівською піпеткою, культуральної рідини беруть не більше краплі.

Пересів колонії з чашки на скошений агар. Бактерійну масу з кожної відібраної великої колонії беруть петлею, а з дрібної - бактеріологічною голкою із злегка зігнутим кінцем, переносять в окрему пробірку і розсівають штрихами.

Посів в напіврідкий агар. Матеріал з рідкого або напіврідкого середовища беруть піпеткою або петлею, вносять в розплавлений і охолоджений до 45°C агар і перемішують.

Посів в желатин проводять бактеріологічною голкою, роблячи укол всередину стовпчика середовища до його дна або на всю довжину голки.

### **7.1.3. Бактеріоскопічні дослідження**

Приготування мазків. Для мікроскопічного дослідження з метою виявлення форм мікробів, їх структурних і деяких біохімічних особливостей готують препарат на склі.

На чистих, прозорих, добре знежирених і профламбованих предметних скельцях з нижньої сторони восковим олівцем обводять потрібне число кружків розміром в копійчану монету, не більше трьох на одному склі, і маркірують.

Мазки з органів. Поверхню органу в патологічно зміненій ділянці припікають розжареним шпателем. Розрізають стерильним скальпелем, зскрібають небагато пульпи і переносять в краплю фізіологічного розчину на запасному предметному склі. Бактеріологічною петлею готують суспензію і готують мазки.

Щоб одержати відбитки з органів, прикладають поверхню свіжого зрізу до скла. Мазки повинні бути тонкими.

Мазки із крові. Кров з серця або цитровану з пробірки (після перемішування) набирають пастерівською піпеткою. Невелику краплю наносять на предметне скло, не торкаючись його піпеткою, потім капіляром цієї ж піпетки; тримаючи її навзнаки, з краплі кров готують мазок.

Рідкий слиз або сперму набирають пастерівською піпеткою, наносять невелику краплю на скло і розмазують петлею. З гною та інших напіврідких матеріалів заздалегідь готують суспензію, а з неї - мазки. Згустки слизу та інші погано суспензуючі матеріали наносять на предметне скло ближче до краю і

роздавлюють їх іншим склом.

*Мазки із бульйонних культур.* Пробірку з культурою струшують для отримання рівномірної суспензії. Бактеріологічну петлю фламбують, охолоджують об стінку пробірки, забирають нею культуру і готують мазок. Крапля повинна рівномірно розподілятися в межах відзначеного кружка. Якщо з однієї культури потрібно зробити декілька мазків, то культуру беруть з пробірки пастерівською піпеткою і краплю наносять на запасне скло, а з неї петлею готують мазок.

*Мазки з агарових культур.* На чисте предметне скло наносять краплю фізіологічного розчину. З пробірки (чашки) з культурою вищеописаним способом набирають петлею трохи мікробної маси і суспензують в краплі до появи помутніння. Залишок мікробної маси спалюють на полум'ї, а мазок висушують.

Щоб отримати менш густий мазок, готують таким же способом суспензію на запасному склі, а з неї готують петлею мазок розміром в копійчану монету, після чого запасне скло з суспензією опускають в дезінфікуючий розчин.

Для приготування мазків з дуже дрібних колоній, що вирости на чашках серед колоній сторонніх мікробів, замість петлі користуються тонкою нікельованою голкою, злегка заломленою на кінці. Кінчиком голки обережно забирають з центру колонії трохи бактерійної маси суспензують її в маленькій крапельці фізіологічного розчину і петлею готують мазки.

Всі приготовленні мазки висушують на повітрі.

Фіксація мазків проводиться для закріплення матеріалу на склі, знепліднення мікробів, а також для кращого фарбування тканинних клітин і бактерій.

Найбільш проста фіксація сухим жаром. Для цього, тримаючи скло мазком вгору, проводять ним над полум'ям пальника 3-4 рази протягом 2 с. При цьому пальці руки повинні добре відчувати гарячі ребра скла, але не обпалюватися.

Для фіксації вихідних(перших) мазків з матеріалу, підозрілого на зараженість патогенними мікроорганізмами I і II груп, рекомендується використовувати 96° етиловий спирт – 15 хв., суміш Никифорова (рівні кількості 96° етилового спирту і ефіру) – 10-12 хв, метиловий спирт - 5 хв, а при дослідженні матеріалу, що містить спори мікроба сибірки – етиловий спирт з додаванням 3% перекису водню.

Дослідження незабарвлених препаратів проводять головним чином для визначення рухливості бактерій. Препарати краще готувати з молодих 6-12-годинних бульйонних культур або з конденсату агарових культур.

*Метод «роздавленої краплі».* На предметне скло наносять краплю культури і накривають покривним склом так, щоб між скельцями не створилися пухирці повітря, а крапля не вийшла за краї покривного скла. При злегка затемненому полі зору і малому збільшенні мікроскопа знаходять край краплі і переводять об'єктив середнього збільшення (40-60).

*Метод «висячої краплі».* На покривне скло наносять краплю культури.

Спеціальним предметним склом з луночкою, краї якого злегка змазані вазеліном, накривають її так, щоб покривне скло прилипло до предметного. Препарат перевертають покривним склом вгору і мікроскопують як описано вище.

В обох випадках на сіруватому фоні поля зору добре помітний рух мікробних клітин.

*Основні і спеціальні методи фарбування.* При простому методі фарбування використовують один який-небудь барвник. На фіксований препарат наносять розчини метиленової синьки на 4-5 хв, карболового фуксину Пфейфера або карболового генціанвіолета – на 1-2 хв. Мазок промивають дистильованою водою і підсушують між листами фільтрувального паперу.

*Складні методи фарбування (диференціюючі)* відрізняються тим, що препарати фарбують декількома фарбами, а в деяких випадках використовують ще спеціальні реактиви. Складні методи дають можливість виявити наявність (або відсутність) окремих структурних елементів і деяких органічних сполук клітини, чим і визначають тінкторіальні властивості кожного виду мікроба.

Найпоширеніший метод фарбування – по Граму. Всі бактерії поділяють на Грампозитивні (фарбуються генціанвіолетом в фіолетовий колір) та грамнегативні (фарбуються фукином в червоний колір).

*Фарбування капсул* по Романовському – Гімза. Бактерії темно-сині, капсули рожеві, по Ольту, по Ребігеру та ін.

*Фарбування спор* за Златогоровим, Міхіним тощо.

*Фарбування бруцел* по Козловському та по Шуляку-Шину.

*Фарбування кислотостійких мікробів* по Циль-Нільсену. Мікобактерії червоні, інші бактерії сині. За Поляковою для люмінесцентної мікроскопії. Мікобактерії видно у вигляді паличок з чітким контуром, які світяться золотисто-оранжевим кольором. При втраті кислотостійкості вони набувають зеленого відтінку.

#### **7.1.4. Виділення і вивчення чистих мікробних культур**

З метою отримання чистих культур частіше використовують дробовий посів або пересівання на декілька чашок з щільним середовищем, висів на елективні середовища, зараження лабораторних тварин, організм яких служить своєрідним фільтром, і прогрівання матеріалу, що містить сторонні інгібітори, у водяній бані при температурі 80°C 30 хв. для знищення вегетативних форм мікробів. Ці методи звичайно застосовують в різних варіантах.

Вивчення здатності мікробів ферментувати поживні речовини (вуглеводи, білки, солі), виробляти в процесі обміну речовин кислоти, індол, сірководень і інші гази, а також змінювати вигляд і консистенцію живильних середовищ необхідно для їх ідентифікації. Біохімічні властивості перевіряють тільки у чистих культур. Для посівів використовують 18-24-годинні культури на МПБ або суспензії на фізіологічному розчині агарових культур (10 од.

каламутності).

*Ферментація вуглеводів* вивчається при посіві культур на диференціально-діагностичні середовища з різними вуглеводами і індикатором. В кожену пробірку вносять по краплі бульйонної культури або змиву агарової. В напіврідкі середовища посів роблять уколом піпетки. Результати враховують через 24-48 год., а іноді і пізніше. Ферментація вуглеводів характеризується зміною кольору середовища (наприклад, почервоніння середовища з індикатором Андреде), а газоутворення – наявністю пухирців газу в стовпчику напіврідкого середовища.

*Протеолітичну активність мікробів* частіше вивчають при посіві культур в застиглий стовпчик МПЖ уколом петлі до дна пробірки. Посіви з мікробами, що мають здатність рости при низькій температурі, залишають при кімнатній температурі (20-22°C), інші - при 37°C в термостаті. Посіви, що знаходяться при кімнатній температурі, проглядають щодня протягом шести днів, враховують ступінь, а при необхідності і форму розрідження середовища. При інкубації в термостаті через 48 год посіви виймають, охолоджують до 20°C. При наявності желатинази середовище залишається розрідженим.

*Утворення індолу.* Смужки фільтрувального паперу просочують гарячим насиченим розчином щавлевої кислоти (дистильованої води-100 мл, кислоти-12 г), висушують, поміщають в пробірки з висіяним бульйоном, не торкаючись середовища. За наявності індолу нижня частина папірця забарвлюється в синій або бузковий колір після інкубації посіву при 37°C протягом 1-3 днів.

*Утворення сірководню* частіше вивчають на середовищі для визначення сірководню. Посів роблять на скошений агар, а потім уколом в нижню частину стовпчика середовища. При позитивній реакції на сірководень нижня частина стовпчика забарвлюється в чорний колір.

В деяких випадках утворення сірководня вивчають за допомогою смужок фільтрувального паперу, просочених розчином, що складається з 20 г оцтовокислого свинцю і 1 г бікарбонату натрію, розчиненого в 100 мл дистильованої води. При позитивній реакції після інкубації посівів при 37°C протягом 1-3 днів папірець стає бурим або чорним.

*Засвоєння нітратних і амонійних солей* вивчають на середовищі Сіммонса. Посів проводять петлею з культури, що виросла на МПА, інкубують при 37°C 24-48 год. Цитратно-амонійно-позитивні бактерії дають зростання із зміною середовища в яскраво-синій колір. Мікроби, не здатні засвоювати цитратні і амонійні солі, на даному середовищі не ростуть і колір її не змінюють.

*Розщеплювання сечовини* вивчають на агарі з сечовиною. При розщеплюванні сечовини колір середовища змінюється із зеленуватого в яскраво-синій, при негативній реакції – вона жовта.

*Реакція з метил-ротом.* З пробірки з 2-добовою культурою бактерій, що вивчаються, в середовищі Кларка переносять 1 мл культури в чисту пробірку для постановки реакції Фогес-Проскауера, а в частину, що залишилася,

додають 5 крапель розчину метилрота і струшують. Реакцію враховують відразу після додавання індикатора. Залежно від величини рН колір культури змінюється: рожеве фарбування (рН нижче 5) означає позитивну реакцію, жовте фарбування (рН вище 5) – негативну реакцію.

Реакція Фогес-Проскауера (на утворення ацетилметилкарбінола з глюкози). До 1 мл 2-добової культури бактерій в середовищі Кларка додають 0,2 мл 40% водного розчину їдкого калію (КОН) і 0,5 мл 6% спиртового розчину  $\alpha$ -нафтола. Реакцію враховують через 3-5 хв. При позитивній реакції – рожеве фарбування, при негативній – жовте, сумнівній – жовто-оранжеве.

Гемолітичні властивості культур вивчають на кров'яному агарі або бульйоні з кров'ю. Результат враховують через 24 год. інкубації при 37°C. Навкруг колоній утворюються зони прояснення. Розрізняють:  $\alpha$ -гемоліз з неширокою зоною, забарвленою в оливково-зелений колір, і ( $\beta$ -гемоліз з більш широкою безбарвною і прозорою зоною. В бульйоні з кров'ю середовище забарвлюється в червоний колір.

### **7.1.5. Підготовка матеріалу і піддослідних тварин для проведення біопроби**

Матеріалом для зараження лабораторних тварин звичайно є емульсії, приготовлені з різних органів і тканин, присланих для дослідження, або різні виділення, мокрота, кров, відділення із ран, язв хворих тварин. Емульсії з органів (тканин) звичайно готують на фізіологічному розчині в співвідношенні 1:10, використовуючи для цієї мети невеликі шматочки з самих уражених ділянок. Їх розтирають з фізіологічним розчином в стерильній ступці до отримання рівномірної суспензії. Останню вводять безпосередньо тваринним або заздалегідь фільтрують в простерилізований посуд через вату (марлю). За наявності погано розчинного матеріалу додають прожарений пісок і одержану емульсію фільтрують через марлю.

Культури мікроорганізмів є також матеріалом для зараження піддослідних тварин. В таких випадках застосовують звичайно 24-36-годинні бульйонні культури або ж змиви з твердих середовищ. В останньому випадку до них додають декілька мл стерильного фізіологічного розчину і обертанням пробірки між долонями змивають з агару мікробну культуру.

Окремі підозрілі колонії з агарових чашок або пробірок знімають платиновою петлею і емульгують в невеликій кількості фізіологічного розчину.

В мікробіологічній практиці часто використовують бактерійні суспензії у відомих концентраціях. Якщо необхідно визначити кількість живих мікробів в 1 мл суспензії, застосовують метод висіву. Загальну концентрацію бактерій в суспензії незалежно від того, живі вони чи ні, визначають оптичним методом за допомогою скляного стандарту каламутності.

В нашій країні існує єдиний стандарт каламутності, що виготовляється Державним науково-дослідним інститутом стандартизації і контролю

медичних біопрепаратів імені Тарасевича. Стандарт являє собою суспензію частинок скла пірекс в дистильованій воді. Каламутність стандарту, що випускається, на 10 одиниць еквівалентна 10 міжнародним одиницям каламутності і відповідає таким концентраціям мікробів: 935 млн/мл ентеробактерій (сальмонел, ешерихій тощо); 1,65млдр/мл бруцел; 4,95 млрд/мл туляремійних бактерій.

При визначенні концентрації мікробів за допомогою стандарту каламутності рекомендується користуватися тільки візуальним способом обліку при природному розсіяному освітленні; перед кожним визначенням стандарт ретельно збовтують плавним похитуванням пробірки до повного переходу осаду в суспензію.

Після роботи стандарт необхідно зберігати у вертикальному положенні при кімнатній температурі.

Послідовність роботи. Молоду 1-2-добову агарову культуру змивають з косяка 4-5 мл фізіологічного розчину, обертаючи пробірку між долонями.

Змиви з косяків переливають в стерильну пробірку або колбу і струшують до отримання рівномірної суспензії.

При визначенні концентрації точно вимірюють використані об'єми мікробної суспензії і фізіологічного розчину, взятого для її розведення. В стандартну пробірку вливають 3-4 мл розчину, стерильною мікропіпеткою набирають 0,1-0,2 мл суспензії (залишок з кінця піпетки знімають ватую) і переносять у фізіологічний розчин, промиваючи в ньому піпетку. Добре перемішавши одержану суспензію і вміст скляного стандарту, обидві пробірки прикладають до шрифтової таблиці і порівнюють ступінь каламутності в падаючому світлі біля вікна. Якщо визначувана суспензія мутніша, ніж стандарт, в неї додають фізіологічний розчин до повного зрівняння із стандартом.

При обчисленні концентрації мікробів підраховують в скільки разів розвели початкову суспензію, щоб довести її до 10 одиниць каламутності. Одержане число множать на кількість мікробів, яка відповідає 10 одиницям стандарту, і знаходять потрібну концентрацію (млдр/мл). Така методика застосовна тільки для суспензії ентеробактерій, бруцел і туляремійного мікробу.

Єдиним стандартом каламутності можна визначати концентрацію (фізичну масу) всіх інших видів мікробів, якщо їх суспензії рівномірні. Але виразити встановлену величину потрібно не числом мікробних тіл, а тільки одиницями каламутності.

Підготовка тварин до зараження. Піддослідні тварини повинні мати нормальну вгодованість, бадьорий вигляд, нормальну статуру, не мати травм і пошкоджень.

Перед зараженням тварин клеймують, зважують, визначають стать, вік, вимірюють температуру. У ветеринарних лабораторіях тварин мітять вистриганням шерсті в різних ділянках тіла (кролики, морські свинки), а мишей і щурів - надрізом вух або ж фарбуванням різних частин тіла тварини розчином пікринової кислоти або 0,5% спиртовим розчином анілінових

фарб.

Великих тварин зважують в ящику на звичайній вагах, а дрібних – на ручних аптекарських терезах з роговими чашками.

*Фіксація тварин.* При зараженні лабораторних тварин залежно від їх вигляду і методу введення патологічного матеріалу використовують способи фіксації.

Дрібних лабораторних тварин поміщають в ящики або верстати, розміри яких відповідають їх розмірам. Можна утримувати тварину руками. Кроликів і морських свинок помічник тримає на столі в потрібному положенні. Для внутрішньовенних ін'єкцій зручніше всього завертати кролика в шматок щільної тканини, задалегідь підігнувши йому ноги під живіт (голову залишають вільною). Білу мишу звичайно беруть лівою рукою пінцетом за хвіст, правої - за шкірну складку потилиці, ближче до вух і повертають в зручне для зараження положення.

## 7.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА

### 7.2.1. Організація роботи в бактеріологічному відділі

**Мета заняття:** Ознайомити здобувачів із будовою, обладнанням та правилами роботи у бактеріологічному відділі, із видами патологічного матеріалу, який відправляють у лабораторію для дослідження; види тварин, які використовують для біологічної проби

**Завдання 1.** Вивчити та законспектувати будову, обладнання та правила роботи у бактеріологічному відділі.

У відділі бактеріологічної діагностики повинні бути кімнати для проведення бактеріологічних досліджень та бокс для роботи з чистими культурами, а також місце для приготування розчинів, фарб, підготовки інших матеріалів.

При бактеріологічному дослідженні харчових продуктів посіви на живильні середовища проводять в окремому приміщенні. Не дозволяється цю роботу виконувати в секційній чи боксі, де працюють з патологічним матеріалом.

*Правила роботи у бактеріологічному відділі:*

1. Кожне робоче місце повинно бути забезпечене склом (предметне – у банці, покривне – у бюксіку), бактеріологічною петлею, стерильними пастерівськими піпетками, пінцетом, ножицями, скальпелем, банками з дезрозчином для відпрацьованого скла (окремо для предметного та покривного) та для піпеток, спиртівкою або газовим пальником, пробірками з фізіологічним розчином, гумовими грушами, банкою з ватою. Робоче місце лікаря ветмедицини необхідно додатково забезпечити мікроскопом з освітлювачем та масляною з імерсійним маслом.

2. У відділі крім робочих місць працівників повинно бути обладнане місце

для приготування розчинів, фарб, підготовки інших матеріалів та окреме місце для фарбування мазків.

3. Місце для фарбування мазків необхідно забезпечувати набором фарб і фіксувальних рідин, пісочними годинниками на 1, 2 та 5 хвилин, бутлем з тубусом або промивалкою з дистильованою, водою, конічною чашкою (кюветою або аналогічною посудиною) з місточком, газовим пальником або спиртівкою, пінцетом та фільтрувальним папером.

4. Матеріал, що надійшов для бактеріологічного дослідження, повинен розглядатись, як інфікований.

5. Посіви та пересіви проводять петлею або пастерівською піпеткою над полум'ям спиртівки або пальника. Після посіву петлю і нижню частину петлетримача прожарюють спочатку в нижній, а потім у верхній третині полум'я, а пастерівські піпетки поміщають у банку з дезрозчином.

6. При проведенні висівів з матеріалу і пересіві культур пастерівською піпеткою насмоктувати рідини необхідно за допомогою гумової груші. Не допускається насмоктувати рідини ротом.

7. Переливати інфіковані рідини з посудини в посудину через вінця недопустимо. Для цієї мети використовують піпетки.

8. Усі маніпуляції з культурами збудників особливо небезпечних хвороб або з матеріалом, підозрілим в зараженні цими збудниками, проводять над кюветою.

9. Мазки з патологічного матеріалу або культур до фіксації та фарбування необхідно зберігати під скляним ковпаком.

10. Суспензії досліджуваних органів, взятих для зараження, первинні їхні висіви, а також мазки зберігають до закінчення досліджень і виписки експертизи.

11. Термостати, холодильники та шафи, в яких зберігаються посіви (чашки, пробірки тощо), в кінці робочого дня опечатують (або опечатують кімнату, в якій вони розміщуються).

12. Піпетки, предметне й покривне скло, посуд після використання спочатку знезаражують 5% розчином хлораміну, потім, як зазначено в п.п. 17 і 18 цих Правил.

13. Заразний матеріал з одного приміщення до іншого або до спільної автоклавної для знезараження необхідно переносити у спеціальному контейнері, який закривають і пломбують.

14. Після закінчення досліджень посіви (у пробірках, чашках тощо), шматочки органів або суспензії органів,



взяті для зараження лабораторних тварин, пастерівські піпетки, трупи лабораторних тварин підлягають знезараженню.

15. При виділенні з патологічного матеріалу збудників сибірки або спорових анаеробних хвороб їх знезаражують автоклавуванням протягом 1 години під тиском в 0,2 МПа або протягом 2 годин під тиском в 0,15 МПа з наступним контрольним висівом на відповідні живильні середовища.

Такій самій обробці підлягає інструментарій, скло та інші предмети, які були в контакті з інфікованим матеріалом.

