



Федеральная служба по ветеринарному и
фитосанитарному надзору
Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Федеральный центр охраны здоровья животных»
(ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г.Владимир

Отбор патологического материала для диагностики бешенства

*Назаров Н.А., ведущий научный сотрудник,
сектора мониторинга бешенства,
кандидат биологических наук*

600901, г. Владимир, мкр. Юрьевец
ФБГУ «ВНИИЗЖ».
E-mail: nazarov_na@arriah.ru



Отбор патологического материала

Наблюдение за животными -10 дней (заграницей 14-15 дней)

При необходимости убоя – выстрел в сердце

Нельзя стрелять в голову и использовать яд!

Патологический материал

- Головной мозг
- Кровь
- Нижняя челюсть
(слюна, слюнные железы)

Патологический материал

- **Головной мозг** — диагностика бешенства, изучение молекулярно-биологических свойств вируса бешенства
- **Кровь** — оценка эффективности антирабической иммунизации
- **Нижняя челюсть** — оценка поедаемости оральных антирабических вакцин

Отбор патологического материала



Инструменты, защитная одежда, материалы

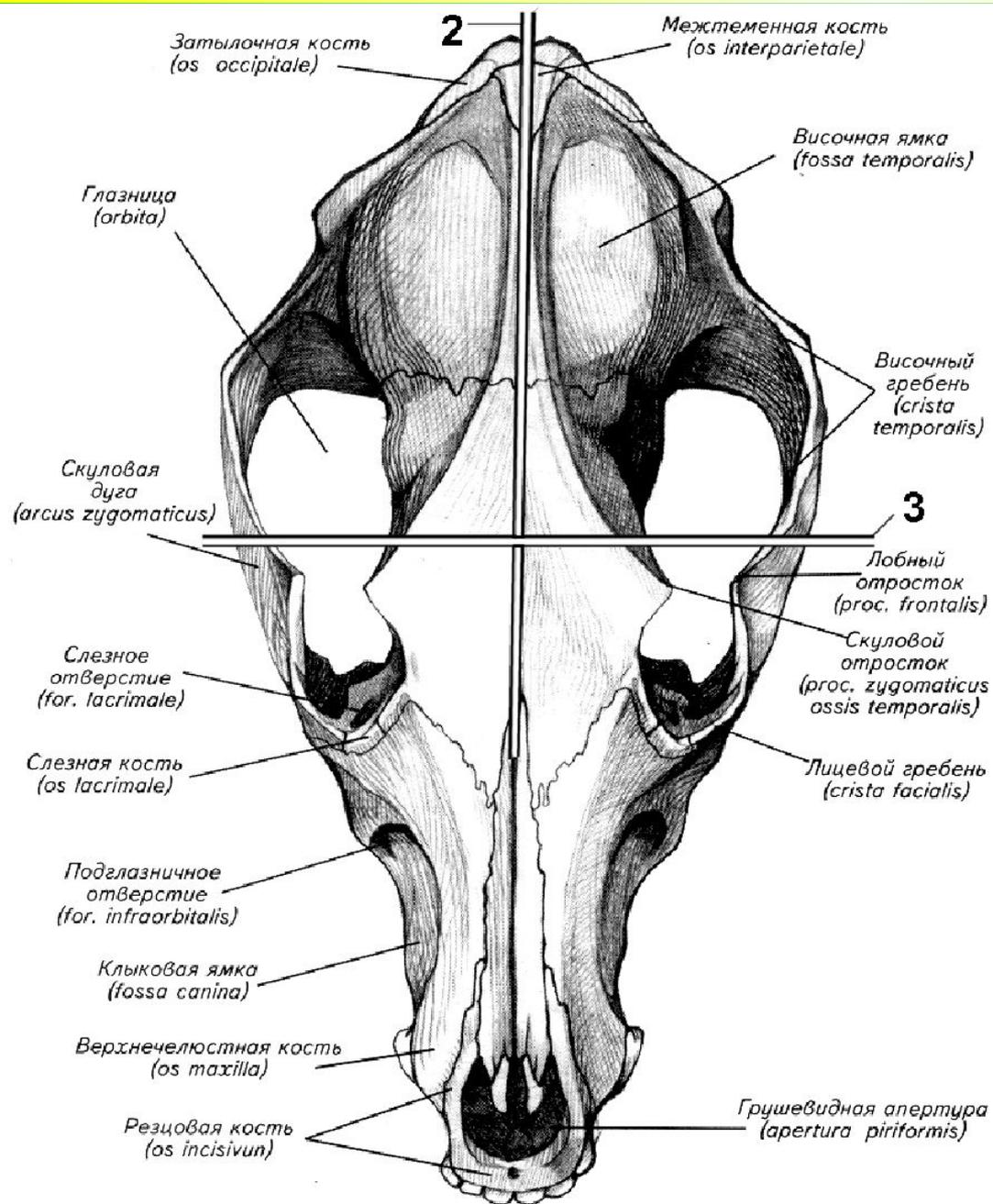
<http://uvex-safety.ru>



Отбор проб головного мозга

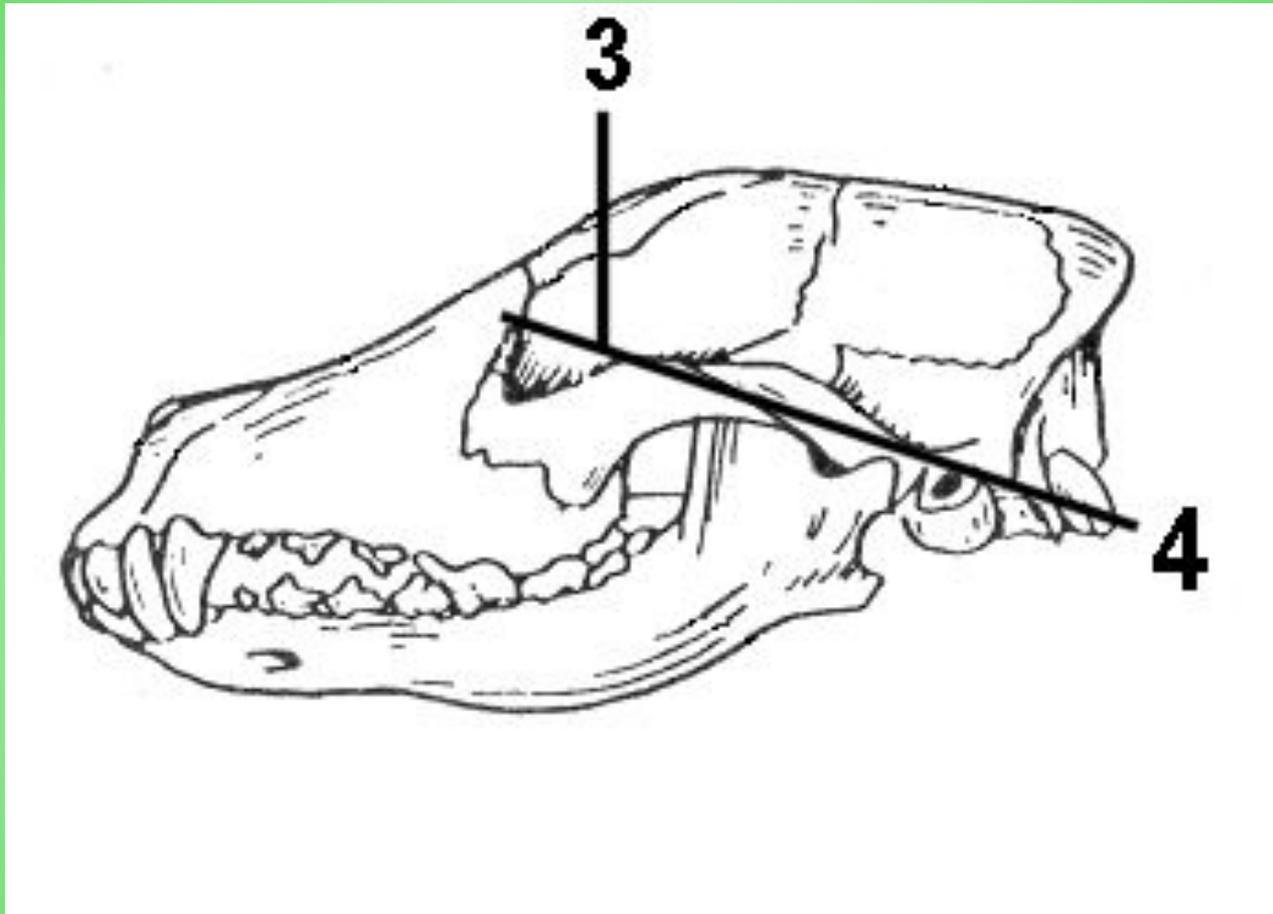


Вскрытие черепной коробки



Череп животного семейства собачьих (вид сверху)
2 – продольный распил от лобной кости (по наружному сагиттальному гребню) до большого затылочного отверстия, глубина 0,3-0,5 см;
3 – поперечный распил за глазницами на глубину 0,5-1,5 см.

Вскрытие черепной коробки



Косой распил (4) проходит через теменную, височную кости и мыщелок, соединяя край поперечного распила (3) и большое затылочное отверстие и может в ряде случаев заменять продольный распил

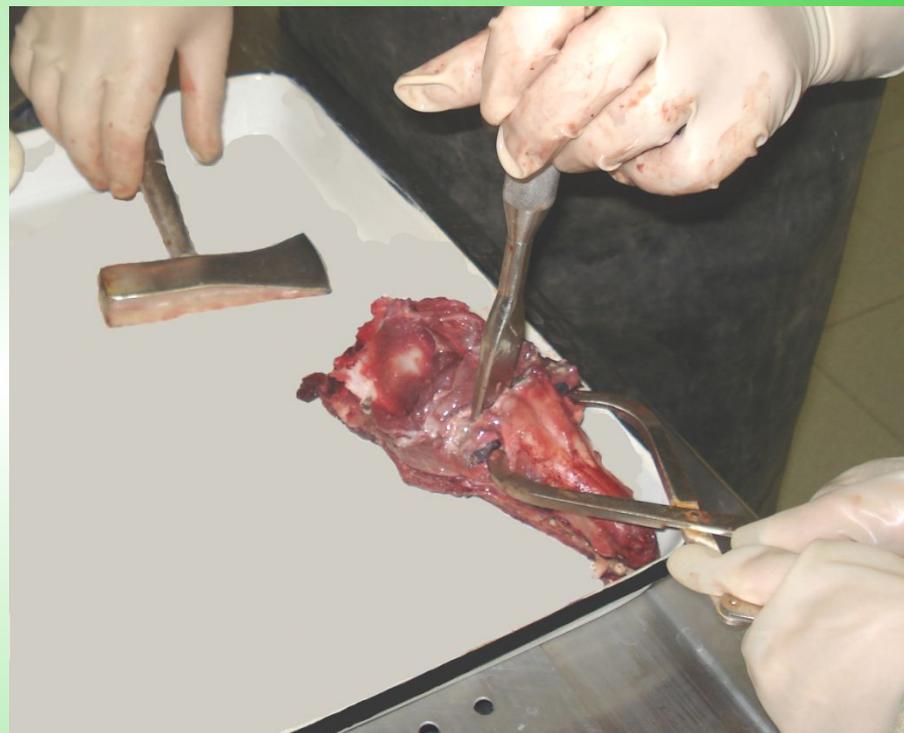
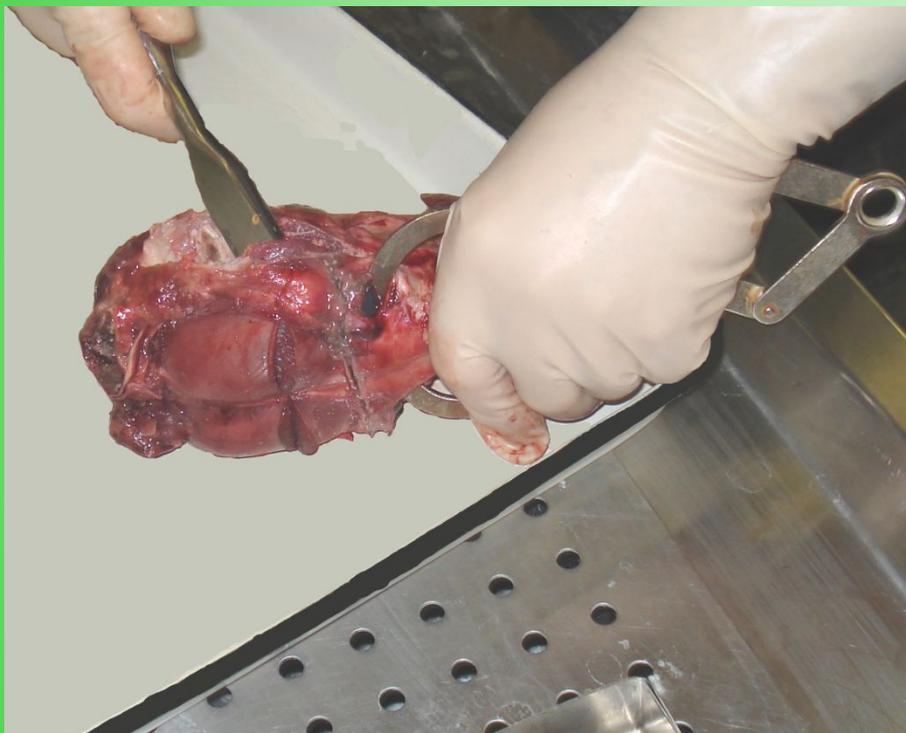
Продольный распил



