|  |  |
| --- | --- |
| D:\Downloads\!konsul-logo.png |  |
| **Диагностическая ветеринарная лаборатория ЗАО Консул**  КОНСУЛ Закрытое акционерное общество  ул. Высокая, 18/1, Брест, 224020, Республика Беларусь  тел. 8 (0162) 340611, факс 8 (0162) 406309  **лаборатория** 2-й Коммерческий пер., 2/4, Брест  факс 8 (0162) 341292 [e-mail: vetlab@konsul](mailto:vetlab@konsulagro.by)agro.by |

**Правила отбора патматериала**

**у животных и птиц и способы его доставки в ветеринарную лабораторию**

Результаты микробиологического исследования при инфекционных осложнениях в значительной степени зависят от вида патологического материала, времени, способа его взятия и транспортировки. Эти факторы нередко имеют определяющее значение для правильной трактовки результатов исследования. Как показывает практика, неправильность отбора материала и несвоевременность его доставки в лабораторию приводят к затруднению постановки правильного диагноза, увеличивает материальные затраты и время на постановку диагноза. Неправильная оценка данных лабораторного исследования может привести к диагностическим ошибкам. Так, получение отрицательного результата – ещё не основание для исключения предполагаемого диагноза. Отрицательный результат может быть следствием неправильного забора материала, несвоевременной доставки его в лабораторию, несовершенной методики лабораторного исследования. Важный элемент в правильности постановки диагноза является сотрудничество ветеринарного врача и лаборатории, для установления направления лабораторных исследований. Выбор лабораторного теста зависит от специфики поставленной цели, что должно соответствовать виду отправляемых в лабораторию образцов, подходящих для конкретных тестов.

Для отбора патологического материала для бактериологических исследований требуется:

* строгое соблюдение правил асептики при заборе материала;
* сбор материала только в стерильные, герметичные контейнеры;
* достаточное количество материала;
* соответствие материала инфекционному процессу (учитывая тропизм возбудителя при конкретном заболевании);
* доставка материала в лабораторию в максимально сжатые сроки.

Не следует:

* помещать разные образцы в одну упаковку;
* присылать образцы с признаками автолиза;
* образцы для микробиологического исследования помещать в формалин, присылать для микробиологического исследования образцы от животных леченых антимикробными препаратами.

Патологический материал для бактериологического исследования лучше отправлять в лабораторию сразу после взятия, охлажденным, от нелеченых животных **-** не позднее 2 часов после гибели, убоя животного или аборта. При невозможности скорой доставки, как исключение, патологический материал хранят в холодильнике при 4-6°С не более 12 часов. Если транспортировка продолжается более 48 часов, возможна заморозка проб патматериала. Вероятность выделения бактерий в этом случае резко снижается, т.к. разрушается клеточная стенка микроорганизмов, а количество выживших бактерий недостаточно для роста на питательных средах. Особенно это касается таких требовательных культур как *Pasteurella* *sр., Actinobacillus sp*., *Haemophilus sр.*, *Streptococcus sр*. Для исследования на анаэробы биологический материал необходимо поместить в условия исключающие доступ кислорода.

Категорически запрещается использовать образцы загрязненные подстилкой, кормом, фекалиями, обмывать материал проточной водой. В нестерильно отобраном материале с течением времени идет автолиз, угнетающий жизнеспособность бактерий. Микрофлора окружающей среды проникает внутрь образцов и при последующем посеве данного материала, она может вытеснить микрофлору, имеющую диагностическую значимость.

В случае диагностики заболеваний с использованием ПЦР допускается заморозка материала.

**Паренхиматозные органы:** сердце, почку, лимфатические узлы, головной мозг отбирают целиком. Печень, селезенку, легкое - кусочками. Для исключения гемофилеза, актинобациллярной плевропневмонии, пастереллеза у свиней следует отбирать легкие целиком.Как исключение, у особо крупных животных (свиньи старше 100 дней), можно отбирать отдельные доли легкого на границе здоровой и пораженной ткани. Сердце отбирают целиком, с перевязанными лигатурами аортой и легочной артерией (исключается разрез полости). Печень отбирают вместе с желчным пузырем.

Поверхность органа или ткани, из которого предполагают брать пробу, обеззараживают спиртом и прижигают нагретой металлической пластинкой (шпателем). Отбор проводится стерильным инструментом.

**Трубчатые кости** посылают на исследование в целом виде, с неповрежденными концами, тщательно очистив их от мышц и сухожилии.