16. При виділенні неспорних збудників або при негативних результатах бактеріологічних досліджень знезараження проводять автоклавуванням протягом 1 години під тиском в 0,15 МПа. При цьому інструментарій, скло та інші предмети, які були в контакті з інфікованим матеріалом, знезаражують кип'ятінням протягом 30 хвилин у 2% розчині гідрокарбонату натрію.

**Завдання 2.** Вивчити та законспектувати види патологічного матеріалу, який відправляють у лабораторію для дослідження.

Матеріалом для зараження лабораторних тварин звичайно є емульсії, приготовлені з різних органів і тканин, присланих для дослідження, або різні виділення, мокрота, кров, відділення із ран, язв хворих тварин. Емульсії з органів (тканин) звичайно готують на фізіологічному розчині в співвідношенні 1 : 10, використовуючи для цієї мети невеликі шматочки з самих уражених ділянок. Їх розтирають з фізіологічним розчином в стерильній ступці до отримання рівномірної суспензії. Останню вводять безпосередньо тваринним або заздалегідь фільтрують в простерилізований посуд через вату (марлю). За наявності малорозчинного матеріалу додають прожарений пісок і одержану емульсію фільтрують через марлю.

Культури мікроорганізмів є також матеріалом для зараження піддослідних тварин. В таких випадках застосовують звичайно 24-36-годинні бульйонні культури або ж змиви з твердих середовищ. В останньому випадку до них додають декілька мілілітрів стерильного фізіологічного розчину і обертанням пробірки між долонями змивають з агару мікробну культуру.

Окремі підозрілі колонії з агарових чашок або пробірок знімають платиновою петлею і емульгують в невеликій кількості фізіологічного розчину.

В мікробіологічній практиці часто використовують бактерійні суспензії у відомих концентраціях. Якщо необхідно визначити кількість живих мікробів в 1 мл суспензії, застосовують метод висіву. Загальну концентрацію бактерій в суспензії незалежно від того, живі вони чи ні, визначають оптичним методом за допомогою скляного стандарту каламутності.

В нашій країні існує єдиний стандарт каламутності, що виготовляється Державним науково-дослідним інститутом стандартизації і контролю медичних біопрепаратів ім. Тарасевича. Стандарт являє собою суспензію частинок скла пірекс в дистильованій воді. Каламутність стандарту, що

випускається, на 10 одиниць еквівалентна 10 міжнародним одиницям каламутності і відповідає таким концентраціям мікробів: 935 млн/мл ентеробактерій (сальмонел, ешерихій та ін); 1,65 млрд/мл бруцел; 4,95 млрд/мл туляремійних бактерій.

При визначенні концентрації мікробів за допомогою стандарту каламутності рекомендується користуватися тільки візуальним способом обліку при природному розсіяному освітленні; перед кожним визначенням стандарт ретельно збовтують плавним похитуванням пробірки до повного переходу осаду в суспензію.

Після роботи стандарт необхідно зберігати у вертикальному положенні при кімнатній температурі.

Послідовність роботи. Молоду 1-2-добову агарову культуру змивають з косяка 4-5 мл фізіологічного розчину, обертаючи пробірку між долонями.

Змиви з косяків переливають в стерильну пробірку або колбу і струшують до отримання рівномірної суспензії.

При визначенні концентрації точно вимірюють використані об'єми мікробної суспензії і фізіологічного розчину, взятого для її розведення. В стандартну пробірку вливають 3-4 мл розчину, стерильною мікропіпеткою набирають 0,1-0,2 мл суспензії (залишок з кінця піпетки знімають ватою) і переносять у фізіологічний розчин, промиваючи в ньому піпетку. Добре перемішавши одержану суспензію і вміст скляного стандарту, обидві пробірки прикладають до шрифтової таблиці і порівнюють ступінь каламутності в падаючому світлі біля вікна. Якщо визначувана суспензія мутніша, ніж стандарт, в неї додають фізіологічний розчин до повного зрівняння із стандартом.

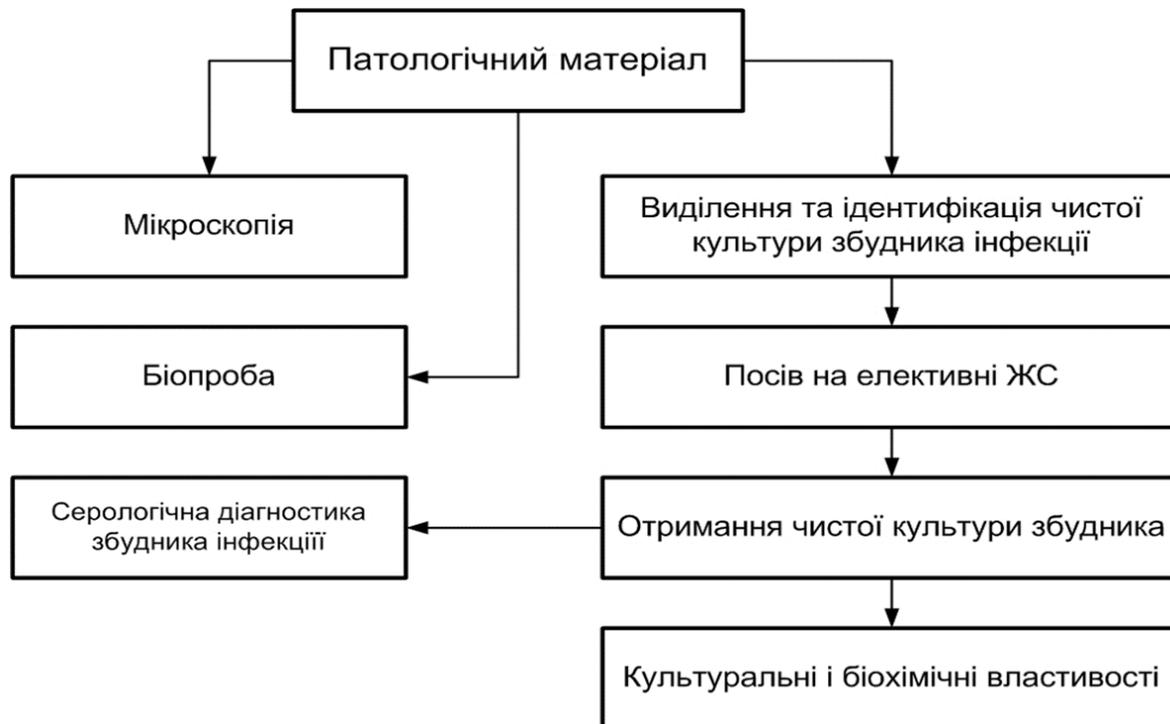
При обчисленні концентрації мікробів підраховують в скільки разів розвели початкову суспензію, щоб довести її до 10 одиниць каламутності. Одержане число множать на кількість мікробів, яка відповідає 10 одиницям стандарту, і знаходять потрібну концентрацію (млрд/мл). Така методика застосовна тільки для суспензії ентеробактерій, бруцел і туляремійного мікробу.

Єдиним стандартом каламутності можна визначати концентрацію (фізичну масу) всіх



інших видів мікробів, якщо їх суспензії рівномірні. Але виражати встановлену величину потрібно не числом мікробних тіл, а тільки одиницями каламутності.

**Завдання 3.** Вивчити загальну схему бактеріологічного дослідження.



**Завдання 4.** Вивчити та законспектувати види тварин, які використовують для біологічної проби

*Підготовка тварин до зараження.* Піддослідні тварини повинні мати нормальну вгодованість, бадьорий вигляд, нормальну статуру, не мати травм і пошкоджень.

Перед зараженням тварин клеймують, зважують, визначають стать, вік, вимірюють температуру. У ветеринарних лабораторіях тварин мітять вистриганням шерсті в різних ділянках тіла (кролики, морські свинки), а мишей і щурів - надрізом вух або ж фарбуванням різних частин тіла тварини розчином пікринової кислоти або 0,5% спиртовим розчином анілінових фарб.

Великих тварин зважують в ящику на звичайній вазі, а дрібних на ручних аптекарських терезах з роговими чашками.

*Фіксація тварин.* При зараженні лабораторних тварин залежно від їх вигляду і методу введення патматеріалу використовують різні методи фіксації.

Дрібних лабораторних тварин поміщають в ящики або верстати, розміри яких відповідають їх розмірам. Можна утримувати тварину руками. Кроликів і морських свинок помічник тримає на столі в потрібному положенні. Для внутрішньовенних ін'єкцій зручніше всього завертати

(сповивати) кролика в шматок щільного матеріалу, задалегідь підігнувши йому ноги під живіт (голову залишають вільною). Білу мишу звичайно беруть лівою рукою пінцетом за хвіст, правою – за шкірну складку потилиці, ближче до вух і повертають в зручне для зараження положення.

### ***Техніка зараження лабораторних тварин.***

*Підшкірне зараження.* У тварин місце ін'єкції - в ділянці спини або на боці, у курей - на шиї. Захоплюють та відтягують складку шкіри і в її основу паралельно до поверхні тіла вводять голку.

*Внутрішньошкірне зараження.* У кролів на боці або череві вистригають і виголюють шерсть. Тонку голку скосом назовні вводять паралельно до поверхні шкіри так, щоб голка просвічувалася крізь епідерміс. Матеріал вводять до припіднімання шкіри у вигляді бугорка. Дрібним тваринам зараження проводять у плантарну поверхню задньої кінцівки, вводячи голку в шкіру в напрямку від пальців до заплюсневого суглоба.

*Зараження у скарифіковану шкіру.* У кролів на боці або череві вистригають і виголюють шерсть, роблять декілька поверхневих подряпин голкою або пастерівською піпеткою (до появи крапель лімфи). Потім наносять матеріал і втирають шпателем, скляною паличкою або ватним тампоном. Зараження в скарифіковану шкіру у дрібних тварин проводять в ділянці спини, в півнів – у гребінь і сережки, а також у пір'яні фолікули гомілки зразу після видалення пір'я.

*Внутрішньом'язове зараження.* Місце зараження у тварин – м'язи стегна, у курей – великий грудний м'яз. Голку вводять через шкіру і підшкірну клітковину в м'язи, спрямовуючи її перпендикулярно до поверхні тіла.

*Внутрішньочеревне (інтраперитонеальне) зараження.* Тварину фіксують вертикально вниз головою для того, щоб органи черевної порожнини змістилися до діафрагми і не травмувати кишечник при інюкуляції матеріалу. Відтягують задню кінцівку тварини і вводять голку в ділянці паху під кутом 45° до поздовжньої осі тіла на глибину 0,3-0,5 см. У курей місце ін'єкції при внутрішньочеревному зараженні знаходиться на середині відстані між верхівкою грудної кістки і клоакою.

*Внутрішньовенне зараження.* Кролів заражають у крайову вену вуха, перетискаючи її нижче місця уколу. Голку вводять у судину в напрямку до голови приблизно на 1 см. Білих мишей і щурів заражають у бокові вени хвоста, для розширення яких хвіст розтирають ксилолом або витримують в теплій воді. Хвіст перетискають біля основи, вводять голку скосом назовні у вену нижньої третини хвоста, де шкіра тонша, в напрямку до тулуба. Якщо голка потрапила в судину, то рідина легко поступає із шприца, а судина на всьому проміжку біліє. Для внутрішньовенного зараження хом'яка, морської свинки і тхора необхідне хірургічне оголення яремної вени. У цих тварин замість внутрішньовенного частіше застосовують інтракардіальне введення інфекційного матеріалу. Собакам внутрішньовенне зараження проводять у вену сафена, у курей – в підкрильцеву вену.

*Інтраназальне зараження.* Проводять обов'язково під ефірним наркозом

(за винятком кролів), щоб уникнути розбризкування вірусомісної суспензії при чханні тварини. Тварин, що заснули, фіксують ніздриями догори. Інфекційний матеріал вводять шприцом у кожну ніздрию.

*Інтрацеребральне зараження.* У молодих кролів і морських свинок проколюють шкіру і череп у надочному жолобі, де кістка досить тонка. Використовують голку з обмежувачем, який забезпечує її проникнення не більше ніж на 4-5 мм. Кролів старшого віку заражають інтрацеребрально через трепанаційний отвір, зроблений на 2 см вище поперекової лінії, умовно проведеної між зіницями. У мишей і щурів голкою з обмежувачем проколюють шкіру і череп на глибину 1-2 мм в точці, яка лежить у центрі квадрата, утвореного середньою сагітальною лінією і перпендикуляром до неї по зовнішньому краю очниць.

*Субоципітальне (підпотиличне) зараження.* Проводять у кролів. Голову тварини нахиляють під прямим кутом. Голку вводять точно по середній лінії потиличної частини голови, між остистим відростком першого шийного хребця і бугром потиличної кістки, перпендикулярно до поверхні шкіри на глибину 0,5 см до відчуття проколу твердої мозкової оболонки. Коли з голки витекло 1-2 краплі спинномозкової рідини, на голку насаджують шприц і вводять інфекційний матеріал в максимальній кількості 1 мл.

*Інтраспінальне зараження.* Проводять під ефірним наркозом. Тварину фіксують так, щоб хребет був сильно зігнутий в попереку. Голку з обмежувачем вводять у ділянці останнього поперекового і першого крижового хребців, трохи в бік від середньої лінії, в центрострімливому напрямку під кутом 45° до проколу твердої мозкової оболонки.

*Зараження в периферичний нервовий стовбур.* Проводять у кролів під ефірним наркозом у стовбур сідничного нерва. Тварину фіксують спиною догори. Роблять розріз шкіри на 1,5-2 см по лінії від гребня клубової кістки до великого вертела. З допомогою розширювача відсувають великий сідничний м'яз по середній частині пучка, не розрізуючи його, і в глибині рани виявляють сідничний нерв, який розпізнають по перламутровому забарвленню. Під нервовий стовбур підводять жолобуватий зонд і тонкою голкою в центрострімливому напрямку вводять 0,05 мл інфекційного матеріалу. Рану закривають з допомогою швів.

*Інтракардіальне зараження.* Проводять під ефірним наркозом. Тварин фіксують на спині, курей - на боці. Місце ін'єкцій: у миші - 0,5 см над верхівковим поштовхом серця, безпосередньо біля грудної кістки; у щура - 1 см над верхівковим поштовхом серця, 1-2 мм від краю грудної кістки; у хом'яка - 4-5-й міжреберний простір, 23 мм від краю грудної кістки; у морської свинки - 2-й міжреберний простір, 2 мм від краю грудної кістки; у тхора - границя 3/4 верхньої і 1/4 нижньої частини довжини грудної кістки, 3 мм від краю грудної кістки; у кроля - 3-й міжреберний простір, 3 мм від краю грудної кістки; у собаки - в залежності від розмірів тварини 2-4 см над верхівковим поштовхом серця, 1-2 см від краю грудної кістки; у курки - 3-4-й міжреберний простір, на лінії плече лопаткового суглоба і каудального кінця грудної кістки. Голку вводять перпендикулярно до поверхні тіла до того моменту, поки не

буде відчуватися пульсація серця і в просвіті голки не з'явиться кров.

*Інтратестикулярне зараження.* Проводять у кролів. Тварину фіксують на спині, широко розводять задні кінцівки. Сім'яники відводять трохи вперед, фіксують та інокулюють інфекційний матеріал в дозі 0,3 мл.

*Зараження в око.* Проводять у кролів такими способами:

1) Зараження на рогівку: рогівку знеболюють 10% розчином новокаїну; натискають на край очного яблука, виводячи його з орбіти назовні, і промивають стерильним фізрозчином; вісп'яним ланцетом наносять на рогівку вертикальні та горизонтальні насічки і стерильним тампоном втирають у скарифіковану рогівку інфекційний матеріал;

2) Зараження в рогівку (внутрішньокорнеальне зараження): підготовлюють око вищеописаним способом і тонкою голкою вводять інфекційний матеріал в 2-3 точки;

3) Зараження в передню камеру ока: після підготовки ока вищеописаним способом вводять тонку голку на рівні краю рогівки в передню камеру ока, не пошкоджуючи райдужної оболонки; коли з голки витече 1-2 краплі очної рідини, насаджують шприц і вводять інфекційний матеріал в максимальній дозі 0,2 мл. Зараження проводять лише в одне око.

4) Зараження в кон'юнктиву ока. Проводять у кролів. Притримують повіки тварини і вносять 1 -2 краплі інфекційного матеріалу у внутрішній кут ока. Також можна відтягнути нижню повіку і ввести вірусомісний матеріал у кон'юнктивальний мішок або втерти в кон'юнктиву після попереднього подразнення чи скарифікації.

*Зараження через травний тракт.* Проводять трьома способами:

1) перорально: вірусомісний матеріал вводять з кормом, а також з допомогою тупої голки, не торкаючись слизової оболонки рота, по парі крапель на один прийом; через декілька секунд процедуру повторюють;

2) зараження в шлунок: інфекційний матеріал вводять з допомогою зонда або желатинових капсул;

3) ректально: підігрітий до температури тіла вірусомісний матеріал вводять з допомогою гумової груші або шприца; анальний отвір заклеюють лейкопластиром, створюючи копростаз, що прискорює поширення по організму збудника. Максимальна доза для зараження: для мишей – 0,5 мл, для щурів і морських свинок – 2 мл, для кролів – 5 мл.

### ***Контрольні запитання:***

1. Які правила роботи у бактеріологічному відділі?
2. Який патологічний матеріал відправляють у лабораторію для дослідження?
3. Які види тварин використовують для біопроби?
4. Які основні методи зараження лабораторних тварин ?
5. Від чого залежить вибір того чи іншого методу зараження тварин ?
6. З якою метою і яким чином беруть кров від лабораторних тварин ?
7. Яка загальна схема бактеріологічного дослідження?

## ТЕМА 8. ЗАГАЛЬНІ ПРИНЦИПИ РОБОТИ В СЕРОЛОГІЧНОМУ ВІДДІЛІ

### 8.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

#### 8.1.1. Серологічні методи дослідження

В основі всіх серологічних реакцій лежить взаємодія між антигеном та антитілом. По сучасних переконаннях, в сироватці крові інфікованого або імунного організму антитіла знаходяться в основному в глобуліновій фракції.

Серологічні реакції застосовують в двох напрямках: перший – для виявлення з діагностичною метою антитіл в сироватці крові тварин. В цьому випадку з двох компонентів реакції (антитіло, антиген) невідомою є сироватка крові (антитіло). Тому таке дослідження вимагає постановки реакції з явно відомими антигенами. За серологічної діагностики бактерійних інфекцій як антигени застосовують суспензії живих або убитих мікробів, екстракти або ізольовані хімічні фракції з них.

Позитивна реакція свідчить про наявність в крові антитіл, гомологічних антигену, який застосовують; негативна – указує на їх відсутність.

Достовірні результати серологічної діагностики одержують при дослідженні парних сироваток крові, узятих в перші дні захворювання і через різні проміжки часу від початку захворювання. При цьому вдається спостерігати динаміку наростання антитіл.

Другий напрямок для встановлення родової, видової і типової належності мікроба (віруса). В цьому випадку невідомим компонентом в реакції є антиген. Таке дослідження вимагає постановки реакції з явно відомими імунними сироватками.

Рівень антитіл визначають при постановці будь-якої серологічної реакції з розведеннями сироватки і антигену. Останнє розведення, при якому ще одержують виразний позитивний результат, називається титром сироватки. Сироватка може бути специфічною в межах роду, виду, варіанту (типу), і її специфічність обумовлена тим, що вона реагує тільки з гомологічними культурами і не реагує з гетеролітичними.

*Реакція аглютинації* найбільш широко застосовується в лабораторній практиці для серологічної діагностики бактерійних інфекцій і для серологічної ідентифікації виділених мікробів – при діагностиці бруцельозу, лептоспірозу, сальмонельозу, пулорозу та інших інфекційних хвороб.

В реакції беруть участь два компоненти – антиген і антитіло. Реакція протікає в дві фази: перша – з'єднання антигену з антитілом, друга – випадання комплексу, що утворився, антиген + антитіло (аглютинату) в розчині солей (електроліті).

Існує два методи постановки реакції аглютинації: пробірковий, при якому ставлять розгорнену реакцію в пробірках; пластинчатий – на предметному склі.

Другий застосовують в основному при використанні адсорбованих і

монорецепторних сироваток, а також при постановці прискорених серологічних реакцій.

*Реакція зв'язування комплементу (РЗК) і реакція тривалого зв'язування комплементу на холоді (РДЗК).* Реакція зв'язування комплементу відноситься до складних серологічних реакцій, в якій, окрім антигену та антитіл, бере участь ще і гемолітична система, що виявляє результат реакції. Остання протікає в дві фази: перша - взаємодія антигену і антитіла за участю комплементу; друга - виявлення ступеню зв'язування комплементу, який виявляють при додаванні гемолітичної системи (еритроцити + гемолітична сироватка).

Якщо у випробовуваній сироватці містяться антитіла, гомологічні антигену, то комплекс, що утворився, антиген-антитіло зв'язує комплемент; при додаванні гемолітичної системи гемоліз еритроцитів при відсутності комплементу не може відбутися, еритроцити залишаються нерозчиненими. Відсутність гемолізу реєструють як позитивну реакцію зв'язування комплементу. А при відсутності в сироватці антитіл, відповідних антигену, з'єднання з антигеном не відбудеться, комплемент залишиться вільним і може бути використаний для гемолізу еритроцитів. Розчинення еритроцитів (наявність гемолізу) свідчить про негативну реакцію.

