МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА И ПРОДОВОЛЬСТВИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УО «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия ветеринарной медицины»

СОГЛАСОВАНО
Первый заместитель директора Департамента ветеринарного и продовольственного надзора Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь

_____ И. И. Смильгинь
«28» 11 2017 г.

УТВЕРЖДАЮ
Ректор УО «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия ветеринарной медицины»

_____ Н. И. Гавриченко
«29» ноября 2017 г.

Регистрационный номер 02-1-31/33

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОТБОРУ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

НИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ УО ВГАВМ ул. Доватора 7/11 тел. [illegible]-09-47
Контроль

Витебск
ВГАВМ
2017

Контроль

УДК 616 : 074
ББК 28.672
М54

Авторы:
канд. ветеринар. наук, доцент *С. В. Петровский,* доктор ветеринарных наук, профессор *Курдеко А. П.,* проректор по научной работе *Белко А. А.,* директор НИИ прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии, канд. ветеринар. наук, доцент *В. В. Ковзов*

Рецензенты:
Ковалёнок Ю.К., доктор ветеринарных наук, профессор, зав. кафедрой клинической диагностики УО ВГАВМ, *Соболев Д. Т.*, канд. биологических наук, доцент

М54 Методические указания по отбору биологического материала для лабораторных исследований / С. В. Петровский [и др.].- Витебск: УО ВГАВМ, 2017.- 48 с.

Методические указания содержат сведения о методиках отбора проб и их пересылки для лабораторных исследований крови, мочи, молока, костномозгового пунктата, экссудата, транссудата, ликвора, материалов для полимеразной цепной реакции. Предназначены для работников ветеринарных лабораторий, врачей ветеринарной медицины, слушателей ФПК, аспирантов, магистрантов, студентов факультета ветеринарной медицины, участвующих в проведении лабораторных исследований.

УДК 616:074
ББК 28.672

© УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины», 2017

СОДЕРЖАНИЕ

Введение 4

1.Общие правила отбора биологического материала 5

2 Отбор, транспортировка и хранение крови, получение стабилизированной (цельной) крови, сыворотки и плазмы 5

3 Отбор, хранение и транспортировка проб мочи 8

4 Отбор, хранение и транспортировка материала для проведения ПЦР 8

5 Отбор, хранение и транспортировка костномозгового пунктата 9

6 Отбор, хранение и транспортировка ликвора 10

7 Отбор, хранение и транспортировка молозива и молока 10

8 Отбор, хранение и транспортировка фекалий 10

9 Отбор, хранение и транспортировка содержимого рубца и желудка 11

10 Отбор, хранение и транспортировка мазков и смывов из полости носа и ротоглотки 11

11 Отбор, хранение и транспортировка выпотных жидкостей из грудной и брюшной полостей 12

Литература 13

Приложения 14

ВВЕДЕНИЕ

Перевод животноводства на промышленную основу оказывает существенное влияние на состояние здоровья у животных. Содержание животных на ограниченных площадях в условиях стандартизированного кормления оказывает существенное, и в ряде случаев, негативное влияние на состояние здоровья животных.

Диагностика болезней животных в условиях промышленных предприятий часто затруднена, поскольку индивидуальные исследования животных в большинстве случаев невозможны.

Обеспечить эффективную организацию профилактических мероприятий и ликвидацию заболеваний в условиях промышленного животноводства можно только при всестороннем изучении процессов происходящих в организме животных при воздействии этиологических факторов, а также при выяснении принципов их взаимодействия с окружающей средой.

Всё это возможно только при правильном и своевременном проведении лабораторных исследований биологического материала, которое является важной составляющей комплексной диагностики.

Вместе с тем, точность и правильность исследований во многом зависят от того, насколько досконально были соблюдены методики отбора проб и их транспортировки в лабораторию.

Нарушения правил отбора и транспортировки, применение несоответствующей посуды, стабилизаторов и т.д. ведёт к получению ложноположительных или ложноотрицательных результатов и, как результат, к неверной интерпретации результатов исследований.

Настоящие методические указания содержат информацию о правилах отбора проб биологического материала, наиболее часто доставляемого в отдел научно-исследовательских экспертиз НИИ прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии УО ВГАВМ для проведения биохимических, серологических, морфологических и некоторых других исследований.

