

ПРИДНЕСТРОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
им. Т. Г. ШЕВЧЕНКО

АГРАРНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра общих ветеринарных дисциплин

УЧЕБНЫЕ ПРАКТИКИ ПО ВЕТЕРИНАРИИ

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

Тирасполь, 2014

УДК 619(075.8)

ББК П8я73

В39

Составители:

П.В. Вандюк, доцент

Н.А. Голубова, преподаватель

Б.Г. Янушкевич, доцент

О.В. Кукурузян, ст. преподаватель

Рецензенты:

Н.Д. Слободенюк, к. с/х н., доцент

В.Ф. Абрамова, к. вет. н., доцент

Учебные практики по ветеринарии: Методические указания /
Сост.: П.В. Вандюк, Н.А. Голубова, Б.Г. Янушкевич, О.В. Кукурузян. –
Тирасполь, 2014. – 84 стр. (в обл.)

Методические указания по проведению учебных практик со студентами II-III курсов дневного и заочного отделений по дисциплинам кафедры общих ветеринарных дисциплин (разведение с основами частной зоотехнии животных, микробиологии и вирусологии, гигиене животных и ветеринарной фармакологии) специальности 111801 «Ветеринария» содержат в себе теоретический материал и контрольные вопросы для самопроверки знаний.

Методические указания предназначены для студентов вузов по специальности 111801 «Ветеринария».

УДК 619(075.8)

ББК П8я73

Рекомендовано Научно-методическим советом ПГУ им. Т.Г. Шевченко.
Протокол № 4 от 17 декабря 2014 г.

© П.В. Вандюк, Н.А. Голубова,
Б.Г. Янушкевич, О.В. Кукурузян
составление, 2014

РАЗВЕДЕНИЕ С ОСНОВАМИ ЧАСТНОЙ ЗООТЕХНИИ ЖИВОТНЫХ

Цели: научить студентов практически использовать полученные теоретические знания, приобрести необходимые навыки и умения в профессиональной деятельности по основам частной зоотехнии и анализировать последовательность технологических процессов при производстве различных видов животноводческой и птицеводческой продукции в коллективных и фермерских хозяйствах нашего региона.

В результате прохождения учебной практики студент должен:

Знать:

- современные технологии производства молока, говядины, свинины, мяса птицы, товарного яйца;
- ориентироваться в современных породах по производству молока, мяса и яиц, производимых в регионе;
- основные вопросы племенной работы с КРС, свиньями, овцами, козами, птицей;

Уметь:

- самостоятельно организовать воспроизводство скота и птицы;
- определять оптимальные технологические параметры содержания и кормления животных и птицы;
- оценивать влияние технологических приёмов и их нарушение на ветеринарно-санитарные качества продукции;
- определять по экстерьерным особенностям состояние здоровья животных.

Задачи учебной практики

Задачи: научить будущих специалистов основным методам оценки качества производимой продукции животноводства и птицеводства.

Приобретаемые умения и навыки на основе полученных знаний для формирования частных компетентностей и свойств личности:

Умения:

- Использовать знания о строении организма животного;
- Использовать современные методы и приемы работы с животными;
- Осуществлять сбор, анализ и интерпретацию данных в области животноводства;
- Использовать правила безопасности жизнедеятельности;
- Организовывать работу коллектива;
- Применять знания о строении организма животного;
- Проводить сравнительный анализ наблюдаемых структурных изменений, формулировать выводы и обоснования к ним;
- Устанавливать связь изученного материала с другими дисциплинами.
- Применять полученные знания в практической и научной деятельности.

Навыки:

- Решения теоретических и практических типовых и системных задач, связанных с профессиональной деятельностью в области животноводства и ветеринарии;
- Безопасного обращения с основными видами сельскохозяйственных животных;
- Устанавливать связь изученного материала с другими дисциплинами;
- Обращаться с трупным материалом и живыми животными в соответствии с правилами «техники безопасности».

Место практики в учебном процессе

Практика является основополагающей и базируется на изучении следующих модульных дисциплин:

1 курс: биология и экология, анатомия животных;

2 курс: разведение с основами частной зоотехнии, производство продукции животноводства, кормление животных с основами кормопроизводства, механизация и автоматизация в животноводстве;

3 курс: гигиена животных, фармакология, ветеринарная микробиология и вирусология.

Формы проведения учебной практики

Практика проводится в условиях фермерского хозяйства, на кафедре общих ветеринарных дисциплин.

Место и время проведения учебной практики

Учебная практика проводится в фермерском птицеводческом хозяйстве ООО «Пиазис» (с. Дороцкое, Дубоссарского района), на ферме крупного рогатого скота и свиноферме ООО «Интерцентрлюкс» (с. Фрунзе, Слободзейского района), на кафедре аграрно - технологического факультета в аудиториях с таблицами и рисунками. Учебная практика проводится в хозяйстве согласно графика.

Компетенция обучающегося, формируемые в результате прохождения учебной практики по разведению с основами частной зоотехнии

Требования основной образовательной программы: Реализация требований ФГОС ВПО по направлению подготовки (специальности) 111801 - «Ветеринария» включает формирование следующих компетенций:

- владение культурой мышления, способностью к обобщению, анализу, восприятию информации, постановке цели и выбору путей её достижения (ОК-1);
- умение логически верно, аргументировано и ясно строить устную и письменную речь (ОК-2);
- умение использовать нормативные правовые документы в своей деятельности (ОК-3);

- использование знания иностранного и латинского языков для получения информации профессионального характера из иностранных и отечественных источников (ОК-8);
- осуществление экономического анализа и прогноза своей деятельности (ОК-9);
- использование основных законов естественнонаучных дисциплин в профессиональной деятельности (ОК-11);
- способность и готовность использовать методы оценки природных и социально-хозяйственных факторов в развитии болезней животных, проводить их коррекцию, осуществлять профилактические мероприятия по предупреждению инфекционных, паразитарных и неинфекционных патологий (ПК-1);
- умение правильно пользоваться медико-технической и ветеринарной аппаратурой, инструментарием и оборудованием в лабораторных, диагностических и лечебных целях и владение техникой клинического исследования животных, назначение необходимого лечения в соответствии с поставленным диагнозом (ПК-3);
- способность и готовность анализировать закономерности функционирования органов и систем организма, использование знаний морфофизиологических основ, основные методики клинико-иммунологического исследования и оценки функционального состояния организма животного для своевременной диагностики заболеваний (ПК-5);
- способность и готовность анализировать и интерпретировать результаты современных диагностических технологий по возрастно-половым группам животных с учетом их физиологических особенностей для успешной лечебно-профилактической деятельности (ПК-6);
- проведение ветеринарно-санитарной оценки и контроль производства безопасной продукции животноводства, пчеловодства и водного промысла, знание правил перевозки грузов, подконтрольных ветеринарной службе (ПК-12);

- способность и готовность организовывать и проводить экспертную оценку и контроль технологических процессов и операций по переработке сырья животного и растительного происхождения, зданий и сооружений для содержания животных (ПК-13);
- способность и готовность использовать нормативную документацию, принятую в ветеринарии и здравоохранении (законы РФ, технические регламенты, международные и национальные стандарты, приказы, правила, рекомендации, указания, терминологию, действующие международные классификации и т.д.) (ПК-16);
- способность и готовность осуществлять организацию и контроль технологических процессов по производству, переработке, хранению, транспортировке и реализации продукции животного происхождения (ПК-22);
- способность и готовность осуществлять распространение и популяризацию профессиональных знаний, воспитательную работу с обучающимися, анализ состояния и динамики объектов деятельности (ПК-27);
- способность и готовность осуществлять сбор научной информации, подготовку обзоров, аннотаций, составление рефератов и отчетов, библиографий, участвовать в научных дискуссиях и процедурах защиты научных работ различного уровня, выступать с докладами и сообщениями по тематике проводимых исследований, анализировать отечественный и зарубежный опыт по тематике исследования, разрабатывать планы, программы и методики проведения научных исследований, проводить научные исследования и эксперименты (ПК-29);
- способность и готовность к участию в освоении современных теоретических и экспериментальных методов исследования с целью создания новых перспективных средств, в организации работ по практическому использованию и внедрению результатов исследований; умение применять инновационные методы научных исследований в ветеринарии и биологии (ПК-30);

- способность использовать современные методы и приемы изготовления, производства, контроля качества, хранения, транспортировки, оборота и утилизации лекарственных средств (ПК-1.1);
- способность осуществлять сбор, анализ и интерпретацию материалов в области ветеринарной фармации (ПК-1.2);
- способность использовать достижения науки в оценке качества лекарственных средств и биологически активных добавок, их стандартизации и сертификации (ПК-1.3);
- способность к обоснованию принятия конкретных технологических решений с учетом особенностей фармацевтической отрасли (ПК-1.4);
- способность прогнозировать последствия нарушения технологии лекарственных средств, их применения, хранения и утилизации (ПК-1.5);
- способность эффективно осуществлять маркетинговую деятельность в области обращения лекарственных средств (ПК-1.8);
- способность к оценке затрат на обеспечение качества продукции, проведению маркетинга и подготовке бизнес-планов выпуска и реализации перспективной и конкурентоспособной продукции в области ветеринарной фармации (ПК-1.9);
- готовность к адаптации современных версий систем управления качеством к конкретным условиям производства на основе международных стандартов, осуществление технического контроля и управления качеством фармацевтической продукции (ПК-1.10);
- готовность к изучению научно-технической информации, отечественного и зарубежного опыта в производстве лекарственных средств (ПК-1.12);
- готовность к участию в проведении научных исследований, обработке и анализу их результатов исследований в области ветеринарной фармации (ПК-1.13).

Структура и содержание практики

Общая трудоёмкость учебной практики составляет 0,5 зачётных единиц, 18 часов.

№ п/п	Разделы (этапы) практики	Виды учебной работы, на практике включая самостоятельную работу студентов и трудоёмкость (в часах)	Формы текущего опроса
1	«Технология производства яиц и мяса птицы» В фермерском птицеводческом хозяйстве ООО «Пиазис» (с. Дороцкое Дубоссарского района) студенты изучают породный состав птицы, основные принципы технологии производства яиц, системы выращивания молодняка. Технологическую карту – график, цеха на птицефабрике, содержание родительского стада. Типы клеток, срок использования птицы, микроклимат в помещении, световые режимы, фронт кормления, поения, сбор яиц и хранение.	3	опрос
2	Технология производства мяса цыплят – бройлеров: студенты изучают породы и кроссы применяемые при производстве бройлеров (корниш и плимутрок). принципы при производстве бройлеров, содержание родительского стада, системы выращивания бройлеров, оборудование используемое при выращивании. Подготовку помещения к приему цыплят, микроклимат в птичнике, световые режимы, фронт кормления и поения.	3	опрос
3	В инкубаторном парке изучают: марки инкубаторов, технологию инкубации яиц. Требования предъявляемые к оценке инкубационным яйцам. Методы хранения яиц. Продолжительность инкубации яиц разных видов птицы. Температурно - влажностный режим при инкубации куриных яиц. Особенности инкубации яиц индеек, уток и гусей. кур и водоплавающей птицы (уток, гусей), сортировку и оценку суточного молодняка.	3	опрос

4	«Технология производства молока крупного рогатого скота.» На ферме крупного рогатого скота ООО «Интерцентрлюкс» (с. Фрунзе, Слободзейского района) студенты изучают породный состав КРС, условия содержания и кормления животных, воспроизводство, подготовку и проведение отелов коров и нетелей, факторы влияющие на подготовку нетелей к отелу, приучение нетелей к машинному доению. признаки отела. Процедуры проводимые с телятами после рождения. Выпойку молозивом, условия содержания телят молозивного, молочного и послемолочного периодов. Системы выращивания молодняка, способы их содержания.	2	опрос
5	Доение коров, методы доения, первичная переработка молока. Санитарные правила получения доброкачественного молока. Подготовку вымени перед доением. Типы родильных установок, оценка вымени коров по пригодности к машинному доению. Правила машинного доения и уход за выменем. гормоны участвующие в молоковыведении его действие. Периоды в процессе доения. Факторы влияющие на качество молока. Операции первичной обработки молока. Процессы санитарной обработки доильного оборудования, чистка и мойка молочной посуды.	2	опрос
6	«Технология получения мяса свинины» На свиноферме ООО «Интерцентрлюкс» (с. Фрунзе, Слободзейского района) студенты изучают: породный состав свиней, воспроизводство стада, способы случек (ручная случка и искусственное осеменение). Выявление охоты у свиноматок, технику искусственного осеменения, планирование случек и опоросов. Содержание холостых и супоросных маток. Признаки приближения опорос, проведение опороса, процедуры проводимые с поросятами после их рождения.	2	опрос
7	Технология отъема поросят, выращивание поросят – отъемышей. Дорастивание молодняка. Выращивание ремонтного молодняка, отбор и оценка ремонтного молодняка, содержание и	1	опрос

	кормление. Виды откорма. Породы используемые при беконном и сальном откорме свиней.		
8	Просмотр учебных фильмов по крупному рогатому скоту, свиньям и птице.	1	опрос
9	Написание отчёта по учебной практике и защита отчёта.	1	сдача отчёта по учебной практике

Образовательные, научно-исследовательские и научно-производственные технологии, используемые на учебной практике

Преподаватель проводит «мозговой штурм» по темам практических занятий, объясняет наиболее сложный материал.

Учебно-методическое обеспечение самостоятельной работы студентов на учебной практике

Методические указания для проведения лабораторных занятий по «Разведению с основами частной зоотехнии животных», учебно-методические пособия, разрабатываемые кафедрой общих ветеринарных дисциплин и других кафедр ПГУ и других ВУЗов.

Вопросы к зачету по учебной практике по разведению с основами частной зоотехнии животных

Разведение сельскохозяйственных животных

1. Изменение животных в процессе одомашнивания.
2. Структура породы (отродье, внутривидовый тип, линия, семейство).
3. Закономерность роста и развитие животных в эмбриональный и постэмбриональный периоды.
4. Факторы, влияющие на рост и развитие животных.
5. Продуктивность сельскохозяйственных животных.
6. Конституция и экстерьер с/х животных и факторы, влияющие на ее формирование.

7. Основные интерьерные показатели и их связь с типом конституции и продуктивностью животных.
8. Естественный и искусственный отбор. Факторы, влияющие на эффективность отбора животных.
9. Оценка и отбор животных по продуктивности.
10. Оценка и отбор животных по конституции и экстерьеру.
11. Оценка и отбор животных по происхождению.
12. Оценка и отбор животных по комплексу признаков.
13. Племенной подбор. Его формы – индивидуальный и групповой, их особенности и цели применения.
14. Племенная работа и основные ее элементы.
15. Бонитировка сельскохозяйственных животных.
16. Первичный племенной учет в животноводстве.
17. Мечение сельскохозяйственных животных и присвоение им кличек.
18. Использование гетерозиса в животноводстве.
19. Чистопородное разведение. Родственное спаривание инбридинг, его применение в животноводстве.
20. Разведение животных по линиям и семействам.
21. Биологические особенности скрещивания, их цели и задачи.
22. Гибридизация как метод создания новых и улучшения продуктивных и племенных качеств существующих пород.
23. Методы изучения и учета роста животных.
24. Связь конституции с продуктивностью, скороспелостью и здоровьем животных.
25. Факторы селекции с/х животных на устойчивость к заболеваниям
26. Проведение селекции с/х животных на резистентность к заболеваниям.

Скотоводство

29. Биологические и хозяйственные особенности крупного рогатого скота.
30. Молочная продуктивность и факторы, влияющие на ее величину.