Реакція тривалого зв'язування комплементу (РТЗК). Перша фаза реакції (зв'язування комплементу) здійснюється при плюс 2-6°C в об'ємі сироватки, антигену і комплементу по 0,2 мл. Друга - додавання гемолітичної системи в відтитрованій робочій дозі.

#### Послідовність постановки РТЗК.

Перший день – розлив випробовуваних і контрольних сироваток для титрування гемолітичної системи і головного досліду, інактивування сироваток, контроль компонентів реакції на аптикомплементарність і гемотоксичність, розлив антигену і комплементу, приготування гемолітичної системи, розміщення пробірок в холодильник.

Другий день – витримка пробірок головного досліду і гемолітичної системи при кімнатній температурі 20 хв, титрування гемолітичної системи, визначення робочої дози гемолітичної системи, розлив гемолітичної системи в пробірки з досліджуваними сироватками.

Титром гемолітичної системи вважають найбільшу її кількість, в якій відбувся повний гемоліз в пробірках обох рядів з негативною і випробовуваною сироватками і в пробірках безантигенного ряду з позитивною сироваткою. Робочий титр на один інтервал нижче. Наприклад, при титрі гемолітичної системи 0,6 мл робочий титр рівний 0,5 мл.

РЗК і РТЗК враховують візуально, При постановці реакцій в одній пробірці (при масовому дослідженні) облік проводять один раз відразу після витягання штативів з водяної лазні. При дослідженні в трьох пробірках – через 3-4 год, коли в контрольних пробах з позитивною сироваткою еритроцити осядуть на дно пробірки, або наступного дня (штативи залишають в холодильнику).

Сумарні результати дослідження досліджуваних сироваток по кожній

експертизі, номери серій, термін придатності антигену, комплементу, гемолізіну та їх робочі титри записують у журнал серологічних досліджень.

В експертизі лабораторії про результати дослідження сироваток крові тварин вказують діагностичну оцінку кожної проби (позитивна, сумнівна, негативна) та показники реакції у хрестах.

*Пластинчаста реакція аглютинації з роз-бенгал антигеном* (роз-бенгал проба – РБП). Застосовують її для дослідження сироваток крові при діагностиці бруцельозу у великої рогатої худоби, овець, кіз, коней, свиней, верблюдів, буйволів і північних оленів.

Компоненти РБП: випробовувані сироватки крові; антиген бруцельозу, забарвлений бенгальським рожевим; позитивна бруцельозна і негативна сироватки; 0,5% фенолізований фізіологічний розчин.

При одержанні позитивного результату РБП при дослідженні сироваток крові тварин із благополучного по бруцельозу господарства всі сироватки, які дали позитивну РБП, в той же день або на наступний день досліджують в РА та РЗК для встановлення титру аглютининів та наявності комплементзв'язуючих антитіл. Сироватки – негативні по РБП, додатково в РА та РЗК не досліджують.

*Кільцева реакція з молоком* (КР). Кільцеву реакцію з кольоровим антигеном бруцельозу застосовують з метою перевірки благополучних по бруцельозу стад великої рогатої худоби і молока при продажу його на ринках.

Реакцію ставлять в уленгутівських пробірках в об'ємі: 0,05 мл антигену і 1 мл молока; або в пробірках Флоринського – 0,1 мл антигену і 2 мл молока. Проби ретельно перемішують і ставлять в термостат або водяну баню при 37-38°C на 1 год.

Реакцію враховують візуально відразу після термостату (водяної бані).

Всі проби молока, які дали кільцеву реакцію з оцінкою 3 та 2 хрести, рахують позитивними, а в 1 хрест – сумнівними.

У випадку позитивного, або сумнівного результату КР всіх тварин досліджують на бруцельоз по РБП або РА, РЗК (РТЗК).

*Реакція преципітації* Реакція преципітації відноситься до простих і прискорених серологічних реакцій при бактерійних інфекціях, відрізняється високою чутливістю і специфічністю. Для підготовки реакції преципітації необхідні: випробовуваний матеріал (антиген-преципітиноген); преципітуюча позитивна сироватка; тонкі пастерівські піпетки; преципітаційні пробірки і штативи до них; розчин хімічно чистого хлористого натрію.

Постановку реакції преципітації здійснюють двома методами: по типу реакції флокуляції, у вигляді суміші різних розведень антигену і сироватки або частіше у вигляді реакції кільцепреципітації при нашаруванні (підшаруванні) на випробовуваний антиген преципітуючої сироватки. Реакцію враховують неозброєним оком на чорному фоні при денному світлі або при електричному світлі настільної лампи.

Постановка реакції преципітації при дослідженні шкіряної сировини на сибірку складається з процесів: стерилізації, подрібнення і екстрагування

проб, фільтрації екстракту, з'єднання компонентів та обліку результатів.

При позитивній реакції на границі між екстрактом та сироваткою утворюється сірувато-білий диск (кільце), негативній – відсутні сліди преципітації. В інших випадках може зустрічатися (слабо виражене кільце, помутніння у вигляді хмаринки та ін.) – реакцію рахують сумнівною.

Результати діагностичної оцінки записують у журнал лабораторних досліджень з позначкою позитивної реакції знаком +, сумнівної +-, негативної- .

*Реакція мікроаглотинації при лептоспірози тварин.* Серологічна діагностика лептоспірозу полягає на виявленні специфічних антитіл в крові тварин.

Кров для дослідження беруть на 5-6-й день хвороби і повторно через 7-10 днів. Для постановки реакції мікроаглотинації необхідно мати: досліджувану сироватку крові тварин; антигени культури діагностичних штамів лептоспір; електроліт -фізіологічний розчин; мікроскоп з конденсором темного поля.

В реакції використовують чисті 5-15-денні культури без ознак аглютинації і лізису з накопиченням 70-100 мікробних клітин в полі зору мікроскопа при збільшенні  $20\times 10\times 1,5$  або  $40\times 7-10$ .

Сироватки досліджують в трьох розведеннях: 1:100 (4,9 мл фізіологічного розчину + 0,1 мл нативної сироватки + антиген); 1:500 (2 мл фізіологічного розчину + 0,5 мл сироватки з розведення 1 : 50 + антиген); 1:2500 (2 мл фізіологічного розчину + 0,5 мл сироватки з розведення 1:250 + антиген). При необхідності реакцію ставлять в розведенні 1:100, 1:200, 1:800 тощо до титру.

При ввезенні в господарство або вивозі з нього племінних тварин і використанні їх для відтворювання сироватку крові розводять 1:25 і досліджують тільки в одному розведенні (після додавання антигену розведення сироватки відповідатиме 1:50).

Реакцію ставлять на аглютинаційних пластинках в об'ємі 0,1 мл випробовуваної сироватки і 0,1 мл антигену. Після змішування компоненти витримують в термостаті при  $30^{\circ}\text{C}$  на протязі 1 год, потім досліджують. Як контроль використовують суміш культури лептоспір з фізіологічним розчином по 0,1 мл. Лептоспіри в контролі повинні залишатися рухомими, не мати ознак лізису та аглютинації.

Реакцію враховують шляхом мікроскопії крапель з кожної лунки в темному полі мікроскопа. Результати оцінюють в хрестах.

Аглотинація виявляється склеюванням лептоспір і утворенням павуків. В початкових розведеннях сироватки може спостерігатися лізис лептоспір, (виявляють в набухлих і нерухомих лептоспір), появляється зернистість і повний розпад мікробних клітин.

Позитивною рахують реакцію, оцінену не менше ніж в два хрести, при відсутності аглютинації в контролі в розведенні 1:50, а для великої рогатої худоби з лептоспірами групи *Hebdomadis* і коней з лептоспірами будь-якої серологічної групи 1:250.

### 8.1.2. Дослідження крові

Кров тварин і птахів – непрозора густа в'язка рідина червоного кольору, солонуватого смаку. Питома вага її 1,045-1,06. Реакція – слабо лужна, майже нейтральна (рН 7,4), причому вельми стійка і підтримується буферною системою.

Кров складається на 35-40% із формених елементів (еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів) і 60-65% складає плазма (фібриноген та сироватка).

Кров є посередником у всіх процесах обміну речовин, знаходячись в постійному контакті через тканинну рідину зі всіма органами і тканинами, відображає всі внутрішні процеси, що відбуваються в них, змінюється сама як якісно, так і кількісно. Гематологічні дослідження допомагають виявляти приховано перетікаючі патологічні процеси, більш точно встановлювати їх суть та характер. Ці дослідження грають велику, а часом вирішальну роль в постановці діагнозу (анемії, лейкозу, кровепаразитарних хвороб). Особливе значення займають в диференціальній діагностиці таких захворювань, як бешіха та чума свиней, контагіозна плевропневмонія та ін.

Цінність гематологічних даних підвищується при багатократних дослідженнях (спостереження в динаміці).

Методи отримання крові. Кров для дослідження у тварин беруть вранці до годівля і водопою, у жуйних, що мають безперервне травлення, у будь-який час. Тварини перед узяттям крові повинні заспокоєні. У овець кров краще брати в отарі з іншими тваринами цього виду. При інфекційних і кровепаразитарних хворобах її бажано брати під час підвищення температури у тварини. У великої рогатої худоби, коней, овець і кіз кров беруть з яремної вени, у свиней – з вушної або краніальної пустотілої, у собак і кішок – з латеральної плюсневої, у птахів і дрібних тварин – з підкрильцевої вени або безпосередньо з серця.

*Реакція зсідання еритроцитів (РОЕ)* полягає в різній швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ) в цитратній або оксалатній крові. Метод не специфічний для певного захворювання, але в той же час дає ранній сигнал про розвиток патологічного процесу, дозволяє судити про його силу і глибину. Найцінніші дані одержують при вивченні результатів РОЕ в динаміці і при зіставленні їх із змінами в лейкоцитарній формулі і температурній кривій.

Серед численних способів постановки РОЕ найпоширеніші методи Неводова, Мухіна та Панченкова.

*Визначення гемоглобіну.* У ветеринарній практиці звичайно користуються колориметром найпростішого пристрою – гемометром Салі.

Визначення гемоглобіну має важливе діагностичне значення при розпізнаванні анемії, оскільки гемоглобін може знижуватися значно швидше, ніж кількість еритроцитів.

*Визначення кольорового показника і середнього вмісту гемоглобіну в еритроциті.* При патологічних змінах червоної крові кількість гемоглобіну і еритроцитів у багатьох випадках змінюються не однаковою – частіше гемоглобін зменшується різкіше, ніж кількість еритроцитів; рідше

спостерігається зворотне, тобто, незважаючи на різке зниження останніх, концентрація гемоглобіну змінюється відносно мало.

Для визначення співвідношення між кількістю еритроцитів і насиченістю їх гемоглобіном використовують індекси червоної крові – кольоровий показник і середній вміст гемоглобіну в одному еритроциті.

Середній вміст гемоглобіну в одному еритроциті і величина кольорового показника залежать від об'єму червоних кров'яних тілець і насиченості їх гемоглобіном. Залежно від їх співвідношення розрізняють нормо-, гіпер- і гіпохромію еритроцитів. Якщо кольоровий показник і середня кількість гемоглобіну в еритроциті в межах норми, то це нормохромія. Проте вона може зустрічатися і при деяких анеміях (гострі постгеморагічні і гемолітичні, гіпотапластичні).

Збільшення середнього вмісту гемоглобіну в одному еритроциті в поєднанні з підвищенням кольорового показника (в цьому випадку відбувається збільшення об'єму еритроцитів – макроцитоз, а не підвищення насичення їх гемоглобіном) позначається як гіперхромія. Такий стан зустрічається при хронічних, гемолітичних, мієлотоксичних анеміях, при В12-вітамінній недостатності. Зниження кольорового показника (гіпохромія) може зустрічатися або при зменшенні об'єму еритроцитів (мікроцитоз) або при зниженні насиченості гемоглобіном нормальних по величині еритроцитів. Вона спостерігається при залізодефіцитних анеміях.

*Визначення ретракції кров'яного згустку.* Під ретракцією (зморщенням) розуміють виділення сироватки з кров'яного згустку в процесі його скорочення.

На ретракцію впливають форма судини та її положення, температура навколишнього середовища і тіла, вид тварини, кількість кальцію, фібрину, тромбоцитів тощо. Тому при дослідженні необхідно дотримуватися одноманітної методики.

Кров для дослідження беруть з вени в кількості 5-10 мл в стерильну пробірку і ставлять в термостат при 37°C на добу, спостерігаючи кожні декілька годин за ходом зморщення згустку.

В пробах крові від здорових тварин утворення згустку і часткова ретракція відбуваються через 1-3 год, повне відділення згустку – через 12-18 год.

Порушення ретракції згустку спостерігається при тромбоцитопенії. Зниження ретракції кров'яного згустку або повна її відсутність (іретрактильність) спостерігається при інфекційній анемії коней, стахіботріотоксикозі, піроплазмозі, лейкозі, ексудативному плевриті і багатьох гарячкових процесах.

Також в крові підраховують кількість еритроцитів, тромбоцитів, лейкоцитів.

Для гематологічного дослідження кров беруть від тварин, які дали позитивну реакцію по РІДу в пробірки з антикоагулянтом. Як антикоагулянт використовують трилон-В з розрахунку 1 крапля 10% розчину на 1 мл крові. Для попередження звертання крові пробірки відразу закривають резиновим

корком та старанно перемішують, переводячи поперемінно з вертикального положення в горизонтальне.

*Підрахунок лейкоцитів* проводиться в камері Горяєва.

Диференційований підрахунок лейкоцитів (виведення лейкоцитарної формули) проводиться при знаходженні підвищеної їх кількості. Для цього готують мазки крові. Мазки готують із стабілізованої крові на обезжирених предметних скельцях. Після висушування на повітрі мазки маркують простим олівцем, вказували номер експертизи, інвентарний номер тварини, дату приготування мазка, та фіксують в метиловому спирті 5 хвилин, етиловому спирті – 20 хвилин.

Фарбування мазків проводять по Нохту, можна по Романовському-Гімза Лейкоцитарну формулу виводять за результатами диференційованого підрахунку 100 клітин в пофарбованих мазках під мікроскопом з імерсійною системою. При підрахунку предметне скло просували по зигзагоподібній лінії в напрямку до кінця мазка. Для підрахунку диференційованих клітин використовують клавішний лічильник. Кількість окремих елементів крові виражають в відсотках.

Для підрахунку абсолютної кількості лімфоцитів в пробі крові їх вміст (в%), визначений за лейкоцитарною формулою, множать на показник абсолютної кількості лейкоцитів в 1 мкл крові та отримане число ділять на 100. Показник абсолютної кількості лімфоцитів оцінюють за лейкозним ключем.

### **8.1.3. Реакції імунної дифузії (РІД)**

Для постановки РІД використовують предметні скельця або чашки Петрі, стандартний штамп для прорізання лунок в агарі, пастерівські піпетки, автоматизовані піпетки-дозатори, рН-метр, освітлювач, агарову суміш, хлорид натрію, дистильовану воду, соляну кислоту, вакуумний насос .

Кров беруть у пробірки із яремної вени і для отримання сироватки витримують 3-4 год. у теплій, а потім, для кращої ретракції згустку, у прохолодному місці 4-5 годин.

Постановку реакції проводять у лабораторних умовах, застосовуючи діагностичний набір, який виготовляють у науково-дослідних інститутах або біофабриках. До складу набору входять: антиген (рідкий або ліофілізований), преципітуюча (позитивна) та нормальна (негативна) сироватки, агаро-сольова суміш.

Агар готують згідно з настановою, яка додається до кожної серії діагностичного набору. Розплавлений агар розливають на знежирені предметні скельця або чашки Петрі, які розміщують на горизонтальній поверхні столу і витримують годину при кімнатній температурі.

На затверділому агарі за допомогою штампа прорізують лунки, з яких видаляють агар за допомогою канюлі, приєднаної до вакуум-насосу.

Антиген, специфічну преципітуючу сироватку та сироватку для досліджень вносять у лунки пастерівськими піпетками. Для кожного

компоненту реакції використовують окрему піпетку, при цьому піпетки для сироваток, які досліджують, промивають у фізіологічному розчині після кожної проби.

Антиген та контрольну сироватку вносять у центральні лунки, а сироватки для діагностики – у лунки периферійних рядів.

Після чого предметні скельця, або ж чашки Петрі розміщують у герметичній камері (великий стерилізатор або ж ексікатор), куди попередньо наливають воду. Вода забезпечує необхідну відносну вологість.

Облік результатів реакції проводять через 24 і 48 годин, предметне скельце, або ж чашку Петрі з реагентами продивляються у променях світла освітлювача із синім світлофільтром.

Реакцію оцінюють за наявністю чіткої контрольної лінії преципітації між антигеном із специфічною преципітуючою сироваткою та її відсутністю із нормальною (негативною) контрольною преципітуючою сироваткою.

## **8.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА**

### **8.2.1. Організація роботи у серологічному відділі**

**Мета заняття:** Ознайомити здобувачів із правилами роботи у відділі та з методами культивування лептоспир.

**Завдання 1.** Вивчити правила, які необхідно дотримуватися при роботі у серологічному відділі.

1. Матеріал, що надійшов до відділу для дослідження, необхідно зберігати в холодильнику. Не допускається залишати його в коридорі або інших місцях, доступних для сторонніх осіб.

2. У лабораторії кров і біологічні рідини повинні вважатися потенційно інфікованими матеріалами.

3. Миття посуду після попередньої дезінфекції необхідно проводити в гумових рукавичках.

4. У разі попадання крові, сироватки чи культури лептоспир на шкіру необхідно обробити її тампоном, змоченим 70% етанолом, протягом 2 хвилин.

Якщо кров чи культура потрапили на слизові оболонки, їх обробляють струменем води, а потім одним із наведених розчинів: 1% розчином борної кислоти, 1% розчином протарголу; ротову порожнину й горло - 70% етиловим спиртом, 1% розчином борної кислоти або 0,05% розчином перманганату калію.

5. Не допускається насмоктувати матеріал у піпетки ротом. Для цього необхідно користуватися автоматичними піпетками, а у випадку їхньої відсутності - гумовими грушами, індивідуальними піпетками Флоринського. Компоненти слід розливати апаратом Флоринського, шприц-автоматом або іншими приладами.

6. Після закінчення роботи зі столів прибирають все зайве і протирають їх

5% розчином хлораміну або фламбують.

7. Відпрацьовані проби крові засипають хлорним вапном або заливають 10% розчином гідроксиду натрію, нейтральним гіпохлоридом кальцію у співвідношенні 200 на 1 літр, перемішують і витримують 60 хвилин.

8. Промиті пробірки, після попередньої їх дезінфекції, кип'ятять 30 хвилин у закритих посудинах у 0,5% розчині миючих засобів або 2% розчині гідрокарбонату натрію протягом 15 хвилин, і після обліку реакції пробірки заливають розчином миючого засобу, кип'ятять протягом 10-15 хвилин, після чого їх миють.

9. Відпрацьоване предметне скло витримують декілька днів у хромовій суміші, промивають у проточній воді, витирають чистою ганчіркою.

Чисте скло зберігають у суміші спирту і ефіру у співвідношенні 1:1 у банці з притертою пробкою.

10. Із дезрозчинів застосовують: 10% розчин гідроксиду натрію, 3% розчин хлораміну, 6% перекис водню з 0,6% мийних засобів (Лотос, Астра, Прогрес), 4% розчин формальдегіду, 0,5% нейтральний гіпохлорид кальцію. Термін знешкодження 60 хвилин. Дезінфекційні розчини використовують лише один раз.

11. Посудини для проведення дезінфекції повинні бути чітко позначені і мати кришки.

12. Обробку посуду, аглютинаційних пластин, скла підчас роботи з культурами лептоспир слід проводити згідно з настановою до лабораторної діагностики лептоспірозу.

Пересів штамів лептоспир необхідно проводити в боксі.

13. Ватні пробки від пробірок з кров'ю спалюють або збирають у бачки і стерилізують автоклавуюванням.

14. Для доставки до лабораторії проб шкірсировини використовують тару, що відповідає за своїми габаритами внутрішньому об'єму автоклава. Проби негайно стерилізують, тільки тоді пускають у роботу.

15. Перекладати проби до автоклава або до іншої тари та автоклавувати їх дозволяється з дотриманням таких заходів безпеки:

- під час роботи з неавтоклавованою сировиною необхідно взувати гумові чоботи, одягати додатковий халат, гумовий фартух та рукавиці;
- перекладати неавтоклавовані проби слід тільки на розстеленій клейонці, яку після закінчення роботи необхідно простерилізувати в автоклаві;
- тару, в якій доставляли проби, автоклавують, а металевий посуд обпалюють факелом або паяльною лампою;
- після закінчення роботи гумовий спецодяг слід протерти дезрозчином, халат проавтоклавувати, рукавиці прокип'ятити.

**Завдання 2.** Вивчити правила роботи з лептоспірами та засвоїти постановку реакції мікроаглютинації.

*Культивування лептоспир.* Лептоспіри вирощують на сироваткових середовищах. Кращою для виготовлення середовищ є сироватка крові

кроликів і баранів. Вона не повинна містити специфічних протилептоспірозних антитіл. До фосфатного буфера додають сироватку в кількості 5-10%. Спочатку готують маточні розчини солей з розрахунку: однозаміщений фосфорнокислий калій ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) і 9,078 г на літр дистильованої води; двозаміщений фосфорнокислий натрій ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) – 9,476 г або  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  – 11,876 г або  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  – 23,752 г.

Маточні розчини можна зберігати при температурі 2-4<sup>0</sup>С протягом 30 днів.