1. Общие правила отбора биологического материала

При отборе любого биологического материала следует соблюдать ряд общих требований:

1) при отборе биологического материала необходимо придерживаться требований охраны труда, производственной санитарии, правил личной гигиены;

2) любой биологический материал должен рассматриваться как потенциально инфицированный, в связи с чем его отбор следует проводить в спецодежде и одноразовых перчатках;

3) биологический материал отбирается в чистые и сухие, при необходимости проведения микробиологических и вирусологических исследований, в стерильные ёмкости, которые сразу после отбора проб плотно закрывают и при необходимости опечатывают;

4) жидкий биологический материал (в пробирках, флаконах, колбах и т.д.) транспортируют в вертикальном положении;

5) одноразовые оборудование и материалы, использовавшиеся для отбора биологического материала, обеззараживают в растворах дезинфектантов, допущенных к использованию в установленном порядке, и утилизируют;

6) оборудование и материалы, предназначенные для многоразового использования (иглы, пробирки, предметные стёкла, резиновые пробки, стеклянные палочки и т.д.) для обеззараживания помещаются в ёмкости с дезрастворами, допущенных к использованию в установленном порядке, моются в проточной воде, сушатся в сушильном шкафу. Иглы перед повторным использованием стерилизуются кипячением;

7) прижизненное взятие биологического материала от животных производят до проведения лечебных процедур;

8) на доставляемый в лабораторию биологический материал составляется опись и сопроводительная ведомость (Приложение 1), в которой приводится информация о предполагаемом или установленном диагнозе, проводимых лечебных мероприятиях.

2 Отбор, транспортировка и хранение крови, получение стабилизированной (цельной) крови, сыворотки и плазмы

Кровь - это жидкая ткань, которая циркулирует в кровеносной системе животных. Кровь обеспечивает жизнедеятельность тканей и клеток и выполняет различные физиологические функции: дыхательную (перенос кислорода и углекислого газа), питательную (доставка глюкозы, аминокислот, минеральных веществ, витаминов к органам и тканям), экскреторную (удаление продуктов жизнедеятельности), защитную (транспорт фагоцитов и иммуноглобулинов, уничтожение микроорганизмов и чужеродных белков), регуляции (доставка гормонов, медиаторов, ферментов), терморегуляторную (поддерживание температуры тела) и ряд других. Клетки крови образуются в красном костном мозге.

Кровь состоит из плазмы (примерно 55% от объёма крови) и присутствующих в ней эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов (примерно 45%). Объём крови составляет в среднем 7-9% от массы тела животного. Совместно с лимфой и тканевой жидкостью кровь образует внутреннюю среду организма. Кровь, а также красный костный мозг, селезёнка, печень, отчасти лимфоидные образования внутренних органов составляют единую систему крови, деятельность которой регулируется нейрогуморальными механизмами. Поддерживая постоянство своего состава, кровь обеспечивает стабилизацию (гомеостаз) внутренней среды и, наряду с нервной системой, функционально объединяет все части организма. Одновременно с этим кровь отражает происходящие в организме нарушения, что проявляется изменением её морфологического состава и физико-химических свойств. Поэтому в клинической ветеринарной медицине широко используют гематологические анализы, основанные на изучении морфологических и биохимических свойств крови.

Методы взятия и получаемое количество крови зависят от того, с какой целью осуществляют её отбор. Отбор крови производят утром, до кормления животных.

Для общего клинического анализа (определение скорости оседания эритроцитов, концентрации гемоглобина, числа эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов, расчёт цветового показателя и среднего содержания гемоглобина в эритроците, выведение лейкограммы) или изготовления мазка при диагностике кровепаразитарных заболеваний и выведении лейкограммы требуется небольшое количество крови (от нескольких капель до 1 мл).

Небольшие количества крови получают у животных из кровеносных сосудов наружной и внутренней поверхности уха. У пушных зверей, собак и кошек небольшие количества крови получают из лапки (пальца), у кур и индюков – из гребня или серёжек, у гусей и уток – из сосудов ступни, у мышей – из хвоста.

Большое количество крови у животных обычно берут при необходимости биохимического исследования (таблица 1).

Таблица 1 – Место взятия крови для биохимического исследования (прижизненного)

Вид животного	Место взятия крови
Крупный рогатый скот	Ярёмная вена, молочная вена (у дойных коров), хвостовая вена
Лошадь	Ярёмная вена
Верблюд	Ярёмная вена
Свинья	Сосуды уха, сосуды хвоста, краниальная полая вена, венозный орбитальный синус
Собака	Вена сафена, подкожная вена предплечья
Кошка	Вена сафена, подкожная вена предплечья
Пушные звери (песцы, лисы)	Плантарная вена
Кролик	Ушная вена, подкожная вена предплечья, вена сафена, сердце
Морская свинка	Сердце
Птица (куриные, гуси, утки, индюки)	Кожная локтевая вена, плечевая артерия (внутренняя поверхность крыла), сердце
Попугаи	Палец тазовых конечностей
Рыбы	Хвостовая артерия

При получении крови шерсть или щетину на месте прокола тщательно выстригают или выбривают, перо - выщипывают. Кожу протирают спиртово-эфирной смесью (смесь этанола и этилового эфира в соотношении 1:1) для развития местной гиперемии. Дезинфицировать место укола можно и 70%-ным этиловым спиртом. Для прокола кожи и сосуда при получении небольших количеств крови используют иглы Франка, перо Дженнера, скарификатор и другие инструменты. При их отсутствии используют острые короткие инъекционные иглы, лезвия для бритья, ножницы и т.п. Используемые инструменты должны быть стерильными. Повторное их использование допускается только после дезинфекции.