31. Мясная продуктивность и факторы, влияющие на ее величину.
32. Черно-пестрая порода, ее характеристика.
33. Красная степная порода, ее характеристика.
34. Джерсейская порода, ее характеристика.
35. Симментальская порода, ее характеристика.
36. Швицкая порода, ее характеристика.
37. Костромская порода, ее характеристика.
38. Герефордская порода, ее характеристика.
39. Порода Шароле, ее характеристика.
40. Калмыцкая порода, ее характеристика.
41. Подготовка нетелей и коров к отелу и проведение отела.
42. Выращивание телят в молозивный, молочный и послемолочный периоды.
43. Способы случек крупного рогатого скота, Планирование отелов и продолжительность стельности коров. Структура стада КРС.
44. Методы доения коров. Оценка коров по пригодности к машинному доению. Правила машинного доения коров и уход за выменем.
45. Санитарные правила получения молока и его первичная обработка.
46. Виды откорма КРС. Нагул скота.
47. Технология производства говядины в мясном скотоводстве.

Свиноводство

48. Биологические и хозяйственные особенности свиней.
49. Ландрас, его характеристика.
50. Дюрок, ее характеристика.
51. Пьетрен, его характеристика.
52. Крупная белая, ее характеристика.
53. Украинская степная белая, ее характеристика.
54. Северокавказская порода свиней, ее характеристика.
55. Беркширская порода свиней, ее характеристика.
56. Миргородская порода свиней, ее характеристика.

57. Воспроизводство стада свиней. Методы спаривания в свиноводстве. Планирование случек и опоросов. Структура стада свиней.
58. Подготовка и проведение опороса свиноматок. Содержание подсосных свиноматок и поросят-сосунов.
59. Технология отъема поросят. Организация выращивания поросят-отъемышей и ремонтного молодняка.
60. Технология выращивания и откорм свиней. Виды откорма свиней.

Птицеводство

61. Биологические особенности птицы.
62. Яичная продуктивность птицы и факторы, влияющие на ее величину. Мясная продуктивность птицы и факторы, влияющие на ее величину.
63. Породы кур яичного направления продуктивности. Белый леггорн, русская белая. Кроссы кур яичного типа направления продуктивности Заря-17, Прогресс (хайсекс коричневый), Беларусь-9.
64. Породы кур мясояичного типа направления продуктивности. Род-айланд, Нью-гемпшир, Адлерские серебристые, голошейки.
65. Породы и кроссы кур мясного типа направления продуктивности. Корниш, Плимутрок, кросс «Бройлер-6».
66. Породы и кроссы индеек. Бронзовые индейки, белая широкогрудая, кросс «Хидон».
67. Породы и кроссы уток. Пекинская порода, кроссы «Медео» и «Темп», мускусные утки.
68. Породы гусей. Крупная серая, Итальянские, Рейнские белые, Кубанские гуси.
69. Разведение птицы. Условия естественного вывода птенцов.
70. Технология инкубации куриных яиц. Особенности технологии инкубации водоплавающей птицы. Режим инкубации яиц разных видов птицы.
71. Биологический контроль, за режимом инкубации. Оценка суточного молодняка и определение пола у разных видов

- птицы. Транспортировка и выращивание цыплят яичных пород.
72. Технология производства яиц на промышленной основе.
73. Технология производства мяса бройлеров на промышленной основе.
74. Технология производства мяса уток, гусей, индеек.

Овцеводство

75. Биологические и хозяйственные особенности овец.
76. Зоологическая и производственная классификация пород овец.
77. Полутонкорунная порода овец. Цигайская порода овец, ее характеристика.
78. Грубошерстные породы овец. Романовская и каракульская породы. Овчины и смушки, их характеристика.
79. Физико-технические свойства шерсти. Организация стрижки овец.
80. Воспроизводство овец. Подготовка и проведение ягнения овцематок. Выращивание ягнят. Нагул овец.
81. Породы коз молочного, пухового и шерстного направления.

Коневодство

82. Арабская порода лошадей, ее характеристика.
83. Орловская рысистая порода лошадей.
84. Русская тяжеловозная порода лошадей.
85. Воспроизводство лошадей. Выжеребка кобыл и выращивание молодняка. Организация отбивки жеребят.
86. Использование рабочих лошадей.
87. Аллюры и масти лошадей.

Формы промежуточной аттестации (по итогам практики)

Студенты составляют дневники по итогам прохождения практики в виде таблицы:

Дата проведения учебной практики	Место проведения практики	Тема практики	Краткое описание проделанной работы	Замечания и подпись руководителя практики

Преподаватель проводит собеседование по темам учебной практики, в ходе которого студенты защищают свои отчёты. Форма аттестации – зачёт. В конце учебной практики согласно графику проводится аттестация.

Учебно-методическое и информационное обеспечение учебной практики

1. Жигачев А.И., Вилль А.В., Уколов П.И. Разведение сельскохозяйственных животных с основами частной зоотехнии. Учебник. - М.: КолосС, 2009.

2. Жигачев А.И., Уколов П.И., Шараскина О.Г. Практикум по разведению сельскохозяйственных животных с основами частной зоотехнии. - М.: КолосС, 2009.

3. Жигачев А.П. и др. Приусадебное хозяйство. Коровы. Свиньи. Козы. Овцы. - СПб.: Агропромизат, 1999.

4. Карликов Д.В. Селекция скота на устойчивость к заболеваниям. - М.: Россельхозиздат, 1984.

5. Костомахин Н.М. Скотоводство. Учебник. - М.: КолоС, 2008.

6. Кочиш И.И., Петраш М.Г., Смирнов С.Б. Птицеводство. - М.: КолосС, 2009.

ВЕТЕРИНАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ

В процессе учебной практики студент должен приобрести практические навыки и уметь:

1. Овладеть основными методами исследований по принципу триады Коха и серологическими методами, соблюдая правила техники безопасности при работе с заразным материалом.

2. Уметь вскрыть труп и обнаружить патологоанатомические изменения, характерными для того или иного заболевания, в том числе вскрывать лабораторные биообъекты.

3. Отобрать патологический материал для микробиологического и вирусологического исследования.

4. Сделать посев или пересев культур из пат. материала для культивирования микроорганизмов.

5. Поставить биопробу с целью определения вирулентности микроорганизмов.

6. В заключении в индивидуальном порядке проводится проверка дневников по практике и сдача зачета.

Количество дней практики составляет 3 (27 часов).

Студент должен оформить дневник по следующей форме:

Дата проведения учебной практики	Место проведения практики	Тема практики	Краткое описание проделанной работы	Замечания и подпись руководителя практики

День 1

Темы:

1. Ознакомление с помещением и оборудованием ветеринарной лаборатории. Техника безопасности. Документация.

2. Способы взятия пат. материала от животного. Методы консервирования, упаковки и транспортировки пат. материала. Сопроводительная документация.

3. Подготовка лабораторной посуды к работе.

4. Приготовление питательных средств и дополнительных растворов.

Методические указания. 1. Учебная практика проводится на базе ветеринарной лаборатории ГУ «РЦВСФСЭ». Лаборатория – это отдельно стоящее помещение со своей канализацией и ямой для утилизации трупов. Лаборатория включает в себя 3 отдела: серологический, бактериологический, химико-токсикологический. Студенту следует описать чем занимается каждый отдел.

В лаборатории имеется необходимое для работы с микроорганизмами, трупами и пат. материалом оборудование. Для бактериологического исследования необходим световой и люминесцентный микроскоп, термостат, ультра - фиолетовая лампа (ПРК-4 с фильтром Вуда), а также оборудование для стерилизации – автоклав, сушильный шкаф. Также в лаборатории имеются отдельные помещения для мытья посуды и варения питательных сред. Во всех помещениях хорошая вентиляция.

Необходимо помнить о правилах техники безопасности при работе в лаборатории. В помещение входить только в халате и белой шапочке или косынке (халат должен быть застегнут наглухо, волосы подобраны под шапочку). В лабораторию нельзя вносить посторонние вещи, продукты; портфели и сумки складывают в специально отведенном месте; в помещении лаборатории категорически запрещается есть. Перед началом работы обязательно проверяют наличие и исправность приборов, посуды, газовых (спиртовых)

горелок и др. Чтобы избежать взрыва, нельзя зажигать одну горелку от другой, следует пользоваться только спичками. Необходимо соблюдать опрятность в работе, содержать в чистоте рабочее место и оборудование. При распаковке материала, присланного для исследования, необходимо соблюдать осторожность - банки с материалом снаружи обтирают ватой, смоченной дезинфицирующим раствором, и ставят только на подносы или кюветы. При исследовании поступившего материала и при работе с бактериальными культурами (и вирусами) придерживаются общепринятых в микробиологической практике технических правил, исключающих возможность инфицирования работника. Вскрытие трупов лабораторных животных производят в специальной одежде, на соответственном оборудованном столе с помощью необходимых инструментов, используя для этих целей кювету, залитую воском (или парафином). Инструменты после вскрытия помещают в стакан с дезраствором или обжигают над пламенем горелки, на стол класть их запрещается. При работе с жидким инфицированным материалом используют резиновые баллоны, соединенные с пипеткой; жидкости, содержащие патогенных микробов, переливают над сосудом с дезраствором. Если в процессе работы патологический материал случайно попал на стол, его немедленно удаляют тампоном, смоченным дезинфицирующим раствором. При попадании зараженного материала на кожу, конъюнктиву, слизистую ротовой полости принимают экстренные меры к обеззараживанию. По окончании работы патологический материал, использованные культуры микроорганизмов, инструменты и поверхность стола обеззараживают. Выносить из лаборатории пробирки с культурами, препараты (мазки) и другие предметы категорически запрещается; патологический материал и бактериальные культуры, необходимые для дальнейшей работы, оставляют в закрытом холодильнике или сейфе; перед уходом из лаборатории необходимо снять халат, тщательно вымыть руки и обработать их йодированным спиртом. Выходить за пределы лаборатории в

халатах запрещается. После ознакомления с техникой безопасности при работе в лаборатории микробиологии студенты расписываются в журнале.

В ветеринарной лаборатории ведется строгий учет документации. Первичную регистрацию заболеваний и падежа животных, а также диагностических исследований, профилактических, лечебных, ветеринарно-санитарных мероприятий и ветеринарно-санитарной экспертизы, осуществляемых должностными лицами ветеринарной службы, ведут в журналах, книгах, карточках единой формы, установленной управлением ветеринарии. Записи полагается вести в процессе выполнения соответствующей работы или непосредственно по ее окончании. Все журналы (книги) учета должны быть переплетены и пронумерованы. В лаборатории должны быть следующие журналы: для регистрации больных животных; для записи противоэпизоотических мероприятий; бактериологических исследований; вирусологических исследований; серологических исследований крови и т.д.

2. Материал для исследований от заболевших, павших или вынужденно убитых животных следует брать как можно быстрее после появления четких признаков болезни или не позднее 1-2 ч после клинической смерти или убоя. При взятии материала для выделения возбудителя следует исходить из патогенеза изучаемой инфекции (входные ворота, пути распространения патогена в организме, места его размножения и пути выделения). Так, при респираторных инфекциях берут носоглоточные смывы, мазки из носа и глотки, соскобы трахеи и кусочки легкого трупов; при энтеровирусных - кал; при нейротропных - кусочки головного или спинного мозга; при дермотропных инфекциях - свежие поражения кожи и т.п., т.е. отбирают тот материал, в котором предполагается наибольшая концентрация возбудителя. Материалом для выделения вируса или бактерии могут служить различные экскреты и секреты, кусочки органов, кровь, лимфа и пр.

Кровь берут из яремной вены, у свиней - из кончика хвоста или уха. Для выделения возбудителя может быть

использована либо цельная дефибринированная, либо «лаковая» кровь (смесь крови с дистиллированной водой в соотношении 1:1), либо отдельные элементы крови (эритроциты, лейкоциты, плазма, сыворотка).

Смывы с конъюнктивы, со слизистой оболочки носа, с задней стенки глотки, прямой кишки и клоаки у птиц берут стерильными ватными тампонами и погружают их в пробирки, содержащие 3-5 мл жидкости (например, физ. Раствор, глицерин). Слюну имеет смысл брать при наличии признаков поражения ротовой полости или слюнных желез. Вытекающую изо рта слюну можно собрать прямо в пробирку. Мочу собирают при помощи катетера в стерильную посуду. Фекалии берут из прямой кишки шпателем или палочкой и помещают в стерильную пробирку. Везикулярную жидкость можно собрать шприцем или пастеровской пипеткой в стерильную пробирку. Стенки афт, корочки с поверхности кожи снимают пинцетом.

В качестве пат. материала берут кусочки органов размером в несколько кубических сантиметров и массой 10-20 г, которые имеют видимые отклонения от нормы (по форме, размеру, цвету, консистенции, наличию необычных образований) или могут быть поражены и содержать патогенный организм, что устанавливается на основании клинической картины болезни перед смертью. Наиболее часто содержат вирус печени, селезенка, легкие, головной мозг, лимфатические узлы, почки.

При подозрении на кормовые инфекции следует отбирать пробы корма и воды, в которых может содержаться микроб.

Вируссодержащий материал консервируют обычно 2 способами: холодом или с помощью глицерина.

В сопроводительной документации указывается из какого хозяйства, от какого животного была взята проба, когда она была взята, прилагаются данные протокола вскрытия животного (в нем указывается как долго болело животное, какие симптомы у него присутствовали и указывается предположительный диагноз). На каждой пробе

указывается название пробы (например, кровь от коровы № 111, печень, почка и т.п.).

3. К лабораторной посуде относятся штативы с пробирками, бюкс, бюретка, колба, кювета мензурка, пипетка, реторта, чашка Петри, дистиллятор, фильтры, центрифуга, эксикатор и т.п.. В лаборатории должны быть весы, индикаторы pH, термометры; водяная баня, вытяжной шкаф, спиртовая горелка, холодильник.

Лабораторную посуду перед использованием тщательно моют, дезинфицируют в автоклаве при режиме 0,5 атмосферы, и хранят в специальном помещении в шкафу, обернутой в чистую бумагу или чистую ткань. Обязательно проводят контроль автоклавирования. Перед заливкой питательной среды необходимо визуально убедиться в том, что посуда чистая.

4. Питательная среда - вещество или смесь веществ, применяемая для культивирования и микроорганизмов. Существует множество стандартных биологических питательных сред.

Питательные среды, жидкие или плотные, применяются для выращивания в лабораторных условиях бактерий, дрожжей, микроскопических грибов, водорослей, простейших, вирусов и культур растительных или животных клеток. Синтетические питательные среды состоят из определённых наборов органических и неорганических соединений, которые служат источниками углерода, азота, фосфора, серы, калия, натрия, микроэлементов и других необходимых компонентов. К сложным органическим питательным средам относят мясо-пептонный бульон, пивное сусло, молоко и др. Из жидкой питательной среды можно получить плотную, добавляя к ней 2% агар-агара или 10% желатины. В качестве плотных питательных сред применяют также кусочки картофеля или моркови, зёрна риса или пшена, свёрнутую лошадиную сыворотку, кусочки внутренних органов животных и т.п. Все питательные среды предварительно стерилизуют в автоклаве.

Наряду с универсальными существуют специальные среды, создающие более благоприятные условия для роста определённого вида микроорганизмов. Такие питательные среды называются селективными. Добавляя вещества, понижающие окислительно-восстановительный потенциал, получают среды, на которых растут анаэробные микроорганизмы. Селективные питательные среды определённого состава употребляют для выяснения ряда физиологических свойств микроорганизмов. Так, на средах, не содержащих соединений азота, выделяют азотфиксирующие микроорганизмы. Рост на мясо-пептонной желатине может сопровождаться её разжижением, что говорит о биосинтезе протеолитических ферментов. Посевами на кровяной агар устанавливают гемолитические свойства микроорганизма. С помощью посевов на картофельный агар и последующей обработки выросших колоний или штрихов растворами, содержащими йод, выясняют способность микробов гидролизовать крахмал, так как исчезает синяя окраска крахмала от йода. Существуют дифференциально-диагностические питательные среды, применяемые для определения патогенных видов микроорганизмов.

Исходным сырьём для приготовления большинства сред служат продукты животного и растительного происхождения, а также готовые полуфабрикаты.

Этапы приготовления:

1) варка - среды варят на открытом огне, водяной бане, автоклаве или варочных котлах.