Робочий буферний розчин готують з маточних розчинів: 79 мл маточного розчину двохзаміненого фосфорнокислого натрію; 21 мл маточного розчину однозаміненого фосфорнокислого калію; 900 мл дистильованої води рН буфера повинен бути в межах 7,2-7,4. При відхиленні в кислу сторону додають розчин двохзаміненого фосфорнокислого калію. Робочий буферний розчин стерилізують при температурі 120<sup>0</sup>С протягом 30 хв. Пересіви культур лептоспір проводять пастерівськими піпетками.

В пробірку з 5-10 см<sup>3</sup> живильного середовища вносять 0,5-1 см<sup>3</sup> культури. Максимальне накопичення лептоспір спостерігається через 4-7 діб культивування при температурі 28-30<sup>0</sup>С.

Культуру лептоспір пересівають через кожні 12-15 діб не менше ніж в 3-4 пробірки.

В реакції використовують чисті культури лептоспір у віці 5-15 діб без ознак аглютинації і лізису з накопиченням 70-100 мікробних клітин в полі зору мікроскопа при збільшенні 20 × 10 × 1,5 або 40 × 7-10. Культури, що містять 150-200 і більш лептоспір в полі зору, перед постановкою реакції розводять живильним середовищем або фізіологічним розчином до вказаної концентрації.

Через кожні 3 міс. необхідно проводити контроль діагностичних штамів лептоспір в реакції мікроаглютинації (РМА) з груповими сироватками, що аглютинують. Випробовувану культуру відносять до серологічної групи лептоспір, з сироваткою якої вона дає реакцію на два-чотири хрести до 50-100% її титру. Допустима реакція випробовуваної культури з гетерологічною сироваткою не більше 15% її титру в реакції з гомологічною культурою.



По патогенній активності культура лептоспір відносять до III групи збудників захворювань. Роботу з мікроорганізмами III групи проводять в лабораторіях з дозволу керівника установи, за умови забезпечення ветеринарно-санітарних вимог, що виключають можливість розповсюдження інфекції як в самій лабораторії, так і за її межами.

Список співробітників, що допускаються до роботи із збудниками III групи, затверджується наказом керівника установи.

Всі штами, які є в наявності і ті, що поступили в лабораторію, підлягають реєстрації в спеціально прошнурованих і пронумерованих журналах, що скріплюють печаткою лабораторії і підписом керівника або його заступника. Шафи і термостати з штамами лептоспір, що зберігаються, необхідно закривати, а після закінчення робочого дня пломбувати або опечатувати. Ключі від замків, пломбатори і печатки зберігається у відповідальній особи.

До інших установ культури видають з дозволу керівника установи за наявності офіційної вимоги і довіреності, підписаної керівником лабораторії і скріплюючих гербовою печаткою. Ампули і пробірки з штамами відпускають в небитких пеналах, вкладених в картонні або дерев'яні коробки. Видача штамів відбувається обов'язково з паспортом.

У випадку аварії при перевезенні культур мікроорганізмів, а також їх втрати та викрадення терміново повідомляють про це місцеві органи санепідем служби та внутрішніх справ.

### ***Контрольні запитання:***

1. Яких заходів потрібно вживати у разі попадання крові, сироватки чи культури лептоспір на шкіру, або на слизові оболонки?
2. Як проводиться знезараження відпрацьованих проб крові?
3. Які дезінфекційні розчини використовують для знезараження лабораторного посуду?
4. Як проводиться підготовка проб шкірсировини для дослідження?
5. Які середовища використовують для культивування лептоспір, та їх приготування?
6. Як проводиться пересів лептоспір?
7. До якої групи збудників захворювань за патогенною активністю відносять лептоспір? Хто надає дозвіл для роботи з культурами лептоспір?
8. Як проводиться реєстрація штамів лептоспір?

## ТЕМА 9. ЗАГАЛЬНІ ПРИНЦИПИ РОБОТИ В ВІРУСОЛОГІЧНОМУ ВІДДІЛІ

### 9.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

#### 9.1.1. Організація роботи в вірусологічному відділі

Організація вірусологічних досліджень у ветеринарних лабораторіях вимагає від фахівців і всього персоналу дотримання додаткових правил, які б виключали можливість розсіювання інфекційного матеріалу і зараження людей, забезпечували санітарно-гігієнічний режим.

Приміщення для вірусологічних досліджень повинно бути відокремленим, ізолюваним від інших відділів лабораторії. Умови роботи, при діагностиці вірусних хвороб і проведенні вірусологічних досліджень повинні строго відповідати «Правилам роботи і охорони праці у ветеринарних лабораторіях». Лабораторні кімнати, де працюють з вірусним матеріалом, повинні добре освітлюватися і мати два відділення, розділені скляною перегородкою. Одне з них (внутрішнє) –бокс.

Інфікований матеріал досліджують в боксі на столі з вологонепроникною поверхнею (метал, пластик, мармур).

Ділянку робочого столу (80×50 см) покривають декількома шарами марлі, зволоженої 5% розчином хлораміну. На ньому не повинно бути ніяких предметів, крім матеріалів, що підлягають безпосередньому дослідженню (розрізані миші, емульсія мозку та ін.).

Після закінчення роботи марлю знімають із столу і опускають в банку з дезрозчином, а стіл дезінфікують 5% розчином хлораміну.

Кожний співробітник повинен користуватися ковпаком і двома халатами із застібками ззаду, один з яких призначений для постійного носіння під час роботи, другий – одягають поверх першого тільки для роботи в боксі. Халати міняють у міру потреби, але не рідше одного разу в три дні. Використані складають в металеві коробки і перед пранням знезаражують в автоклаві. Халати і ковпаки повинні бути з мітками про закріплення їх за вірусологічним відділом.

Всі роботи в цьому відділі слід проводити в марлевій масці (4 шари марлі на ніс і рот) і в захисних окулярах. Протягом робочого дня співробітники міняють стерильні марлеві пов'язки у міру потреби, зняті – здають для стерилізації в автоклаві.

Гумові рукавички в процесі роботи знезаражують, періодично занурюючи руки в рукавичках в банку з 5% розчином хлораміну.

Кожний лікар несе відповідальність за виконання цього правила персоналом, що працює під його наглядом.

Після закінчення роботи в боксі руки в рукавичках промивають в банці з 5% розчином хлораміну, після чого їх знімають і знезаражують повторно, занурюючи на 30 хв в іншу банку з таким же розчином, потім кип'ятять.

Окуляри дезінфікують спиртом і зберігають на столі в чистій банці. Їх, як

і пов'язки, знімають тільки після знезараження рук дезрозчином.

Для захисту від попадання інфікованого матеріалу в рот в піпетки (градуйовані і пастерівські) вкладають подвійні ватяні пробки на відстані 1 см одна від одної. Піпетування проводять за допомогою гумової груші.

При розтині полеглих лабораторних тварин необхідно дотримувати правила безпеки. Полеглих мишей беруть корнцангами, розкривають на пробковій дошці, покритій декількома шарами марлі, змоченої 5% розчином хлораміну, або в бактеріологічних чашках.

Для витягання мозку мишей фіксують на дошці шпильками спиною вгору. Шерсть в області голови протирають 5% розчином хлораміну, з голови знімають шкіру, роблять розріз черепа гострими очними ножицями.

Розтирання та емульгування органів і тканин, що містять вірус, проводять в ступці з глухим чохлам з чотирьох шарів марлі.

Розкритих мишей поміщають в бачок з дезрозчином. Пробкову дошку і марлю після закінчення роботи занурюють в 5% розчин хлораміну на 2 год. Інструменти для розтину стерилізують шляхом кип'ятінням, безпосередньо перед використанням їх обпалюють над полум'ям спиртівки, протягом роботи з однією і тією ж мишою – періодично знезаражують 5% розчином хлораміну, після чого занурюють в спирт і обпалюють. Під час роботи інструменти (пінцети, ножиці, шпильки та інші) відразу ж після використання фламбують, а після закінчення роботи – знезаражують кип'ятінням. Потім всі предмети на 24 год поміщають в бак з 5% розчином хлораміну для остаточного знезараження, а ті, які виносять з боксу, у тому числі і клітки з мишами, заздалегідь протирають з зовні марлею, змоченою 5% розчином хлораміну. Марлю після використання поміщають в цей же розчин. Винесення забрудненого посуду без попереднього її знезараження за межі приміщення забороняється.

При проведенні робіт з вірусом сказу лікар повинен мати помічника (лаборанта), який допускається до роботи тільки за умови освоєння ним практичних навиків і здачі спеціального курсу. (Теоретичні відомості по техніці безпеки і освоєння методик зараження і розтину мишей, приготування суспензій мозку, розведень та ін.).

Про кожну заражену тварину на підставі експертизи проводять записи в протоколі, указуючи убита вона чи загинула і на який день; про кожний орган, узятий від зараженої тварини, в чому і де зберігається, знищений та ін.

Заражених мишей утримують в скляних банках, які поміщають в металеві клітки і утримують в спеціальній кімнаті відділу, не доступній для гризунів. Цю кімнату закривають і пломбують. Допускається розміщення заражених тварин в ізольованому відділенні віварію для заражених тварин, яке також пломбують.

Відомості про піддослідних тварин, заражених вірусним матеріалом, щодня записують в спеціальний зошит з вказівкою вибулих (полеглих, знищених). Загальну кількість тварин перераховують не рідше одного разу на день. У разі недостачі тварин складають акт і представляють його завідувачому відділом, який зобов'язаний з'ясувати причину зникнення зараженої тварини.

Знезараження інфікованого посуду, трупів тварин і сміття проводять з дотриманням особливих запобіжних засобів. Використаний посуд разом із зараженим матеріалом кладуть в баки з кришками і заливають 2% розчином лугу. Потім баки закривають, пломбують і автоклавують. Всі ці процеси реєструють в спеціальному зошиті. Якщо з яких-небудь причин знезаражуваний посуд не може бути підданий автоклавуванню, його обробляють кип'ятінням.

Трупи лабораторних тварин спочатку занурюють в бачки з дезрозчином, а потім спалюють. Якщо немає такої можливості, їх разом з бачками автоклавують. В журналі реєструють загальну кількість знищених тварин.

Сміття з кліток після попереднього зволоження 2% розчином лізолу збирають в баки з кришками і разом з ними знезаражують в автоклаві, потім сміття спалюють. Після закінчення роботи посуд і інструменти стерилізують, робочі столи дезінфікують, приміщення обробляють бактерицидними лампами.

### **9.1.2. Взяття і пересилка проб та послідовність діагностичних досліджень**

Загальне правило тут – якомога раніше узяти проби матеріалу для вірусологічних досліджень. При деяких захворюваннях уражені ділянки шкіри, слизових оболонок можна узяти прижиттєво, коли тканини, в яких розмножується вірус, ще доступні для дослідження, також можна брати кров в тварин для дослідження під час віремії.

Після загибелі тварини дуже важливо якомога швидше відібрати патматеріал, оскільки при багатьох вірусних інфекціях спостерігається посмертна аутостерилізація, а також посмертні зміни тканин, внаслідок чого вірус може не бути взагалі знайдений і не виділений. Проби необхідно брати по можливості стерильно і швидко поміщати в умови низької температури. Відправляти матеріал необхідно в термосі з льодом в скляних флаконах з притертою пробкою.

Мазки з носа, порожнини рота, прямої кишки, клоаки у птахів та інші беруть за допомогою стерильних ватних тампонів. Після підготовки мазків тампони поміщають в пробірку з розчином Хенкса або фізіологічним розчином рН 7,2-7,4 з додаванням антибіотиків (пеніцилін і стрептоміцин по 100 ОД на 1 мл розчину).

До проб додають супровідний лист, що містить повну інформацію про тварину, від якої узяті проби, а також епізоотологічні дані про господарство і заходи для ліквідації хвороби.

Дослідження необхідно починати відразу після надходження матеріалу. Якщо з якихось причин (відсутність пташиних ембріонів, тканинних культур) воно відкладається, присланий матеріал необхідно помістити в низькотемпературний холодильник при мінус 70°C. Якщо неможливо зберігати постійну температуру заморожування, його зберігають у звичайному; холодильнику, оскільки деякі віруси чутливі до коливань

температури.

Спочатку проводять дослідження, які дозволяють безпосередньо виявити вірус або його антигени в матеріалі – світлова мікроскопія і метод флуоресціюючих антитіл.

Для виділення вірусу використовують пташині ембріони, культури клітин, лабораторних і природно-сприйнятливих тварин та птахів. При отриманні негативних результатів проводять не менше трьох пасажів на біологічних об'єктах того ж виду.

При виділенні у випробовуваному матеріалі вірусного агенту наступним етапом дослідження є ідентифікація вірусу (МФА, РЗГА, реакції гемадсорбції, гальмування гемадсорбції, нейтралізації, РЗК та ін.).

Методи прямого виявлення вірусу в матеріалі. Мікроскопічні дослідження. Оптична мікроскопія застосовується тільки при дослідженні матеріалів на наявність найбільших вірусів, наприклад віспа. З досліджуваного матеріалу готують тонкий мазок, висушують при кімнатній температурі. Фарбують одним з методів. Найбільш часто застосовують фарбування по Морозову (метод сріблення).

Для фарбування готують реактиви № 1, 2 і 3 по пропису:

- реактив № 1 – 1 мл крижаної оцтової кислоти, 2 мл 40% формальдегіду і 100 мл дистильованої води;

- реактив № 2 – 5 г таніну, 1 мл рідкої карболової кислоти і 100 мл дистильованої води. Перед використанням танін перевіряють на чистоту. Для цього готують розчин з 1 г таніну і 5 мл дистильованої води. Розчин не повинен мутніти на протязі години від додавання 10 мл 90° спирту, а також при подальшому додаванні 5 мл ефіру;

- реактив № 3 – готують розчин аміачного срібла. Для цього 5 г кристалічного азотнокислого срібла розчиняють в 100 мл дистильованої води. До нього краплями додають міцний розчин аміаку, поки жовто-коричневий колір осаду який утворився на початку, а потім буро-чорний осад не розчиниться до легкої опалесценції. Для забарвлення реактив № 3 розбавляють дистильованою водою в співвідношенні 1:10

Препарат спочатку обробляють реактивом № 1. Через хвилину рідину змивають водою і протравлюють реактивом № 2 при підігріванні до появи пару (протягом 1 хв), потім мазок ретельно промивають водою і дофарбовують реактивом № 3 при легкому підігріванні, поки препарат не буде темно-коричневий. Потім його добре відмивають водою, висушують на повітрі і дивляться під імерсійною системою мікроскопа.

При віспі в полі зору знаходять скупчення круглих темно-коричневих вірусних частинок розміром близько 250 нм. Відсутність вірусних частинок в препараті не є підставою для виключення віспи та інших хвороб.

Реакція імунофлуоресценції полягає у використанні антитіл, кон'югованих флуоресціюючими речовинами. Такий кон'югант зберігає здатність специфічно реагувати з антигеном. Після нанесення його на мазок в місці скупчення антигену проходить серологічна реакція. Промиванням видаляють незв'язані флуоресціюючі антитіла, а потім препарат проглядають

під люмінесцентним мікроскопом.

При прямому методі реакція відбувається між міченим (флуорохромом) антитілом і антигеном. При непрямому методі в першій фазі використовують немічені антитіла, які після зв'язування виявляють при допомозі мічених антиглобулінових антитіл. Комплекси, які утворюються видно під люмінесцентним мікроскопом у формі скупчень, що світяться.

Приготування і фарбування препаратів: мазки можна приготувати, роблячи відбитки з поверхні розрізів тканин, слизових та інших оболонок, а також можна наносити на скло невелику кількість розтертої тканини або краплю досліджуваної рідини. Препарати висушують на повітрі, фіксують частіше всього в ацетоні 5-10 хв при температурі 4°C.

При прямому методі на препарат наносять кон'югат і фарбують на протязі 20-60 хв при температурі 37°C у вологій камері (в бактеріологічну чашку з препаратами поміщають фільтрувальний папір, змочений водою). Потім відмивають в забуференому фізіологічному розчині 20-30 хв, прополіскують в дистильованій воді, висушують і дивляться під імерсією люмінесцентного мікроскопа.

При непрямому методі на фіксований препарат наносять антитіла, немічені проти даного вірусу на 30 хв при 37°C, так само відмивають і на 30 хвилин при 37°C наносять кон'югат, що містить антитіла проти у-глобулінів того виду тварин, від яких одержували антивірусні антитіла. Препарат відмивають, як і при прямому методі, висушують і досліджують під люмінесцентним мікроскопом. Позитивний результат реакції в обох випадках проявляється світінням ділянок препарату, де є зв'язаний кон'югат.

Реакція зв'язування комплементу. В основі реакції лежить зв'язування комплементу специфічним комплексом антиген – антитіло (перша фаза реакції). Утворення цього зв'язку перевіряється в другій фазі реакції шляхом додавання до комплексу гемолітичної системи (еритроцити + гемолізін). Еритроцити гемолізуються тільки в тому випадку, якщо комплемент не буде зв'язаний в першій фазі реакції. Відсутність гемолізу означає, що в першій фазі реакції відбулося зв'язування комплементу комплексом антиген – антитіло.

Якщо в матеріалі знаходиться певний вірус, то він утворює комплекс з добавленими антитілами (сироватка специфічна для цього вірусу), внаслідок чого відбувається зв'язування комплементу, а відсутність гемолізу в другій фазі указує на позитивний результат реакції.

Реакція гемаглютинації. Багато вірусів володіють гемаглютинуючими властивостями, тому за допомогою цієї реакції можна в матеріалі виявляти ті віруси, що аглютинують. Її застосовують для орієнтовного визначення вірусу в патматеріалі, для титрування вірусних гемаглютинінів і приготування робочої дози вірусу для реакції затримки гемаглютинації (РЗГА).

Для постановки реакції необхідні: вирусмістимий матеріал (10% суспензія органів і тканин, алантоїсна рідина, суспензія оболонок ембріонів птахів та ін.), 1% суспензія еритроцитів півня, фізіологічний розчин рН 7,2-7,4.

Суспензію еритроцитів отримують з цитратної або дефібрированої крові,

для чого кров збирають в пробірку, що містить 0,25% розчин цитрату натрію ( $\frac{1}{3}$  цитрату на  $\frac{2}{3}$  крові), який складається з 0,85 г хлористого натрію, 5 г цитрату натрію на 100 мл дистильованої води. Потім її центрифугують 10 хв при 1500-2000 хв<sup>-1</sup>, зливають надосадову рідину, а одержаний осад еритроцитів три рази промивають фізіологічним розчином, кожного разу осаджують їх центрифугуванням протягом 10 хв. Відмиті еритроцити можна зберігати у фізіологічному розчині при 4°C 2-3 доби і при необхідності з осаду еритроцитів готують потрібну суспензію.

Реакцію гемаглютинації можна ставити двома способами: крапельним і пробірковим (або на пластинах плексигласів з луночками).

*Крапельний метод.* На чисті і знежирені предметні скельця, бактеріологічні чашки наносять одну краплю 5% суспензії еритроцитів і до неї додають одну краплю вірусмістимого матеріалу. Суміш ретельно перемішують скляною паличкою або похитують скло. При позитивній реакції через 1-2 хв спостерігають пластівці еритроцитів, що аглютинують. Цей спосіб орієнтовний і служить лише для визначення наявності в досліджуваному матеріалі гемаглютинуючого вірусу.

Пробірковий метод реакцію гемаглютинації проводять не тільки для визначення гемаглютинуючих властивостей вірусу, але і його гемаглютинуючого титру, який необхідно взяти для приготування його робочої дози при постановці РЗГА з цим вірусом.

Постановка РЗГА в пробірках або в луночках пластинок плексиглазів. У ряді пробірок або луночок готують двократні розведення вірусмістимого матеріалу, починаючи з 1:2 і до 1:2048. Для цього спочатку в пробірки (лунки) наливають фізіологічний розчин в об'ємі 0,5 мл і в першу додають 0,5 мл вірусного антигену. Піпетку, яку внесли вірус, поміщають в дезрозчин. Кожне подальше розведення піпетують стерильною градуйованою піпеткою і нею ж по 0,5 мл вірусмістимогої рідини переносять в чергову лунку. З останньої лунки 0,5 мл розведеного матеріалу видаляють і знешкоджують в 2% розчині їдкого натрію. Після розведення вірусмістимого матеріалу у всі лунки вносять по 0,5 мл 1% суспензії відмитих еритроцитів.

Паралельно ставлять контроль еритроцитів на спонтанну аглютинацію, для чого в чотири лунки наливають по 0,5 мл фізіологічні розчини і додають по 0,5 мл 1% суспензії еритроцитів. Пластини або пробірки злегка струшують і ставлять в термостат на 30 мін при температурі 37°C.

Реакцію гемаглютинації оцінюють позитивно при осіданні еритроцитів у вигляді добре вираженої парасольки, негативно – у вигляді гудзика.

За титр вірусу приймають його найбільше розведення, що дало чітко виражену аглютинацію у вигляді парасольки. Цей титр складає одну гемаглютинуючу одиницю.

Реакцію гемадсорбції застосовують для індикації в заражених культурах клітин вірусів, що володіють гемадсорбуючою активністю. Суть реакції полягає в тому, що на поверхні клітин, заражених вірусами, адсорбуються еритроцити, чутливі до гемаглютинуючої дії цих вірусів. Так, наприклад, на клітинах, уражених вірусом віспи, адсорбуються еритроцити курей; вірусом

парагрипу великої рогатої худоби – еритроцити морської свинки тощо.