**Кишечник** перед посылкой для бактериологического и вирусологического исследований освобождают от фекальных масс, а концы кишечника перевязывают лигатурами. На исследование посылают части кишечника с наиболее характерными патологическими изменениями.

**Фекалии** отправляют в стерильных стаканах, пробирках или банках с крышкой. От трупов животных его можно послать в отрезке невскрытого кишечника, перевязанного с обоих концов лигатурой. Кал в лабораторию должен быть доставлен не позднее 24 часов после его взятия.

При отборе материала споверхности **слизистой носа** стерильный ватный тампон вводят в носовой ход, вращательными движениями собирают материал. Для взятия материала из **зева** шпателем прижимают язык, стерильным тампоном собирают материал с миндалин, задней поверхности глотки. При поражении нижних дыхательных путей наиболее доступна для исследования мокрота, которую собирают до приема корма.

#### Материал с конъюнктивы собирают тампон-зондом с внутренней поверхности нижнего века движением в направлении от наружного к внутреннему углу глазной щели, избегая касания ресниц.

Для взятия **секрета из молочной железы** сосок обмывают водой, обрабатывают дезраствором. Первые порции молока сливают, последующие сцеживают в стерильные пробирки.

**Отбор содержимого ран**, абсцессов, фистул: кожу вокруг раневой поверхности обрабатывают антисептиком, некротические массы, гной удаляют стерильной сухой салфеткой и отбирают отделяемое из основания очага поражения используя стерильный контейнер, шприц или пробирку. Биопсию тканей, мышц проводят на границе здоровой и пораженной областью.

**Из половых органов.** Вагинальное отделяемое забирают при помощи стерильного ватного тампона. У крупных животных, например, коров – цервикальную, вагинальную слизь берут с помощью пипеток для искусственного осеменения. Пипетки соединяют короткой резиновой трубочкой со шприцем, набирают 2 мл стерильного физиологического раствора и вводят его во влагалище или шейку матки, а затем выливают жидкость в стерильную пробирку.

Материал от **самцов** обычно получают в виде препуциальных смывов. Предварительно проводят санитарную обработку препуция, затем в препуциальную полость вводят необходимое количество стерильного физиологического раствора при помощи шприца или полистироловой пипетки, массируют препуций, и отсасывают смывную жидкость.

Удобным методом является отбор патматериала с помощью стерильного тампона с помещением его в пробирку с транспортной средой (Стюарта, Эймса). Наиболее требовательные микроорганизмы сохраняются в данной среде более суток, прочие - до нескольких дней.

Кроме того, различные выделения организма животных и птиц можно посылать в виде мазков или мазков – отпечатков на предметном стекле, которые фиксируют на воздухе, заворачивают каждый в отдельности в пергаментную бумагу и маркируют.

Забор **крови** проводится с соблюдением правил асептики и антисептики, после обработки места укола антисептиком. Кровь берут стерильной иглой в стерильный шприц или в пробирку. Нужно следить, чтобы кровь стекала по стенке в пробирку струей, а не каплями. Добавления антикоагулянта при отборе крови для серогического исследовании не допускается. В лабораторию можно отправлять и цельную кровь, но при условии, что в пути транспортировки ее не будут встряхивать и она не подвергнется гемолизу. Пробирки не следует заполнять до краев. Запрещается замораживать образцы крови во избежание гемолиза.

Для **получения сыворотки**, образец свежеотобраной крови хранят при комнатной температуре (но не выше 25ºС) в течение 1-2 часов до образования тромба. Тромб обводят стерильной стеклянной палочкой или проволокой и помещают пробирку в холодильник при 4ºС. Через несколько часов или после ночи необходимо отделить сыворотку от тромба. Пригодная для исследования сыворотка крови не должна иметь признаков гемолиза. Сыворотка крови должна быть доставлена в лабораторию в течение первых суток и в исключительных случаях не позднее третьего дня после взятия крови. Допускается однократное замораживание сыворотки.