Поперечный распил



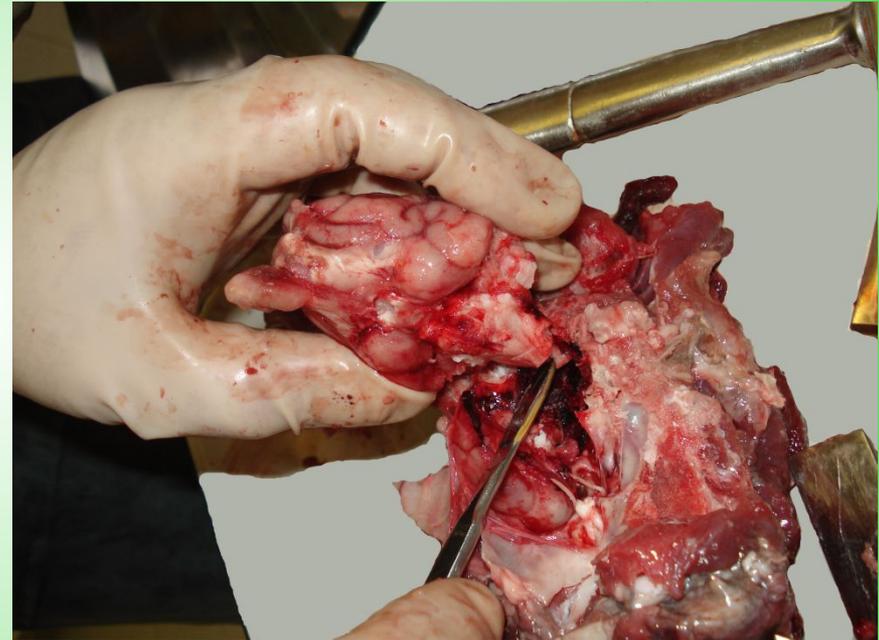
Удаление костей черепа



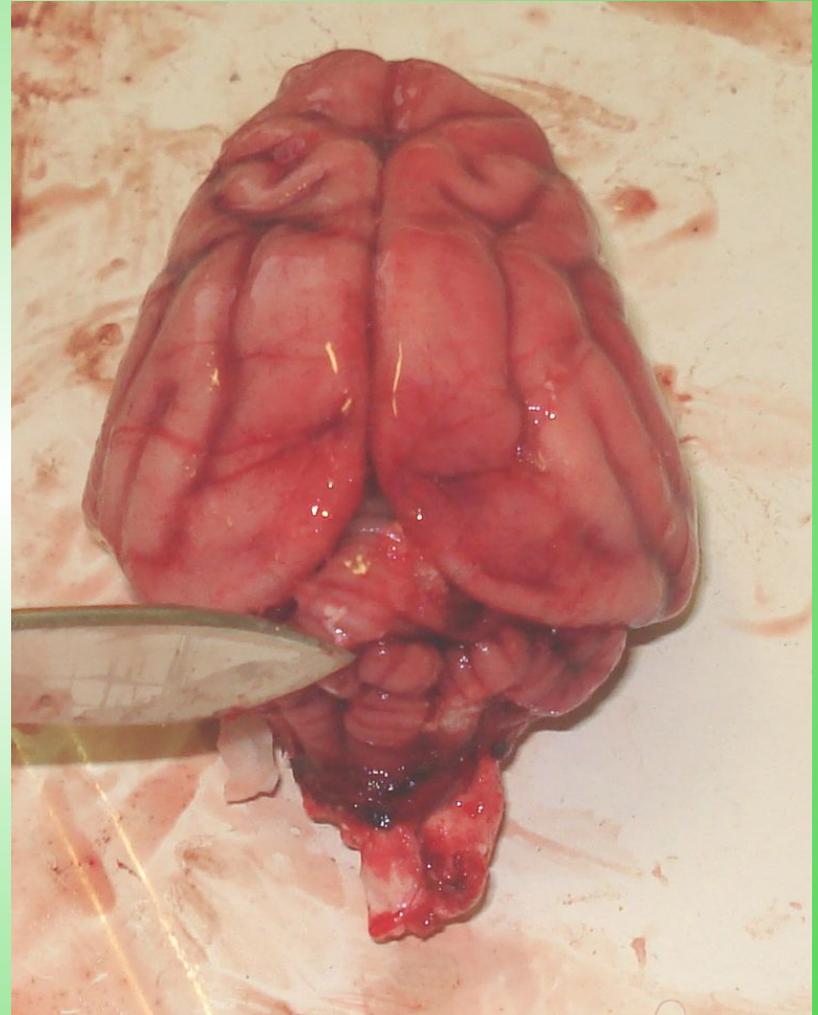
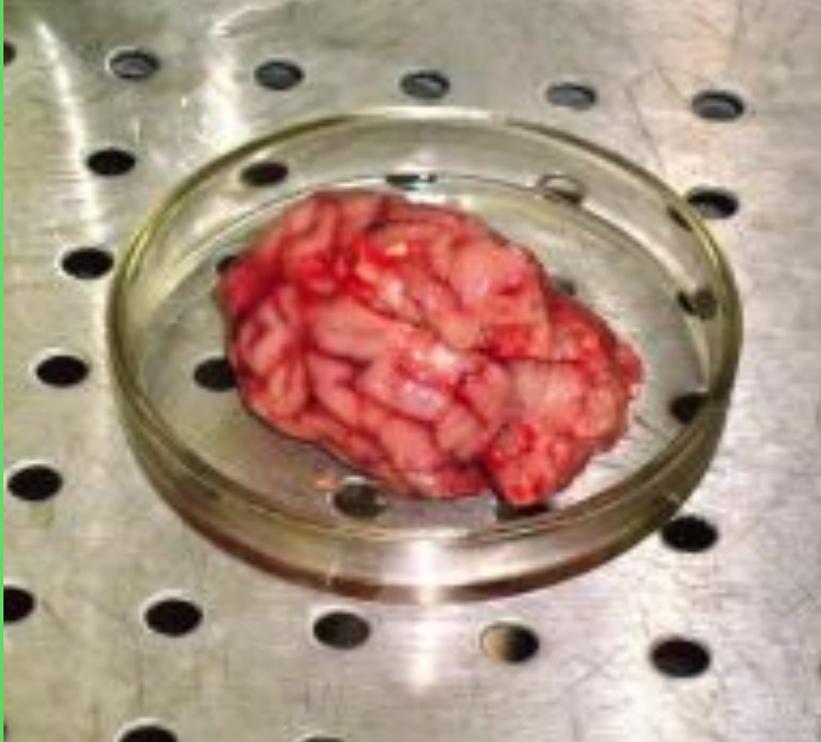
Удаление костей черепа