*Постановка реакції:* з 2-4 пробірок із зараженими культурами клітин видаляють живильне середовище і вносять по 0,2 мл 1% суспензії еритроцитів, чутливих до гемадсорбуючої дії передбачуваного вірусу. Пробірки витримують в похилому положенні клітинним шаром вниз при кімнатній температурі 20-30 хв. Потім злегка струшують для відділення від клітин неадсорбованих еритроцитів і переглядають під малим збільшенням мікроскопа. На клітинах, уражених вірусом, адсорбуються еритроцити. У одних вірусів реакція гемадсорбції стає позитивною до видимого прояву цитопатичних змін в культурах клітин (віруси грипу, парагрипу великої рогатої худоби), у інших – тільки при розвитку добре виражених цитопатичних змін (вірус віспи тощо).

Як контроль використовують незаражені культури клітин. Для ідентифікації вірусу використовують реакцію гальмування гемадсорбції.

*Реакція дифузійної преципітації (РДП)* відноситься до простих і прискорених серологічних реакцій і відрізняється високою специфічністю. В основі її лежить утворення ліній преципітації в місці зустрічі дифундуючих в гелі специфічних антигену і антитіла.

Агарове середовище готують за прописом: агар Діфко 10-15 г, кухонної солі 15 г, мертиоляту 0,01 г, дистильована вода 1 л. Для приготування агарового середовища можна використовувати будь-який агар, попередньо відповідно оброблений. Для цього його поміщають в марлевий мішечок, витримують під проточною водою дві доби, потім протягом доби вимочують в дистильованій воді. Колбу з розчином агару поміщають у водяну баню до повного розплавлення агару, потім фільтрують через декілька шарів марлі. Приготовлене середовище розливають у флакони і зберігають в холодильнику при + 4°C до 6 міс.

Перед постановкою реакції агарове середовище розплавляють у водяній бані і розливають по 15 мл в бактеріологічні чашки або по 2 мл на знежирені предметні скельця; після охолодження роблять лунки, діаметром і відстанню між ними 0,5 см.

В центральну лунку наливають специфічну сироватку, а в шість лунок навкруги неї – досліджувані антигени, у тому числі один контрольний (позитивний). Якщо досліджують сироватки, то в центральну лунку наливають специфічний антиген, а навколо осі – випробовувані сироватки.

Бактеріологічні чашки поміщають у вологу камеру і витримують в термостаті при 37°C. Результати реакції враховують через 24-48 год.

За умови утворень чіткої смуги преципітації між лунками з досліджуваним матеріалом і специфічною сироваткою, а також між специфічним (явно відомим) антигеном і специфічною сироваткою-реакція позитивна.

### **9.1.3. Виділення вірусів на біологічних об'єктах**

Матеріал, призначений для зараження лабораторних тваринних, курячих

ембріонів, культур клітин, повинен бути заздалегідь відповідним чином приготовлений. Готують 10% суміш тканини на фізіологічному розчині або розчині Хенкса, додають антибіотики (пеніцилін – 500 ОД та стрептоміцин – 500 мг на 1мл розчину). Центрифугують 30 хв. при 5000 хв<sup>-1</sup> в центрифугу з охолодженням.

При дослідженні на хламідіозну інфекцію в 10% суспензію приготовленого матеріалу додають тільки стрептоміцин 500 мг на 1 мл розчину і центрифугують 0,5 год при 3000 хв<sup>-1</sup> в центрифугу з охолодженням.

Суспензії змивів з носа, глотки, піхви і інших органів одержують шляхом вичавлювання ватних тампонів, куди додають таку ж кількість антибіотиків і центрифугують. Надосадову рідину відливають піпеткою і висівають на живильні середовища (МПБ, МПА) для перевірки на стерильність. Якщо зростання немає, суспензію використовують для вірусологічних досліджень.

*Піддослідні тварини.* Підбір тварин по вигляду і віку залежить від виду вірусу. В основному використовують кроликів, морських свинок, білих мишей, щурів або природно сприйнятливих тварин і птахів.

Курячі ембріони, які розвиваються, найчастіше використовують у віці 6–7–8–10 днів. Існує декілька методів зараження ембріонів. Основні з них: в алантоїсну порожнину, на хоріоналантоїсну оболонку, в жовтковий мішок. Перед зараженням яйця з ембріонами овоскопіюють, позначають межі повітряної камери, фламбують спиртовим факелом і стерильним шприцом вводять досліджуваний матеріал в дозі 0,2-0,3 мл, місце введення закривають парафіном. Термін спостереження залежить від виду вірусу і дози його введення. Щоденно ембріони овоскопіюють. Тих, що загинули, розкривають і досліджують. Загибель ембріонів протягом 24 годин вважається неспецифічною.

Негативний результат зараження не виключає наявності вірусу в досліджуваному матеріалі. Тому необхідно провести три і більш сліпих пасажів (три послідовні зараження). Після кожного пасажу необхідно ставити реакцію гемаглютинації з алантоїсною рідиною ембріону. Позитивна реакція гемаглютинації свідчить про наявність в досліджуваному матеріалі вірусного агента. Після цього необхідно провести ідентифікацію виділеного вірусу.

*Культури клітин.* Культивування клітин поза організмом вимагає виконання ряду умов. Одним з них є строге дотримання при роботі стерильності, оскільки живильні середовища, що використовуються, служать живильним субстратом також для бактерій і грибів.

Клітини тканин володіють вельми високою чутливістю до солей важких металів. Тому необхідно надавати виняткову увагу якості різних інгредієнтів, що входять до складу сольових розчинів і живильних середовищ, а також способам обробки посуду і гумових виробів, які використовують при культивуванні клітин.

Для виділення вірусів з патматеріалу можна використовувати різні

методи культивування тканин поза організмом. Проте в даний час найбільш широко використовують одношарові культури первинно трипсинизованих ліній клітин.

Одношарові культури клітин вирощують в скляних плоскостінних судинах-матрацах і в звичайних бактеріологічних пробірках, оброблених відповідним методом.

Для вирощування культур клітин застосовують наступні основні розчини і живильні середовища: розчин Хенкса, Ерла, розчин трипсину, Версена, середовище 199, гідролізат лактоальбуміну, середовище Ігла, живильне середовище з гемгідролізатом, сироватку великої рогатої худоби без консерванту.

Ідентифікація виділеного вірусу проводиться за допомогою серологічних реакцій і заснована на використанні специфічних імунних сироваток, що містять антитіла тільки для окремих, визначених збудників.

Серологічну ідентифікацію здійснюють з метою виявлення в досліджуваному матеріалі антигену, відповідного введеному антитілу, для чого застосовують реакції імунофлюоресценції, імунодифузії, зв'язування комплекменту або для нейтралізації деяких властивостей вірусу специфічними антитілами, використовуючи реакції гальмування гемаглютинації, гальмування гемадсорбції, нейтралізації, серозахисту.

## 9.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА

### 9.2.1. Організація роботи у вірусологічному відділі

**Мета заняття:** Ознайомити здобувачів із правилами роботи у відділі та з методами зараження лабораторних тварин.

**Завдання 1.** Вивчити правила, які необхідно дотримуватися при роботі у вірусологічному відділі.

*При роботі у вірусологічному відділі необхідно дотримуватися наступних правил:*

1. Робота із збудниками вірусних захворювань допускається лише в типових або спеціально пристосованих лабораторних приміщеннях, які відповідають вимогам повної ізоляції і забезпечені всіма засобами безпеки праці персоналу, що працює в них.

2. Усі працівники вірусологічного відділу до і після роботи проходять санітарну обробку в пропускнику, який обладнують індивідуальними шафами для особистих речей, одягу і взуття.

3. Дослідження патматеріалу з метою діагностики вірусних захворювань повинно проводитись лише в лабораторіях, забезпечених системою ізольованих кімнат.

4. Лабораторні кімнати, де проводять роботу з вірусним матеріалом, повинні складатися з двох відділень, розділених скляною перегородкою. Одне

відділення (внутрішнє) є боксом.

5. Роботу з матеріалом, інфікованим вірусом, проводять у боксі на столі з вологонепроникною поверхнею (із металу, мармуру). Частину робочого стола (50-80 см) покривають трьома шарами марлі, зволоженої 5% розчином хлораміну. На цій частині стола не повинно бути жодних предметів, крім матеріалів, які підлягають дослідженню (миші для розтину, суспензія мозку тощо).



6. Після закінчення роботи марлю, якою покривали робоче місце, опускають у банку з дезрозчином, стіл дезінфікують 5% розчином хлораміну або 4% розчином гідроксиду натрію.

7. Розтирання й емульгування органів та тканин, які містять вірус, проводять у ступці з глухим чохлам із 4 шарів марлі або в банці з бусами і притертою пробкою, обгорнутій чохлам із 4 шарів марлі, просоченої 5% розчином хлораміну.

8. Кожен працівник відділу під час роботи повинен користуватися ковпаком і двома халатами, які мають застібку ззаду і дві кишені спереду. Один халат служить для постійної роботи, другий одягають поверх першого тільки для роботи в боксі. Халати змінюють у міру потреби, але не рідше 1 разу на три дні. Використані халати складають у металеві коробки і до прання знезаражують в автоклаві. Халат і ковпаки повинні мати мітки про закріплення їх за даним підрозділом.



9. Усі роботи необхідно проводити в марлевій масці (4 шари марлі на ніс і рот) і в захисних окулярах, які охороняють працюючого від крапельної інфекції.

Протягом дня працівники змінюють стерильні марлеві маски в міру потреби (перехід з одного боксу в інший, зміна досліджуваного-матеріалу, механічне забруднення маски тощо). Зняті маски стерилізують в автоклаві.

10. Під час роботи гумові рукавички, в міру їх забруднення,

знезаражують, опускаючи руки в рукавичках у банку з 5% розчином хлораміну.

11. По закінченні роботи руки в рукавичках промивають у банці з 5% розчином хлораміну, після чого рукавички знімають і знезаражують повторно, опускаючи їх на 30 хвилин у другу банку з таким самим розчином, і потім кип'ятять.

12. Окуляри дезінфікують 70% етиловим спиртом і зберігають на столі в чистій банці. Окуляри, як і маски, знімають тільки після знезараження рук дезрозчином.

13. Під час використання піпеток (градуйованих або пастерівських) у них необхідно вкладати подвійні ватні пробки на відстані 1 см одна від одної. Пілотування проводять за допомогою гумового балона.

14. Під час зараження лабораторних і розтину трупів загиблих лабораторних тварин, які заражені збудниками вірусних захворювань, необхідно дотримуватися вимог безпеки, викладених в пунктах 15 - 20 цих Правил.

15. Розтин або зараження дрібних тварин проводити в захисних скляних настільних боксах, дотримуючись правил асептики і попередження можливого розбрикування інфекційного матеріалу;

- інтраназальне зараження тварин проводять тільки наркотизованим тваринам;

- роботу з курячими ембріонами і культурами клітин проводять тільки в боксах.

16. Полеглих мишей беруть корнцангами, розтинають їх на корковій дошці площею не менш як 18 см<sup>2</sup>, покритій декількома шарами марлі, зволоженої 5% розчином хлораміну, або в чашках Петрі.

17. Для виймання мозку, мишей закріплюють на корковій дошці шпильками спиною вверх. Шкіру в області голови протирають 5% розчином хлораміну, знімають шкіру з голови, роблять розріз черепа гострими очними ножицями.

18. Мишей після розтину кладуть в бачок з дезрозчином. Коркову дошку і марлю після закінчення роботи занурюють в 5% розчин хлораміну на 2 год або ж кип'ятять протягом 1 год.

19. Інструмент для розтину стерилізують кип'ятінням, перед застосуванням його обпалюють над полум'ям спиртівки. Під час роботи з



однією і тією ж твариною його періодично протирають тампонами, змоченими водою, після чого занурюють у спирт і обпалюють.

20. Після використання інструмент (пінцет, ножиці, шпильки тощо) потрібно негайно знезаразити кип'ятінням.

21. Предмети, які виносять з боксу, в тому числі і клітки з мишами, протирають зовні марлею, змоченою 5% розчином хлораміну. Марлю після використання занурюють у посудину з таким самим розчином. Забороняється виносити брудний посуд без знезараження за межі приміщення.

22. Під час проведення робіт з вірусом сказу лікар ветеринарної медицини повинен мати помічника (лаборанта), якого допускають до роботи за умови набуття ним практичного досвіду і складання спеціального заліку (теоретичні знання з техніки безпеки і освоєння методики зараження і розтину мишей, приготування суспензії, розведення її тощо).

23. Центрифугу для роботи з рикетсіозним або вірусним матеріалом встановлюють у передбоксі. Рідину розливають у склянки або центрифужні пробірки з тугоплавкого скла, плексигласу або металу і обов'язково закривають пробками або загвинчують кришками.

24. Під час роботи з матеріалом, який може містити пріони, необхідно:

- одягати захисний костюм типу I;
- знезараження патматеріалу проводити автоклавуванням протягом 1 години при тиску в 0,2 МПа;
- з хімічних дезінфекційних засобів використовувати гіпохлорид натрію (20% розчин, експозиція 1 година) або 1Н-2Н (4-8%) розчин гідроксиду натрію (експозиція не менше 1 години);
- знезараження інструментарію та інших предметів необхідно проводити заливанням їх 20% розчином гіпохлориду натрію або 1Н-2Н розчином гідроксиду натрію, залишаючи при температурі 20°C на ніч.

### ***Контрольні запитання:***

1. Які існують вимоги щодо приміщення вірусологічного відділу?
2. В якій кімнаті проводиться робота з матеріалом, інфікованим вірусом, як вона повинна бути обладнана?
3. Які дезінфікуючі розчини використовують для знезараження відпрацьованого матеріалу, посуду?
4. Як проводиться розтин та зараження дрібних тварин?
5. Як готують інструменти для розтину, та як відбувається їх знезараження після використання?

## ТЕМА 10. ОРГАНІЗАЦІЯ РОБОТИ В ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНОМУ ВІДДІЛІ. ДІАГНОСТИКА МІКОЗІВ ТА МІКОТОКСИКОЗІВ

### 10.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

#### 10.1.1. Біохімічні дослідження

**Біохімічні дослідження** – це лабораторні дослідження з визначення концентрації хімічних речовин та продуктів обміну в організмі тварини. Біохімічні дослідження призначаються у випадку порушення обмінних процесів (цукровий діабет) або коли біохімічні зміни є наслідком захворювання (ниркова недостатність, гепатит).

*Отримані аналізи застосовуються:*

- в діагностиці;
- в скринінгу;
- в прогнозах розвитку захворювання, його перебігу і наслідків;
- при спостереженні за перебігом захворювання та оцінки ефективності курсового лікування захворювань.

*Найчастіше проводять такі дослідження сечі і крові на:*

- наявність вмісту азоту;
- наявність вмісту білкових фракцій;
- наявність вмісту загального білка;
- наявність вмісту калію;
- наявність вмісту кальцію;
- наявність вміст креатиніну;
- наявність вмісту магнію;
- наявність вмісту натрію;
- наявність вмісту фосфору;
- наявність вмісту фракцій білірубіну;
- наявність вмісту хлоридів;
- визначення активності АЛТ;
- визначення активності альфа-амілази;
- визначення активності АСТ;
- визначення активності гама-глутамілтранспептидази;
- визначення активності кислої фосфатази;
- визначення активності КФК;
- визначення активності лактатдегідрогенази;
- визначення активності ліпази;
- визначення активності лужнофосфатази.

*Коротка характеристика показників біохімічного аналізу крові.*

**Глюкоза** – це найважливіший компонент харчування наших клітин, зокрема, нейрони центральної нервової системи здатні отримувати енергію тільки за рахунок окислення цього вуглеводу. Його рівень у нормі зазнає мінімальні коливання протягом доби і забезпечується злагоженою роботою

ендокринної системи і печінки. З цієї причини кількість глюкози в крові служить віддзеркаленням стану цих систем.

*Білірубін і його фракції* – являє собою токсичний пігмент жовтого кольору, утворений при розпаді еритроцитів і гемоглобіну в них. Розпад клітин відбувається в селезінці (в патологічних випадках може виникати і поза нею), транспортується в печінку, де знешкоджується і виводиться в кишечник. Коливання рівня різних фракцій білірубину дозволяє з легкістю визначати локалізацію проблеми – в крові, в селезінці або в печінці і її протоках.

*Ферменти плазми крові* – до них відносять аспартатамінотрансфераза (АСТ), аланінамінотрансфераза (АЛТ), гамма-гуанінамінотрансфераза (Гамма-ГТ) і лужна фосфатаза (ЛФ).

Зазвичай ці біологічно активні речовини знаходяться всередині клітин, але при їх масовому розпаді (або швидкому розмноженні, як у випадку пухлинного росту) у значній кількості виділяються в кров. По тому, який фермент «виріс», лікар може діагностувати переважне ураження того чи іншого органу – печінки (АЛТ), серця (АСТ), підшлункової залози (Гамма-ГТ), кісткової і кровотворної систем (ЛФ). Для більш тонкої діагностики в ряді випадків має значення співвідношення рівня ферментів між собою.

*Ліпіди плазми крові* – до них відносять холестерин, ліпопротеїди низької щільності і тригліцериди. Є також інші форми ліпідів крові, однак саме ці відіграють найважливішу роль у розвитку атеросклерозу, тому обов'язково визначаються в рамках біохімічного аналізу. Також їх рівень побічно відбиває стан нирок.

*Білки плазми крові* – до них відносять альбуміни, глобуліни тощо. У рамках стандартного дослідження визначають загальну кількість білка і частку альбумінів в ньому. Головним чином це має значення в якості контролю за станом печінки і нирок.

*Неорганічні іони* – іони калію, натрію, хлору. Рівень їх вмісту визначається кислотно-основним і осмотичним станом внутрішнього середовища організму, роботою нирок і серцево-судинної системи. З цієї причини за рівнем іонів судять про роботу цих органів.

*Креатинін, сечова кислота і сечовина* – є кінцевими продуктами обміну азотистих речовин (білків і амінокислот). Вони виводяться за допомогою нирок, тому підвищення рівня цих показників свідчить про порушення в роботі видільної системи.

*С-реактивний білок* – активний білок плазми крові, який забезпечує виникнення і наростання запальної реакції. Тому рівень цього показника є найточнішим ознакою запалення в організмі.

*Сироваткове залізо* – показує кількість іонів заліза, пов'язаних з білками. Відображає роботу кровотворної системи і загальний стан організму.

Біохімічний аналіз крові є сучасним дослідженням, яке виявляє найдрібніші зміни. Так як подібні процеси виникають на початкових етапах багатьох захворювань, цей метод діагностики дозволяє визначити проблему в зародку і своєчасно її вирішити.

## 10.1.2. Функції лабораторії

Одним з ключових завдань лабораторії є проведення досліджень з вивчення впливу ветеринарних препаратів та кормових добавок на морфофункціональний стан як органів імунної системи, так і організму тварин в цілому.

*З цією метою в лабораторії проводять дослідження:*

- комплексна оцінка впливу нових ветеринарних препаратів на організм тварин та птиці за імунологічними, гематологічними, біохімічними та патоморфологічними показниками на стадіях доклінічного і клінічного випробувань;

- здійснення імуноксикологічного контролю нових ветеринарних препаратів;

- проведення контролю якості природних і синтетичних імуномодуляторів, тканинних препаратів та удосконалення методів їх контролю;

- розробка нових схем і методів застосування імуномодуляторів з урахуванням морфофункціонального стану імунної системи тварин і птиці;

- державний контроль за виробництвом, зберіганням та реалізацією ветеринарних препаратів;

- експертна оцінка нормативних документів на ветеринарні препарати щодо відповідності вимогам чинного законодавства;

- розробка і гармонізація методів контролю ефективності ветеринарних препаратів за показниками імунної та антиоксидантної систем;

- визначення функціонального стану організму тварин і птиці за гематологічними, імунологічними, біохімічними та гістологічними показниками;

- навчання спеціалістів контрольних та виробничих лабораторій ветеринарної медицини, наукових співробітників, аспірантів науково-дослідних і навчальних закладів щодо методів контролю якості ветеринарних препаратів та ефективного їх застосування;

- консультативна допомога з питань контролю якості м'яса і м'ясопродуктів мікроструктурним методом та патоморфологічної діагностики захворювань тварин і птиці.

Робота лабораторії базується на сучасних та класичних гематологічних, патоморфологічних, гістологічних, гістохімічних, імунологічних та біохімічних методах досліджень.

Співробітники лабораторії вдосконалюють та розробляють нові методи комплексної оцінки ефективності ветеринарних препаратів за показниками імунологічних і біохімічних параметрів, включаючи стан перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту організму тварин і птиці на стадіях доклінічного та клінічного випробувань.

Здійснюють стандартизацію класичних імуногістохімічних та біохімічних мікрометодів, які впроваджують у практику для контролю токсичності ветеринарних препаратів різних фармакологічних груп.

Важливим напрямком, в якому плідно працює сектор морфологічних досліджень, є контроль якості м'яса та м'ясопродуктів мікроструктурним методом, за допомогою якого можна достовірно визначати тканинний і органний склад, аналізувати якість сировини різних кулінарних видів м'ясної продукції, а також фаршу.