2) установление pH - ориентировочно производят с помощью индикаторной бумаги, для точного определения пользуются потенциометром или компаратором. При стерилизации pH снижается на 0,2, поэтому сначала готовят более щелочной раствор.

3) осветление - производят, если при варке среды мутнеют или темнеют. Для этого используют белок куриного яйца или сыворотку крови.

4) фильтрацию жидких и расплавленных желатиновых сред производят через влажный бумажный или матерчатый фильтры. Фильтрация агаровых сред затруднена - они быстро застывают. Обычно их фильтруют через ватно-марлевый фильтр.

5) разливают среды не более чем на $\frac{3}{4}$ емкости, так как при стерилизации могут намокнуть пробки и среды утратят стерильность.

6) стерилизация - режим стерилизации зависит от состава среды и указан в её рецепте.

Контроль:

1) для контроля стерильности среды ставят на 2 суток в термостат, после чего их просматривают.

2) химический контроль окончательно устанавливает pH, содержание общего и амминого азота, пептона, хлоридов.

3) для биологического контроля несколько образцов среды засевают специально подобранными культурами, и по их росту судят о питательных свойствах среды.

Задание для студентов:

1) пройти инструктаж по техники безопасности в ветеринарной лаборатории и расписаться в соответствующем журнале;

2) описать помещения лаборатории, в которой вы побывали, перечислить приборы и оборудование этой лаборатории, а также учетную документацию, с которой работают врачи и лаборанты;

3) указать, что может быть использовано в качестве патологического материала, каким образом проводится отбор материала при жизни и после смерти животного;

4) перечислить методы консервирования патологического материала;

5) привести пример оформления сопроводительной документации;

6) описать приготовление лабораторной посуды к работе;

7) указать какие питательные среды используются в лаборатории, а также каким образом можно приготовить питательные среды (от работы с сырьем до контроля качества).

День 2

Темы:

1. Методы дезинфекции и стерилизации.
2. Освоение микроскопических методов исследований.
3. Участие в бактериологических и (или) вирусологических исследованиях.
4. Кормление и уход за лабораторными животными. Биопроба. Аллергические пробы.

Методические указания.

1. Стерилизация - обеспложивание, уничтожение патогенных и непатогенных микроорганизмов, их вегетативных и споровых форм в каком-либо объекте. В лабораториях стерилизуют питательные среды, стеклянную посуду (пробирки, пипетки, колбы и др.), инструменты, перевязочный материал, халаты. Для специальных условий работы стерилизуют воздух и все нужные предметы в боксах. Для стерилизации используют физические, химические или биологические средства в зависимости от стерилизуемого материала. В основе каждого способа стерилизации лежит способность нарушения жизненных процессов микробной клетки: денатурация белков, угнетение функции ферментных систем и др.

В практике применяют полную и неполную стерилизацию. При полной стерилизации уничтожаются вегетативные и споровые формы микроорганизмов, при неполной (частичной) - только вегетативные формы бактерий и вирусы, но с сохранением споровых форм бацилл. При этом обеспечивают условия, предотвращающие развитие спор (резкое охлаждение).

Физические методы стерилизации.

Стерилизация сухим жаром:

а) Прокаливанием на огне, пламени горелки (газовой или спиртовой) стерилизуют бактериологические петли,

пастеровские пипетки, стекла, инструменты (пипетки, иглы и др.).

б) Стерилизация сухим нагретым воздухом осуществляется в специальном сушильном металлическом шкафу (печь Пастера) с двойными стенками. Внутри шкафа вставляются металлические сетчатые полочки для размещения стерилизуемого материала. В печи Пастера стерилизуют стеклянную чистую, хорошо промытую, предварительно высушенную посуду. Колбы закрывают ватными пробками, накрывают бумажными колпачками и завязывают. Пробирки, чашки Петри, пипетки пачками завертывают в пергаментную бумагу. Режим стерилизации: при температуре 155-160° - экспозиция 2ч; при 165-170° - 1-1,5 ч; при 180° - 1 ч. По истечении времени стерилизации ждут, когда температура снизится до 45°, а затем открывают шкаф. Нельзя стерилизовать воспламеняющиеся средства, жидкости, питательные среды и резиновые предметы.

Стерилизация влажным жаром:

а) Кипячение - простой, доступный способ стерилизации в специальных металлических стерилизаторах (или другой чистой посуде). Кипячением стерилизуют иглы, шприцы, пинцеты, ножницы, скальпели и другие инструменты, резиновые и стеклянные предметы, которые раскладывают в стерилизаторах на металлические решетчатые вставки, покрытые 2-3 слоями марли. Шприцы стерилизуют в разборном состоянии, в иглы вставляют мандрены; режущие инструменты - лезвия скальпелей, ножниц рекомендуют обертывать марлей. В стерилизатор наливают воду (желательно дистиллированную), чтобы она полностью покрывала инструменты. Для лучшей стерилизации в воду добавляют 2% двууглекислой соды. Кипятят в течение 20-25 мин. После стерилизации воду осторожно сливают, а инструменты используют только после их охлаждения.

б) Стерилизацию текучим паром проводят в аппарате Коха (текучепаровой аппарат), представляющем собой сосуд цилиндрической формы, сверху неплотно закрытый крышкой

с отверстием посередине для термометра. На дне аппарата имеется решетчатая подставка на ножках, на которую помещают специальное металлическое ведерко. В него ставят стерилизуемые питательные среды в пробирках (или маленьких колбочках). Ведерко закрывают неплотно крышкой. При нагревании образующиеся водяные пары, устремляясь вверх, проходят через отверстия в подставке, отверстия в дне ведерка, обволакивают стерилизуемые пробирки со средами и нагревают их. Стерилизуют 30-40 мин. Учитывая, что однократная стерилизация данным способом уничтожает только вегетативные формы бактерий, а споры сохраняются, поэтому процедуру повторяют 3 дня подряд.

Таким способом часто стерилизуют питательные среды с углеводами, молоко, среды с желатиной, желчью, то есть субстраты, которые не выдерживают нагревания выше 100°, длительного действия пара или сухого жара.

в) Тиндализация - дробная стерилизация в водяной бане при температуре 56-58° в течение 5-6 дней. Первый день прогревают 2 ч, в последующие дни - по 1ч. Метод был предложен Тиндалем для стерилизации материалов, разрушающихся (денатурирующихся) при нагревании выше 58-60° (коллоидные растворы, сыворотки крови, асцитная жидкость и другие белоксодержащие вещества).

г) Пастеризация - метод неполной стерилизации, предложенный Пастером с целью сохранения питательной ценности пищевого продукта (молоко, мясные, рыбные и овощные консервы), которая снижается при кипячении (разрушаются витамины и другие нестойкие к действию высокой температуры вещества). Продукт нагревают при 80° 30 мин, затем резко охлаждают (до 4-8°). Пастеризацией достигается частичная стерилизация, так как убиваются вегетативные формы бактерий, а споры сохраняются. Резкое охлаждение препятствует «прорастанию» спор и последующему размножению бактерий.

д) Стерилизация паром под давлением (автоклавирование) - самый эффективный метод

стерилизации (температура выше 100°). Осуществляют его в специальном аппарате - автоклаве. Принцип стерилизации основан на том, что чистый насыщенный водяной пар при высоком давлении, конденсируясь, повышает температуру внутри котла (автоклава). Уменьшение объема пара после конденсации способствует проникновению его во внутрь стерилизуемого предмета.

Режимы автоклавирования: при давлении в 0,5 атм температура 110-112°, при 1,0 атм - 120-121°, при 1,5 атм - 124-126°, при 2,0 атм - 132-133°.

В автоклаве стерилизуют питательные среды, выдерживающие нагревание выше 100°, стеклянную посуду, завернутую в бумагу, перевязочный материал, халаты, помещенные в металлические биксы. Кроме того, в автоклаве обеззараживают использованные бактериальные культуры, посуду. В этих случаях давление пара и экспозиция стерилизации продолжительнее (1,5 атм - 1 ч), чем при стерилизации чистого материала (0,5 - 1 атм 30-40 мин). Для проверки качества работы автоклава, соответствия показаний манометра и температуры пара используют различные вещества (бензонафтол, антипирин, сера), имеющие определенную точку плавления. Небольшое количество данного вещества смешивают с таким же количеством краски (фуксин, метиленовая синька), помещают в пробирку, запаивают ее и устанавливают в вертикальном положении между стерилизуемым материалом. При должной температуре вещество-индикатор плавится и окрашивается в цвет использованного красителя.

Стерилизация фильтрованием осуществляется пропусканием материала через бактериологические фильтры. Обычно фильтруют жидкости, не выдерживающие нагревания (сыворотки, растворы антибиотиков и т. п.). При фильтрации учитывают вязкость стерилизуемого материала. Фильтры бывают твердые - керамические (цилиндрической формы в виде «свечей»), асбестовые (в виде пластинок) и мембранные (с наиболее точной калибровкой пор). Стерильность полученных фильтратов проверяют посевом на

питательные среды с последующим выдерживанием в термостате несколько дней.

Стерилизация ультрафиолетовыми лучами. В лаборатории источником УФ-излучения обычно служат специальные бактерицидные лампы. УФ-облучение используют для обеззараживания воздуха в помещениях (боксах, операционных).

Химические методы для стерилизации питательных сред и лабораторной посуды непригодны. Их чаще используют для консервирования некоторых субстратов, так как они в бактерицидных концентрациях парализуют ферментативную способность бактерий.

2. Микроскопия - метод, с помощью которого в ветеринарной лаборатории изучают морфологические и тинкториальные свойства микроорганизмов.

Различают световую, фазово-контрастную, люминесцентную и электронную микроскопию.

Правила работы с микроскопом.

Иммерсионная микроскопия - оптическая система, в которой пространство между первой линзой и предметом заполнено жидкостью. Приступая к работе с микроскопом, необходимо проверить состояние конденсора: он должен быть поднят до уровня предметного столика, диафрагма открыта. Приподняв тубус микроскопа, поворотом револьвера устанавливают объектив с наименьшим увеличением (8, 10 раз); глядя в окуляр, вращают зеркало до получения полного освещения поля зрения. Затем на исследуемый препарат наносят каплю кедрового масла, препарат помещают на предметный столик, легким вращением револьвера устанавливают иммерсионный объектив (ОИ 80, 90, 100) так, чтобы он был продолжением тубуса, и во избежание соприкосновения объектива со столиком тубус следует держать в высоко приподнятом положении. Затем под контролем глаза (смотреть сбоку) фронтальную линзу объектива осторожно погружают в каплю масла легким поворотом макрометрического винта. После этого нужно смотреть в окуляр и осторожно приподнимать

тубус до видимости препарата. Не отрывая глаз от микроскопа, легким поворотом микрометрического винта вперед-назад регулируют четкость изображения. В конце работы тубус осторожно приподнимают, револьвер переводят в нейтральное положение, масло с линзы осторожно снимают лоскутком замши или мягкой тряпочкой. Микроскоп убирают в деревянный футляр или накрывают стеклянным колпаком (лучше цветного стекла) для защиты от света.

При люминесцентной микроскопии на практике чаще используют фотолюминесценцию и флуоресценцию. Обычно применяют флюорохромы - природные или синтетические соединения, которые после облучения УФЛ или синими лучами начинают испускать видимый свет. В бактериологии применяют, например, флюоресцеин - изотиоционат натрия, дающий свечение желто-зеленого цвета, родамин - свечение красного цвета и др.

Фазово-контрастная (темнопольная) микроскопия - метод микроскопического исследования, основанный на получении с помощью специальных приспособлений контрастного изображения различающихся по плотности структур бесцветных прозрачных микрообъектов. Основное достоинство данного метода заключается в том, что при его помощи получают чрезвычайно контрастные изображения в светлом поле живых неокрашенных клеток и тканей. Широко используется фазово-контрастная микроскопия в клинических лабораториях при изучении осадков мочи, вагинальных выделений, эякулята, для счета и изучения ретикулоцитов и кровяных пластинок, для исследования простейших и их цист, живых бактерий, процессов агглютинации, вирусов и вирусных телец, кроме того при исследовании материала биопсий.

Электронная микроскопия - это метод исследования структур, находящихся вне пределов видимости светового микроскопа и имеющих размеры менее одного микрона. Действие электронного микроскопа основано на использовании направленного потока электронов, который выполняет роль светового луча в световом микроскопе, а

роль линз играют магниты (магнитные линзы). При электронной микроскопии биологических объектов применяют специальные методы приготовления препаратов. Это необходимо для выявления отдельных компонентов изучаемых объектов, а также для сохранения их структуры в условиях высокого вакуума под пучком электронов. При помощи электронной микроскопии изучается внешняя форма объекта, молекулярная организация его поверхности, с помощью метода ультратонких срезов исследуется внутреннее строение объекта.

3. Провести лабораторное исследование для выявления бактерии, грибка или вируса.

Студентам предлагается посеять на питательные среды патологический материал, в котором предположительно будет возбудитель инфекционного заболевания.

Например. Патологическим материалом будет служить содержимое абсцесса или флегмоны. Согласно сопроводительной документации, абсцесс (флегмона) единичный. При доставлении в лабораторию пунктата, осуществляют микроскопию мазка, делают посев на питательную среду и ставят биопробы на лабораторном животном. Предположив, что микроорганизм - патогенный кокк, мы окрашиваем часть пат. материала по Граму. Если при световой микроскопии мы обнаруживаем грамположительные шаровидные клетки, расположенные попарно или в виде цепочек разной длины. То это может служить подтверждением нашего предположения. Далее осуществляем посев на питательные среды, помня что кокки требовательны к питательному субстрату - размножаются на кровяных или сахарных средах. На поверхности твердых сред вырастают мелкие колонии, на жидких дают придонный рост, оставляя среду прозрачной. По характеру роста на кровяном агаре различают гемолитические и не гемолитические штаммы. Стрептококки аэробы, не образуют каталазы, в отличие от стафилококков. При необходимости можно осуществить биопробу на белых мышках и морских свинках.

При подозрении на бешенство в лабораторию отправляют голову животного, поскольку вирус нейротропен. Тельца - включения представляют собой скопления вирусных частиц или клеточного материала, изменившегося при репродукции вирионов. Тельца Бабеша-Негри при бешенстве - это скопление в цитоплазме вирусных частиц в сочетании с продуктами клеточной реакции (в клетках центральной и периферической нервной системы, чаще в клетках аммоновых рогов). Для их выявления препарат окрашивают по одному из методов (по Муромцеву, Манну, Туркевичу и др.) кислыми красками (эозином) в красный цвет; по периферии расположена светлая зона - мантия.

4. Лабораторные животные предназначены для биологического воспроизведения заболевания, что необходимо для окончательного подтверждения диагноза при исследованиях патологического материала от больных животных, а также кормов и воды для подозрения на наличие токсинов и т.п.

В качестве лабораторных используют малоценных и легко размножающихся животных региона, например, в ПМР используют белых мышей, морских свинок, кроликов и голубей. Иногда могут использовать других лабораторных и естественно-восприимчивых животных. Их содержат в вивариях, причем отдельно здоровых и зараженных. Животным создают все необходимые зоогигиенические условия для жизнедеятельности, кормят доброкачественными кормами и чистой водой. Любое животное для бак. исследования должно быть здоровым. Возраст животного подбирают в зависимости от изучаемого заболевания.

Студентам предлагается оценить условия содержания животных, а также оценить качество кормов и воды органолептическим методом.

В зависимости от изучаемого заболевания заражать лабораторных животных, т.е. ставить биопробу, можно различными методами: подкожно, внутримышечно, внутрибрюшинно и др. При заражении необходимо

правильно фиксировать животное и соблюдать правила личной безопасности.

Аллергические пробы на лабораторных животных ставятся для исключения латентных инфекций (туберкулез) или проведения токсикологической диагностики кормов.

Например. Перед заражением морских свинок, кроликов или кур патологическим материалом или чистой культурой патогенных микобактерий осуществляют туберкулинизацию. Осуществляют подкожную или глазную пробу.