Извлечение головного мозга



Извлеченный мозг



Усовершенствованный способ отбора проб головного мозга

Существующие нормы РФ:

- Вскрытие черепной коробки, извлечение головного мозга целиком, исследование препаратов из продолговатого мозга мозжечка, аммонова рога, коры больших полушарий.

Международные нормы:

Вскрытие черепной коробки целиком (при наличии условий и опытного персонала), а также отбор проб через затылочное отверстие или ретроорбитальным способом.

Усовершенствованный способ отбора проб головного мозга (отбор через затылочное отверстие)



ОТБОР ПРОБ ГОЛОВНОГО МОЗГА С ПОМОЩЬЮ ТРОАКАРА РЕТРООРБИТАЛЬНЫМ СПОСОБОМ

Работу проводит один специалист. Голову животного кладут на эмалированную кювету. При поступлении трупа целиком голову можно не отделять.

Троакар вместе с гильзой вводят в глазное отверстие, отодвинув глазное яблоко вниз или в сторону. Вращая троакар и применяя умеренное усилие, делают прокол дна глазницы. В прокол вводят гильзу троакара в направлении затылочного отверстия, затем закрывают отверстие гильзы резиновой пробкой или пальцем, извлекают гильзу и с помощью стилета троакара выталкивают патологический материал.

Полученную пробу головного мозга помещают в стерильную стеклянную или пластиковую тару, которую герметично закрывают. Пробу подвергают заморозке при -20°C

Консервирование патматериала (головной мозг)

Существующие нормы РФ:

Пересылка в замороженном, консервированном в 50% глицерине виде.

Международные нормы:

Пересылка по возможности в замороженном виде, в случае невозможности этого – в охлажденном виде в 50% глицерине, в крайнем случае допускается консервирование 10% формалином (современные методы РИФ, ИФА, ПЦР, иммуногистохимия, позволяют проводить исследование такого материала).