Вперше в Україні запропоновано використовувати цей метод як один з основних та перспективних, з допомогою якого можна здійснювати контроль технології виробництва м'ясних виробів, визначати складові частини фаршу, виявляти мікробне забруднення, малоцінні добавки і повторно використану сировину та встановити фальсифікацію продукту.

Впроваджені мікроструктурні методи дослідження м'ясних продуктів слугували підґрунтям для розробки ДСТУ 7063:2009 «Напівфабрикати м'ясні та м'ясо-рослинні січені», який затверджений і набув чинності з 01.01.2010 р. і передбачає посилення контролю якості як напівфабрикатів, так і готової м'ясної продукції.

## **10.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА**

### **10.2.1. Організація роботи в хіміко-токсикологічному і в радіологічному відділах**

**Мета заняття:** Ознайомити здобувачів із правилами роботи у хіміко-токсикологічному відділі та послідовністю виділення і діагностики збудників мікозів та їх токсинів; правилами роботи та правилами захисту у радіологічному відділі.

**Завдання 1** Ознайомити здобувачів із правилами роботи у хіміко-токсикологічному відділі за діагностики мікозів і мікотоксикозів

1. Під час проведення мікологічних досліджень необхідно виконувати вимоги охорони праці, передбаченні для бактеріологічної діагностики.

2. Для попередження зараження приміщень лабораторії спорами грибів висіви з патматеріалу та кормів необхідно проводити в боксі з дотриманням правил безпеки.

3. Екстракцію кормів, випарювання екстрактів і хроматографію слід проводити у витяжній шафі при ввімкненій вентиляції. при цьому не допускається використовувати відкрите полум'я та електроплитки з відкритою спіраллю.

4. Трупи лабораторних тварин, які використовували для біологічних досліджень, знищують шляхом спалювання.

5. Культури грибів і заражений ними матеріал необхідно автоклавувати, по можливості, в день закінчення досліджень.

6. Предметне та покривне скло, піпетки, які були у використанні, спочатку знезаражують 5% розчином хлораміну, а потім разом з використаними чашками Петрі автоклавують під тиском в 0,15 МПа протягом 2 годин.

7. Мікотоксини зберігають у сейфі або в окремій, зачиненій на замок шафі.

8. Залишки невикористаних кормів, з яких при дослідженні були виділені токсичні або патогенні гриби, через 1 місяць після видання експертизи знищують спалюванням.

9. Під час роботи з досліджуваним матеріалом руки обробляють 70% етиловим спиртом.

10. Наприкінці робочого дня в робочих приміщеннях проводять вологе прибирання з використанням 5% розчину хлораміну.

**Мікози.** Захворювання грибної етіології, для яких характерне активне паразитування гриба в тваринному організмі.

До групи мікозів відносяться дерматомікози (мікроспорія, трихофітія, парша), аспергильоз, кандидамікоз, кокцидіоідомікоз, риноспоридіоз, споротрихоз, гістоплазмоз, північноамериканський бластомікоз, криптококоз, мукормікоз, і бронхіомікоз риб, аскосферомікоз і меланоз бджіл, мускардина тутового шовкопряда.

*Відбір і пересилка матеріалу.* Проби беруть від свіжого трупа, з уражених ділянок, що не піддавалися раніше лікувальним обробкам хімічними або іншими лікарськими препаратами. Патологічний матеріал необхідно помістити в стерильний посуд (при дерматомікозах можна використовувати пергаментні пакети). Для запобігання від бактерійного забруднення його консервують в розчинах антибіотиків (Пеніцилін і стрептоміцин по 100 ЕД на 1 мл розчину).

На пробах повинен бути номер. Брати потрібно від кожної тварини в окремий посуд.

В супровідному документі відзначають умови годування і



утримання, епізоотичну обстановку в господарстві у минулому і в даний час.

**Мікотоксикози.** Санітарно-мікологічні дослідження кормів проводять з метою попередження захворювань, що виникають при згодовуванні тваринам кормів, уражених токсичними або патогенними грибами, для діагностики і виявлення причин отруєння.

Дослідженню піддають грубі корми, комбікорми, зерно, продукти його переробки, кормові дріжджі, макух, висівки. Не підлягають мікологічним дослідженням харчові відходи, премікси, трав'яна мука та інші корма, що не мають показників санітарної оцінки.

Дослідження включають органолептичний, токсико-біологічний, мікологічний і фізико-хімічний аналізи (суть якого полягає в розподілі складних сполук органічних та неорганічних речовин на окремі компоненти). Тривалість досліджень не повинна перевищувати при органолептичному аналізі одну добу, при постановці біопроби на мишах - чотири доби, при визначенні токсичності методом шкірної проби на кролику - шість діб, при повному дослідженні (органолептичному, мікологічному, токсико-біологічному, фізико-хімічному) –10 діб.

*Порядок відбору і зберігання проб, що направляються для дослідження.* Проби кормів відбирають комісійно з участю лікарів ветмедицини, зоотехніка, фахівців і представників господарств або підприємств, а в конфліктних випадках з участю представника постачальника і місцевих органів Держстандарту.

Відбір середніх проб кормів проводять відповідно до діючих стандартів «Сільськогосподарська продукція. Методи відбору зразків при карантинному огляді та експертизі».

Відібрану середню пробу ділять на дві частини масою не менше 1кг кожна, упаковують в чисті сухі банки або полотноні мішечки і опечатують. Одну частину проби з актом комісійного відбору і супровідним документом направляють для дослідження, другу зберігають в господарстві або на підприємстві протягом 1 міс, в умовах, що запобігають псуванню. В конфліктних випадках на вимогу представника постачальника йому додатково виділяють частину відібраної в господарстві проби.

В супровідному документі указують мету дослідження, вид кормового засобу, його призначення, масу партії, місце відбору проби, для комбікорму номер і склад рецепту, найменування підприємства-виготовлювача, дату вироблення продукції, позначення стандарту на неї, номер зміни, номер партії.

При виявленні у тварин ознак мікотоксикозу з раціону виключають підозрілі в недоброякісності корми. Для мікологічного дослідження відбирають проби всіх кормів, що входили в раціон протягом 1 міс до прояву хвороби, і залишки їх в годівницях. В цьому випадку в супровідних документах додатково указують дату виникнення захворювання, вид і кількість хворих тварин, основні клінічні ознаки захворювання. У разі загибелі тварин до супровідного документа додають копію акту розтину.

**Завдання 2.** Ознайомитись із загальними правилами роботи у радіологічному відділі.

Перед початком роботи працівники радіологічного відділу повинні пройти навчання і перевірку знань з правил безпечної роботи з радіоактивними речовинами.

*Захист працівників радіологічного відділу від впливу іонізуючого випромінювання, а також розташування та обладнання приміщень радіологічного відділу необхідно здійснювати згідно з наступними вимогами:*

- приміщення та установки, призначені для робіт з джерелами іонізуючого випромінювання, перед початком роботи повинні бути прийняті комісією, до складу якої входять представники лабораторії, органів державного санітарно-епідеміологічного нагляду та інших організацій, передбачених чинними нормативними актами;

- зберігання джерел іонізуючих випромінювань та робота з ними дозволяється тільки після оформлення санітарного паспорта. Санітарний паспорт на право роботи з джерелами іонізуючого випромінювання оформляють місцеві органи Держпродспоживслужби на підставі акта приймання нових (реконструйованих) приміщень або акта санітарного обстеження діючих установ;

- робота з джерелами іонізуючого випромінювання дозволяється тільки в приміщеннях, вказаних в санітарному паспорті. На дверях кожного приміщення вказується його призначення, клас робіт, які в ньому проводяться, та наноситься знак радіаційної безпеки.

Проведення в цих приміщеннях робіт, не пов'язаних із застосуванням джерел випромінювання, допускається тільки у випадку, якщо вони викликані виробничою необхідністю і передбачені у санітарному паспорті;

- до моменту одержання джерел випромінювань адміністрація лабораторії повинна визначити перелік осіб, які будуть

працювати з цими джерелами, і забезпечити відповідне їх навчання та інструктаж, а також призначити наказом по лабораторії осіб, відповідальних за радіаційну безпеку, облік та зберігання джерел випромінювання, організацію збору, зберігання і здачу радіоактивних відходів, за радіаційний



контроль. Одночасно повинні бути розроблені правила внутрішнього розпорядку, які визначають обов'язки працівників;

- адміністрація лабораторії повинна розробити, погодити з органами Держпродспоживслужби та затвердити інструкції з радіаційної безпеки в лабораторії, в яких викладається порядок проведення робіт, обліку, зберігання та видачі джерел випромінювання, збору та видалення радіоактивних відходів, утримання приміщень, заходи індивідуального захисту, організація проведення радіаційного контролю, заходи радіаційної безпеки під час проведення пусконаладжувальних робіт з джерелами іонізуючих випромінювань, заходи попередження, виявлення і ліквідації радіаційної аварії. При зміні умов роботи в інструкції повинні вноситися необхідні уточнення;

- при виявленні у працівників відхилень у стані здоров'я, що перешкоджають продовженню роботи з радіоактивними речовинами, питання про їх тимчасове або постійне переведення на роботу поза контактом з іонізуючим випромінюванням вирішується в кожному окремому випадку індивідуально;

- для жінок репродуктивного віку (до 40 років) вводиться додаткове обмеження опромінення: доза на дільницю таза не повинна перевищувати 1 бер за будь-які 2 місяці. Для решти працівників опромінення не повинно перевищувати 5 бер за рік;

- у лабораторії повинен проводитися індивідуальний дозиметричний контроль із реєстрацією одержаних даних у журналі;

- джерела випромінювання повинні прийматися відповідальною особою, призначеною наказом керівника лабораторії, яка веде облік їхньої наявності й руху в лабораторії, у підзвітних осіб, у сховищах й у відходах;

- радіоактивні речовини, прилади та апарати, що надходять до лабораторії, беруть на облік у прибутково-видатковому журналі, а супровідні документи передаються в бухгалтерію для оприбуткування;

- щорічно комісія, призначена керівником лабораторії, проводить інвентаризацію радіоактивних речовин, приладів та апаратів;

- працівники лабораторії повинні доповідати відповідальним особам про всі порушення та відхилення від нормального режиму роботи, невідповідність засобів індивідуального захисту вимогам до них;

- скляні ємкості, що містять радіоактивні речовини, необхідно розміщувати в металевих або пластмасових посудинах, достатніх для вміщення всієї рідини у випадку, якщо цілість скла порушиться;

- радіоактивні речовини, при зберіганні яких можливе виділення радіоактивних газів, парів або аерозолів, повинні зберігатися у витяжних шафах, боксах, камерах у замкнених посудинах, виготовлених з вогнетривких матеріалів;

- забороняється торкатися радіоактивних препаратів руками. При роботі з ними слід користуватися різного роду маніпуляторами;

- під час роботи в умовах можливого аерозольного забруднення повітря у приміщеннях (роботи з порошками, кип'ятіння радіоактивних розчинів тощо)

необхідно використовувати засоби індивідуального захисту органів дихання.

**Завдання 3.** Вивчити правила безпеки при роботі з радіоактивними речовинами.

*Під час роботи з радіоактивними речовинами необхідно дотримуватися таких заходів безпеки:*

- допускати до роботи з радіоактивними речовинами осіб, які ознайомлені з основними властивостями цих речовин, знають безпечні методи роботи і додержуються правил особистої гігієни;

- проводити роботи з радіоактивними речовинами в спецодезії (халат, шапочка, гумові рукавички);

- не вживати їжу, не пити воду і не курити;

- переливати, випаровувати, пересипати радіоактивні речовини, а також виконувати інші операції, при яких можливе надходження радіоактивних речовин у повітря, слід тільки у витяжних шафах. При цьому вентиляцію вмикають до початку роботи (швидкість відсмоктування повинна бути не менше 1 м/с);

- проводити маніпуляції з радіоактивними речовинами на поверхнях, які легко дезактивуються;

- проводити щоденне прибирання приміщень вологим способом;

- систематично проводити вимірювання рівня радіоактивного забруднення робочих місць у робочих приміщеннях. У випадку виявлення забруднення вжити термінових заходів для їх повного очищення;

- рідкі розчини солей радію в запаяних скляних ампулах та альфа- і бета-еталони зберігати у сейфах;

- тверді й рідкі радіоактивні відходи видаляти з приміщення у спеціальний збірник із дотриманням усіх запобіжних заходів і реєстрацією у журналі видалених відходів;

- після закінчення роботи з радіоактивними речовинами ретельно вимити руки теплою водою з милом, після чого провести дозиметричну перевірку чистоти рук.

У лабораторії повинен постійно знаходитися аварійний запас дезактиваційних засобів.

### ***Контрольні запитання:***

1. Як проводиться екстракція кормів?
2. Як знешкоджують трупи лабораторних тварин, які використовували для біологічних досліджень, культури грибів і заражений ними матеріал?
3. Як проводиться знезараження предметного, покривного скла та піпеток?
4. Які хвороби відносять до групи мікозів?
5. Відбір і пересилка матеріалу для дослідження на мікози.
6. З якою метою проводять санітарно-мікологічні дослідження кормів?

7. Порядок та тривалість дослідження на мікотоксикози.

8. Порядок відбору і зберігання проб, що направляються для дослідження.

9. Заходи у разі виявлення у тварин ознак мікотоксикозу.

10. Згідно яких вимог потрібно здійснювати захист працівників радіологічного відділу від впливу іонізуючого випромінювання, а також розташування та обладнання приміщень радіологічного відділу?

11. В якому журналі ведеться облік радіоактивних речовин, приладів та апаратів, що надходять до лабораторії? Куди передають супровідні документи для оприбуткування?

12. Яких заходів необхідно дотримуватись під час роботи з радіоактивними речовинами?

## ТЕМА 11. ОРГАНІЗАЦІЯ РОБОТИ В ПЛР-ЛАБОРАТОРІЇ

### 11.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

#### 11.1.1. Історія відкриття методу ПЛР

Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) - експериментальний метод молекулярної біології, що дозволяє домогтися значного збільшення малих концентрацій певних фрагментів нуклеїнової кислоти (ДНК/РНК) в біологічному матеріалі (пробі).

Відкриттю полімеразної ланцюгової реакції передувало розвиток молекулярно-біологічних технологій.

У 1869 р. І. Мішером була відкрита ДНК. Біологічна функція нової речовини була не ясна. У 1944 р. вчені О. Евері, К. Мак-Леода і М. Мак-Карті провели ряд експериментів з трансформації бактерій, які довели, що за трансформацію (придбання хвороботворних властивостей нешкідливою культурою в результаті додавання в неї мертвих хвороботворних бактерій) відповідають виділені з пневмококів ДНК.

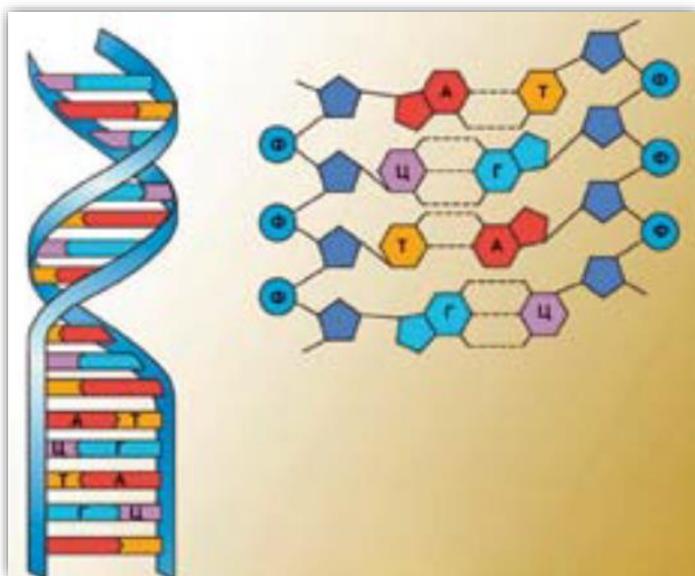
Аж до 50-х років ХХ століття точну будову ДНК і спосіб передачі спадкової інформації залишалися невідомими, хоча і було доведено, що ДНК складається з кількох ланцюжків, що складаються з нуклеотидів.

Кількісні співвідношення між різними типами азотистих основ у складі нуклеотидів ДНК були сформульовані в 1949-1951 рр. групою біохіміка Е. Чаргаффа і отримали назву «правила Чаргаффа». Суть цих правил заключається в наступному:

1. Кількість аденіну (А) дорівнює кількості тиміну (Т), а гуаніну (Г) - цитозин (Ц):  $A = T, G = C$ .

2. Кількість пуринів дорівнює кількості піримідинів:  $A + G = T + C$ .

Правила Чаргаффа, поряд з даними рентгеноструктурного аналізу, зіграли вирішальну роль в розшифровці структури ДНК і визначенні принципу комплементарності Дж. Уотсоном і Ф. Криком в 1953 році. Вчені прийшли до



висновку, що ДНК складається з двох полімерних ланцюгів, утримуваних водневими зв'язками між азотистими основами і утворюють подвійну спіраль.

Рис.1. Принцип комплементарності

При цьому азотисті основи формують парні (комплементарні) комплекси аденін - тимін і гуанін - цитозин при взаємодії ланцюгів нуклеїнових кислот. Кожен ланцюг служить матрицею при синтезі нового ланцюга, а послідовність в ланцюгу, що синтезується задається послідовністю комплементарних основ ланцюга - матриці.

У 1955 р. А. Корнберг відкрив фермент, який назвав ДНК-полімеразою. Цей фермент здатний подовжувати короткі олігонуклеотидні затравки (праймери), приєднуючи до 3'-кінця ланцюга ДНК додатковий нуклеотид, але для цього необхідно, щоб праймер був пов'язаний з комплементарним ланцюгом ДНК (матрицею). Розчин, в якому відбувається ця реакція, повинен містити нуклеозидтрифосфат (дНТФ), які використовуються в якості будівельних блоків.

У 1971р. Клеппе і співавт. представили дані, що стосуються складу інгредієнтів реакційної суміші, і принципи використання коротких штучно синтезованих молекул ДНК-праймерів для отримання нових копій ДНК.

Однак можливість використання ПЛР в плані напрацювання великої кількості копій нуклеїнових кислот ще не розглядалася. Це було пов'язано з технічними труднощами, зумовленими необхідністю трудомісткого синтезу праймерів, і нестабільністю ферменту. На початку використання методу ПЛР після кожного циклу нагрівання - охолодження ДНК-полімерази доводилося додавати в реакційну суміш, так як вона швидко інактивована при високій температурі, необхідної для поділу ланцюгів спіралі ДНК. Процедура була дуже неефективною, вимагала багато часу і ферменту.

У 1975 р. Т. Брок і Х.Фріз відкрили *Thermus aquaticus* – грамнегативну паличкоподібну екстремально термофільну бактерію, а в 1976 р з неї була вперше виділена Таq-полімераза.

Перевагою даного ферменту була здатність стабільно працювати при підвищених температурах (оптимум 72-80°C).

У 1983-1984 р.р. К. Мюлліс провів ряд експериментів по розробці ПЛР і першим почав використовувати Таq-полімеразу замість нестійких до високої температури ДНК-полімерази. Це дозволило прискорити роботи по розробці полімеразної ланцюгової реакції. Крім того, К. Мюлліс разом з Ф. Фалунь розробив алгоритм циклічних змін температури в ході ПЛР.

Таким чином, сформувався принцип використання ПЛР, як методу ампліфікації *in vitro* заданих фрагментів ДНК з повністю або частково відомою послідовністю.

Результатом відкриття ПЛР стало майже негайне практичне застосування методу. У 1985 році Саікі з співавт. опублікували статтю, в якій була описана ампліфікація геномної послідовності  $\beta$ -глобіну. З цього моменту кількість публікацій, про застосування ПЛР в своїх роботах, стало збільшуватися в геометричній прогресії.

Відкриття методу полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) стало одним з найбільш видатних подій в галузі молекулярної біології за останні десятиріччя. Це дозволило підняти медичну діагностику на якісно новий рівень.

Через 8 років після цього за винахід методу ПЛР К. Mullis отримав Нобелівську премію.

Найчастіше ПЛР застосовують для діагностики інфекційних захворювань, що викликаються агентами, які важко піддаються культивуванню, для визначення стійкості мікроорганізмів до антибіотиків, пренатальної діагностики й діагностики спадкових захворювань, тестування донорської крові на вірусні патогени, за різних видів генотипування, визначення батьківства, для виявлення мутацій тощо.

У клінічній діагностиці ПЛР використовують для: ранньої діагностики інфекційних захворювань; виявлення персистуючих, латентних і рецидивних форм інфекцій; контролю ефективності лікування; діагностики опортуністичних інфекцій, які часто відбуваються на тлі імунодефіциту, внаслідок чого поставити діагноз тільки за результатами серологічних досліджень важко.

### **11.1.2. Области застосування ПЛР**

На сьогодні молекулярно-генетичні тести застосовуються у ветеринарній медицині та сільському господарстві для:

- моніторингу та діагностики інфекційних і деяких інвазійних хвороб; географічних особливостей, дрейфу генетичної мінливості та еволюції;
- дослідження молекулярних механізмів імунної відповіді та взаємодії збудника з макроорганізмом;
- контролю якості та безпечності сільськогосподарської продукції, включаючи продукти харчування та корми;
- контролю якості та безпечності генетичних ресурсів тварин;
- контролю циркуляції патогенів у об'єктах довкілля;
- аналізу походження та паспортизації порід продуктивних та непродуктивних тварин тощо.