Для получения крови в больших количествах используют стерильные кровопускательные иглы различных конструкций. Кровь набирают либо непосредственно в пробирку, либо в одноразовые шприцы.

Взятие крови осуществляют в утренние часы, **до кормления или через 3-4 часа после кормления** животных в сухие чистые пробирки. Во избежание гемолиза перед взятием крови пробирки нагревают до температуры тела (в руке, термостате, тёплой воде и т.д.), кровь набирают по стенке пробирки, после взятия не допускают резкого охлаждения или замораживания. Отбор крови проводят максимально быстро (до 3 минут на взятие), не допуская длительного стаза при пережатии вен или выдавливания крови из сосудов.

В зависимости от предполагаемого исследования получают стабилизированную (иногда её называют цельной) и дефибринированную кровь, плазму, сыворотку. Для общего клинического анализа пригодна свежеполученная несвернувшаяся или стабилизированная кровь. Стабилизированную и дефибринированную кровь, плазму крови, сыворотку от-

правляют в лабораторию в день взятия в закрытых пробками пробирках. Температурный режим транспортировки и ей длительность определяют с учётом спектра определяемых показателей (Приложение 2).

В пробирку, предназначенную для получения цельной крови, добавляют антикоагулянт (таблица 2).

Таблица 2 – Приготовление растворов антикоагулянтов и противопоказания к их применению

Антикоагулянт	Дозировка антикоагулянта	Биохимические показатели крови, определению которых препятствует антикоагулянт
Тринатрий цитрат	1 объём раствора с концентрацией 38 г/л на 9 объёмов крови или 10-20 мг порошка на 10 $см^3$ крови	α-амилаза
Натрия оксалат	0,5 мл раствора (300 мг натрия оксалата растворяют в 20 $см^3$ бидистилированной воды) на 10 $см^3$ крови или 10-20 мг порошка на 10 $см^3$ крови	Электролиты (калий, натрий, кальций), щелочная фосфатаза, α-амилаза, pH крови
Гепарин (1000 ЕД в 1 $см^3$)	2-3 капли на 10 $см^3$ крови	Проведение полимеразной цепной реакции (ПЦР)
Этилендиаминтетрауксусная кислота или её натриевая соль (ЭДТА-натрий, хелатон, трилон Б)	0,5 $см^3$ раствора (300 мг трилона Б растворяют в 20 $см^3$ бидистилированной воды) на 10 $см^3$ крови или 10-15 мг на 10 $см^3$ крови	Электролиты (калий, натрий, кальций), остаточный азот

Примечание: добавление антикоагулянтов в завышенных количествах может вызвать гемолиз крови, изменить показатель гематокрита

Чтобы кровь хорошо перемешивалась с антикоагулянтом в пробирке, её закрывают пробкой и 10-15 раз легко переворачивают не взбалтывая. Стабилизированную кровь хранят в холодильнике при температуре +4°С. Для подсчета форменных элементов кровь пригодна в течение 72 часов, для приготовления мазков – не более 24 часов.

Цельная (стабилизированная) кровь используется для определения количества форменных элементов, концентрации гемоглобина и некоторых микроэлементов, выведения лейкограммы,

Для большинства биохимических тестов применяется плазма или сыворотка крови (в зависимости от количества тестов – 2-5 мл). Плазму крови получают центрифугированием или отстаиванием стабилизированной крови (10-15 минут при частоте 1000-3000 оборотов в минуту).

Сыворотку крови получают после свертывания крови в термостате при температуре +37°С (в течение 10-15 минут). Образовавшийся сгусток крови отделяют от стенок пробирки тонкой проволокой или стеклянной палочкой и пробирку центрифугируют в течение 5-10 минут при 2-3 тысяч оборотов в минуту). Получившуюся сыворотку сливают или аспирируют пипеткой.