Серодиагностика - выявление антител к антигенам возбудителя инфекционного заболевания в сыворотке крови, может быть использована как для текущей, так и для ретроспективной диагностики инфекционных заболеваний,определения оптимального срока вакцинации, а также изучения эффективности проведенной вакцинации. Для определения иммунного статуса поголовья хозяйства, требуется отбор проб крови от разных технологических групп: подсосный молодняк, доращивание, ремонт, продуктивная группа (основное поголовье). Для получения более достоверного диагноза желательно исследовать парные пробы сывороток крови, что позволит выявить нарастание титра

антител и свидетельствовать о свежем заражении животного. Первый раз кровь берут как можно раньше после обнаружения заболевания (желательно - в течение первых 4-5 дней после появления первых симптомов или возникновения первых подозрений), второй раз - спустя 14 дней. Диагностическая лаборатория сохраняет присланные первые образцы сыворотки крови, взятой в острой фазе болезни, в замороженном состоянии до получения второй сыворотки, взятой в период реконвалесценции, и только тогда может быть поставлена серологическая реакция, так называемое исследование парных сывороток (каждая пара должна быть взята от одного животного).

Период ожидания результата серологических исследований, с момента получения образца составляет 1-3 дня (зависит от загруженности лаборатории).

Пробы **кормов** отбирают методом конверта (с верхнего, среднего и нижнего слоев), квартования, щупом из разных мест хранилища или кормушки. Одну среднюю пробу (весом 1 кг) направляют в лабораторию, а другую хранят на случай арбитражного анализа. Корма доставляют в светонепроницаемой таре, предохраняя от высыхания.

Отобранные фекалии, молоко, желчь, кровь, гной, слизь, экссудат, моча направляется в ветлабораторию в объеме не менее 5мл в стерильных шприцах, пробирках, флаконах плотно закрытых стерильными пробками, одноразовых стерильных тубсерах (пробирки с тампонами). Ватные (хлопковые) тампоны из медицинской ваты, могут быть использованы только в крайнем случае, так как вата может обладать антимикробными свойствами. Использование нестерильных сухих, чистых пробирок допускается только для отбора крови на серологические исследования.

Части органов, жидкости, отправляемые в лабораторию почтой, должны быть помещены в герметически закупоренную стеклянную или пластмассовую тару, обернуты полиэтиленовой пленкой, обработаны снаружи дезинфицирующим раствором и упакованы в термоконтейнер с хладагентами. Запрещается использовать стеклянную посуду со сколами, трещинами и т.п. Во время транспортировки диагностический материал должен предохраняться от воздействия прямых солнечных лучей и тепла.

Не рекомендуется присылать материал на диагностические исследования в пятницу, так как по правилам такое исследование начнется только в понедельник. Дополнительно следует заранее предупредить лабораторию в том, когда и какой материал будет прислан. Это является необходимым т.к. не всегда в лаборатории имеются готовые питательные среды, некоторые среды готовят *ex tempore*, например, для выделения *Pasteurella sр., Streptococcus sр., Actinobacillus sp., Haemophilus sр., Enterococcus sp., Clostridium sp.* необходимы питательные среды с добавлением специализированных факторов, стимулирующих рост бактерий.

Бактериологические исследования занимают от 2-7 дней, а иногда и дольше.

На взятый патологический материал составляют сопроводительный документ с подробным указанием названия предприятия, его адреса, вида и количества материала, даты отбора, эпизоотической ситуации хозяйства, анамнестических, клинических, патологоанатомических данных, вида запрашиваемых исследований, число отправленных упаковок с пробами. Все образцы должны иметь четкую маркировку, обеспечивающую их безошибочную идентификацию. При необходимости к нему прилагают дополнительные сведения, в частности, какая помощь была оказана животному, какие лекарственные средства применялись, какие вакцины и в каком возрасте использовались, т.е. информацию необходимую для получения адекватного результата и его правильной интерпретации. Если в сопроводительной документации к пробе цель исследований не указана, или указана не конкретно: «на флору», «на патогенную флору» и т.п., в лаборатории будет выполнена совокупность исследований, позволяющая выделить и идентифицировать только сальмонеллы, эшерихии, стафилококки. Сопроводительная документация помещается в переноску в отдельном полиэтиленовом пакете. При пересылке почтой или с нарочным патологического материала от животных, подозрительных по заболеванию инфекционной болезнью, или явно инфицированного материала упаковка должна гарантировать доставку материала в целости и исключить возможность рассеивания возбудителей инфекции по пути его следования. На лицевой стороне посылки вверху должна быть надпись. «Осторожно — стекло» и «Верх».

Отбор проб должен производиться лицом, имеющим специальную подготовку и соответствующие полномочия, и несущим ответственность за правильность отбора. С целью профилактики профессионального инфицирования, любой биологический материал необходимо рассматривать как потенциально инфицированный. Работать с исследуемым материалом следует в резиновых (латексных, виниловых) перчатках с соблюдением техники безопасности.