Непрямым свідченням ефективності та доцільності застосування молекулярно-генетичних тестів є постійно зростаючі обсяги їх впровадження у світі. Лише за останні 10 років вкладення у їх розвиток виростили з 300 млн. доларів США до 3,2 млрд.

#### **Використання методу в медичній практиці:**

##### *1. Діагностика інфекційних захворювань*

ПЛР використовується для діагностики ВІЛ, вірусних гепатитів, герпетичної інфекції, цитомегаловірусу, вірусу Епштейна-Барр, папіломавірусної інфекції, хламідіозної, мікоплазменної і хелікобактерної інфекцій та ін. Основними перевагами ПЛР як методу діагностики інфекційних захворювань є його висока специфічність і чутливість, пряме визначення наявності збудника, висока швидкість отримання результату, можливість діагностики не тільки гострих, а й латентних інфекцій.

Застосування ПЛР для діагностики туберкульозу дозволяє в короткі терміни (до 48 годин) виявити мікобактерії в будь-якому біологічному

матеріалі. Аналітична чутливість комерційних тест-систем дозволяє ідентифікувати поодинокі колонії (до 10 клітин). Це особливо важливо, тому що мікобактерії відрізняються уповільненим ростом при культивуванні на поживних середовищах.

### 2. Онкологічні захворювання

ПЛР є найбільш прийнятним способом точно і швидко визначати аномальну ДНК. Висока чутливість методу дає змогу визначати аномальну ДНК в мізерно малих кількостях, що дозволяє виявляти неопластичні клітини на доклінічній стадії пухлинного процесу. Основні напрямки використання ПЛР у онкологічній патології включають: ДНК-діагностику спадкових форм раку; ДНК-діагностику спорадичних форм раку; визначення мікрометастазів; ДНК-діагностику біологічних канцерогенів (HPV 16-го і 18-го типів, ВЕБ-інфекції, HBV і HCV, ретровіруси тощо); доклінічну діагностику пухлин (визначення протоонкогенів і антионкогенів); прогноз захворювання, успішності призначеної терапії, ефективність проведеного лікування на основі діагностики функціональної активності онкогенів; дослідження "архівних" біопатів з встановленим клініко-гістологічним діагнозом.

### 3. Трансплантологія

Сучасна трансплантаційна хірургія неможлива без використання методу ПЛР, який гарантовано показує ступінь тотожності гомотрансплантатів за антигенами головного комплексу гістосумісності (HLA) класу I і II, відповідальних за реакцію відторгнення. Використовуючи ПЛР для зіставлення генетичної сумісності донора і реципієнта, результати дослідження можна отримати в максимально короткий час.

### 4. Судово-медична практика

За останні кілька років метод ПЛР став основним методом експертної оцінки. Для досліджень можуть використовуватися висушені плями крові, обривки або шматочки органічної тканини (наприклад, кісткової), змиви з носоглотки, зіскрібки з слизової геніталій, і, що найдивніше, фіксовані гістологічні препарати. Генетичні відмінності і збіги визначають, досліджуючи високополіморфні ділянки молекул нуклеїнових кислот, зокрема, ділянки зі змінною кількістю коротких повторів (*variable number of tandem repeats, VNTR*). Аналіз алельних варіантів кількох поліморфних VNTR-локусів дозволяє простежити родинні зв'язки індивідуума чи встановити причетність тієї чи іншої особи до злочину. В даний час в криміналістиці і судовій медицині метод ПЛР використовується для визначення батьківства; ідентифікації особистості невпізнаних трупів; доказу причетності особи до вчинення злочину.

### 5. Персоналізована медицина (фармакогенетика)

Існують індивідуальні відмінності у дії лікарських препаратів на організм людини. Ці відмінності пов'язані з активністю ферментних систем і детермінуються на генетичному рівні. Проведення попереднього генотипування дає змогу встановити індивідуальну дозу препарату для кожного пацієнта.

## **Використання методу ПЛР у сільському господарстві**

1. *Виявлення збудників інфекційних захворювань в організмі тварин, кормах, навколишньому середовищі*

2. *Селекція рослин*

ПЛР дозволяє оцінити генетичну різноманітність вихідного матеріалу, класифікувати селекційні форми, маркувати гени важливих для господарства ознак, картувати геноми.

3. *Виявлення ГМО*

ПЛР дозволяє виявити наявність і кількість ГМО у досліджуваних зразках

4. *Контроль якості сільськогосподарської сировини і продуктів харчування*

## **Використання методу ПЛР у наукових дослідженнях**

1. *Ізоляція генетичного матеріалу*

ПЛР дозволяє легко ізолювати специфічні регіони послідовності ДНК з матеріалу цілого геному з наступним їх використанням в інших генетичних методах.

2. *Секвенування ДНК*

ПЛР є невід'ємною складовою методу секвенування з використанням мічених флуоресцентною міткою або радіоактивним ізотопом дидезоксинуклеотидів, оскільки в ході полімеризації в ланцюг ДНК вбудовуються похідні нуклеотидів, мічені міткою. Приєднання дидезоксинуклеотиду до ланцюга, що синтезується, призводить до припинення синтезу, дозволяючи визначити положення специфічних нуклеотидів після розділення в гелі.

3. *Клонування генів*

Клонування гена – це процес виділення гена і, в результаті генно-інженерних маніпуляцій, отримання великої кількості продукту даного гена. ПЛР використовується для того, щоб ампліфікувати ген, який потім вбудовується у вектор – фрагмент ДНК, який переносить чужорідний ген в той самий чи інший організм, зручний для вирощування. В якості векторів використовують, наприклад, плазміди або вірусну ДНК. Вставку генів у чужорідний організм зазвичай використовують для отримання продукту цього гена – РНК або, найчастіше, білка. Таким чином у промислових кількостях отримують багато білків для використання в сільському господарстві, медицині та ін.

4. *Вимірювання кількості ДНК*

Деякі види ПЛР (наприклад, *Real-time PCR*) дозволяють визначати кількість ДНК у зразку. Що особливо важливо, метод може використовуватися для аналізу надзвичайно невеликих кількостей зразку.

5. *Визначення експресії генів*

У клітинах кожен ген експресується через виробництво матричної, рибосомної або транспортної РНК; мРНК потім використовується для трансляції – синтезу певного білка. Кількість РНК в клітині для даного гену

показує, наскільки ген зараз активний. Використовуючи зворотну транскрипцію для отримання ДНК, комплементарної мРНК (кДНК), а потім ПЛР для ампліфікації цих молекул, можна визначити рівень експресії гена.

## 11.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА

### 11.2.1. Принципи організації ПЛР-лабораторії. Комплексне обладнання для ПЛР-лабораторії

**Мета заняття:** Ознайомити здобувачів з загальними принципами організації роботи з нуклеїновими кислотами (НК) у ПЛР-лабораторії, вимогами до приміщень в ПЛР-лабораторії, вимогами до лабораторного обладнання в ПЛР-лабораторії, з вимогами до обробки приміщень і знезараження матеріалу в ПЛР-лабораторії.

#### *Зміст заняття.*

#### **Організація праці у ПЛР-лабораторіях**

На даний момент організація ПЛР-лабораторії регламентована Методичними вказівками (МУ 1.3. 2569-09) «Організація роботи лабораторій, що використовують методи ампліфікації нуклеїнових кислот при роботі з матеріалом, що містить мікроорганізми I-IV груп патогенності».

ПЛР - високотехнологічний метод, що вимагає дотримання найсуворіших правил оснащення лабораторії. Досить сказати, що в приміщенні повинен бути

встановлений фільтр біологічної очистки зі ступенем 99,9%, оскільки в повітрі постійно присутній неймовірний коктейль із фрагментів ДНК усіляких живих організмів, і в процесі підготовки до проведення реакції зразок може бути забруднений з навколишнього

середовища. Це є, напевно, однією з найсерйозніших проблем

при проведенні ПЛР-діагностики - можливість контамінації.

Потрапляння в реакційну пробірку слідів позитивної ДНК (специфічних продуктів ампліфікації ДНК - амплікон; ДНК-стандарту, використовуваного як позитивний контроль; позитивної ДНК клінічного зразка) приводить до ампліфікації в процесі ПЛР специфічного фрагмента ДНК і, як наслідок, до появи хибно позитивних результатів.



У процесі роботи можуть зустрітися два види контамінації:

1) перехресна контамінація від проби до проби (в процесі обробки клінічних зразків або при розкрапуванні реакційної суміші), яка призводить до появи спорадичних хибно позитивних результатів;

2) контамінація продуктами ампліфікації (амплікону), що має найбільше значення, оскільки в процесі ПЛР амплікони накопичуються у величезній кількості та є ідеальними продуктами для реампліфікації.

Згідно з даними МУ лабораторія відповідно до етапів проведення аналізу повинна включати наступний набір послідовно розташованих самостійних робочих зон (приміщень) або окремо виділених робочих зон в складі інших функціональних приміщень, кількість яких визначається використовуваними МАНК:

– прийому, реєстрації, розбору і первинної обробки матеріалу (*Робоча зона 1*);

– виділення нуклеїнових кислот (*Робоча зона 2 або «чиста» зона*);

– проведення реакції ампліфікації і обліку її результатів при використанні гібридизаційним -  
флуоресцентного методу  
детекції (*Робоча зона 3*);

– обліку результатів  
реакції ампліфікації  
нуклеїнових кислот методом  
електрофорезу і (або)  
гібридизаційним -  
ферментним методом  
детекції (*Робоча зона 4-1*);

– обліку результатів  
(детекції) продуктів  
ампліфікації нуклеїнових  
кислот методом  
секвенування і (або) на ДНК-  
чіпах (*Робоча зона 4-2*).



При детекції методом гібридизації в процесі ампліфікації можливе суміщення Робочої зони 2 і Робочої зони 3 в одному приміщенні при наявності в ньому окремих боксів біологічної безпеки II або III класу для кожної з робочих зон.

Детектуючі прилади розміщують в суміжних з чистою зоною приміщеннях, і всі операції можуть бути виконані одним співробітником.

Робочі зони 4-1 і 4-2 розташовують ізольовано від Робочих зон 1-3 для запобігання їх контамінації продуктами ампліфікації через повітряний потік.

Виконання робіт в цих зонах має здійснюватися окремим персоналом, що не задіяним на інших етапах проведення аналізу.

Приміщення лабораторії повинні бути боксові (боксы з передбоксами) і обладнані припливно-витяжною вентиляцією (відповідно до СП 1.3.1285-03 і (або) СП 1.3.2322-08), водопроводом, каналізацією, електрикою і опаленням.

До складу лабораторії можуть бути включені допоміжні приміщення (кімнати персоналу, роздягальні для співробітників, кімната прийому їжі, підсобні (складські) приміщення), які повинні бути винесені за межі робочої зони відповідно до чинних санітарних правил, що регламентують забезпечення безпеки робіт з мікроорганізмами I-IV групи патогенності.

Передачу досліджуваного матеріалу в Робочу зону 1 і проб при суміжному розташуванні приміщень Робочих зон 1, 2, 3 бажано здійснювати через шлюзові передавальні вікна, а в Робочі зони 4-1 і 4-2 - через передавальні вікна.

Забороняється внесення пробірок з позитивними контролями або клінічними зразками в кімнату підготовки реакційної суміші («чисту» зону) як до, так і після їх обробки.

У приміщеннях робочих зон повинні бути встановлені бактерицидні лампи, режим роботи яких регламентований Р 3.5.1904-04.М.: 2005.

При дослідженні матеріалу, підозрілого в зараженні мікроорганізмами I-IV груп патогенності, всі маніпуляції в Робочих зонах 1 і 2, включаючи маніпуляції, що супроводжуються ризиком утворення аерозолі (струшування, центрифугування тощо) при обробці матеріалу і виділення нуклеїнових кислот, виконують в боксах біологічної безпеки II або III класу.

Кожна самостійна робоча зона повинна бути оснащена мінімальним



набором відповідного лабораторного обладнання в залежності від їх функціонального призначення та ризику контамінації, необхідним комплектом меблів, пластикового та скляного посуду, витратних матеріалів, захисного одягу та інвентарю для прибирання, використовуваних тільки в даному приміщенні.

Роботу потрібно виконувати в лабораторному одязі, який необхідно змінювати при переході з одного приміщення в інше, і в одноразових рукавичках.

Одяг з різних приміщень слід обробляти окремо. Бажано, щоб на різних етапах проведення ПЛР-аналізу працювали різні співробітники.

Слід використовувати окремі набори дозаторів, пластикового та скляного посуду, лабораторного обладнання, халатів і рукавичок, призначених для різних стадій аналізу, які не можна переносити з одного приміщення в інше. Обладнання, матеріали та інвентар у кожній кімнаті повинні мати відповідне маркування.



Всі етапи роботи необхідно проводити тільки з використанням одноразових витратних матеріалів: наконечників для автоматичних піпеток, пробірок, рукавичок тощо.

Обов'язково потрібно міняти наконечники при переході від проби до проби. Бажано використовувати наконечники з фільтром - аерозольним бар'єром для запобігання потраплянню мікрокрапель розчину в піпетку.

Використані пробірки і наконечники треба скидати у спеціальні контейнери або посудину, що містять дезінфекційний розчин.

## **Перелік устаткування ПЛР-лабораторії**

### ***1. Для обробки матеріалів і виділення нуклеїнових кислот***

1. Центрифуга для пробірок об'ємом 5-100 мл.
2. Центрифуга – вортекс.
3. Мікроцентрифуга від 12 до 16 000 g для мікроцентрифужних пробірок об'ємом 1,5 мл.
4. Термостат для пробірок об'ємом 1,5 мл із діапазоном робочих температур 25-100°C.
5. Окремий набір автоматичних дозаторів варіабельного об'єму.
6. Одноразові поліпропіленові мікроцентрифужні пробірки, які

загвинчуються або щільно закриваються кришками об'ємом 1,5 мл.

7. Одноразові наконечники для варіабельних дозаторів з аерозольним бар'єром до 200 і до 1000 мкл.

8. Одноразові наконечники для дозаторів варіабельного об'єму до 200 мкл.

9. Штативи для наконечників, мікропробірок об'ємом 1,5 мл.

10. Холодильник з камерами, які підтримують температуру від 2 до 8°C, мінус 20°C.

11. Ємність із дезінфікуючим розчином.



## *II. Для приготування ПЛР-суміші і проведення ампліфікації*

1. Настільний бокс із бактерицидною лампою.

2. Ампліфікатор

3. Окремий набір автоматичних дозаторів варіабельного об'єму.

4. Одноразові поліпропіленові пробірки для ампліфікації об'ємом 0,5 (0,2) мл.

5. Одноразові наконечники для варіабельних дозаторів з аерозольним бар'єром до 100 мкл.

6. Штативи для наконечників, мікропробірок на 0,5 (0,2) мл.

7. Холодильник з камерами, які підтримують температуру від 2 до 8°C, мінус 20°C.

8. Ємність для відпрацьованого розхідного матеріалу.



## *III. Для електрофоретичного аналізу продуктів ПЛР*

1. Камера для горизонтального електрофорезу.

2. Джерело постійного струму з напругою 150-460 В.

3. Трансілюмінатор із кабінетом для огляду гелів.

4. Комп'ютер для аналізу результатів електрофорезу.

5. Мікрохвильова піч для плавлення агарози.

6. Колба конічна з термостійкого скла для плавлення агарози об'ємом 250

мл.

7. Мірний циліндр об'ємом 1 л.
8. Відеосистема з цифровою відеокамерою для реєстрації результатів.
9. Штатив для мікропробірок на 0,5 мл.
10. Окремий автоматичний дозатор 10-40 мкл.
11. Одноразові наконечники для варіабельних дозаторів об'ємом до 200 мкл у штативі.
12. Холодильник з камерами, які підтримують температуру від 2 до 8°C.
13. Ємність для використаного розхідного матеріалу.

#### ***IV. Для гібридизаційно-ферментної детекції продуктів ПЛР***

1. Термостат плашковий, який підтримує температуру 37°C.
2. Вошер (не обов'язково).
3. Комп'ютер (має бути зв'язаний через комп'ютерну сітку з комп'ютером, який розміщується в чистій зоні і використовується для обліку результатів гібридизації).
4. Восьмиканальний дозатор до 200 мкл.
5. Окремий набір одноканальних варіабельних дозаторів.
6. Одноразові наконечники для варіабельних дозаторів.
7. Мірний циліндр об'ємом 1 л.
8. Холодильник із камерою, що підтримує температуру від 2 до 8°C.
9. Ємність для використаного розхідного матеріалу.



#### ***Контрольні запитання:***

1. Задачі ПЛР-лабораторії ветеринарної медицини.
2. Які зони обов'язково мають бути у ПЛР-лабораторії?
3. Правила роботи і поведінки у ПЛР-лабораторії.
4. Який перелік обладнання має бути у ПЛР-лабораторії?

## ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

1. В який журнал проводиться запис про матеріал, який надходить у лабораторію для дослідження?

- А. Вхідний журнал лабораторії.
- Б. Вихідний журнал лабораторії.
- В. Журнал обліку матеріалу.
- Г. Робочий журнал.

2. Як проводиться знезараження відпрацьованого (досліджуваного) матеріалу у випадку виділення із патологічного матеріалу збудника сибірки, або спорових анаеробних хвороб?

- А. Автоклавують при 1,5 атм. протягом 1 год.
- Б. Автоклавують при 2 атм. протягом 1 год., з подальшим контрольним висівом на живильні середовища.
- В. Автоклавують при 1,5 атм. протягом 2 год. з подальшим контрольним висівом на відповідні живильні середовища.

3. Де зберігають мазки із патологічного матеріалу у лабораторії до фіксації та фарбування?

- А. У опечатаній шафі.
- Б. У кюветі.
- В. У сейфі.
- Г. Під скляним ковпаком.

4. Бактеріологічні дослідження здійснюють:

- А. При діагностиці хвороб вірусної етіології.
- Б. При діагностиці хвороб бактерійної етіології.
- В. У ветсанекспертизі.
- Г. У вірусології

5. З якою метою готують мазки для мікроскопічного дослідження?

- А. Для виявлення форм бактерій.
- Б. Для вивчення культуральних властивостей.
- В. Для вивчення структурних і деяких біохімічних властивостей.
- Г. Для вивчення біохімічних властивостей.

6. Приведіть у відповідність метод фіксації мазків із патматеріалу для бактеріологічного дослідження, та його термін:

*Методи фіксації*

- А. 96° етиловий спирт
- Б. Суміш Никифорова
- В. Метилловий спирт
- Г. Полум'ям пальника
- Д. Ацетон

*Термін*

1. 2-3 с.
2. 10-12 хв.
3. 5-10 хв.
4. 5 хв.
5. 15 хв.

7. *Який існує мікроскопічний метод виявлення рухливості бактерій?*

- А. Романовського- Гімза.
- Б. «Роздавлена крапля»
- В. Грама
- Г. Шукевича
- Д. «Висяча крапля»

8. *Як проводиться знезараження інструментів, скла та ін. предметів, які використовували при дослідженні матеріалу, в якому були виділені не спорові збудники, або при отриманні негативних результатів?*

- А. Шляхом автоклавування при 2 атм. протягом 1 год.
- Б. Шляхом кип'ятіння 30 хв. в розчині соди.
- В. Поміщають у 5% розчин хлораміну.
- Г. Стерилізують у сушильній шафі.

9. *Як називають процес зараження стерильного живильного середовища досліджуваним матеріалом?*

10. *Де проводять первинні посіви із патматеріалу і клінічного матеріалу?*

- А. У бактеріологічному відділі, або в його боксі.
- Б. У секційній, або в її боксі.
- В. У бактеріологічному відділі.
- Г. У боксі.

11. *У якій системі мікроскопу вивчають рухливих бактерій?*

- А. Світловій
- Б. Імерсійній
- В. Темнопільній
- Г. Люмінісцентній

12. *З якою метою проводиться фіксація мазків?*

- А. Для закріплення матеріалу на склі.
- Б. Для виявлення форм бактерій.
- В. Для вивчення структурних властивостей.
- Г. Знепліднення мікроорганізмів.
- Д. Для кращого фарбування.

13. *При простому методі фарбування використовують:*

- А. Декілька барвників
- Б. Один барвник
- В. Декілька барвників і спеціальні реактиви

14. *Приведіть у відповідність методи фарбування:*

- А. Фарбування капсул
- Б. Фарбування спор
- В. Фарбування бруцел
- Г. Фарбування кислотостійких мікроорганізмів

1. Метод Ціля-Нільсена
2. Метод Златогорова
3. Метод Міхіна
4. Метод Романовського-Гімза
5. Метод Ольта
6. Метод Козловського

15. *На якому середовищі вивчають наступні властивості мікроорганізмів?*

<u>Властивості</u>	<u>Середовище</u>
А. Гемолітичні	1. Сімонса
Б. Ферментація вуглеводів	2. Гіса
В. Визначення протеолітичної активності	3. Агар із сечовиною
Г. Засвоєння нітратних і амонійних солей	4. МПЖ
Д. Утворення сірководню	5. Кров'яний агар

16. *Проведіть класифікацію серологічних реакцій:*

<u>Тип реакцій</u>	<u>Назва реакцій</u>
А. нейтралізуючі	1. Кільцева реакція з молоком
Б. лізуючі	2. Реакція зв'язування комплементу
В. осадові	3. Роз-бенгал проба
	4. Реакція нейтралізації
	5. Кров'яно-крапельна реакція
	6. Реакція імунної дифузії в агарі
	7. Реакція аглютинації.