Для лабораторных исследований пригодна сыворотка без следов гемолиза. При невозможности быстрого исследования стабилизированную кровь допустимо хранить в холодильнике в плотно закрытых пробирках до 24 часов, сыворотку крови для биохимических исследований – в зависимости от определяемых показателей (Приложение 2). Не допускается хранение сыворотки крови на свету (помещается в светонепроницаемый пакет или контейнер) и повторного замораживания сыворотки крови.

При получении крови в вакуумные пробирки учитывают спектр необходимых исследований, в зависимости от которого подбирают необходимые антикоагулянты и наполнители (Приложение 3).

3 Отбор, хранение и транспортировка проб мочи

Исследования мочи в клинической практике используют для диагностики болезней мочевой системы (почек и мочевыводящих путей), печени, поджелудочной железы, метаболических болезней.

Для исследования суточного диуреза используется моча, получаемая в течение суток. Для получения суточной порции мочи животных помещают в специальные клетки с мочесборными устройствами или используют мочеприёмники, подбираемые в соответствие с видом и полом животного.

В тех случаях, когда оценка суточного диуреза не требуется, используется однократная порция мочи (объём – до 200 $см^3$). Мочу получают утром, до кормления животных в чистые широкогорлые сосуды (при необходимости проведения бактериологических исследований – в стерильные сосуды или одноразовые шприцы).

Мочу получают при естественном акте мочеиспускания или посредством катетеризации мочевого пузыря, у мелких животных – при проколе мочевого пузыря. Во всех случаях предварительно проводят туалет головки полового члена или преддверия влагалища, промывая их мыльным раствором и тщательно вытирая полотенцем или марлей.

Необходимо иметь ввиду, что у птиц получение чистой мочи невозможно. Моча у них смешана с калом и может исследоваться только микроскопически, вместе с последним.

Мочу исследуют в течение 1,5 часов после получения. В лабораторию мочу доставляют в закрытых сосудах, используя холодильные установки. Допускается непродолжительное хранение мочи до исследований в холодильнике при температуре 4^0С. Для хранения мочи в течение более длительного времени пробы мочи консервируют. В качестве консервантов применяются тимол (0,1 г на 100 $см^3$ мочи) и 40% раствор формальдегида (0,2 $см^3$ на 100 $см^3$ мочи). Пробы, консервированные тимолом, непригодны для определения белка в реакции с азотной кислотой, а консервированные формальдегидом пригодны только для оценки микроскопических свойств мочи.

4 Отбор, хранение и транспортировка материала для проведения ПЦР

Материал для исследования методом ПЦР отбирают для выявления нуклеиновых кислот микроорганизмов и их идентификации, а также выявления генетически-модифицированных объектов.

Пробы отбирают стерильными одноразовыми инструментами в стерильные одноразовые флаконы, пробирки, контейнеры и другие ёмкости.

При использовании для транспортировки транспортных сред, используются пробирки с транспортной средой, поставляемой фирмой-производителем тест-системы. Ёмкости, в которые отбирается биологический материал, после отбора проб плотно закрывать, не касаясь их внутренней поверхности и внутренней поверхности крышек. Для транспортировки материала используется контейнер с охлаждающими элементами или термос со льдом. Замороженный клинический материал транспортируется в специальном контейнере с сухим льдом.

Пищевые продукты и сырьё, направляемые для исследований на наличие ГМО, транспортируются при температуре хранения, рекомендованной для данных продуктов. При транспортировке должен соблюдаться срок годности продуктов.

Кровь для исследований получают от животных натощак или не менее, чем через 3 часа после кормления. Для стабилизации (при необходимости) используется антикоагулянт ЭДТА (трилон Б). Целесообразно использовать вакуумные пробирки с сиреневой (фиолетовой) крышкой.

Для ПЦР-анализа мочи используется её утренняя порция, которая получается в количестве 20-30 мл в сухой стерильный флакон.

Фекалии собирают сухой одноразовой лопаточкой (прикреплена к крышке флакона, в который собирают материал).

От партии сырья или сыпучих продуктов пробы отбирают в полиэтиленовый пакет с застёжкой молнией (размер 10х15 см), который помещают в одноразовый плотный полиэтиленовый пакет (размером 20х30 см), опечатывают и отправляют на анализ, от партии продуктов плотной консистенции помещают в одноразовый плотный полиэтиленовый пакет с застёжкой молнией (размером 10х15 см), который также опечатывают и отправляют на анализ. Жидкие продукты отбирают в чистые ёмкости из стекла и пластика с герметично закрывающимися крышками (объём не более 50 мл), которые опечатывают и отправляют на анализ.

В лаборатории проводится необходимая предобработка материала.