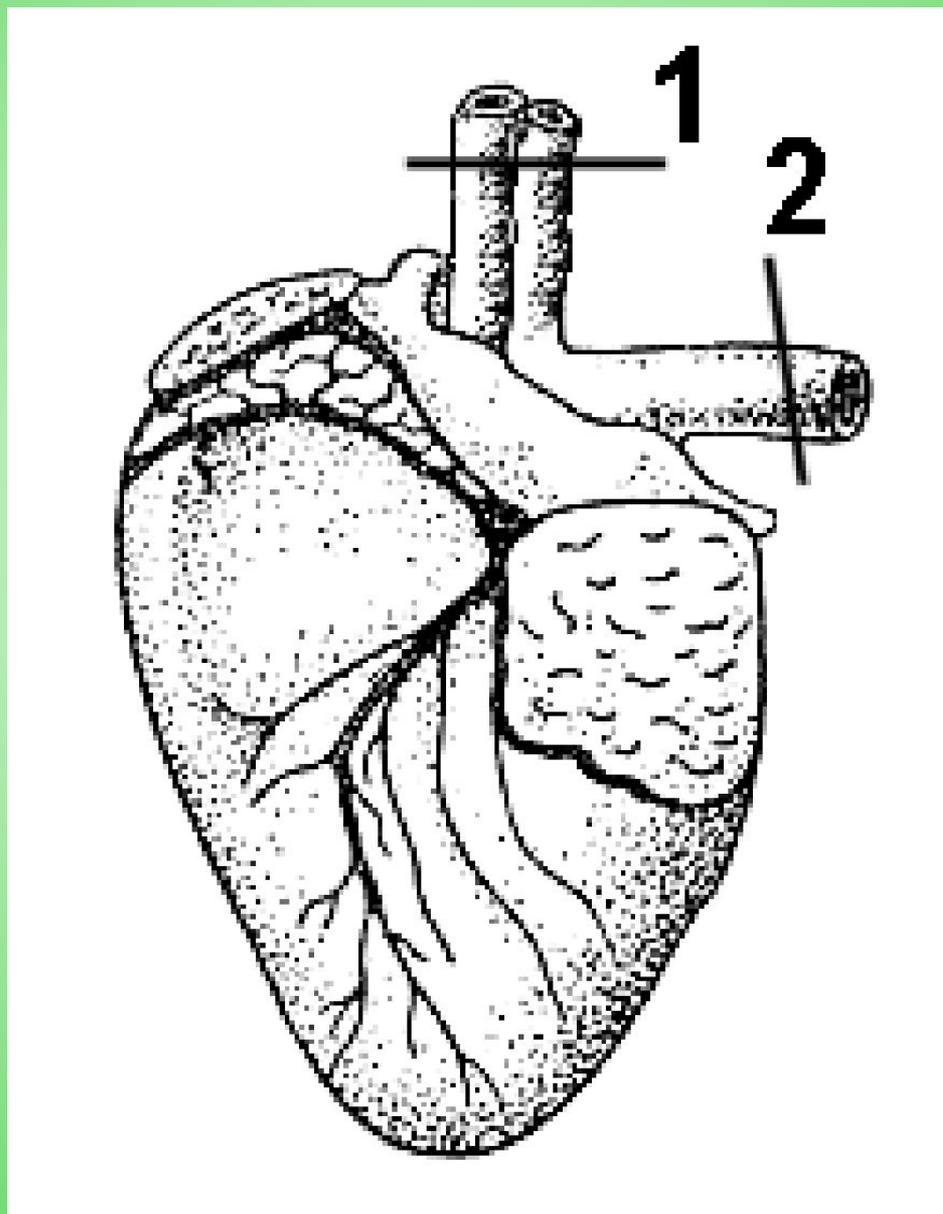
Отбор проб крови

Аппаратура, материалы и реактивы

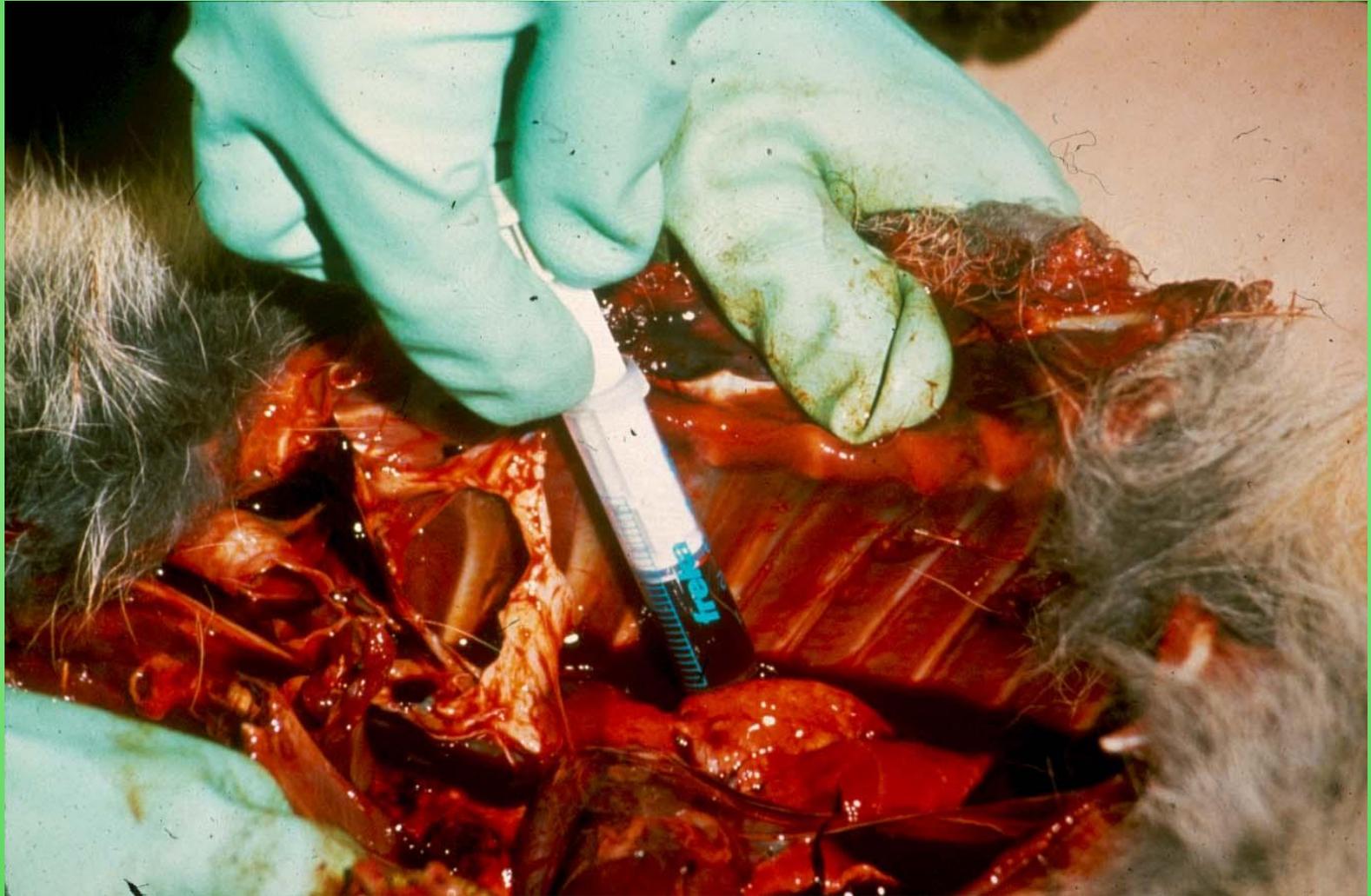
1. Перчатки резиновые анатомические;
2. Нож ампутационный;
3. Капроновые или шелковые нитки для наложения лигатур на сосуды сердца;
4. Одноразовые шприцы объемом 5 мл;
5. Флаконы пластмассовые на 10 мл с крышками;
6. Сумка-холодильник или её аналоги;

Условия хранения крови, сыворотки крови, трупной жидкости в лаборатории – минус 20°С

Наложение лигатур на сосуды сердца



Отбор проб крови у диких животных



Отбор проб крови у домашних животных

- Отбирают кровь в объеме 2 мл
- Выдерживают кровь при 37°C в течение 0,5 часа
- Осторожно обводят сгусток спицей по стенке и помещают в холодильник при 4-8°C минимум на 0,5 часа
- Отделившуюся сыворотку центрифугируют в течение 15 минут при 3000 об/мин (при необходимости центрифугирование можно повторить)
- При хранении сыворотки крови более 24 часов ее замораживают