17. *Вкажіть які компоненти входять до складу нижче приведених систем РЗК:*

<u>Системи</u>	<u>Компоненти</u>
А. Гемолітична	1. Комплемент
Б. Бактеріолітична.	2. Еритроцити барана
	3. Досліджувана сироватка
	4. Гемолізін
	5. Специфічний антиген
	6. Еритроцити морської свинки

18. Реакція аглютинації використовується:

- А. Для виявлення корпускулярних антигенів.
- Б. Для виявлення антитіл у дослідній сироватці шляхом підбору специфічних корпускулярних антигенів біофабричного виробництва.
- В. Для виявлення преципітиногенів.
- Г. Для виявлення преципітинів.

19. Який позитивний результат реакції утворюється при постановці РА крапельним (пластинчатим) методом?

- А. В краплі утворюються пластівці, або крупка. Крапля просвітлюється.
- Б. Крапля залишається каламутною.
- В. Крапля просвітлюється.
- Г. В краплі утворюються пластівці, або крупка.

20. Яке розведення називають титром сироватки?

- А. Найперше розведення, при якому ще одержують виразний негативний результат.
- Б. Останнє розведення, при якому ще одержують виразний негативний результат.
- В. Найперше розведення, при якому ще одержують виразний позитивний результат.
- Г. Останнє розведення, при якому ще одержують виразний позитивний результат.

21. Яку назву носять антитіла, які приймають участь у РЗК?

- А. Антигенфіксуючими.
- Б. Комплементфіксуючими.
- В. Гемолізін фіксуючими.

22. Роз-бенгал проба (РБП) використовується для діагностики:

- А. Напруги імунітету.
- Б. Лейкозу.
- В. Бруцельозу.
- Г. Лептоспірозу.

23. Який позитивний результат утворюється при кільцевій реакції з молоком?

- А. Утворюється сине кільце у верхньому шарі вершків. Стовпчик молока при цьому знебарвлюється.
- Б. Стовпчик молока залишається синім.
- В. Стовпчик молока знебарвлюється.
- Г. Утворюється біле кільце у верхньому шарі вершків. Стовпчик молока при цьому синій.

24. Постановку крові-крапельної реакції аглютинації (ККРА) використовують для діагностики:

- А. Бруцельозу
- Б. Лептоспірозу
- В. Лейкозу
- Г. Пулорозу птахів.

25. Яку назву носять антитіла, які приймають участь у РЗК?

- А. Антигенфіксуючими.
- Б. Комплементфіксуючими.
- В. Гемолізін фіксуючими.

26. Антитіла, які при додаванні еритроцитів спричинюють їхній гемоліз (руйнування) називають:

- А. Опсоніни.
- Б. Гемолізини
- В. Лізини.
- Г. Преципітини

27. Яке явище лежить в основі всіх серологічних реакцій?

- А. Неспецифічна взаємодія антигенів і антитіл
- Б. Специфічна взаємодія антигенів і антитіл.
- В. Специфічна взаємодія антигенів.
- Г. Неспецифічна взаємодія антитіл.

28. Який позитивний результат утворюється при кільцевій реакції з молоком?

- А. Утворюється сине кільце у верхньому шарі вершків. Стовпчик молока при цьому знебарвлюється.
- Б. Стовпчик молока залишається синім.
- В. Стовпчик молока знебарвлюється.
- Г. Утворюється біле кільце у верхньому шарі вершків. Стовпчик молока при цьому синій.

29. Серологічні реакції можуть проходити лише в:

- А. Ізотонічному середовищі
- Б. Буферному середовищі
- В. Гіпертонічному середовищі

30. Як називають антитіла що приймають участь у наступних реакціях:

- А. Преципітації
  - Б. Аглютинації
1. Аглютиногени
  2. Преципітини
  3. Антипреципітини
  4. Аглютиніни

31. З якою метою проводиться постановка РА крапельним (пластинковим) методом?

- А. Для визначення преципітинів.

- Б. Для орієнтовної типізації збудника або ж виявлення антитіл.
- В. Для визначення антитіл.

32. Для діагностики якого захворювання застосовують реакцію мікроаглютинації?

- А. Для діагностики лейкозу
- Б. Для діагностики бруцельозу
- В. Для діагностики лептоспірозу
- Г. Для діагностики сибірки

33. При якому захворюванні спостерігається гіпохромія?

- А. При дефіциті вітаміну В12
- Б. При залізодефіцитних анеміях
- В. При гемолітичних анеміях
- Г. При мієлотоксичних анеміях

34. Як називають виділення сироватки із кров'яного згустку в процесі його скорочення?

35. Який розчин використовується для дезінфекції інфікованого посуду, трупів тварин після вірусологічного дослідження.

- А. 5% хлорамін
- Б. 5% карболова кислота
- В. 2% розчин лугу
- Г. 1% розчин соляної кислоти

36. В якій реакції використовують антитіла конюговані флуоресціюючими речовинами?

- А. РІД
- Б. РІФ
- В. РЗГА
- Г. РЗК

37. Привести у відповідність оцінку реакції гемаглютинації:

- А. Позитивно
  - Б. Негативно
1. Осідання еритроцитів у вигляді зернистості
  2. Осідання еритроцитів у вигляді перевернутої парасольки
  3. Осідання еритроцитів у вигляді пластівців.
  4. Осідання еритроцитів у вигляді гудзичка.

38. Які розчини та живильні середовища використовують для вирощування культур клітин?

- А. Розчин Хенкса
- Б. МПБ
- В. МПА
- Г. Середовище Ігла
- Д. Середовище 199

39. У ветеринарній практиці кільцеву РІП широко застосовують для:
- А. Виявлення антигену збудника сибірки в шкірі, вовні, трупному матеріалі.
  - Б. Виявлення антигену збудника лейкозу в крові.
  - В. Виявлення антигену збудника бруцельозу в шкірі, вовні, трупному матеріалі.

40. Що стерилізують у автоклаві?

- А. Культури бактерій
- Б. МПА, МПБ
- В. Пробірки, чашки Петрі
- Г. Патологічний матеріал

41. Тиндалізація - це:

- А. Дробова пастеризація
- Б. Дробова стерилізація
- В. Дробове автоклавування
- Г. Дробова фільтрація

42. Стерилізацію під тиском проводять в:

- А. Автоклаві
- Б. Печі Пастера
- В. Апараті Коха
- Г. Дистиляторі

43. При пастеризації гинуть:

- А. Усі мікроорганізми та спори
- Б. Усі мікроорганізми та мікроскопічні гриби
- В. Усі мікроорганізми, спори – залишаються
- Г. Усі спори

44. В апараті Коха стерилізують:

- А. Живильні середовища
- Б. Живильні середовища, лабораторний посуд
- В. Лабораторний посуд
- Г. Культури бактерій

45. Культуру одного й того ж виду, яку виділено з різних джерел, або з одного джерела в різні часи, називають:

- А. Варіантом
- Б. Штамом
- В. Родом
- Г. Родиною

46. Де стерилізують скляний посуд?

- А. Автоклав
- Б. Піч Пастера

- В. Апарат Коха
- Г. Стерилізатор

47. Як називається сукупність процесів, спрямованих на захист організму від генетично чужорідних субстанцій і збереження постійності внутрішнього середовища?

- А. Неспецифічна (природна) резистентність
- Б. Імунологічна реактивність
- В. Імунологічний нагляд
- Г. Імунітет

48. Як називається імунітет, що виникає внаслідок перехворювання?

- А. Природний
- Б. Активний
- В. Постінфекційний
- Г. Нестерильний (інфекційний).

49. Як називається імунітет, що виникає внаслідок вакцинації?

- А. Штучний.
- Б. Активний.
- В. Стерильний.
- Г. Поствакцинальний.

50. Як називається імунітет, що забезпечується Т-лімфоцитами?

- А. Активний.
- Б. Гуморальний.
- В. Клітинний.
- Г. Секреторний.

51. Яка кардинальна особливість противірусного імунітету?

- А. Захист клітин від вірусної генетичної інформації та пригнічення репродукції вірусу.
- Б. Нейтралізація антитілами інфекційної активності вірусу.
- В. Фагоцитоз віріонів і заражених клітин.
- Г. Комплементозалежний лізис віріонів і заражених клітин.

52. Назвіть функції Т-лімфоцитів:

- А. Розпізнавання, обробка і презентація антигену.
- Б. Забезпечення клітинного імунітету і регуляція імунної відповіді.
- В. Забезпечення гуморального імунітету.
- Г. Бар'єрна функція (недопущення збудника в кров і лімфу).

53. Назвіть функції В-лімфоцитів:

- А. Розпізнавання, обробка і презентація антигену.
- Б. Забезпечення клітинного імунітету і регуляція імунної відповіді.

- В. Забезпечення гуморального імунітету.
- Г. Бар'єрна функція (недопущення збудника в кров і лімфу).

54. *Клінічна ферментологія – це розділ клінічної біохімії, що вивчає:*

- А. Ферментопатії.
- Б. Ферментодіагностика.
- В. Ензими.
- Г. Ферментотерапія.

55. *За хімічною будовою ферменти це:*

- А. Білки.
- Б. Вуглеводи.
- В. Ліпіди.
- Г. Похідні нуклеїнових кислот.

56. *Клінічна ферментопатія, що протікає із типовими симптомами це:*

- А. Доброякісна фруктозурія.
- Б. Ниркова глюкозурія.
- В. Порфірія.
- Г. Галактоземія.

57. *Дефіцит вітаміну B<sub>2</sub> негативно впливає на:*

- А. Накопичення продуктів перекисного окиснення ліпідів, які інактивують ферменти, у тому числі дихальні.
- Б. Порушення обміну вуглеводів, амінокислот, жирних кислот, призводить до розвитку шкірної патології, затримки росту і загибелі.
- В. Порушення функції ферментів пентозного циклу, коферменту А і ряду ензимів циклу трикарбонових кислот.
- Г. Блокування утворення пігменту меланіну і розвивається альбінізм.

58. *Для діагностики дистрофії печінки у сироватці крові визначають активність:*

- А. Аспартатамінотрансферази (АсАТ).
- Б. Аланінамінотрансферази (АлАТ).
- В. Лактатдегідрогенази (ЛДГ).
- Г. Лужної фосфатази (ЛФ).

59. *Ампліфікатор виконує функцію:*

- А. Денатурацію ДНК
- Б. Гібридизацію ДНК
- В. Елонгацію ДНК
- Г. Усі разом

59. *Детекція продуктів рестрикції реакції ПЛР-ПДРФ відбувається:*

- А. В агарозному гелі

- Б. На екрані комп'ютера
- В. За допомогою транслюмінатора
- Г. В усіх

60. Детекція продуктів ампліфікації реакції ПЛР-РЧ відбувається:

- А. В агарозному гелі
- Б. На екрані комп'ютера
- В. За допомогою транслюмінатора
- Г. В усіх

61. Для фенольно-хлороформної екстракції ДНК необхідно мати зразки:

- А. Крові
- Б. Тканин
- В. Молока
- Г. Усі

62. Для чого проводять спектрофотометричний аналіз виділеної ДНК.

- А. Визначення концентрації ДНК
- Б. Визначення чистоти ДНК
- В. Визначення щільності ДНК
- Г. Усі

63. Мікросателітні локуси ДНК характеризуються:

- А. Є одними з найполіморфніших ділянок ДНК
- Б. Високими темпами мутацій
- В. Селективно-нейтральними
- Г. Усі ознаки

64. Які іони ініціюють роботу ферменту при ПЛР-ампліфікації ДНК:

- А.  $Mg^{2+}$
- Б.  $Na^{+}$
- В.  $Zn^{2+}$
- Г.  $K^{+}$

65. Фермент, що використовують при ПЛР-ампліфікації ДНК:

- А. АТФ-аза
- Б. Таг-полімераза
- В. Каталаза
- Г. Рестриктаза

66. До етапів ПЛР не належить:

- А. Ініціація

Б Відпал  
В. Денатурація ДНК  
Г. Ампліфікація

*66. Полімеразну ланцюгову реакцію розробив:*

А. Берг  
Б. Мюлліс  
В. Саузерн  
Г. Гилберт

*67. Метод лабораторної діагностики, що дозволяє ідентифікувати ДНК збудника в матеріалі, що досліджується:*

А. ПЛР  
Б. ІФА  
Г. РІД  
Г. ELISSA

*68. Стадії постановки ПЛР:*

А. Пробопідготовка, детекція  
Б. Денітрифікація  
В. Детекція, елонгація  
Г. Пробопідготовка, ампліфікація, детекція

*69. Керівником служби ветеринарної медицини господарства і організатором ветеринарно-санітарних і лікувальних заходів є:*

А. Директор господарства.  
Б. Головні лікарі ветеринарної медицини господарства.  
В. начальник районної (міської) державної лікарні ветеринарної медицини.  
Г. начальник управління ветеринарної медицини районна (міста).

*70. В своїй діяльності головний лікар ветеринарної медицини господарства підпорядковується:*

А. По адміністративним питанням – директору господарства.  
Б. По професійним питанням – начальнику районної (міської) державної лікарні ветеринарної медицини.  
В. По професійним питанням – головному лікарю ветеринарної медицини району (міста).  
Г. Усе вірно.

*71. Хто відповідає за ветеринарно-санітарний стан господарства, своєчасне проведення комплексу профілактичних і лікувальних заходів, виконання вимог*

*ветеринарного законодавства?*

- А. Головний лікар ветеринарної медицини господарства разом з керівником господарства.
- Б. Головний лікар ветеринарної медицини господарства, магістр лікар та фельдшер ветеринарної медицини господарства.
- В. Усі спеціалісти ветеринарної медицини господарства, крім головного лікаря.
- Г. Головний лікар ветеринарної медицини господарства, спеціалісти ветеринарної медицини господарства, обслуговуючий персонал, ветеринарні санітари.

*72. Спеціалісти ветеринарної медицини господарства мають право:*

- А. Відвідувати об'єкти ветеринарного контролю, які розташовані в межах господарства у робочий час, а при стемпінг-ауті: у будь-який час доби.
  - Б. Безперешкодно відвідувати об'єкти ветеринарного контролю в межах господарства у будь-який час доби.
- Не забороняти пересування в господарстві підозрюваних у хворобі та хворих тварин:
- Г. Видавати ветеринарні свідоцтва на переведення тварин, тваринницької продукції.

*73. Головний лікар ветеринарної медицини господарства видає на тварин, сировину тваринницького походження:*

- А. Ветеринарні довідки, свідоцтва форми 1-вет, форми 2-вет.
- Б. Лише ветеринарні свідоцтва форми 1-вет, 2-вет.
- В. Лише ветеринарні довідки.
- Г. Лише товарно-транспортну накладну та рахунок-фактуру.

*74. Обов'язки серед спеціалістів ветеринарної медицини господарства та контроль їх виконання за функціональним принципом розподіляє:*

- А. Начальник районної Державної лікарні ветеринарної медицини.
- Б. начальник відділу кадрів господарства.
- В. Головний лікар ветеринарної медицини господарства.
- Г. Директор господарства.

*75. Одна посада головного лікаря ветеринарної медицини господарства, якщо умовних голів:*

- А. Більше 800.
- Б. До 800.
- В. Більше 850.
- Г. 1700.

*76. Який документ присилає облзооветпромстач при розподілі державних товарів для державних лікарень ветеринарної медицини:*

- А. Довіреність.
- Б. Податкову накладну.
- В. Накладну або рахунок-фактуру.
- Г. Рознарядку.

*77. Журнал, в якому записуються діагностичні дослідження, щеплення, проти паразитарні обробки тварин, ветеринарно-санітарні роботи:*

- А. Сільгоспоблік, форма № 1-вет.
- Б. Сільгоспоблік, форма № 2-вет.
- В. Сільгоспоблік, форма № 3-вет.
- Г. Сільгоспоблік, форма № 33-вет.

*78 Журнал, який служить основним документом обліку лікувальної роботи, що проводиться ветеринарними установами, приватними лікарнями ветеринарної медицини:*

- А. Сільгоспоблік, форма № 1-вет.
- Б. Сільгоспоблік, форма № 2-вет.
- В. Сільгоспоблік, форма № 3-вет.
- Г. Сільгоспоблік, форма № 33-вет.

*79. Журнал обліку результатів огляду забійних тварин і ветеринарно-санітарної експертизи м'яса і м'ясопродуктів на забійному пункті:*

- А. Сільгоспоблік, форма № 1-вет.
- Б. Сільгоспоблік, форма № 2-вет.
- В. Сільгоспоблік, форма № 3-вет.
- Г. Сільгоспоблік, форма № 33-вет.

*80. Журнал обліку дослідження риби, профілактичних і оздоровчих заходів в рибгоспі:*

- А. Сільгоспоблік, форма № 33-вет.
- Б. Сільгоспоблік, форма № 11-вет.
- В. Сільгоспоблік, форма № 22-вет.
- Г. Сільгоспоблік, форма № 44-вет.

## ВИКОРИСТАНА ТА РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Біохімічні дослідження у клініці. Ф.И. Комаров, Б.Ф. Коробкін. Київ: Мед-прес інформ, 2002. 475 с.
2. Ветеринарна мікробіологія. / Скибіцький В.Г., Власенко В.В., Козловська Г.В., Ібатулліна Ф.Ж., Ташута С.Г., Мельник М.В. Київ: ТОВ «ДорадоДрук», 2012. 367 с.
3. Ветеринарна мікробіологія: підручник / Скибіцький В.Г., Власенко В.В., Козловська Г.В., Ібатулліна Ф.Ж., Ташута С.Г., Мельник М.В. Київ: ТОВ «ЗАТ Нічлава», 2015. 367 с.
4. Векірчик К.М. Мікробіологія з основами вірусології. Підручник. Київ: Либідь, 2001. 312 с.
5. Ветеринарно-санітарна мікробіологія: навчальний посібник / Козловська Г. В., Івченко В. М., Скибіцький В. Г. Київ: НУБіП України, 2019. 410 с.
6. Галатюк О. Є., Радзиховений М. А. Організація профілактичних та оздоровчих заходів при інфекційних хворобах тварин: Методичний посібник. Житомир Рута. 2019. 456 с.
7. Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захарія Е.А., Западнюк Б.В. Лабораторні тварини. Розведення, утримання, використання в експерименті. Київ: Вища школа, 2003. 380 с.
8. Електронний посібник до вивчення курсу «Організація лабораторної справи з системою управління якістю лабораторних досліджень» / Т. М. Шевченко, П.М. Полушкін Дніпро: ДНУ, 2014. 128 с.
9. Калініна О.С., Панікар І.І., Скибіцький В.Г. Ветеринарна вірусологія. Київ: «Вища освіта». 200Г. 432 с.
10. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: Довідник. За ред. В. В. Влізла. Львів: СПОЛОМ. 2012. 764 с.
11. Методи ветеринарної клінічної лабораторної діагностики: довідник / Під ред. проф. І.П. Кондрахіна. Колос. 2006. 132 с.
12. Організація мікробіологічних досліджень. Під ред. В.М.Ослопова, Київ: Медпрес – Інформ, 2000. 348 с.
13. Недосєков В.В., Шевчук В.М., Ситнік В.А., Хаунхорст Е., Жуковський, М.О. Організація та економіка ветеринарної справи. Київ: НУБіП України. 2019. 396 с.
14. Положення про державні лабораторії ветеринарної медицини. Міністерство аграрної політики України. Держдепартамент ветмедицини. Київ, 2003. 87 с.
15. Правила охорони праці в лабораторіях ветеринарної медицини. Міністерство праці та соціальної політики. Комітет за охороною праці України . Державний нормативний акт про охорону праці. Київ, 2000. 176 с.
16. Скибіцький В.Г., Власенко В.В., Ібатулліна Ф.Ж., Козловська Г.В., Ташута С.Г., Мельник М.В. Ветеринарна мікробіологія: підручник / За ред. Скибіцького В.Г., Власенко В.В. (2-е вид., змін. і доповнене. Київ: ЦП Компрінт. 2016. 422 с.

17. Санітарна мікробіологія: навчальний посібник / Козловська Г.В., Мельник М.В. Київ: НУБіП України, 2019. 167 с.

18. Соломон А.М., Казмірук Н.М., Тузова С.Д. Мікробіологія харчових виробництв: навчальний посібник для здобувачів напряму підготовки «Харчові технології». Вінниця: РВВ ВНАУ. 2020. 312 с.

19. Якубчак О.М., Хоменко В.І., Мельничук С.Д., Кравців Р.Й., Микитюк П.В., Козак М.В., Олійник Л.В. Ветеринарно-санітарна експертиза з основами технології і стандартизації продуктів тваринництва: підручник. Київ, 2005. 800 с.



**Супрович Тетяна Михайлівна  
Чорний Ігор Олександрович**

## **ЛАБОРАТОРНІ МЕТОДИ ДІАГНОСТИКИ ХВОРОБ ТВАРИН**

### **Навчальний посібник**

Рекомендовано до друку рішенням методичної ради ЗВО «Подільський державний університет»

(протокол № \_ від \_\_ березня 2023 року)

Формат 60x84/16. Гарнітура Times. Папір офсетний. Ум. друк. арк. 17,34

Заклад вищої освіти «Подільський державний університет»  
вул. Шевченка, 13 м. Кам`янець-Подільський, Хмельницька область,  
32000