Определение токсичности кормов осуществляется методом пробы на коже кролика. Методика предназначена для определения токсичности фуражного зерна, продуктов его переработки, комбикормов и других видов концентрированных кормов (за исключением жмыхов, шротов и кормовых дрожжей), а также грубых кормов. Метод основан на дермoneкротическом действии токсических веществ микогенного происхождения, извлекаемых из корма диэтиловым эфиром или ацетоном.

Предварительно готовят экстракт из подозрительного корма. У кролика массой 2 - 2,5 кг в области бедра, лопатки или бока в день постановки биопробы тщательно выстригают участок кожи размером 6х6 см. Пигментированная кожа, а также кожа с признаками шелушения непригодна для проведения испытаний. На одном кролике допускается ставить одновременно не более 4-х проб. На выстриженный участок кожи кролика стеклянной лопаткой наносят, слегка втирая, половину экстракта. В случае если он имеет восковидную консистенцию, его предварительно подогревают. Небольшую часть участка оставляют свободной от экстракта как контрольную. Через 24 часа наносят оставшуюся часть экстракта. Учет реакции ведут на следующий день после повторного нанесения экстракта и продолжают в течение 3-5 дней в зависимости от развития реакции.

Результаты. Корм признается нетоксичным если отсутствует воспалительная реакция или гиперемия, сохраняется не более двух суток после нанесения экстракта и

не сопровождающейся шелушением кожи. Корм слаботоксичный - гиперемия, сохраняющаяся 2-3 суток и заканчивающаяся шелушением кожи, или гиперемия, болезненность и отечность, проявляющаяся незначительным утолщением кожи с последующим образованием отдельных корочек. Корм токсичный — резкая гиперемия, болезненность, складчатость, отек, проявляющийся сильным утолщением кожи, на всей поверхности участка появляются язвы, затем сплошной струп.

Задание для студентов:

- 1) описать какие существуют методы дезинфекции и стерилизации и в чем принцип их действия;
- 2) указать для чего применяется микроскопия, какие способы микроскопии применяются в данной лаборатории и в чем принцип их действия;
- 3) провести окраску препарата, микроскопию и описать проделанное в дневнике по практике;
- 4) перечислить какие лабораторные животные есть в данной лаборатории, для чего они нужны;
- 5) дать свою оценку санитарно-гигиенических условий содержания и кормления лабораторных животных;
- 6) привести пример постановки биопробы, при которой вы присутствовали;
- 7) указать для чего проводятся аллергические пробы в лаборатории.

День 3

Темы:

1. Проведение бактериологического анализа патологического материала.
2. Проведение вирусологического анализа патологического материала.
3. Проведение серологического анализа. Написание и сдача отчета по практике.

Методические указания. В лабораторию нарочным доставляется патологический материал вместе с

сопроводительной документацией. В лаборатории полученный вирусологический пат. материал освобождают от консерванта, оттаивают, отмывают от глицерина, взвешивают или измеряют. Часть материала берут для вирусологических исследований, оставшуюся часть хранят в холодильнике на случай дополнительных исследований. Затем составляют план исследований присланного материала. Для серологической диагностики брать кровь и готовить сыворотку необходимо стерильно, нельзя применять антикоагулянты или консерванты, которые могут сделать сыворотку антикомплементарной, а в реакции нейтрализации оказать инактивирующее действие на вирус или оказаться токсичными для культур клеток либо просто нестерильными. Кровь в объеме 10-15 мл берут в стерильные пробирки с резиновыми пробками, выдерживают при комнатной температуре до образования сгустка, обводят стеклянной палочкой (или другим инструментом) и переносят в холодильник при 4°C на 18-20 ч. После максимальной ретракции сгустка сыворотку отсасывают и добавляют антибиотик. Ретроспективные методы вирусологической диагностики требуют исследования парных сывороток, поэтому необходимо правильно сохранять первые пробы, пока не будут получены вторые. Хранить сыворотки необходимо в холодильнике при 4°C или в замороженном состоянии, строго соблюдая порядок нумерации и соответствия записей в журнале и пробах.

Для микроскопического исследования с целью выявления форм микробов и их структурных и некоторых биохимических особенностей препарат готовят на предметном стекле. В качестве материала применяют молоко, кровь, гной (препарат-мазок); кроме того, используют отпечатки ткани печени, селезенки или других органов (препарат-отпечаток, кляч-препарат). Для приготовления препарата на рабочем столе должно быть: исследуемый материал, обезжиренные предметные стекла, бактериологическая петля, спиртовая горелка, бутылка с сифоном дистиллированной воды, сливная чашка с

«мостиком», красители, фиксирующие и протравливающие жидкости. Из жидкого материала (например, гноя) для приготовления препарата-мазка в левой руке держат пробирку с пат. материалом, в правой - бактериологическую петлю, тщательно прожигают ее на пламени горелки и, не выпуская из рук, осторожно около пламени открывают пробирку свободными пальцами правой руки (мизинцем и безымянным), петлей захватывают каплю материала, пробирку закрывают и ставят в штатив. Свободной левой рукой берут предметное стекло, наносят на его поверхность каплю и легкими круговыми движениями растирают по стеклу, затем препарат высушивают на воздухе, петлю прожигают. Высохший препарат фиксируют - закрепляют на стекле. Для этого чаще пользуются физическим способом: препарат (обратной стороной мазка) 2-3 раза слегка проводят над пламенем горелки. Из фиксирующих химических средств используют эфир, этиловый или метиловый спирт, формалин, смеси формалин-спирт, спирт-эфир. Для фиксации высушенный препарат помещают в стаканчик с фиксирующей жидкостью (или 1-2 капли жидкости наносят на препарат) и выдерживают 3-5 мин. Затем мазок промывают, высушивают фильтровальной бумагой. С обратной стороны стекла препарата восковым цветным карандашом обводят границу (зону) мазка, чтобы после окраски точно знать место его нахождения.

1. Схема бактериологического исследования (триада Коха) - проводят бактериоскопическое (микроскопия мазка), бактериологическое (культивирование микроорганизма) и биологическое (постановка биопробы) исследование. При многих заболеваниях разработаны методы серологической диагностики.

Например, при исследовании на сибирскую язву поступают следующим образом. Поскольку при сибирской язве запрещено вскрывать труп, то при классической клинической картине (труп вздут, окоченение отсутствует или слабо выражено, видно крованистое истечение из

естественных отверстий, на коже выделяются тестовидные припухлости, кровь темная, несвернувшаяся, в подкожной клетчатке выражены инфильтрация и кровоизлияния) от КРС и других животных в лабораторию доставляют ухо, взятой с той стороны, на которой лежал труп, мазок крови взятый по методу толстой капли, кровянистые истечения из естественных отверстий. Также в лабораторию могут доставить труп, особенно свиней, поскольку у них заболевание протекает в форме ангины. При вскрытии такого трупа в лаборатории обращают внимание на заглоточные лимфоузлы и состояние гортани. Иногда, если вскрытие все же было произведено, в лабораторию направляют кровь из сердца, кусочки селезенки, печени, измененные лимфоузлы. Также в лабораторию могут доставить кожевенно-меховое сырье.

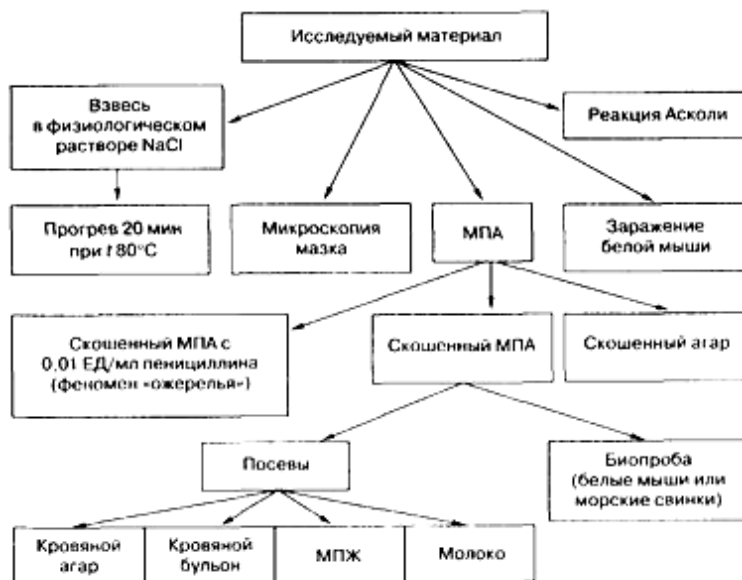


Рис. 1. Схема исследования
патологического материала на сибирскую язву

Соблюдая правила личной профилактики, в лаборатории ухо животного фиксируют в кюветке, подрезают и отпрепаровывают в виде треугольника кожу снаружи уха, где

она более подвижна. Лоскут кожи откидывают и к подкожной клетчатке прикладывают предметные стекла - готовят препараты-отпечатки. Кляч-препараты фиксируют и окрашивают по Граму. Подкожную клетчатку мелко нарезают маленькими стерильными ножницами и растирают в стерильной ступке с песком и физиологическим раствором. Данную тканевую взвесь используют для посева на питательные среды и заражения лабораторных животных. В пастеровскую пипетку кровь и приготовленную взвесь набирают с помощью резиновой груши.

Микроскопия. *Bacillus anthracis* - неподвижная грамположительная палочка; располагается короткими цепочками по несколько клеток или одиночно. Длина 4-8 мкм, ширина 0,5-1 мкм. Прилегающие друг к другу концы бацилл кажутся обрубленными, наружные - закругленные. В организме формирует капсулу. В препаратах-мазках из культуры характерно расположение длинными нитевидными цепочками (стрептобациллы). В культурах, почве, воде, кормах формирует стойкую форму - спору. Для спорообразования необходим доступ кислорода, температура в пределах 12-42°C.

Культуральные свойства. К питательным средам неприхотлив. Аэроб. Оптимальная температура роста 35-37°C. Из приготовленной тканевой взвеси пипеткой делают посев в МПБ, МПА. В МПЖ засевают в столбик среды уколом. В жидкой среде рост возбудителя характеризуется образованием на дне пробирки рыхлого ватообразного осадка при сохранении прозрачности бульона. На МПА через 24-48 ч *V. anthracis* образует шероховатые колонии R-формы с краями волнистыми, локоноподобными (грива льва). В МПЖ возбудитель ближе к поверхности (больше доступ кислорода) растет обильнее в виде ответвлений от места укола. По мере углубления рост ослабляется, ответвления становятся короче. Рост возбудителя в МПЖ напоминает перевернутую вершиной вниз елочку: через 2-3 сут желатина медленно разжижается в виде воронки (пептонизируется). На

кровяномагаре гемолиз не вызывает. Молоко свертывает через 2-4 сут; сгусток казеина пептонизируется.

Патогенность. Ставят биопробу на белых мышах, морских свинках или кроликах. Животных заражают подкожно непосредственно тканевой взвесью или выросшей культурой: дозой 0,1 мл - мышей, 0,2 мл - морских свинок и 6,3 мл - кроликов. Гибель наступает через 1-3 сут. Павших животных вскрывают и исследуют бактериологически. Для того чтобы обнаружить *B. anthracis* в исследуемом материале и идентифицировать выделенную культуру, используют также сибиреязвенные фаги. На засеянную поверхность агара с исследуемой культурой наносят каплю сибиреязвенного фага и инкубируют при 37°C. В случае гомологичности культуры и фага по следу капли уже через 6-8 ч образуется прозрачная дорожка лизиса; по краям дорожки отмечается рост засеянной культуры. Для идентификации *B. anthracis* прибегают к феномену «ожерелья»: под действием малых концентраций пенициллина в агаровой среде (0,01-0,5 ЕД/мл) бациллы сибирской язвы приобретают сферическую форму, напоминая ожерелье. Для дифференцирования *B. anthracis* от спорообразующих сапрофитных бацилл применяют МФА.

Серологическая диагностика. В несвежем, разложившемся патологическом материале бактериологическая диагностика неосуществима. В таких случаях применяют реакцию преципитации. Антигеном для реакции служит вытяжка из тканей органов павшего животного (в том числе уха). Экстрагируемый антиген бактерий термоустойчив, поэтому преципитиноген готовят кипячением кусочков ткани в физиологическом растворе. Реакцию преципитации ставят в маленьких пробирках Уленгута или методом диффузии в агаровом геле. Особое практическое значение реакция преципитации имеет при исследовании кожевенно-мехового сырья на сибирскую язву. Кусочки проб данного сырья доставляют в лабораторию в герметичной упаковке. Пробы сразу обеззараживают автоклавированием, измельчают, экстрагируют холодным способом при 12-14°C в физиологическом растворе (1:10) в

течение 16-18 ч. Экстракт фильтруют через нейтральную асбестовую вату. Постановка реакции осуществляется, как указано выше. Из мокросоленого сырья предварительно (после автоклавирования) удаляют соль (диализ). Для этого полученные экстракты фильтруют, разливают в мешочки и помещают на 45-60 мин в кристаллизатор с дистиллированной водой. После диализа мешочки переносят на 1 ч в кристаллизатор с 1%-ным раствором NaCl, а затем ставят реакцию, как обычно.

2. Схема вирусологического исследования - экспресс диагностика (обнаружение элементарных телец, телец-включений, электронная или световая вирусоскопия, ПЦР), вирусологическое исследование (культивирование вируса в культурах клеток, на куриных эмбрионах и на лабораторных и естественно восприимчивых животных, а также идентификация выделенного вируса при помощи серологических реакций) и ретроспективная диагностика (постановка серологических реакций с парными сыворотками крови).

Например, при исследовании на оспу поступают следующим образом. При данном заболевании в лабораторию направляют содержимое оспенных пузырьков, соскобы кожи (взятые на границе больной и здоровой ткани).

Вирус оспы может быть обнаружен в световом микроскопе при увеличении в 1350 раз (об. 90, ок. 15). Мазки или отпечатки готовят из срезов свежего пат. материала (везикулы, пустулы, мозг и др.); участок срезают лезвием безопасной бритвы и внутренней поверхностью среза однократно проводят (прикасаются) к предметному стеклу. Мазок высушивают на воздухе и на 3 мин. помещают в дистиллированную воду. Для обнаружения крупных вирионов (элементарных телец) препарат обрабатывают специальными методами «сверхокраски», которые направлены на искусственное увеличение размеров вирионов до разрешающей способности светового микроскопа за счет адсорбции металла на поверхности вирусных частиц.

Метод окрашивания по Морозову. Мазок покрывают на 1-2 мин жидкостью Руге, промывают дистиллированной водой и протравливают 1-2 мин. смесью танина и карболовой кислоты при подогревании до появления паров. Тщательно промывают дистиллированной водой и покрывают раствором аммиачного серебра на 1-2 мин. при легком подогревании, пока препарат не приобретет темно-коричневую окраску. Вновь промывают и сушат фильтровальной бумагой. При недостаточной промывке мазка после танина раствор серебра может пожелтеть (дать осадок), тогда препарат следует вновь промыть и посеребрить. Под микроскопом на препарате элементарные тельца видны как мелкие округлые образования темно-коричневого цвета, расположенные поодиночке, парами, короткими цепочками и в виде скоплений.

Также при оспе можно увидеть в микроскопе тельца-включения Гварньери (млекопитающие) или Боллингера (птицы). Однако их обнаружение служит лишь косвенным подтверждением диагноза на оспу.

Иногда, когда в патологическом материале небольшое количество вируса применяют полимеразную цепную реакцию.

ПЦР состоит из трех основных процедур:

- 1) подготовки исследуемой пробы материала, которая в большинстве случаев сводится к выделению ДНК или РНК;
- 2) собственно полимеразной цепной реакции;
- 3) детекции продукта ПЦР (амплифицированной нуклеиновой кислоты).