Отбор проб крови у домашних животных

Требование к сыворотке крови:

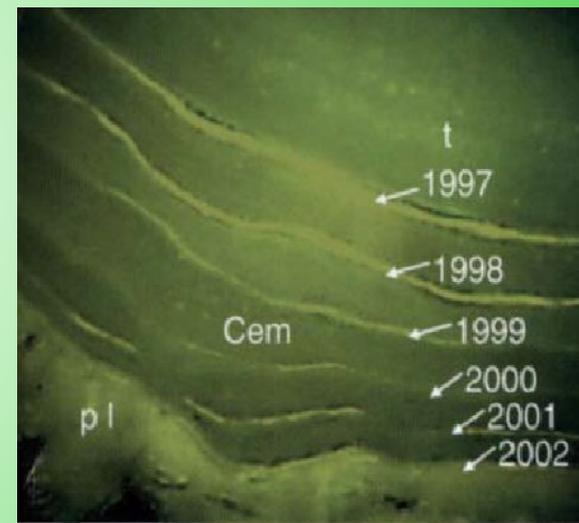
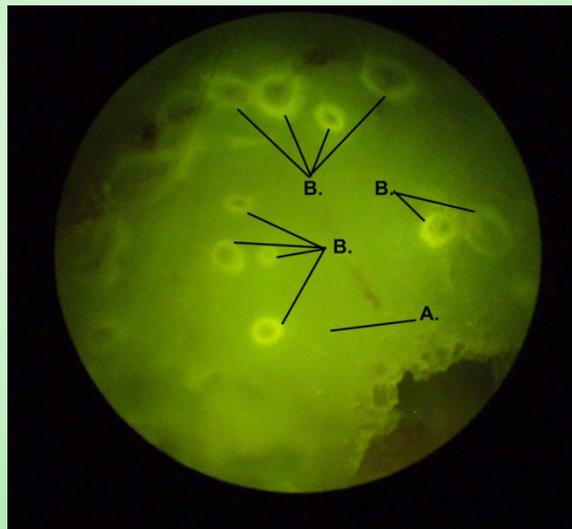
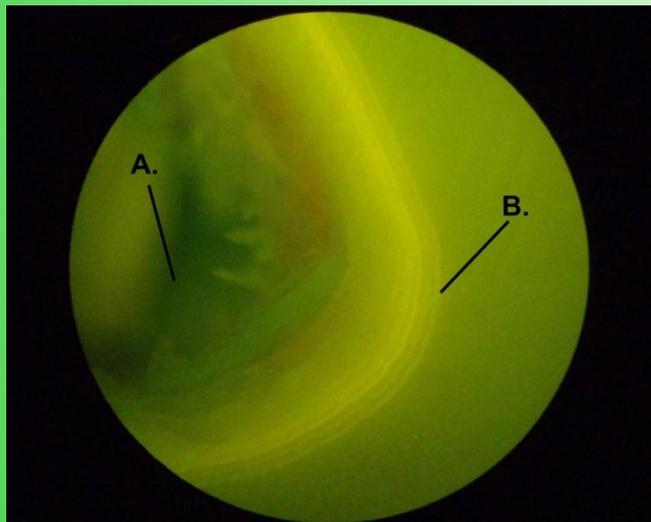
- объем 1 мл
- отсутствие гемолиза или легкая степень гемолиза (розоватый цвет)
- отсутствие признаков гниения, бактериальной или грибковой контаминации

Информация на сайте ФГБУ «ВНИИЗЖ» по адресу:

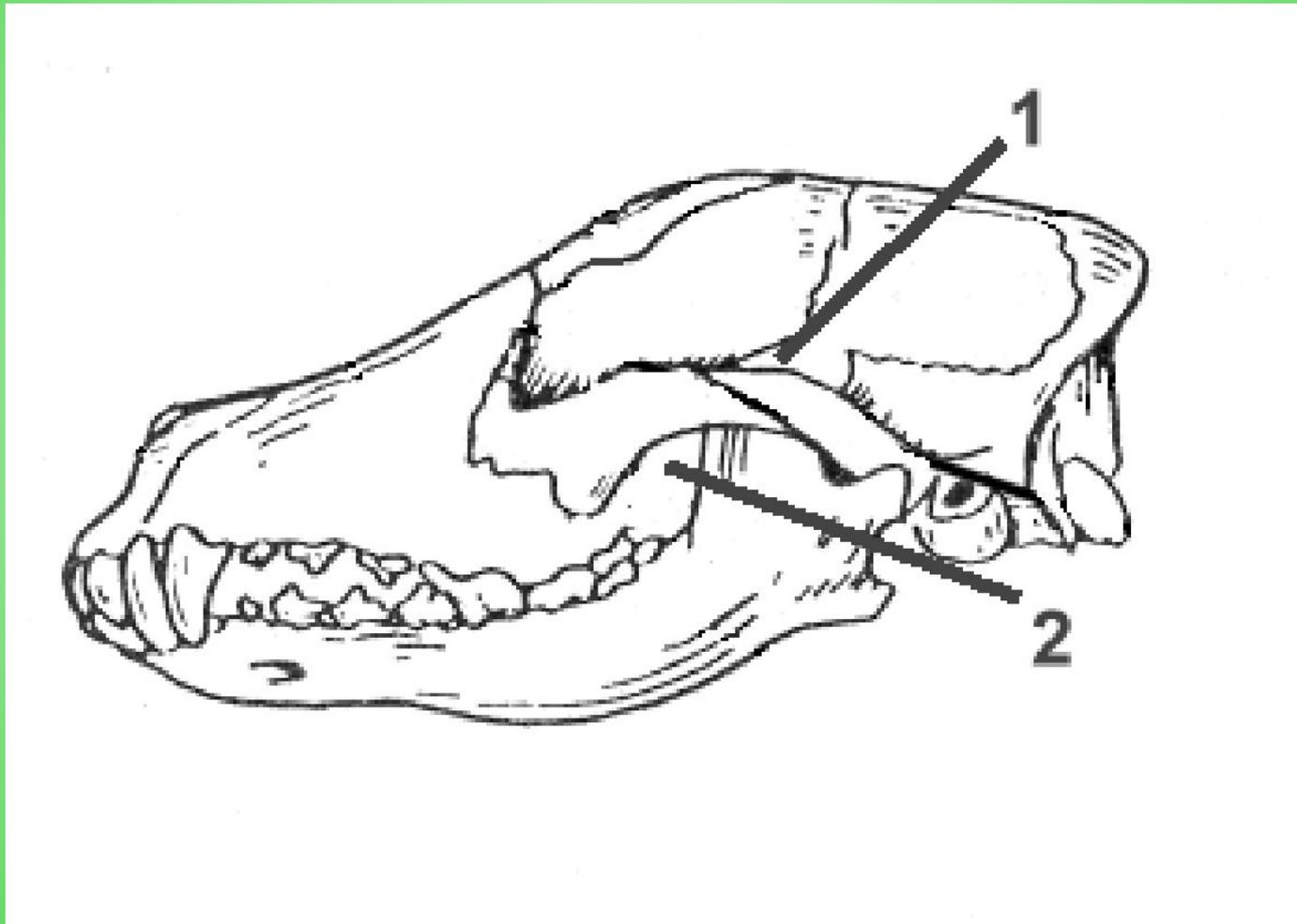
http://www.arriah.ru/production/detection_of_antibodies/