Информация об особенностях транспортировки и сроках хранения представлена в таблице 3:

Таблица 3 – Транспортировка и хранение материалов для ПЦР

Наименование материала	**Температура хранения**	**Сроки хранения**	**Специальные требования**
Стабилизированная кровь	+20-25^{0}С	6 часов – количественное определение нуклеиновых кислот 12 часов – качественное определение нуклеиновых кислот	Не допускается замораживание
	+2-8^{0}С	Не более 24 часов	
Плазма и сыворотка крови	+2-8^{0}С	Не более 5 суток	Не допускаются многократные размораживания и замораживания сыворотки и плазмы
	-16-20^{0}С	Не более 1 года	
Моча*	+20-25^{0}С	Не более 6 часов	Допускается одноразовое замораживание-размораживание мочи
	+2-8^{0}С	Не более 24 часов	
Фекалии	+20-25^{0}С	Не более 6 часов	
	+2-8^{0}С	Не более 72 часов	
	-16-20^{0}С	Более 3 суток	
Мазки и смывы из носа и носоглотки	+20-25^{0}С	Не более 6 часов	Допускается одноразовое замораживание-размораживание материала
	+2-8^{0}С	Не более 72 часов	
	-16-20^{0}С	Более 3 суток	

* - предварительно обработанные образцы хранятся при температуре -16-20^{0}С до 7 дней, при температуре -70^{0}С – длительное время

5 Отбор, хранение и транспортировка костномозгового пунктата

Отбор костномозгового пунктата проводится для оценки морфологического состава красного костного мозга с целью диагностики и дифференциальной диагностики анемий, геморрагических диатезов и иммунных дефицитов.

Костномозговой пунктат получают из 2-3-го сегментов грудины, из ребер или подвздошной кости. Пункцию проводят с соблюдением правил асептики и антисептики, с применением общего или местного обезболивания.

Для пункции используют шприцы (на 20 см^3) и иглы ИС-2, конструкции Кондратьева-Ковалева, Клина, Джемшиди, Симоняна-Петровского и других конструкций, предна-

значенных для грудинной и подвздошной костномозговой аспирации. Перед использованием инструменты стерилизуют кипячением и высушивают в термостате, так как вода может вызвать гемолиз костномозгового содержимого. Для предотвращения свертывания пунктата возможно предварительное увлажнение иглы и шприца 2,1%-ым раствором лимоннокислого натрия.

Пунктат берут в объёме не более 0,5 $см^3$, чтобы избежать примеси крови. При наличии крови в пунктате, её удаляют фильтровальной бумагой или салфеткой.

Полученный пунктат помещают на парафинированное часовое стекло и сразу готовят мазки из всего полученного материала на подогретых предметный стеклах. Мазки высушивают, фиксируют и окрашивают по методу Паппенгейма или Романовского-Гимзе.

6 Отбор ликвора

Отбор ликвора (спинномозговой жидкости) проводится с целью диагностики и дифференциальной диагностики органических (воспалительных и невоспалительных) и функциональных болезней нервной системы. В спинномозговой жидкости в условиях лаборатории оценивается морфологический и биохимический состав.

Отбор ликвора у животных проводится посредством люмбальной и субокципитальной пункций, при проведении которых соблюдаются правила асептики и антисептики, применяется общее или местное обезболивание. Для получения ликвора используются иглы Вира, Синёва, инъекционные иглы длиной не менее 6 см.

Не допускается отсасывание спинномозговой жидкости при помощи шприцов, поскольку при этом в ликворе появляется кровь. Для исследования используют ликвор, полученный при самопроизвольном вытекании. Первые 2-3 капли ликвора для исследований не используют и удаляют, так как к ним может примешиваться кровь из прокалываемых тканей.

Ликвор отбирают в пластиковые пробирки (лейкоциты могут прилипать к стеклу, что искажает результаты исследований). Отбор образца для морфологического исследования проводят в пробирку с антикоагулянтом (ЭДТА), для биохимического - в пробирку без антикоагулянта.

Ликвор исследуется в течение 30-60 минут после получения. Для биохимических исследований отбирают 5-15 мл ликвора (у собак не более 4 мл, кошек – не более 1 мл). Для изучения морфологического состава ликвора достаточно 0,5 мл.

7 Отбор, хранение и транспортировка молозива и молока

Молозиво и молоко отбирают для оценки физико-химических свойств, а также определения микробного состава и определения чувствительности микроорганизмов, вызывающих воспаление в молочной железе, к антибактериальным препаратам.

Для оценки физико-химических свойств молозиво (молоко) получают из «здоровых» долей вымени. С целью проведения микробиологических исследований и оценки чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам отбор ведётся из поражённых долей вымени.

Для исследований отбирают молоко утреннего удоя, молозиво – из первого или последующих удоев (в зависимости от направлений исследований). Сразу после взятия материал помещают в ёмкость необходимого объёма и доставляют в лабораторию в термосе со льдом или термоконтейнере с охлаждающими элементами.