Выделение ДНК/РНК. В большинстве случаев из исследуемой пробы крови, сыворотки, лейкоцитов, биоптатов, мочи, мокроты для исключения ложноотрицательного результата следует выделить ДНК тем или иным способом. Благодаря этому происходит концентрирование исследуемой ДНК-матрицы в малом объеме и удаление ингибиторов Таq-полимеразы. В настоящее время используется несколько способов подготовки образца для проведения ПЦР. Процедура

подготовки пробы включает лизис микроорганизма и экстракцию нуклеиновой кислоты. С целью разрушения клетки используют простое кипячение, замораживание-оттаивание в присутствии лизоцима, а также специальные лизирующие буферы, содержащие детергенты и протеиназу. Выбор метода диктуется природой микроорганизма, а точнее - природой его клеточной стенки.

Постановка ПЦР. Для проведения ПЦР в реакционный буфер вводят определенное количество коротких (15-30 пар оснований) праймеров, комплементарных последовательностям, фланкирующим участок ДНК, копию которого хотят получить. Праймеры подбирают таким образом, чтобы их 3' -концы были ориентированы навстречу друг другу, т.е. синтезировался фрагмент ДНК, заключенный между праймерами. ПЦР проводят следующим образом: сначала реакционную смесь нагревают до температуры 90-94°C, вызывая этим денатурацию ДНК, затем температуру снижают до 50-65°C в зависимости от нуклеотидной последовательности праймеров, чтобы отжиг происходил в строго комплементарных участках, и, наконец, в смеси устанавливают температуру, оптимальную для работы ДНК-полимеразы. При воспроизведении этого цикла количество копий участка ДНК, находящегося между местами отжига праймеров, возрастает в логарифмической зависимости, т.е. от одной двухцепочечной молекулы можно получить 2^n одноцепочечных копий, где "n" равно количеству циклов.

Детекция продукта ПЦР. Присутствие специфического ПЦР-продукта (ампликона) детектируют электрофоретическим разделением ПЦР-амплификационной смеси на окрашенном бромистым этидиемагарозном или полиакриламидном гелях. Бромистый этидий образует с фрагментами ДНК устойчивое соединение, проявляющееся в виде светящихся полос при облучении геля УФ-излучением с длиной волны 290-330 нм. Полосы визуализируют с помощью ультрафиолетового подсвечивания в трансиллюминаторе и последующим фотографированием. Специфичность полосы амплифицированной ДНК

подтверждается ее положением (размерами) по отношению к маркерным фрагментам и ДНК-стандарту. Положительный результат оценивают по расстоянию пробега визуализированной полосы, соответствующему полосе положительного контроля, что свидетельствует о синтезе фрагмента ДНК, равного по размерам положительному контролю.

Вирус оспы культивируется на молодняке естественно-восприимчивых животных и птиц, культуре клеток и развивающихся птичьих эмбрионах. Полученный материал идентифицируют в РДП, РИФ, РН.

Для ретроспективной диагностики применяют РДП.

3. Принцип постановки серологических реакций. Серологические реакции основаны на взаимодействии вирусных антигенов со специфическими (гомологичными, своими) антителами. Вирусы являются антигенами, так как их белковая оболочка вызывает выработку специфических антител. Антитела накапливаются в основном в сыворотке крови. Они способны соединяться в комплекс «антиген+антитело» только со своим антигеном. Если антиген - инфекционный агент (вирус), антитела его нейтрализуют: в этом состоит биологическая роль антител. Взаимодействие антител со своими антигенами возможно не только в живом организме, но и в пробирке. На этом и основаны серологические реакции (от лат. serum - сыворотка). Если взятая пара АГ (антиген) и АТ (антитело) гомологичны(соответствуют друг другу), то в пробирке они образуют комплекс «АГ+АТ». Это позволяет обнаружить по известному антителу неизвестный антиген. Если брать сыворотку в разведениях, то можно установить и титр антител в ней. Идентификация неизвестного антигена возможна также путем испытания его с различными антителами. Обычно источником антител служит сыворотка крови животных, иммунизированных искусственным или естественным путем определенными вирусными антигенами. Антигенностью у вирусов обладают их белки, поэтому в

серологических реакциях в качестве вирусного антигена используют корпускулярный антиген в виде суспензии вирусов или растворимые белки вирусов.

Широкое распространение нашли следующие серологические реакции:

- 1) нейтрализации (РН);
- 2) торможения гемагглютинации (РТГА);
- 3) непрямой гемагглютинации (РНГА);
- 4) связывания комплемента (РСК);
- 5) диффузной преципитации (РДП);
- 6) торможения гемадсорбции (РТГАд);
- 7) иммунофлуоресценции (РИФ).

Все эти реакции различаются между собой методом определения образовавшегося комплекса «антиген + антитело» или тем, что комплекс вообще не образовался. При серологической ретроспективной диагностике исследованиям подлежат сыворотки больных животных. Обычно используют парные сыворотки, для получения которых от каждого животного кровь берут дважды с интервалом в 2-3 недели: в начале, т. е. в острой стадии, и в конце болезни, т. е. в период реконвалесценции. Сроки взятия крови варьируют в зависимости от особенностей течения болезни. Взятие крови и получение из нее сыворотки осуществляют в асептических условиях, так как сыворотки должны быть стерильными. До исследования сыворотки хранят в пробирках под пробками в холодильнике или в замороженном состоянии. Цель исследования - установить в парных сыворотках наличие и титр антител к вирусам, которые предположительно могли быть возбудителями болезней у животных (человека), от которых получены сыворотки. Основанием для предположения, к каким вирусам искать антитела, служит предварительный диагноз, поставленный по данным эпизоотологических наблюдений, клиническим признакам и патолого-анатомическим изменениям (в случае зооантропоноза - по данным медслужбы). Наличие в сыворотках антител и их титры определяют в серологических реакциях; в качестве антигена используют предполагаемый

вирус. Выбор серологических реакций определяется тем, какая реакция наиболее результативна для данного вируса, а также возможностями лаборатории и степенью квалификации персонала. При этом также учитывают быстроту получения ответа и трудоемкость работы. После установления титра антител в парных сыворотках прослеживают динамику титра: нарастание титра антител во второй сыворотке по сравнению с таковым в первой в 4 раза и более достоверно свидетельствует об активном инфекционном процессе в организме животного в период взятия у него крови. При этом болезнь определяют по тому вирусу, к которому определены антитела в парных сыворотках. Недостаток серологической диагностики заключается в ретроспективности, так как к моменту постановки диагноза животное, от которого получены парные сыворотки, уже или выздоровело, или пало. Однако серологические методы позволяют получить точный диагноз, что служит обоснованием мероприятий по ликвидации вспышки вирусной болезни или ее эпизоотии. Как известно, в сыворотках крови животных содержатся не только специфические противовирусные антитела, но и так называемые неспецифические ингибиторы. Как и антитела, они относятся к гуморальным факторам иммунитета и также нейтрализуют инфекционную и гемагглютинирующую активность вирусов; свое действие на вирусы они проявляют не только в организме, но и *in vitro*. В серологических реакциях используют сыворотки крови, содержащие определенные антитела. В этой же сыворотке находятся и неспецифические ингибиторы, которые на вирусный антиген оказывают совместное действие с антителами, что ведет к искажению результатов, поэтому все сыворотки, предназначенные для серологических реакций, обязательно предварительно освобождают от неспецифических ингибиторов вирусов.

Серологические реакции в микробиологии применяют для установления диагноза (серодиагностика), идентификации микробов, определения видовой принадлежности белков при воздействии на них

специфической иммунной сыворотки и определения группы крови у животных. Нередко положительные серологические реакции - единственное доказательство наличия инфекционного процесса. С их помощью можно доказать природу болезни, провести дифференциацию сходных по клиническим признакам и патологоанатомическим изменениям заболеваний, определить прогноз болезни. Для серологических реакций кровь у животного нужно брать утром до кормления. Реакции ставят в сухой, стерильной и чистой посуде; пипетки, пробирки нельзя помещать в формалин, растворы щелочей и кислот. С помощью известных антигенов (диагностикумов) можно определять наличие антител в сыворотке крови больного или обследуемого (серологическая диагностика инфекционных заболеваний). Наличие же специфических иммунных сывороток (диагностических) позволяет установить видовую, типовую принадлежность микроорганизма (серологическая идентификация микроба по антигенной структуре). Внешнее проявление результатов серологических реакций зависит от условий ее постановки и физиологического состояния антигена. Корпускулярные антигены дают феномен агглютинации, лизиса, связывания комплемента, иммобилизации. Растворимые антигены дают феномен преципитации, нейтрализации.

Например, рассмотрим серологическое исследование на бруцеллез и лейкоз.

Бруцеллез - бактериальное инфекционное заболевание рогатого скота и других видов животных, характеризующееся абортами, поражением суставов. Особо опасно для человека. В лабораторию ежегодно весной и осенью направляют кровь от всего лактирующего поголовья коров.

Для серологического исследования в лабораторию направляют кровь (сыворотку крови) и молоко. Кровь у животных берут из яремной вены. Пробирки нумеруют и составляют опись проб. Сыворотку крови получают методом отстаивания. Неконсервированные сыворотки пригодны для

исследования в течение 6 суток со дня взятия крови при условии хранения их при 4-80С.

Серологическая диагностика бруцеллеза заключается в обнаружении специфических антител в сыворотке крови животных в пластинчатой реакции агглютинации с роз бенгал антигеном (роз бенгал проба - РБП) и других реакциях, утвержденных в установленном порядке.

Постановка и учет результатов РБП. Пластинчатую реакцию агглютинации с бруцеллезным роз бенгал антигеном (РБП) применяют как экспресс-метод диагностики бруцеллеза у не иммунизированного противобруцеллезными вакцинами крупного рогатого скота, овец, коз, лошадей. Компоненты РБП: испытуемые сыворотки крови; антиген, окрашенный бенгальским розовым (роз бенгал антиген); позитивная бруцеллезная и негативная сыворотки; 0,5%-ный фенолизированный физиологический раствор.

Постановка РБП. Перед постановкой реакции антиген и исследуемые сыворотки выдерживают 30 - 40 мин. при комнатной температуре. Антиген гомогенизируют путем встряхивания. Реакцию проводят на чистых сухих эмалированных диагностических пластинах с лунками при температуре не ниже 180С. На бортиках пластинки против каждой лунки записывают номер исследуемой сыворотки. Исследуемые сыворотки крови в дозе 0,03 мл вносят на дно лунки при помощи микропипетки (одна капля). После внесения каждой сыворотки в каждую лунку рядом с сывороткой вносят две капли антигена, а при исследовании сывороток крови овец. Затем антиген в каждой лунке тщательно смешивают с сывороткой активными движениями ручного смесителя до получения однородной жидкости, распределяя ее при этом по всей поверхности лунки. Пластинку с сыворотками и антигеном покачивают в течение 4 минут осторожными вращательными движениями вручную или при помощи аппарата, предназначенного для этой цели. При положительной реакции в течение 4 мин. Появляются мелкие или крупные хлопья агглютината розового цвета. В начале работы ставят контроль антигена с негативной и

позитивной бруцеллезной сыворотками в тех же дозах, а также антигена на спонтанную агглютинацию (к 0,03 мл физиологического раствора добавляют 0,03 мл антигена).

Учет результатов реакции проводят визуально в течение 4 мин. после смешивания сывороток с антигеном при слегка наклонном положении пластинки. Реакцию считают положительной при наличии выраженной агглютинации окрашенных бруцелл антигена в виде мелких или крупных хлопьев розового цвета, выделяющихся на белом фоне лунки. Реакцию считают отрицательной при отсутствии агглютинации (смесь гомогенна, равномерно окрашена). При нечетко выраженной агглютинации проводят повторное исследование данной сыворотки и по его результатам дают окончательную оценку реакции (положительная или отрицательная).

Лейкоз крупного рогатого скота - хроническая вирусная болезнь с длительным латентным периодом, поражающая органы кроветворной системы. Заражение животных ВЛКРС сопровождается выработкой антител, которые персистируют в организме у зараженных животных на протяжении всей жизни. Это позволяет применять серологические методы для диагностики этой инфекции. Разработанная и широко применяемая в ветеринарных лабораториях реакция иммунодиффузии в геле агара (РИД). В настоящее время она остается основным диагностическим методом, по результатам которого проводят оздоровительные и профилактические мероприятия в неблагополучных по лейкозу хозяйствах.

Метод основан на обнаружении в сыворотке крови животных специфических преципитирующих антител к антигенам вируса лейкоза крупного рогатого скота. Специфические антитела появляются в крови через 2-8 недель после заражения животного ВЛКРС и сохраняются в организме пожизненно. Серологическому исследованию на лейкоз подвергают животных в возрасте 6 месяцев и старше. Сыворотки для исследования получают из крови испытуемого животного в количестве 2-3 мл и направляют в лабораторию с сопроводительным документом.

Постановка РИД. Антиген растворяют в 5 см³ разбавителя. Разбавитель ССА и солевую смесь агара переносят в колбу и приливают дистиллированную воду до объема 200 см³, затем колбу помещают в водяную баню и выдерживают до полного расплавления гранул агара. Расплавленный агаровый гель, имеющий температуру 50-70°С, разливают слоем 2-3 мм (12-15 мл) в обезжиренные чашки Петри и оставляют их приоткрытыми при комнатной температуре в течение 1 ч. После застывания агара специальным штампом-пробойником делают лунки в геле, не допуская образования трещин между ними и отслоения агара от дна чашки. В каждой чашке делают по четыре фигуры, каждая из которых состоит из семи лунок: одна в центре, остальные по периферии. Диаметр каждой лунки составляет 7 мм, расстояние между центральной и периферическими лунками – 3 мм. Образовавшиеся диски геля удаляют из лунок канюлей, соединенной с вакуумным насосом. Антиген, контрольные и испытуемые сыворотки вносят в лунки каждой фигуры пастеровскими или автоматическими пипетками со сменными наконечниками.

Антиген (А) вносят в центральную лунку, две диаметрально противоположные лунки заполняют контрольной сывороткой (КС). Оставшиеся в фигуре 4 периферические лунки (1,2,3,4) заполняют испытуемыми сыворотками. Лунки заполняют доверху, не допуская переливания жидкости через край. После заполнения всех лунок чашки Петри закрывают крышками и инкубируют во влажной камере при температуре 22-27°С.

Учет и оценка результатов реакции. Реакцию учитывают не ранее, чем через 48 ч и не позднее, чем через 96 ч. Чашки просматривают на темном фоне, направляя сфокусированный луч осветителя на дно чашки под углом 30-45°. Специфичность реакции оценивают по контрольной линии преципитата. Если она отсутствует или слабо выражена, то реакцию следует повторить. Специфическая линия преципитации, формируемая преципитирующей контрольной сывороткой и антигеном, должна быть четкой, иметь форму

прямой, располагаться на одинаковом расстоянии от лунок с антигеном и контрольной сывороткой. Неспецифической считают линию преципитации, которая образуется между лунками с испытуемой сывороткой и антигеном, но не сливается с контрольной линией преципитации, а пересекает ее или упирается в нее, образуя угол.

Оценка результатов. Положительной считают реакцию, если между лунками с антигеном и испытуемой сывороткой образуется полоса преципитации, которая соединяется с полосой преципитации контрольной сыворотки, образуя непрерывную линию, то есть идентична ей (рис. 2, поз. 1): если линия преципитации между лунками с испытуемой сывороткой и антигеном отсутствует, но контрольная линия преципитирующей сыворотки образует вблизи лунки с испытуемой линией изгиб, направленный в сторону лунки с антигеном (рис. 2, поз. 2) – слабо положительная сыворотка; если контрольная линия значительно укорочена со стороны лунки с испытуемой сывороткой и имеет размытый изгиб к лунке с антигеном или образует линию преципитации, расположенную очень близко от лунки с антигеном (рис. 2, поз. 2) - резко положительная сыворотка. Положительно реагирующая сыворотка может образовывать вторую линию преципитации, которая располагается ближе к лунке с испытуемой сывороткой. Эта линия указывает на наличие в сыворотке преципитирующих антител против второго антигена (р24) ВЛКРС (рис. 2, поз.3). При образовании толстой, короткой, без загибов контрольной линии преципитации, не доходящей до лунки с испытуемой сывороткой, необходимо провести раститровку этой испытуемой сыворотки физ. раствором до получения результата, который можно будет оценить как отрицательный, положительный или неспецифический.