Отделение ветви нижней челюсти с зубами

Для оценки поедаемости брикетов оральной вакцины методом выявления флуоресценции тетрациклина в зубной ткани.



Отделение нижней челюсти



Отбор проб костной ткани



Правила транспортировки патологического материала для исследований на бешенство

Пробы помещают в герметичную стеклянную или пластиковую тару, которую, в свою очередь, помещают в металлический контейнер. В контейнер помещают сопроводительное письмо и опись проб, заверенные руководителем учреждения, направляющего материал для проведения исследований. Контейнер помещают в термоконтейнер с хладагентами или с системой принудительного охлаждения, опечатывают и направляют для проведения исследований.

ОБРАЗЕЦ СОПРОВОДИТЕЛЬНЫХ ДОКУМЕНТОВ

Наименование организации
направляющей материал
адрес, телефон, факс
(штамп)

Наименование организации
куда направляется материал
адрес, телефон, факс

Сопроводительное письмо

Просим вас провести исследование на бешенство/определить уровень антирабических антител/определить наличие тетрациклина в _____ пробах головного мозга/сывороток крови/пробах костной и зубной ткани. Результаты исследований просим направить по адресу _____
индекс, адрес, телефон с кодом, факс

Оплату гарантируем (для мониторинговых исследований и исследований проб сывороток крови и костной ткани).

Опись проб прилагается.

Директор _____ /расшифровка подписи/

“ ____ ” _____ 20 ____ г.

М. П.

Опись пробы

Опись пробы(заполняется для каждой отдельной пробы)

1. Контактная информация	1.1. Лицо/организация, направляющая материал на исследование _____;
	1.2. Страна _____; 1.3. Область/Республика/Край _____;
	1.4. Город _____; 1.5. Улица _____; 1.6. Строение _____;
	1.7. Квартира/офис № _____; 1.8. Почтовый индекс _____; 1.9. А/я _____;
	1.10. Другое _____ 1.11. Телефон: Служебный _____; Домашний _____;
	Мобильный _____; 1.12. Факс _____; 1.13. E-mail _____;

2. Дата и место составления описи / / / / _____;

3. Животное	3.1. Вид животного _____ <input type="checkbox"/> Домашнее; <input type="checkbox"/> Служебное; <input type="checkbox"/> Бездомное; <input type="checkbox"/> Дикое, <input type="checkbox"/> Экзотическое, содержащееся в неволе; <input type="checkbox"/> Другое, расшифровать _____;
	3.2. Клинические признаки бешенства при жизни: <input type="checkbox"/> Да, <input type="checkbox"/> Нет, если да, перечислить _____;
	3.3. Антирабическая иммунизация <input type="checkbox"/> Да, <input type="checkbox"/> Нет, если да: дата последней иммунизации / / /; наименование препарата _____; организация/специалист, назначивший и применивший препарат _____;
	3.4. Дата появления клинических признаков / / /; 3.5. Дата смерти животного / / /; 3.6. До заболевания контактировало с <input type="checkbox"/> Бездомными; <input type="checkbox"/> Дикими; <input type="checkbox"/> Другими, расшифровать _____;
	3.7. Смерть <input type="checkbox"/> Эвтаназия/убой; <input type="checkbox"/> Естественная смерть; <input type="checkbox"/> Инцидент.

Опись пробы (продолжение)

4. История контактов

4.1. Контакты с животными после возникновения клинических признаков бешенства Да, Нет, если да, расшифровать: вид животного _____ Домашнее; Служебное; Бездомное; Дикое, Экзотическое, содержащееся в неволе; Другое _____; Ф.И.О. хозяина _____; Адрес _____;

Телефон/факс _____

Наличие укуса Да, Нет, если да, подробно описать повреждения _____

4.2. Контакты с людьми после возникновения клинических признаков бешенства Да, Нет, если да, расшифровать: количество контактировавших _____; ситуация, при которой возник контакт _____

Наличие укуса Да, Нет, если да, подробно описать повреждения _____

Ф.И.О. хозяина _____; Адрес _____;

Телефон/факс _____

Опись пробы (продолжение)

5. Биоматериал	<p>5.1. Вид предоставленного материала: Участки головного мозга <input type="checkbox"/>; Головной мозг целиком <input type="checkbox"/>; Голова животного <input type="checkbox"/>; Труп животного целиком <input type="checkbox"/>; Другое _____</p> <p>5.2. Способ консервирования материала: Охлаждение <input type="checkbox"/>; Заморозка <input type="checkbox"/>; Раствор глицерина <input type="checkbox"/>; Раствор формалина; Не консервировался <input type="checkbox"/>; Другое _____</p> <p>5.3. Способ доставки: Автомобильный <input type="checkbox"/>; Железнодорожный <input type="checkbox"/>; Воздушный <input type="checkbox"/>; Водный <input type="checkbox"/>; Другой _____</p> <p>5.4. Нарочный: Ф.И.О. _____; Организация _____ Должность _____; Контактная информация _____</p>
6. Движение материала и	<p>6.1. Ф.И.О., должность, подпись лица принявшего материал _____;</p> <p>6.2. Дата и время поступления / ___ / ___ / ___ /, ___ ч. ___ мин.; 6.3. Регистрационный номер при поступлении _____; 6.4. Ф.И.О., должность, подпись лица, получившего материал для проведения исследований _____</p> <p>6.5. Дата и время получения / ___ / ___ / ___ /, ___ ч. ___ мин.; 6.6. Регистрационный номер в журнале лабораторных исследований _____; 6.7. Результат исследований с указанием методов исследований _____</p> <p>6.8. Дата и способ уничтожения / ___ / ___ / ___ / _____</p> <p>6.9. Отметка о хранении или передачи в другую организацию / ___ / ___ / ___ / _____</p>