8 Отбор, хранение и транспортировка фекалий

Фекалии у животных исследуют с целью оценки их физико-химических свойств для диагностики и дифференциальной болезней органов пищеварения, для проведения пара-

зитологических, микробиологических и вирусологических исследований, а также для определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам.

Пробы фекалий массой 10-50 г берут в резиновой перчатке из прямой кишки или из только что выделившихся при испражнении фекалий. В последнем случае снимают верхнюю часть экскрементов, не соприкасавшуюся с полом или почвой. Всякий раз после взятия порции фекалий руку необходимо мыть теплой водой для того, чтобы не занести яйца или личинки гельминтов из фекалий инвазированного животного в пробу фекалий свободного от гельминтов животного.

Полученные фекалии помещают в чистую и сухую стеклянную или пластмассовую посуду с крышкой.

Фекалии доставляют в лабораторию в день взятия. При проведении паразитологических исследований допускается хранение фекалий в холодильнике до 24 часов, применение различных консервантов (Барбагалло, Щуренковой, Турдыева). Использование данных консервантов позволяет сохранять яйца различных видов гельминтов.

9 Отбор, хранение и транспортировка содержимого рубца и желудка

Содержимое рубца отбирают с целью диагностики и дифференциальной диагностики болезней преджелудков, желудка – для диагностики гастритов и выявления его различных форм.

Рубцовое содержимое получают посредством зондирования резиновыми или полихлорвиниловыми шлангами длиной 200-250 см и наружным диаметром 20-40 мм или при руменоцентезе, проводимом краниальней коленного сустава. При зондировании рубцовое содержимое аспирируют при помощи шприца Жане (у телят, коз, овец), насосом Камовского или другими устройствами, при руменоцентезе – в шприцы различного объёма. При проведении руменоцентеза строго соблюдаются правила асептики и антисептики.

Содержимое желудка получают посредством зондирования натощак или после дачи пробных раздражителей (в зависимости от показаний).

Рубцовое и желудочное содержимое помещают в ёмкости различного объёма, которые плотно закрывают и помещают в термос со льдом или контейнеры с охлаждающими элементами, в которых осуществляют транспортировку в лабораторию.

При комнатной температуре (20-22 °С) содержимое рубца хранят не более 9 ч, а в холодильнике - не более 24 часов.

Для предупреждения лизиса простейших и бактерий допускается консервирование рубцового содержимого 10%-ным раствором формалина (5-6 капель на 20 мл содержимого рубца).

Для определения летучих жирных кислот, лактата, аминокислот, биогенных аминов, ионов хлора, натрия, калия и других рубцовое содержимое можно хранить в замороженном состоянии до 6 месяцев. Аммиак определяется только в свежем содержимом.

10 Отбор, хранение и транспортировка мазков и смывов из полости носа и ротоглотки

Отбор мазков и смывов осуществляется для проведения бактериологического и вирусологического исследований, оценки чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам.

Мазки получают сухими стерильными ватными тампонами, которые вводят в полость носа или ротоглотку на максимально возможную глубину, проводят ими по слизистой оболочке. Тампоны помещают в сухие чистые стерильные пробирки, которые плотно закрывают.

Для получения смывов в носовые полости и ротоглотку при помощи зонда или одноразового шприца вводят 5-10 мл (или большее количество (в зависимости от размеров

животного) тёплого стерильного изотонического раствора натрия хлорида. Перед получением смывов из ротоглотки проводят её очистку питьевой водой или ватным тампоном. Промывную жидкость аспирируют шприцом или получают самотёком в стерильную сухую и чистую пробирку. Последнюю плотно закрывают.

При получении мазков и смывов из носа и ротоглотки применяются седативные препараты, обеспечивается надёжная фиксация животных, строго соблюдаются правила охраны труда.

Материал отправляется в лабораторию сразу после взятия в термосе со льдом или контейнере с охлаждающими элементами. Допускается хранение при температуре 2-8^{0}С в течение 6 часов.

11 Отбор, хранение и транспортировка выпотных жидкостей из грудной и брюшной полостей

Выпотные жидкости из грудной и брюшной полостей (экссудат и транссудат) исследуют с целью диагностики и дифференциальной диагностики плеврита, хило-, гемо- и гидроторакса (содержимое грудной полости), асцита и перитонита (содержимое брюшной полости). Выпоты исследуются также для оценки чувствительности микроорганизмов к назначаемым антибактериальным препаратам.

