



Министерство сельского хозяйства
Российской Федерации
Федеральное государственное
бюджетное образовательное
учреждение высшего
профессионального образования
«Самарская государственная
сельскохозяйственная академия»

Х. Б. Баймишев, А. В. Савинков, В. А. Салимов

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ В ДИАГНОСТИКЕ БОЛЕЗНЕЙ ЖИВОТНЫХ

Методические указания для выполнения практических работ

Кинель
РИЦ СГСХА
2014

УДК 619:616.338.001.891

Б-18

Баймишев, Х. Б.

Б-18 Методы исследований в диагностике болезней животных : методические указания для выполнения практических работ / Х. Б. Баймишев, А. В. Савинков, В. А. Салимов. – Кинель : РИЦ СГСХА, 2014. – 43 с.

Методические указания для выполнения практических работ содержат теоретический материал, задания для выполнения практических работ, список рекомендованной учебной литературы, контрольные вопросы. Учебное издание рекомендовано для аспирантов, обучающихся по направлению 36.06.01 «Ветеринария и зоотехния» (уровень подготовки кадров высшей квалификации).

© Баймишев Х. Б., Савинков А. В., Салимов В. А., 2014

© ФГБОУ ВПО Самарская ГСХА, 2014

ПРЕДИСЛОВИЕ

Целью освоения дисциплины «Методы исследований в диагностике болезней животных» является формирование у аспирантов навыков самостоятельной научно-исследовательской и педагогической деятельности, углубленное изучение теоретических и методологических приемов экспресс диагностики болезней, владение современными приборами и оборудованием в морфологии, патофизиологии, клинической диагностики, терапии и патоморфологии. Данные методические указания составлены в соответствии с требованиями ОПОП ВО и дают возможность сформировать у аспиранта ряд компетенций, являющихся ключевыми элементами в формировании ветеринарного профиля:

- способность владеть вопросами клинической ветеринарии, принципами, методами и технологиями обследования, общей, специальной и инструментальной диагностики болезней животных, частной синдроматики (кардио -, нейро -, гепато-, нефропатология, желудочно-кишечные, респираторные, репродуктивные расстройства), использовать особенности клинических и патоморфологических проявлений, патогенеза и семиотики инфекционных и инвазионных болезней животных для диагностики, дифференциальной диагностики и лечения;

- способность анализировать и использовать знания по этиологии, патогенезу незаразных болезней, патологических и стрессовых состояний, патологии обмена веществ у животных, применять принципы и методы общей и частной лекарственной, физиотерапии и профилактики незаразных болезней, научные основы диспансеризации продуктивных и мелких домашних животных;

- способность выявлять и анализировать иммуноморфологические и иммунопатологические процессы, причины и сущность иммунодефицитов, аутоиммунных механизмов, иммунологической толерантности в патологии животных различной этиологии, диагностировать онкологические заболевания продуктивных и мелких домашних животных с учетом этиологии, онкогенеза и морфологии, разрабатывать методы диагностики, дифференциальной диагностики и лечения новообразований.

Занятие 1. Выявление химических веществ в тканях, клетках и органах

Цель занятия: изучить основные методы гистохимических исследований, используемых для идентификации химических веществ в гистологических срезах, а так же методы, используемые при диагностике некоторых инфекционных болезней.

Материальное обеспечение: микроскопы, гистопрепараты, микротом.

В настоящее время ни одна морфологическая лаборатория не обходится без применения гистохимических методик. Для выявления в клетках различных химических соединений (аминокислот, белков, жиров, углеводов, минеральных веществ и т.д.) используют гистохимические методы исследования, основанные на использовании красителей, которые избирательно связываются только с теми химическими соединениями клетки, которые необходимо изучить, и окрашивают их, делая видимыми. Гистологическая диагностика, как правило, ориентирована только на морфологическое изучение тканей, при этом гистохимические методы обладают строгой специфичностью в отношении выявления химических веществ в тканях, клетках и органах. Критерием в оценке результатов гистохимической реакции является не только локализация химических веществ, но и интенсивность окраски исследуемых компонентов клеток и тканей, так как именно она свидетельствует о концентрации и локализации выявляемых веществ.

При диагностике инфекционных заболеваний используется гистохимический вариант иммуноферментного анализа (ИФА, иммунопероксидазная реакция), предназначенный для идентификации возбудителей в патматериале или культуре клеток. Если в исследуемом материале присутствует искомый микробный антиген, то меченные пероксидазой антитела с ним специфически связываются. Внесение субстрата к пероксидазе приводит к образованию цветного продукта, видимого при микроскопии сначала как гранулы голубого, а позднее желто-коричневого цвета.

Ход окраски:

1. Замороженные срезы (из свежей или фиксированной в формалине ткани) на несколько минут переносят из воды в 50% спирт;
2. Помещают в спиртовой раствор красителя на 15-30 мин (бюксы следует закрывать, так как испарение спирта приводит к выпадению осадков красителя);
3. Быстро ополаскивают в 50% спирте;
4. Промывают в дистиллированной воде;
5. Подкрашивают ядра гематоксилин-эозином в течение 5-7 мин;
6. Промывают и заключают в желатин или глицерин-желатин (обезвоживание в спиртах экстрагирует жиры).

Результат: жировые вещества интенсивно оранжевого цвета, ядра синие. Препараты выцветают сравнительно скоро, поэтому откладывать исследование не рекомендуется.

Изучить микроскопическую картину при учете результатов гистохимического ИФА (иммунопероксидазный тест).

Задание 1. Провести гистохимическую окраску подготовленных гистологических срезов для выявления жира (липидов), используя метод окраски судановыми красителями (судан III). При обработке материала учитывают высокую растворимость липидов в органических растворителях. Поэтому пользуются срезами, полученными на замораживающем микротоме. В качестве фиксатора используют формалин.

Контрольные вопросы

1. Гистохимические методы исследования.
2. Типы гистохимических реакций.
3. Общая характеристика и классификация гистологических красителей.
4. Гистохимическое выявление липидов.
5. Гистохимия отдельных ферментов.
6. Гистохимическое выявление белков.
7. Использование ИФА в диагностике.
8. Компоненты ИФА, условия их приготовления и применения.