Реакцию считают отрицательной, если контрольная линия продолжается до лунки с испытуемой сывороткой без загиба (рис. 1, поз. 4).

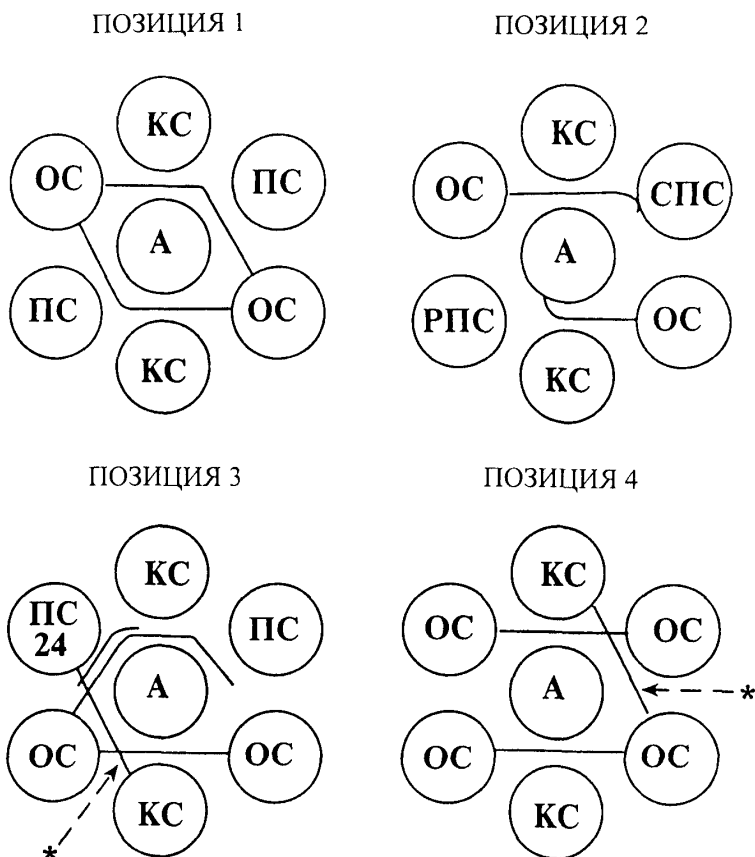


Рис. 2. Результаты реакции антигена ВЛКРС
с отрицательной (ОС), положительной (ПС), слабopоложительной (СПС), резко положительной (РПС) и положительной с антителами к р24-антигену испытуемыми сыворотками в РИД
(* - неспецифические линии преципитации)

В случаях, когда линия преципитации плохо просматривается или имеется зона опалесценции вокруг лунок, реакцию следует переставить.

Животных, сыворотки крови которых дали положительный результат в РИД, признают зараженными вирусом лейкоза и их необходимо исследовать гематологическим методом. При положительной РИД животное не считается больным. В данном случае это - вирусоносительство. А животное является РИД-

положительным по причине того, что организм уже столкнулся с вирусом и произошла выработка антител. Молоко от коров-вирусоносителей можно употреблять в кипяченом или пастеризованном виде. Таких животных, исследуют гематологически, то есть методом микроскопического исследования крови (подсчет лейкоцитов). Кровь для такого исследования берут в пробирки с цитратом для предотвращения свертывания, и, что немаловажно, необходимо обеспечить своевременную доставку крови в лабораторию, чтобы исследование проводилось не позднее 36 часов после взятия проб. При положительном или сомнительном результате исследования животное относится к категории больных лейкозом. Но через 1-2 месяца нужно провести повторное исследование по гематологии. При повторном положительном результате животное считается больным и подлежит убою. Двукратное исследование по гематологии допускается с целью удостовериться, что животное больно именно лейкозом при положительной РИД. Бывают случаи, когда повторное гематологическое исследование дает отрицательный результат. В таком случае можно предполагать, что в организме животного в этот период имели место какие-либо воспалительные заболевания (абсцесс, мастит, эндометрит и т.д.).

В настоящее время все более активно применяют ИФА для диагностика лейкоза.

Задание для студентов:

1) по предложенной схеме описать бактериологический анализ патологического материала при одном из предложенных заболеваний: рожа свиней, сальмонеллез, колибактериоз, сеп, столбняк, туберкулез, лептоспироз, бруцеллез, пастереллез, листериоз, актиномикоз, вибриоз;

2) по предложенной схеме описать вирусологический анализ патологического материала при одном из предложенных заболеваний: бешенство, ящур, болезнь Ауески, классическая чума свиней, респираторно-

репродуктивный синдром свиней, болезнь Тешена, чума плотоядных, вирусная геморрагическая болезнь кроликов, панлейкопения кошачьих, калицивироз кошек, болезнь Ньюкасла, болезнь Марека;

3) описать принцип постановки различных серологических реакций;

4) подробно расписать одну из предложенных реакций (по схеме - компоненты, постановка, учет): РА классическим способом, пластинчатый метод РА, кровяно-капельный метод РА, кольцевая проба с молоком, РА методом адсорбции антител, реакция Кумбса, РГА (в том числе, РЗГА и РНГА), РП, РДП, РН, РСК, МФА.

Список рекомендуемой литературы:

1. Троценко Н.И., Белоусова Р.В., Преображенская Э.А. Практикум по ветеринарной вирусологии. - М.: Колос, 2000.
2. Сюрин Н., Белоусова В., Фомина В. Ветеринарная вирусология. - М.: Агропромиздат, 1991.
3. Госманов Г., Колычев М. Ветеринарная вирусология. - М.: КолосС, 2006.
4. Сюрин Н., Самуйленко А.Я., Соловьев Б.В., Фомина В. Вирусные болезни животных - М.: ВНИТИБП, 1991.
5. Инструкции по борьбе с различными инфекционными заболеваниями животных (Ветеринарное законодательство, тома I, II, III и IV).

ГИГИЕНА ЖИВОТНЫХ

Качество подготовки ветеринарного врача во многом зависит от того, насколько он целеустремленно и активно овладевает практическими навыками своей будущей специальности. Учебная практика позволяет глубже усвоить определенные элементы знаний, полученные студентом на лекциях и лабораторных занятиях.

Тема практики: «Санитарно-гигиеническая оценка условий содержания, кормления и эксплуатации сельскохозяйственных животных на примере конкретного хозяйства ООО Голштин и ООО Ландрас с. Бл. Хутор Слободзейского района».

Цель практики: Усвоить и практически отработать основные методики оценки условий содержания, кормления и поения животных.

По окончании практики студенты обобщают полученные результаты, дают обоснованную общую санитарно-гигиеническую оценку животноводческим фермам и условиям содержания животных и составляют отчет по гигиеническому обследованию ферм с рекомендациями.

Учебно-технологическая практика. Модуль 3

Модульная единица 3.1. Учебно-технологическая практика по гигиене животных	18	12
Учебный элемент 1. «Генеральный план фермы с зонированием и санитарным разрывом»	2	2
Учебный элемент 2. «Хранение кормов и профилактика кормовых отравлений»	2	1
Учебный элемент 3. «Ветеринарно – санитарная защита предприятий»	2	1
Учебный элемент 4. «Способы обеззараживания и утилизация навоза, сточных вод, трупов»	2	1
Учебный элемент 5. «Санитарно – гигиеническая оценка животноводческого помещения»	4	3
Учебный элемент 6. «Исследование микроклимата»	4	3
Учебный элемент 7. «Влияние условий содержания на физиологическое состояние животных»	2	1

ПРОГРАММА ПРАКТИКИ

Раздел I. Санитарно-гигиеническое обследование территории и помещений животноводческих ферм

- 1.1. Санитарно-гигиеническая оценка участка (размер, рельеф, почва, господствующий ветер и т.д.), расположение животноводческих помещений относительно других объектов. Благоустройство, размер, в т.ч. на одно животное. Начертить генплан фермы.
- 1.2. Оценка расположения помещений (ориентировка по сторонам света к господствующим ветрам и к жилому сектору, ветеринарным объектам).
- 1.3. Санитарные разрывы между помещениями, дорогами, ветеринарными объектами, навозохранилищем, уборной, скотомогильником. Представить в виде таблицы (форма 1).

- 1.4. Выгульные дворы, их расположение, санитарное состояние.
- 1.5. Формирование зонального деления территории и ее ветеринарно-санитарная защита.
- 1.6. Зоогигиеническая оценка помещений для животных: тип, проект, материалы ограждающих конструкций, внутренняя планировка (сделать схему), размеры, площадь и кубатура общая и на одно животное.
- 1.7. Размещение, гигиеническое состояние, устройство стойл, станков, их ширина, длина, покат пола. Размеры кормушек, проходов. Система привязки животных. Полученные данные представить в виде таблицы (форма 2).
- 1.8. Оценка системы вентиляции: устройство, количество и размеры приточных и вытяжных каналов, общая площадь и на одно животное. Скорость движения воздуха в вентиляционной шахте. Рассчитать воздухообмен; кратность в час и на 1 кг живой массы. Полученные данные представить в виде таблицы (форма 3).
- 1.9. Система и устройство канализации (жигесточников, лотков, углов наклона их к трапам (размеры), объем трапов, наличие и устройство гидравлических затворов, расположение, устройство и объем жигесборников. Расположение и устройство навозохранилища. Способ хранения навоза.

Все полученные данные сравнить с гигиеническими нормами, сделать выводы и предложения.

Форма 1

Санитарно-защитные и зооветеринарные разрывы

Показатели	Фактическое расстояние, м	Гигиеническая норма, м
Расстояние от:		
Других ферм		
Населенных пунктов		
Проезжих дорог местного		
международного		
республиканского значения		
Ветеринарных объектов		
Навозохранилищ		
Предприятий по переработке продуктов животноводства		

Форма 2

Оборудование помещения

Показатели	Единица измерения	Результат оценки	Гигиеническая норма
Длина	м		
Ширина	м		
Высота	м		
Площадь всего и на голову	м ²		
Кубатура всего и на голову	м ³		
Размеры стойл (станков, площадь клеток)	м ²		
Ширина кормовых проходов	м		
Ширина навозных проходов	м		

Форма 3

Санитарно-гигиеническая оценка вентиляции

Показатели	Единица измерения	Результат оценки	Гигиеническая норма
Вытяжные каналы, размер, количество	м		
Приточные каналы, размер, количество	м		
Общая площадь сечения вытяжных каналов	м ²		
Площадь сечения вытяжных каналов на голову	см ²		
Общая площадь сечения приточных каналов	м ²		
Объем вентиляции	м ³ /час		
Воздухообмен на голову или кг живой массы	м ³		

Раздел 2. Исследование и гигиеническая оценка микроклимата помещения

- 2.1. Определение температуры и влажности в помещениях и открытой атмосфере.
- 2.2. Определение универсальным газоанализатором содержания в воздухе помещения аммиака и углекислоты титриметрическим методом.
- 2.3. Определение скорости движения воздуха в помещении и атмосфере анемометром и кататермометром. Данные представить в виде таблицы (форма 4).
- 2.4. Определение освещенности. Количество, расположение окон, их санитарное состояние. Произвести оценку освещенности геометрическим методом, а также искусственного освещения по отношению мощности источников света к площади

пола. Полученные данные представить в виде таблицы (форма 5).

Форма 4

Показатели микроклимата

Показатели	Точка замера	Результат исследования	Гигиеническая норма
Температура, °C	торец		
	середина		
	торец		
	среднее		
	свободная атмосфера		
Относительная влажность, %	торец		
	середина		
	торец		
	среднее		
	свободная атмосфера		
Скорость движения воздуха, м/с	торец		
	середина		
	торец		
	среднее		
	свободная атмосфера		

Форма 5

Освещенность помещения

Показатели	Результаты обследования	Гигиеническая норма
Площадь помещения, м ²		
Площадь остекления		
одного окна, м ²		
всех окон, м ²		
СК		
Естественная освещенность, лк		
Количество лампочек, шт		
Мощность одной лампочки, Вт		
Производственная освещенность, Вт/м ²		
Дежурная освещенность, Вт/м ²		

На основании полученных данных по разделу 2
составить акт экспертизы (форма 6)

Форма 6

Экспертиза условий содержания _____
животных, птиц

Показатели микроклимата	Норма	Фактически
Температура, °С		
Относительная влажность, %		
Движение воздуха, м/с		
Охлаждающая сила воздуха, мкал, см ² /с		
Газовый состав воздуха:		
Содержание, мг/м ³		
CO ₂ , %		
Освещение: СК		
люкс		
Вт/м ²		
Воздухообмен, м ³ на кг (или на голову)		

Санитарно-гигиеническое состояние помещения,
оборудования _____

Рекомендации по улучшению климата _____

Обследование провели: _____

Раздел 3. Санитарно-гигиеническая оценка водоснабжения. Поение животных и качества воды

3.1. Санитарно-топографическая оценка
водоисточника. Его охрана.

3.2. Дать санитарную оценку водопойному
инвентарю – поилкам, корытам, желобам, а также
приемам очистки, улучшению и обеззараживанию
воды на ферме. Провести расчет суточной
потребности воды для животных по

зоогигиеническим нормам и сопоставить с фактическим расходом воды в сутки.

- 3.3. Санитарная оценка доброкачественности питьевой воды по физическим свойствам (температура, запах, цвет, вкус, прозрачность); по химическим свойствам (окисляемость, наличие аммиака, нитратов, хлоридов, сульфатов, определение активности реакции воды).

Составить экспертизу оценки воды и сделать заключение (форма 7).

Форма 7

Экспертиза оценки доброкачественности воды

Форма _____ хозяйства _____

Показатели	Норма	Фактически
Температура, °С		
Цвет, градус		
Запах, балл		
Вкус, объективно		
Прозрачность, см		
Окисляемость, мг/л		
Реакция воды, рН		
Хлориды, мг/л		
Сульфаты, мг/л		
Аммиак, мг/л		
Нитраты, мг/л		

Заключение:

Раздел 4. санитарно-гигиеническая оценка кормов и кормления

- 4.1. Рассмотрение условий заготовки и хранения кормов: гигиеническая оценка размещения кормового двора, кормохранилищ. Дать схему расположения основных сооружений и хранилищ.
- 4.2. Пользуясь зоогигиеническими методами, отобрать среднюю пробу кормов и оценить ее

доброкачественность по органолептическим показателям: время уборки, влажность, структура (консистенция, цвет, запах, наличие поражения и примесей). Полученные данные представить в виде таблиц (формы 8,9,10).

- 4.3. Изучить технологию, транспортировку и соблюдение гигиенических требований при заготовке разных видов кормов.

Раздел 5. Ознакомление с комплексом санитарно-гигиенических мероприятий по профилактике и ликвидации незаразных, инфекционных, инвазионных заболеваний

- 5.1. Ознакомиться с порядком рабочего дня. Дать санитарную оценку.
- 5.2. Провести собственными силами санитарный день на ферме.
- 5.3. Принять участие в организации благоустройства территории фермы. В конце практики по зоогигиене студенты пишут отчет согласно разделов программы и защищают его, после чего выставляется оценка

Примечание: Все санитарно-гигиенические обследования проводятся по каждой ферме отдельно.