Выпоты из грудной и брюшной полостей получают посредством их проколов, которые проводят с соблюдением правил асептики и антисептики и аспирации содержимого через шприц в чистую, сухую и при необходимости стерильную посуду. Если получено большое количество выпота (более 1 л), в лабораторию доставляется часть выпота, но обязательно последняя порция, так как она наиболее богата клеточными элементами. При получении выпота в количестве до 1 л, отправляется весь полученный объём.

Для предотвращения свертывания выпота, что приводит к обеднению клеточными элементами, используются антикоагулянты (цитрат натрия, ЭДТА) (таблица 2). Не допускается использование в качестве антикоагулянта гепарина, так как это приводит к изменению морфологии и деструкции клеточных элементов.

Материал отправляется в лабораторию сразу после взятия в термосе со льдом или контейнере с охлаждающими элементами.

Литература

1. Взятие крови у животных : учеб.- метод. пособие / А. П. Курдеко [и др.].- Витебск: ВГАВМ, 2008.- 36 с.
2. Взятие, транспортировка, хранение клинического материала для ПЦР-диагностики: методические рекомендации. – Москва: ФГУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии», 2008.- 30 с.
3. Дубина, И. Н. Методические указания по отбору биологического материала для проведения лабораторных исследований / И. Н. Дубина.- Витебск: ВГАВМ, 2008.- 20 с.
4. Камышников, В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В. С. Камышников.- М. : МЕДпресс-информ, 2009.- 896 с.
5. Комаров, Ф. И. Биохимические исследования в клинике / Ф. И. Комаров, Б. Ф. Коровкин, В. В. Меньшиков.- Элиста: АПП «Джангар», 1999.- 250 с.
6. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник/ В.В.Меньшиков [и др.]. Под ред. В.В.Меньшикова.- М.: Медицина, 1987.- 368 с.
7. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики / под ред. Кондрахина И.П.- М. : КолосС, 2004.- 520 с.
8. Практикум по паразитологии и инвазионным болезням: Учеб. пособие / А. И. Ятусевич [и др.].; Под ред. А. И. Ятусевича.- Минск: Ураджай, 1999. - 279 с.
9. Пропедевтика внутренних болезней: лабораторные и инструментальные методы исследования: Учеб. пособие / Г. И. Юпатов [и др.]. - Витебск: ВГМУ, 2013. - 200 с.
10. Рекомендации по клинико-биохимическому контролю состояния здоровья свиней / А.П. Курдеко [и др.]. - Горки: БГСХА, 2013. - 56 с.
11. Холод, В. М. Справочник по ветеринарной биохимии./ В.М. Холод, Г. Ф. Ермолаев - Минск: Ураджай, - 1988. – 168 с.

Приложение 1

Форма сопроводительной ведомости (лицевая сторона)

В научно-исследовательский институт прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии
Отдел научно-исследовательских экспертиз

Сопроводительная ведомость №

на отправляемый материал: _____
название материала, стабилизация, консервирование

_____

Количество проб по каждому виду материала, объём, масса_____

_____

_____

принадлежащих _____
наименование заказчика исследований (хозяйства, предприятия), ФИО владельца

_____

_____
полный адрес, телефон стационарный, телефон мобильный, факс, электронная почта

_____

для исследования_____
вид исследования, перечень определяемых показателей

_____

_____

_____

Дата и время взятия пробы_____
часы, число, месяц, год

Краткие анамнестические данные и предполагаемый диагноз (при доставке проб крови и патологического материала)_____

_____

_____

Сведения о соблюдении правил отбора проб (заполняется принимающим материал):

_____

Пригодность материала для исследований (заполняется принимающим материал):

_____

_____

«_____»_____20 г

Материал отобрал: _____ _____
Ф.И.О. *подпись*

Материал доставил: _____ _____
Ф.И.О. *подпись*

Контактный телефон: _____

Материал принял: _____ _____
Ф.И.О. *подпись*

Форма сопроводительной ведомости (оборотная сторона)

Перечень материалов, поступивших для исследования

№ ПП	Наименование материала (вид кормов, пищевых продуктов, фармпрепаратов, группы животных, регистрационные данные животных)	Примечания

Приложение 2

Стабильность компонентов в сыворотке (плазме) крови и моче в зависимости от температуры хранения (по Долгову В. В. и др., 1997)