Опись проб, направляемых для проведения мониторинговых исследований
(в т.ч. по оценке эффективности оральной иммунизации)

№	Вид животного	Место отстрела/отлова	Дата отстрела/отлова	Анамнез*	Вид биоматериала **
					г.м. <input type="checkbox"/>
					сыворотка <input type="checkbox"/>
					костная ткань <input type="checkbox"/>
					г.м. <input type="checkbox"/>
					сыворотка <input type="checkbox"/>
					костная ткань <input type="checkbox"/>
					г.м. <input type="checkbox"/>
					сыворотка <input type="checkbox"/>
					костная ткань <input type="checkbox"/>
					г.м. <input type="checkbox"/>
					сыворотка <input type="checkbox"/>
					костная ткань <input type="checkbox"/>

*Пол, приблизительный возраст, наличие клинических и посмертных признаков бешенства;

**г.м. – головной мозг, сыворотка – сыворотка крови, костная ткань – нижняя челюсть с зубами.

**Опись пробы сыворотки крови, направляемой для определения уровня
антирабических антител (заполняется для каждой отдельной пробы)**

1. Контактная информация	1.1. Лицо/организация, направляющая материал на исследование _____;
	1.2. Страна _____; 1.3. Область/Республика/Край _____;
	1.4. Город _____; 1.5. Улица _____; 1.6. Строение _____;
	1.7. Квартира/офис № _____; 1.8. Почтовый индекс _____; 1.9. А/я _____;
	1.10. Другое _____ 1.11. Телефон: Служебный _____; Домашний _____;
	Мобильный _____; 1.12. Факс _____; 1.13. E-mail _____;
	_____;
2. Дата и место составления описи /___/___/___ _____;	
3. Животное	3.1. Вид животного _____ <input type="checkbox"/> Домашнее; <input type="checkbox"/> Служебное; <input type="checkbox"/> Бездомное; <input type="checkbox"/> Дикое, <input type="checkbox"/> Экзотическое, содержащееся в неволе; <input type="checkbox"/> Другое, расшифровать _____;
	3.2. Антирабическая иммунизация <input type="checkbox"/> Да, <input type="checkbox"/> Нет, если да: дата последней иммунизации /___/___/___/, кратность иммунизаций _____; наименование препарата _____; организация/специалист, назначивший и применивший препарат _____;
4. Характеристики материала	4.1. Вид предоставленного материала: Сыворотка крови <input type="checkbox"/> ; Кровь <input type="checkbox"/> ; Другое _____
	4.2. Способ консервирования материала: Охлаждение <input type="checkbox"/> ; Заморозка <input type="checkbox"/> ; Другое _____
	4.3. Способ доставки: Автомобильный <input type="checkbox"/> ; Железнодорожный <input type="checkbox"/> ; Воздушный <input type="checkbox"/> ; Водный <input type="checkbox"/> ; Другой _____
	4.4. Нарочный: Ф.И.О. _____; Организация _____ Должность _____; Контактная информация _____
5. Доставка материала и	5.1. Ф.И.О., должность, подпись лица принявшего материал _____;
	5.2. Дата и время поступления /___/___/___/, _____ ч. _____ мин.; 5.3. Регистрационный номер при поступлении _____; 5.4. Ф.И.О., должность, подпись лица, получившего материал для проведения исследований _____
	5.5. Дата и время получения /___/___/___/, _____ ч. _____ мин.; 5.6. Регистрационный номер в журнале лабораторных исследований _____; 5.7. Результат исследований с указанием методов исследований _____
	5.8. Дата и способ уничтожения /___/___/___/ _____
	5.9. Отметка о хранении или передачи в другую организацию /___/___/___/ _____

Меры безопасности

Факторы риска:

1. Травмирование кожных покровов:
 - острые костные обломки
 - режущие, колющие инструменты

2. Попадание твердых и жидких элементов (брызги, аэрозоль) патологического материала в глаза, на слизистые оболочки.

Меры безопасности

Меры предупреждения инфицирования:

1. Обязательная профилактическая вакцинация
2. Проведение процедуры вскрытия и отбора патологического материала **2-мя** специалистами
3. Использование специальной одежды (халат, чепчик, прорезиненный фартук, нарукавники)
4. Использование индивидуальных средств защиты (очки, защитная маска на лицо, ватно-марлевая повязка, перчатки, устойчивые к факторам механического повреждения)

Меры безопасности

Дезинфицирующие вещества:

- четвертичный аммоний в концентрации 1:500
- 45-70% этиловый спирт
- 1 % мыльный раствор (горячий раствор мыла, детергента, стирального порошка может использоваться для мытья поверхностей, полов)
- 5-7% йодный раствор

Указанные растворы убивают вирус бешенства в течение 1 минуты и могут применяться для обработки ран.

Меры безопасности

Утилизация потенциально-опасных материалов:

- *Стеклянная и пластиковая посуда, инструменты* – замачивание в растворе дезинфицирующего вещества (1% мыльная вода) с последующим кипячением или автоклавированием
- *Использованный дезинфицирующий раствор* – кипячение, автоклавирование
- *Трупы и ткани животных* – предпочтительно помещение в полиэтиленовые мешки и кремирование

Меры безопасности

Обработка ран

- Все раны немедленно и тщательно промыть мылом и водой в течение нескольких минут
- Колотые раны обработать дезинфицирующим веществом
- Как можно быстрее обратиться в медицинское учреждение за антирабической помощью

Меры безопасности

Спасибо за внимание!