Во время прохождения практики студент ежедневно ведет дневник по схеме:

Дата проведения учебной практики	Место проведения практики	Тема практики	Краткое описание проделанной работы	Замечания и подпись руководителя практики

Список рекомендуемой литературы:

1. Кочиш И.И., Калюжный Н.С., Волчкова Л.А., Нестеров В.В. Зоогигиена: Учебник.- СПб.: Лань, 2008.
2. Виноградов П.Н. Ерохина Л.П., Мурусидзе Д.Н. Проектирование и технологические решения малых ферм по производству молока и говядины. – М.: КолосС, 2008.
3. Забудский Ю.И., Камалов Р.А., Кочиш И.И. и др. Зоогигиена с основами проектирования животноводческих объектов: Электронный учебно – методический комплекс. – М.: ФГОУ ВПО РГАЗУ, 2008.
4. Кочиш И.И., Найденский М.С., Елизаров Е.С., Кочиш О.И. Экологические безопасные способы стимуляции роста и развития бройлеров в онтогенезе. - М.: ФГОУ ВПО МГАВМиБ им. К.И. Скрябина, ОНО ППЗ Конкурсный, 2007.
5. Кочиш И.И., Петраш М.Г., Смирнов С.Б. Птицеводство. 2-е изд., перераб. и доп. - М.: КолосС, 2007.
6. Кочиш И.И., Смирнов Б.В., Смирнов С.Б. Фермерское птицеводство: Учебное пособие. - М.: КолосС, 2007.
7. Кузнецов А.Ф., Найденский М.С., Кожурин В.М. и др. Практикум по зоогигиене с основами проектирования животноводческих объектов. – М.: КолосС, 2006.
8. Найденский М.С., Кузнецов А.Ф., Храмцов В.В., Виноградов П.Н. Зоогигиена с основами проектирования животноводческих объектов. – М.: КолосС, 2007.
9. Фисинин В.И., Кавтарашвили А.Ш., Кочиш И.И. и др. Прогрессивные ресурсосберегающие технологии производства яиц: Научно-производственное издание. - Сергиев Посад, 2009.

10. Авылов Ч., Денисов А. Влияние микроклимата в свинарниках на здоровье и продуктивность животных. Свиноводство №2, 2004.
11. Архипов А.В., Кочиш И.И., Найденский М.С. и др. Технологические основы производства и переработки продукции животноводства. - М.: МГТУ им. Баумана, 2003.
12. Баландин В.И. Микроклимат животноводческих зданий. – СПб, 2003.
13. Вильданов Р.Х., Ларцева С.А. Создание оптимального микроклимата при реконструкции помещений для телят. - Ветеринария № 5, 2003.
14. Винничук Д.Т. Выращивания и тренинг лошадей.- М.: Изд. АСТ. 2003.
15. Виноградов П.Н., Шевченко С.С., Гарафутдинова Е.П. и др. Рекомендации по производству молока в личных подсобных и крестьянских (фермерских) хозяйствах. - М.: ФГНУ Росинформагротех, 2006.
16. Гафуров А.Ш., Рахматуллин Ш.Г. Выращивание и использование лошади. – Уфа, 2001.
17. Гегамян Г., Пономарёв Н., Мошкutelо И., Маньков Л. и др. Новые технологии производства свинины с законченным циклом на собственных кормах. - Свиноводство №1, 2003.
18. Зингер А.Ф. Уход за молодняком домашней птицы. - М.: Изд. АСТ, 2004.
19. Иванов А. Корма и помещения для свиней. - Свиноводство №1, 2003.
20. Кабанов В.Д. Интенсивное производство свинины. - М.: 2003.
21. Храмцов В.В. Зоогигиена с основами проектирования животноводческих объектов. - М: Колос, 2007.
22. Чикалёв А.И. Зоогигиена с основами проектирования животноводческих объектов. - СПб.: Издательство Лань, 2006.

ВЕТЕРИНАРНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ. ТОКСИКОЛОГИЯ

Учебная практика по данной дисциплине направлена на достижение студентами следующих целей и задач:

1) Ознакомиться с устройством и организацией работы вет. аптеки, назначением аптечной посуды и правилами ухода за ней.

2) Ознакомиться с правилами хранения медикаментов, реактивов и других химико-фармацевтических препаратов.

3) Изучить структуру, схемы и правила выписывания рецептов с использованием обще принятых сокращений. Части растений.

4) Лекарственные формы. Их классификация. Технология приготовления лекарственных форм.

5) Классификация путей и способов введения лекарственных веществ. Преимущества и недостатки наиболее часто используемых из них в ветеринарной практике.

В результате прохождения учебной практики студенты должны:

Знать:

- классификацию лекарственных веществ и их русское и латинское название (синонимы);
- фармакокинетику и фармадинамику лекарственных веществ, их побочное действие, меры первой помощи при отравлениях
- принципы дозирования лекарственных веществ
- правила выписывания рецептов
- причины появления устойчивости к лекарственным веществам и пути ее преодоления
- новейшие достижения в области фармакологии

Место и время проведения учебной практики

Место проведения учебной практики: ветеринарная аптека ООО «Файер»; аудитория кафедры общих

ветеринарных дисциплин оборудованная таблицами и рисунками согласно графика.

Время проведения учебной практики: VI семестр.

Компетенции студента, формируемые в результате прохождения учебной практики по ветеринарной фармакологии

В результате прохождения учебной практики по дисциплине «Ветеринарная фармакология. Токсикология» студент должен обладать следующими общекультурными компетенциями (ОК):

- владение культурой мышления, способностью к обобщению, анализу, восприятию информации, постановке цели и выбору путей её достижения (ОК-1);

- умение логически верно, аргументировано и ясно строить устную и письменную речь (ОК-2);

- осознание социальной значимости своей будущей профессии, овладение высокой мотивацией к выполнению профессиональной деятельности (ОК-4);

- использование знания иностранного и латинского языков для получения информации профессионального характера из иностранных и отечественных источников (ОК-8);

- использование основных законов естественнонаучных дисциплин в профессиональной деятельности (ОК-11);

- студент должен обладать следующими профессиональными компетенциями (ПК);

- способность и готовность анализировать закономерности функционирования органов и систем организма, использование знаний морфофизиологических основ, основные методики клинко-иммунологического исследования и оценки функционального состояния организма животного для своевременной диагностики заболеваний (ПК-5);

- способность и готовность анализировать и интерпретировать результаты современных диагностических технологий по возрастно-половым группам животных с

учетом их физиологических особенностей для успешной лечебно-профилактической деятельности (ПК-6);

- способностью и готовностью назначать больным адекватное (терапевтическое и хирургическое) лечение в соответствии с поставленным диагнозом, осуществлять алгоритм выбора медикаментозной и немедикаментозной терапии пациентам с инфекционными, паразитарными и неинфекционными заболеваниями (ПК-9);

- соблюдением правил работы с лекарственными средствами; способностью и готовностью использовать основные принципы при организации лечебного диетического кормления больных и здоровых животных (ПК-10);

- способностью использовать современные методы и приемы изготовления, производства, контроля качества, хранения, транспортировки, оборота и утилизации лекарственных средств (ПК-1.1);

- способностью осуществлять сбор, анализ и интерпретацию материалов в области ветеринарной фармации (ПК-1.2);

- готовность к изучению научно-технической информации, отечественного и зарубежного опыта в производстве лекарственных средств (ПК-1.12).

Структура и содержание практики

Общая трудоёмкость учебной практики составляет 0,25 зачётных единиц, 9 часов.

№ п/п	Разделы (этапы) практики	Виды учебной работы, на практике включая самостоятельную работу студентов и трудоёмкость (в часах)			Формы текущего опроса
		учебная работа	практич. работа	самостоят. работа	
1	Устройство и организация работы ветеринарной аптеки. Хранение лекарственных препаратов. Вещества списка А и Б.	1 час	0,5 часа	0,5 часа	опрос
2	Структура, правила составления и выписывания рецептов. Схемы. Растительное лекарственное сырье.	0,5 часа	0,5 часа	1 час	опрос

3	Изготовление наиболее распространенных лекарственных форм, применяемых в ветеринарии.	1 час	1,5 часа	0,5 часа	опрос
4	Пути и способы введения лекарственных веществ. Преимущества и недостатки наиболее часто используемых в ветеринарной практике.	1 час	—	0,5 часа	опрос
5	Общие закономерности влияния лекарственных веществ на животных, особенности фармакокинетики. Принципы дозирования лекарственных веществ.	-	—	0,5 часа	сдача отчёта по учебной практике
Итого		3,5 часа	2,5 часа	3 часа	
Всего		9 часов			

Занятие 1

Преподаватель демонстрирует по рисункам и рассказывает о размещении комнат аптеки, шкафов и столов и об их назначении.

Аптека – учреждение, основные функции которого заключаются в приготовлении ряда лекарственных форм, хранении и отпуске лекарственных веществ (средств) владельцам больных животных.

Для нормального функционирования аптеки, в зависимости от объема работы, надо иметь необходимое помещение и оборудование.

Аптека должна иметь:

1. Приемная комната для клиентов (посетителей) с оборудованием для свободной продажи лекарств.
2. Материальная комната, оборудованная для хранения лекарственных веществ.
3. Ассистентская комната для приготовления некоторых лекарственных форм, получения дистиллированной воды, стерилизации лекарственных форм и посуды.

4. Моечная комната для мытья посуды, хранения дез. средств.
5. Холодильник для хранения не стойких при комнатной температуре лекарственных средств и биопродукции (вакцины, сыворотки, аллергены и др.).
6. Рабочий кабинет.

Аптека должна быть размещена в сухом, светлом, просторном помещении с водопроводом и автономной канализацией.

В аптеке следует иметь фармакопею, ветеринарное законодательство, книгу по учету прихода и расхода медикаментов, кассовую книгу, фасовочный журнал, книгу регистрации температуры в подвальном помещении или холодильнике и справочник по применению лекарственных средств.

На должность заведующего аптекой назначается лицо, имеющее высшее или среднее ветеринарное образование. В обязанности заведующего аптекой входит получение медикаментов, инструментов, приборов, документов, расфасовка и продажа их потребителю, своевременная составление заявок на товары и списание их.

Правила хранения медикаментов, реактивов и других химико – фармацевтических препаратов

При организации хранения медикаментов и других препаратов необходимо учитывать их особенности и свойства, отношение к неблагоприятному воздействию света, воздуха, влаги, тепла и т.д.; физико-химическую несовместимость; огнеопасность и воспламеняемость.

По условиям хранения лекарственные препараты подразделяют на следующие группы требующие предохранения от воздействия света; подлежащие хранению в прохладном месте гигроскопические, подлежащие хранению в сухом помещении легко воспламеняющиеся и огнеопасные,

подлежащие хранению с особой предосторожностью; едкие вещества, требующие обособленного хранения от других медикаментов; ядовитые и сильнодействующие лекарства списков А и Б.

Лекарственные препараты на складах и в аптеках следует размещать на стеллажах и в шкафах вдали от нагревательных приборов в светлых просторных помещениях, где ежедневно проводят влажную уборку.

Отдельно размещают изделия из резины, пластмассы, перевязочные материалы, медицинское и ветеринарное оборудование. Их необходимо хранить в сухих и отапливаемых помещениях при температуре воздуха 12...18°C, а многие препараты - в прохладном месте при 8...10°C.

Препараты, требующие защиты от действия света (адреналин, аскорбиновая кислота, антибиотики, галеновые препараты, настойки, экстракты, препараты из растительного сырья, витамины, эфирные и жирные масла и др.), хранят в темных помещениях, а при отсутствии таковых - в шкафах с плотно закрывающимися дверцами или в порядке исключения на полках, тщательно завешанных плотной тканью. Небольшое количество препаратов можно хранить в плотных ящиках с хорошо пригнанными крышками.

Препараты, быстро разлагающиеся под воздействием света, хранят в посуде из оранжевого стекла или из стекла иного цвета, но завернутой в темную бумагу. При хранении веществ, особо чувствительных к свету (препараты серебра, прозерин и др.), стеклянную тару оклеивают черной бумагой.

Препараты, неустойчивые к действию тепла, а также обладающие летучестью (спирт, эфир, эфирные масла, растворы аммиака, лекарственное растительное сырье, препараты, содержащие кристаллизационную воду, эфирные масла и др.), хранят в прохладном сухом месте, некоторые из них защищают от воздействия света. Посуду с летучими веществами закрывают корковыми пробками, оборачивают сверху пергаментом, завязывают и заливают специальной замазкой (смолкой). Хранение летучих веществ в таре с

деревянными пробками не допускается, так как при высухании пробок неизбежна потеря содержимого.

Как высокая, так и низкая температура неблагоприятно влияют на процесс хранения лекарственных веществ. К высокой температуре чувствительны летучие и легкоплавкие вещества, вакцины, сыворотки, антибиотики, гормональные препараты и др. Их следует хранить при низкой температуре 12...15°C, вакцины и сыворотки - при 2...10°C; антибиотики - при комнатной температуре; органопрепараты - в темном сухом прохладном месте при температуре до 15°C, если нет специальных указаний на этикетке. Низкая температура до момента замораживания действует консервирующее, что не всегда желательно. Формалин надо хранить при температуре не ниже 9°C, так как при более низких значениях происходит процесс полимеризации и образуются параформальдегид, выпадающий в осадок. Ледяная уксусная кислота при температуре ниже 9°C кристаллизуется, а жирные масла, содержащие глицериды стеариновой кислоты, расслаиваются.

Гигроскопические и быстро сыреющие на воздухе препараты (калия ацетат, натрия йодид и бромид, пилокарпина гидрохлорид, растительное сырье и сухие экстракты, соли алкалоидов, антибиотики, гликозиды, ферментативные препараты и др.) хранят в стеклянной посуде с притертыми пробками, залитыми парафином, или закрытой корковой пробкой, сверху обернутой пергаментной бумагой и залитой замазкой (смолкой).

Растительные масла, мази, зеленое мыло, ланолин следует хранить в прохладном месте с защитой от воздействия света, в хорошо закрытой стеклянной посуде или глиняных и жестяных банках. Пахучие и красящие (метиленовый синий, бриллиантовая зелень и др.) вещества хранят в герметичной таре отдельно по наименованиям, в отдельных шкафах, где имеются весы, ступки с пестиками, шпатель и другой необходимый инвентарь для взвешивания и отмеривания таких препаратов.

Для некоторых медикаментов необходимы комбинированные условия хранения (например, в темном и прохладном месте).

Обычно лекарственные препараты реагируют с кислородом и углекислотой воздуха, так как атмосферный азот является индифферентным газом по отношению к лекарству. С углекислым газом воздуха реагируют соли щелочных металлов и слабых органических кислот (барбитал-натрий, гексенал и др.), эуфиллин, магния окись и др. Так, под влиянием двуокиси углерода магния гидроокись и магния сульфат при хранении превращаются в магния карбонат.

Кислород воздуха ослабляет фармакологическую активность экстракта мужского папоротника. С ним реагируют соединения алифатического ряда, фенольные и полифенольные соединения, ферменты, органопрепараты. Лекарственные вещества под влиянием кислорода и двуокиси углерода воздуха могут терять способность к растворению, инактивируются или, наоборот, становятся весьма ядовитыми. Такие препараты выпускают и хранят в плотно закрытых банках (хлороформ, эфир, фторотан), в герметически закрытых флаконах (новарсенол, миарсенол, тиопенталнатрий), ампулах (гексенал). При наличии трещин ампулы и флаконы вскрывают.

Легковоспламеняющиеся вещества следует хранить в соответствии с правилами, установленными местной противопожарной инспекцией, в отдельных помещениях. Небольшое количество легковоспламеняющихся веществ можно хранить в обычных условиях (в ветеринарной аптеке, на складе медикаментов), но с обязательным соблюдением мер противопожарной безопасности.

Взрывоопасные вещества и вещества, способные образовывать взрывоопасные смеси, хранят изолированно в огнестойких помещениях, избегая загрязнения пылью, так как она может стать причиной взрыва.

Калия перманганат хранят отдельно от других веществ, избегая его взаимодействия с серой, органическими маслами,

спиртом, эфиром, глицерином, органическими кислотами. Все взрывоопасные и огнеопасные вещества нельзя хранить совместно с кислотами и щелочами.

Едкие вещества хранят в отдельных сухих, темных, прохладных, хорошо вентилируемых и огнестойких помещениях, оберегая их от воздействия прямых солнечных лучей, а также от сырости. Небольшое количество едких веществ в мелкой фасовке, используемых для лечебных целей, можно хранить в общих помещениях, но в отдельных шкафах, изолированно от прочих медикаментов и другого имущества.