Компонент	Стабильность		
	-20^0C	$4-6^0$C	$20-25^0$C
Кровь			
Альбумин	3 мес.	3 мес.	3 мес.
Альфа-амилаза	1 год	7 сут.	7 сут.
Белок общий	Несколько лет	4 нед.	6 сут.
Белковые фракции	3 нед.	3 сут.	1 сут.
Билирубин	6 мес.	7 сут.	2 сут.
Глюкоза (стабилизированная)	-	7 сут.	1 сут.
Гамма-глутамилтранспептидаза	Несколько лет	7 сут.	1 сут.
Витамин Е	1 год	4 нед.	-
Железо	Несколько лет	3 нед.	-
Иммуноглобулины:			
A	6 мес.	3 мес.	3 мес.
D	6 мес.	7 сут.	7 сут.
E	-	7 сут.	7 сут.
G	6 мес.	3 мес.	3 мес.
M	6 мес.	3 мес.	7 сут.
Калий	1 год	1 нед.	1 нед.
Кальций общий	8 мес.	3 нед.	7 сут.
Креатинин	3 мес.	7 сут.	7 сут.
Лактатдегидрогеназа	4 нед.	4 сут.	-
Магний	1 год	7 сут.	7 сут.
Молочная кислота	-	3 сут.	3 сут.
Мочевина	1 год	7 сут.	7 сут.
Мочевая кислота	6 мес.	7 сут.	3 сут.
Натрий	1 год	2 нед	2 нед.
С-реактивный белок	3 года	8 сут.	3 сут.
Трансаминазы (аспартат- и аланин)	2 нед.	7 сут.	3 сут.
Трансферрин	6 мес.	8 сут.	8 сут.
Ферритин	1 год	7 сут.	7 сут.
Фосфор неорганический	1 год	4 сут.	1 сут.
Хлориды	1 год	7 сут.	7 сут.
Холестерол общий	-	7 сут.	7 сут.
Холинэстераза	3 мес.	17 сут.	17 сут.
Церулоплазмин	3 мес.	2 нед.	2 нед.
Щелочная фосфатаза общая	2 мес.	7 сут.	7 сут.
Щелочная фосфатаза костная	2 мес.	7 сут.	7 сут.
Моча			
Альбумин	6 мес.	4 нед.	7 сут.
Альфа-амилаза	3 нед.	10 сут.	2 сут.
Белок общий	4 нед.	7 сут.	1 сут.
Глюкоза	2 сут.	2 сут.	2 ч.
Железо	Несколько лет	7 сут.	3 сут.
Калий	1 год	2 мес.	45 сут.
Кальций	3 нед.	4 сут.	2 сут
Креатинин	6 мес.	6 сут.	2 сут.
Магний	1 год	3 сут.	3 сут.
Медь	1 год	7 сут.	3 сут.
Мочевина	4 нед.	7 сут.	2 сут.
Натрий	1 год	45 сут.	45 сут.
Фосфор неорганический (при pH<5)	-	-	2 сут.

Приложение 3

Вакуумные пробирки, применяемые для получения крови

Цвет крышки	Получаемый материал	Назначение	Используемый стабилизатор	Используемый наполнитель
красный	сыворотка крови	биохимические, серологические, иммунологические исследования, хранение стабилизированной крови, сыворотки, плазмы, других биоматериалов	нет	нет
красный или коричневый		биохимические, серологические, иммунологические исследования, электрофорез белков	нет	кремнезём (фактор образования сгустка)
жёлтый			нет	кремнезём (фактор образования сгустка), гель (олефинолигомер)
фиолетовый или сиреневый	плазма крови, цельная кровь	морфологические показатели крови, гемоглобин (гематологические исследования), пцр	Эдта (Трилон Б)	нет
зелёный или светло-зелёный	плазма крови	электролитный состав крови, газовый состав крови	гепарин (литиевая или натриевая соль)	нет
серый		глюкоза	натрия фторид, калия оксалат	нет
голубой		коагуляционные свойства крови	натрия цитрат	нет

академия ветеринарной медицины», 2017

Производственно-практическое издание

Петровский Сергей Владимирович
Курдеко Александр Павлович
Белко Александр Александрович
Ковзов Владимир Владимирович

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОТБОРУ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Ответственный за выпуск	Ковзов В. В.
Технический редактор	Алисейко Е. А.
Компьютерный набор	Петровский С. В.
Компьютерная вёрстка	Алисейко Е. А.
Корректор	Драбо Т. А.

Подписано в печать 2017. Формат 60x84 1/16.
Бумага офсетная. Печать ризографическая.
Усл. п. л. Уч.-изд. л.
Тираж экз. Заказ №

Издатель и полиграфическое исполнение:
учреждение образования «Витебская ордена «Знак Почета»
государственная академия ветеринарной медицины».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/ 362 от 13.06.2014.
ЛП №: 02330/470 от 01.10.2014 г.
Ул. 1-я Доватора, 7/11, 210026, г. Витебск.
Тел.: (0212) 51-75-71.
E-mail: rio_vsavm@tut.by
http://www.vsavm.by