Готовые лекарственные формы хранят так же, как и входящие в них лекарственные вещества. Их укладывают на стеллажах, в шкафах этикеткой наружу. Таблетки, драже, жидкие лекарственные формы хранят, отдельно от других лекарственных средств при температуре 12...15°C, а мази, линименты - в прохладном месте при 10°C

Перевязочные средства, хирургические инструменты, растительное высушенное сырье и другие вспомогательные материалы хранят в шкафах или ящиках в сухих, хорошо вентилируемых помещениях с относительной влажностью не выше 60%. Растительное сырье, содержащее эфирные масла, хранят в герметичной таре, как и сырье с повышенной гигроскопичностью.

Дезинфицирующие средства необходимо хранить в отдельных темных прохладных помещениях в герметичной таре.

Вся тара (банки, склянки, коробки, пакеты, бочки и т.д.) с хранящимися в ней медикаментами, реактивами и другими препаратами должна иметь этикетки с указаниями наименования препарата, количества и пр.

В процессе хранения необходимо систематически наблюдать за состоянием медикаментов и других химико-фармацевтических препаратов, фиксировать и устранять возникающие дефекты.

Структура рецепта

I. Inscriptio – заглавие

- а. штамп лечебно-профилактического учреждения, адрес, номер телефона

ПГУ им. Т.Г. Шевченко

АТФ Кафедра общих ветеринарных дисциплин

Отделение ветеринарной медицины

Ул. Совхозная 5/2, тел. 5-55-55

- б. Nomen aegroti – сведения о больном животном

Телочка, 4 мес., ч/п ;ООО «Голштин» № 7777

- в. Datum – дата выписки рецепта

20.09.07 г.

- г. Nomen medici – Ф.И.О. врача

Иванов Иван Иванович

II. Praepositio siu Invocatio – обращение врача в аптеку

Recipe – возьмите *Rp.*: *Rec.*: *R.*:

III. Desegnatio materiarum – строго на латинском языке, в родительном падеже; в ед. ч., с заглавной буквы, с новой строки, разборчиво

Remedium basis s. cordinale – главное вещество

Anaesthesini 5,0

Remedium adjuvans – вспомогательное вещество

Ac. borici 10,0

Remedium corrigens – корректирующее вещество

Zinci oxydi 20,0

Remedium constituens – формообразующее вещество

Vasellini q.s.

IV. Subscriptio – указание об изготовлении лекарства

Misce fiat M. f. – смешай образовалось

Ut. f. Pastae – чтоб образовалась паста

D.t.d.N.5 – дай таких доз в количестве 5 раз

V. Signatura – раздел, где указывается путь введения лекарственного вещества, кратность и др.

Da. Signa – Дай, Обозначь

D.S. Внутреннее. По 1 столовой ложке 3 раза в день, 5 дней подряд за 30 минут до еды

VI. Subscriptio medis s. Nomen medici – подпись врача

М.П. Verte!

Схемы выписывания рецептов

По своей структуре рецепты бывают *простыми*, состоящие из одного лекарственного вещества и *сложные*, состоящие из двух и более лекарственных веществ.

Простой недозированный рецепт

Теленку. Активированный уголь 10г. Внутрь.
Теленку.

Rp.: Carbo activatus 10,0

D.S. Внутрь, растворив в 0.5 литра воды.

#

Схема № 1.

Простой недозированный
рецепт

Rp.: _____

D.S. _____

Сложный недозированный рецепт

Rp.: Xeroformii 5,0

Streptocidi 2,0

Talci ad 10,0

M.f. Pulvis subtilissimi

D.S. Наружное. Присыпка для раны.

Схема № 2.

Сложный недозированный
рецепт.

Rp.: _____

M.f. _____

D.S. _____

Рецепты могут быть выписаны **сокращенной прописью** и в **развернутой форме**.

Пример **сокращенной прописи**

Rp.: Ung. Ichthyoli 5% - 50,0

D.S. Наружное. Смазывать воспаленные участки
кожи.

#

Пример рецепта в **развернутой форме**

Rp.: Ichthyoli 2,5

Vaselini albi 47,5

M.f. Unguentum

D.S. Наружное. Смазывать воспаленные участки
кожи.

Лекарственные формы, выписываемые в рецепте могут быть дозированными (разделенными). Такой способ называется **диспензационным** т.е. рядом с названием лекарственного вещества указывается **доза на один прием**, а сразу после предписания об изготовлении лекарственной

формы дается указание о количестве таких приёмов (доз), и обозначается **Detur tales dosis numerum (D.t.d.N.)** и арабскими цифрами обозначается количество приемов.

Схема № 3.

Простой дозированный рецепт

Простой дозированный рецепт

Rp.: Pulveris Streptocidi albe 0,5
D.t.d.N.6
S. Внутрь

Rp.: _____
D.t.d.N. _____
S. _____

#

Схема № 4.

**Пропись сложного рецепта
по диспенсационному
(разделенному) способу**

Сложный рецепт
по диспенсационному
(разделенному) способу

Поросенку
Rp.: Norsulfasoli 0,2
Phtalazoli 0,15
M.f. Pulvis
D.t.d. N. 10
S. Внутреннее по 1 порошку 2
раза в день.

Rp.: _____

M.f. _____
D.t.d. N. _____
S. _____

Но прописи могут быть выписаны и **дивизионным** методом (**недозированные**) т.е. весовое количество каждого вещества указывается сразу на весь курс лечения с последующим разделением их на количество доз (приёмов). Затем в первой части **Subscriptio** делается указание о том, какое число определенной лекарственной формы должно быть изготовлено из перечисленного количества медикаментов.

Схема № 5.

**Пропись по дивизионному
(неразделенному) способу**

Сложный рецепт
по дивизионному
(неразделенному) способу

Поросенку.
Rp.: Norsulfasoli 2,0
Phtalazoli 1,5
M.f. Pulvis N. 10
D. S. Внутреннее по 1 порошку 2
раза в день.

Rp.: _____

M.f. _____ N. _____
D.S. _____

Сокращения, употребляемые при написании рецептов

Da in capsules qelatinosis

Da in caps. gel. – отпусти в желатиновых капсулах

Da in charta cerata

Da in ch. cer. – отпусти в вощенной бумаге

Da in charta paraffinata

Da in ch. paraff. – отпусти в парафинированной бумаге

Da in ampullis

Da in ampul. – отпусти в ампулах

Vitrum (Vitr.) - склянка

Da in vitro nigro – отпусти в темной склянке

Da in vitro flavo – отпусти в желтой склянке

in capsulis operculatis – in caps. operc. – в капсулах,
закрытых крышечкой

in capsulis amylaceis – in caps. amyl. – в крахмальных
капсулах

in capsulis gelatinosis – in caps. gel. – в желатиновых
капсулах

in oblatiis – in obl. – в облатках

in olla – in oll. – в баночке

ad usum externum

ad. us. ext. – для наружного применения

ad usum internum

ad. us. int. – для внутреннего применения

Aqua – Aq. – вода

Aqua communis – Aq. com. – питьевая вода

Aqua fontana – Aq. font. – ключевая вода

Aqua destillata – Aq. destil. – дистиллированная вода

Aqua purificata – Aq. purif. – очищенная вода

Aqua pro injectionibus – Aqua pro inject. – вода для
инъекций

in tabulettis – in tab. – в таблетках

in tabulettis obductis – in tab. obd. – в таблетках покрытых
оболочкой

Da Signa – отпусти (выдай), обозначь

Detur Signetur – выдать, обозначить
D.S. – отпусти, обозначь
Numero – N. - числом
Detur tales dosis – D.t.d.N. – выдать таких доз в количестве
divide in partes aequales – div. in p. aeq. – раздели на равные части
Recipe – «Rp.:» - возьми
ana (āā) – по, поровну
adde (add.) - добавь
ad 100,0 – до 100,0 грамм
guttas – gtts. – капель
millilitr– ml.– миллилитр
Е.Д. – Единиц действия
per se – в чистом виде
ex – из
Sterilisa! – простерилизовать!
Sterilisetur! – Steril. – простерилизуй!
Misce fiat – M.f. – смешай чтобы получилось
Misceatur – M. – смешать
Misce fiat massa pilularum – M.f.m.pil. – смешай пусть образуются пилюльная масса
quantum satis – q.s. – сколько нужно (необходимо)
Verte! –V.! – Переверни!
Repete! Repetatur! – Rep.! – Повтори! Повторить!
gutta (guttas) – gtts. – капля (капель)
Oleum – Ol. – масло
Butyrum – But. – масло
Acidum – Ac. – кислота

Части растений

<i>Части растений (в словарной форме)</i>	<i>Родительный падеж, ед.ч.</i>	<i>Родительный падеж, мн.ч.</i>
Herba, ae, f. - трава	Herbae - травы	Herbarum - трав
Folium, i, n. - лист	Folii - листа	Foliorum - листьев
Flos, oris, m. - цветок	Floris - цветка	Florum - цветов
Fructus, us, m. - плод	Fructus - плода	Fructuum - плодов
Semen, inis, n. - семя	Seminis - семени	Seminum - семян
Radix, icis, f. - корень	Radicis - корня	Radicum - корней
Cortex, icis, m. - кора	Corticis - коры	Corticum - коры
Rhizoma, atis, n. - корневище	Rhizomatis - корневища	Rhizomatum - корневищ
Bacca, ae, f. - ягода	Baccae - ягоды	Baccarum – ягод
Gemma, ae, f. - почка	Gemmae - почки	Gemmarum - почек
Stigma, atis, n. - рыльце	Stigmatis - рыльца	Stigmatum – рылец (рыльцев)
Stipes, itis, m. - стебель	Stipitis - стебля	Stipitum - стеблей

В зависимости от агрегатного состояния лекарственные формы делят на 4 группы:

1. *Твердые*
2. *Мягкие*
3. *Жидкие*

К жидким лекарственным формам относятся
(*FORMAE MEDICAMENTORUM FLUIDAE*)

1. **Solutio, ōnis. f. (Sol.)** – раствор
2. **Infusum, i. n. (Inf.)** – настой
3. **Decoctum, i. n. (Dec.)** – отвар
4. **Extractum, i. n. (Extr.)** – экстракт
5. **Tinctūra, ae. f. (Tinct.)** – настойка
6. **Suspensio, ōnis. f. (Susp.)** – суспензия

7. **Emulsum, i. n. (Emuls.)** – эмульсия
8. **Mixtrūra, ae. f.** – микстура
9. **Gutta, ae. f.** – капля
10. **Mucilāgo, ĩnis. f.** – слизь
11. **Balsānum, i. n.**– бальзам

Плотные (твёрдые) лекарственные формы (*FORMAE MEDICAMENTŌRUM DURAE*)

1. **Pulvis, ěris, m. (Pulv.)** - порошок
2. **Tabuletta, ae. f. (Tab.)**– таблетка
3. **Capsŭla, ae. f. (Caps.)** – капсула
4. **Granŭlum, i. n. (Granŭl.)** – гранулы
5. **Species, ěi, f. (Spec.)** – сбор лекарственный
6. **Dragee** *n. нескл.* – драже

Мягкие лекарственные формы (*FORMAE MEDICAMENTŌRUM MOLLES*)

1. **Unguentum, i. n. (Ung.)** - мазь
2. **Pasta, ea. f.** - паста
3. **Suppositorium, i. n. (Supp.)** - свечи
4. **Emplastrum, i. n. (Empl.)** - пластырь
5. **Pilŭla, ae. f.** - пилюля

Все пути введения лекарственных веществ подразделяются на 2 категории: добровольные и насильственные.

Добровольные методы. Лекарственные вещества применяют внутрь только при наличии аппетита у больных животных, с кормом и водой в виде порошков или растворов. Добровольный метод предусматривает индивидуальный и групповой приемы дачи лекарственных веществ.

Насильственный способ в свою очередь подразделяется:

I. энтеральные (т.е. введение веществ в ЖКТ) может осуществляться

1. в чистом виде (*per se*) в разных лекарственных формах (как правило жидкие, плотные).
2. с кормом и питьем.

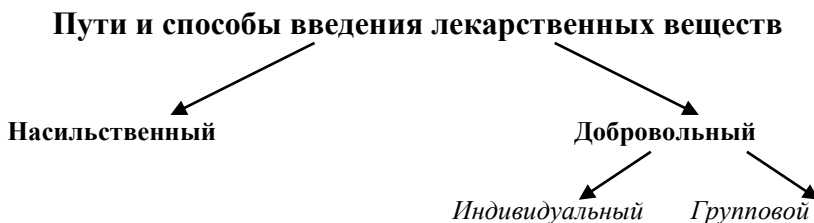
3. сублингвальный.
4. ректальный.
5. непосредственно в желудок с помощью зонда.
6. в рубец, через прокол брюшной стенки в области левой голодной ямки.

II. парентеральный (т.е. введение веществ минуя ЖКТ).

III. аппликации (применение веществ на поверхность кожи, слизистые оболочки).

IV. ингаляционный (т.е. введение веществ через дыхательные пути).

Такое разнообразие путей введения лекарственных веществ дает возможность очень быстро создать высокую концентрацию определенного лекарственного вещества в патологическом очаге, обеспечивая при этом терапевтический эффект. При избрании способа введения необходимо руководствоваться фармакологическими свойствами лекарственных средств; состоянием и видом животных; условиями, в которых приходится оказывать лечебную помощь.



Таблица

Пути введения лекарственного вещества	Преимущества	Недостатки	Использование в ветеринарной практике

Вопросы для самоконтроля знаний:

1. Что такое аптечная посуда?
2. Правила хранения медикаментов в вет. аптеке.
3. Правила хранения веществ списка А и Б в вет. аптеке.
4. Структура рецепта.
5. Правила выписывания рецептов.
6. Схемы рецептов. Сравнительная характеристика.
7. Лекарственные формы. Технология приготовления.
8. Части растений, используемые для приготовления лекарственных форм (словарная форма).
9. Классификация путей и способов введения лекарственных веществ.
10. Преимущества и недостатки энтеральных и парентеральных путей введения.

Студент должен оформить дневник по следующей форме:

Дата проведения учебной практики	Место проведения практики	Тема практики	Краткое описание проделанной работы	Замечания и подпись руководителя практики

Список используемой литературы:

1. Соколова В.Д. Ветеринарная фармация. - М.: Колос, 2003.
2. Виноградов В.М. Лекарственные растения в лечении заболеваний органов пищеварения. - СПб.: Знания, 2000.
3. Справочник по технологии приготовления лекарственных форм. - Ростов-на-Дону: Феникс, 2001.
4. Соколова В.Д. Ветеринарная фармация. – М.: КолосС, 2003.
5. Жуленко В.Н., Горшков Г.И. Фармакология: учеб. - М.: КолосС, 2008.
6. Набиев Ф.Г., Ямаев Э.И. Практикум по ветеринарной рецептуре с основами технологии лекарственных форм: уч. пособ. - М.: КолосС, 2008.
7. Жуленко В.Н. Общая и клиническая ветеринарная рецептура: Справочник. – М.: Колос, 2000.
8. Рабинович М.И. Практикум по ветеринарной фармакологии и рецептуре: Уч. пособ. – М.: Колос, 2002.
9. Арестов И.Г. Фармакология: Уч. пособ. – Ростов – на - Дону: Феникс, 2001.
10. Соколов В.Д. Фармакология. Учеб. – М.: Колос, 2000.
11. Вульф В.Д. Латинский язык и основы ветеринарной терминологии: уч. – М.: Агропромиздат, 1988.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Разведение с основами частной зоотехнии.....	3
Ветеринарная микробиология и вирусология.....	17
Гигиена животных.....	54
Ветеринарная фармакология. Токсикология.....	65

Учебное издание

УЧЕБНЫЕ ПРАКТИКИ ПО ВЕТЕРИНАРИИ

Методические указания

Формат 60х90/16. Уч.-изд.л. 3,0