

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
ФГБОУ ВО «Красноярский государственный аграрный университет»

Е.А. Алексеева

ЕСТЕСТВЕННАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ЖИВОТНЫХ

Методические указания

Электронное издание

Красноярск 2016

Рецензент

О.А. Логачева, канд.биол.наук, доцент кафедры биологии и охотоведения Красноярского государственного аграрного университета

Алексеева, Е.А.

Естественная резистентность животных: метод. указания / Е.А. Алексеева; Краснояр. гос. аграр. ун-т. – Красноярск, 2016. – 64 с.

Методические указания содержат материалы для практических занятий, тестовые задания для самопроверки, список рекомендуемой литературы, словарь терминов и вопросы к зачету.

Предназначено для подготовки бакалавров по программе по направлению 36.03.02 «Зоотехния».

Печатается по решению редакционно-издательского совета
Красноярского государственного аграрного университета

© Алексеева Е.А., 2016
©ФГБОУ ВО «Красноярский государственный аграрный университет», 2016

Оглавление

Введение	4
Модуль 1. Система естественной резистентности организма животных	5
Занятие 1. Общие методы работы с лабораторными и сельскохозяйственными животными. Расчет дозы наркотического вещества.....	5
Занятие 2. Выделение органов и клеток иммунной системы у лабораторных животных.....	10
Занятия 3–4. Определение лейкоцитарной формулы периферической крови.....	13
Тестовые задания для самопроверки	19
Занятия 5–6. Определение уровня фагоцитоза	26
Занятия 7–8. Определение бактерицидной активности сыворотки крови разными методами	30
Тестовые задания для самопроверки	33
МОДУЛЬ 2. Внешние и внутренние факторы, воздействующие на естественную резистентность	40
Занятие 9. Микроцитотоксический тест-реакция <i>in vitro</i> для оценки повреждающего действия различных факторов на клетки	40
Занятия 10–11. Определение зоогигиенических параметров помещения для определения влияния на естественную резистентность животных	41
Тестовые задания для самопроверки	44
Занятия 12–13. Определение иммуноглобулинов в молозиве (молоке)	49
Тестовые задания для самопроверки.	51
Список рекомендуемой литературы для изучения дисциплины ..	56
Основная литература	56
Дополнительная литература	56
Вопросы к зачету	57
Словарь терминов	59
Приложение	62

Введение

Интенсификация производства оказывает значительное влияние на сельскохозяйственных животных. При тенденции создания больших производственных комплексов возникает проблема тесного контакта большого количества животных и, как следствие, быстрого возникновения и распространения различных заболеваний. Современное производство требует животных с повышенной крепостью организма и резистентностью.

Цель дисциплины «Естественная резистентность животных» состоит в изучении общих закономерностей развития, структуры и функционирования естественной резистентности организма животных в условиях интенсивного производства, а также в освоении студентами теоретических основ и практических приемов контроля естественной резистентности сельскохозяйственных животных.

Задачи изучения дисциплины:

- сформировать представление о естественной резистентности животных как одной из важных систем организма;
- рассмотреть основополагающие разделы структурно-функциональных особенностей систем резистентности организма животных;
- овладеть основами оценки неспецифической естественной резистентности, гуморального и клеточного иммунитета животных.

Модуль 1. Система естественной резистентности организма животных

Занятие 1. Общие методы работы с лабораторными и сельскохозяйственными животными. Расчет дозы наркотического вещества

РАБОТА 1. Общие методы работы с сельскохозяйственными и лабораторными животными

Цель работы

Освоить методы работы с сельскохозяйственными животными и лабораторными в виварии

Теоретический материал

Биомодели

В научных исследованиях в области биологии, медицины, сельского хозяйства, в оборонной, в фармацевтической и микробиологической промышленности, а также в других отраслях науки и промышленности используется не менее 250 видов животных. Условно их делят на традиционные, т. е. наиболее часто используемые в экспериментах, и нетрадиционные, периодически используемые. К традиционным относятся лабораторные мыши, крысы, кролики, морские свинки, хомяки, кошки, собаки, обезьяны и др. К нетрадиционным – песчанки, суслики, рыбы, опоссумы, броненосцы и др.

Достоверность и воспроизводимость экспериментов

Главное в любом эксперименте – это получение объективных (достоверных) данных, которые могут быть воспроизведены в повторных опытах в любой точке нашей планеты.

Этого можно достичь лишь при соблюдении стандартности всех условий и материалов эксперимента. Если речь идет о медико-биологических исследованиях на животных, то стандартными или приближенными к стандартным должны быть зоогигиенические условия содержания животных (плотность посадки, скорость воздуха, влажность воздуха, чистота воды, подстилочный материал и пр.), кормление животных и сами животные.

Уход за животными в виварии (экспериментально-биологической клинике)

1. Условия содержания животного в виварии должны обеспечи-

вать для него нормальный биологический фон.

2. Важнейшими условиями этого являются:

– содержание животного в вентилируемом, освещенном, отапливаемом помещении;

– обеспечение его водой и нормальным питанием;

– своевременная уборка помещения.

3. В виварии недопустимы громкие разговоры, шум.

4. Кормление и водопой должны производиться в соответствии с режимом вивария и потребностями животных.

На кормокухне вивария должны быть вывешены нормы кормления животных и выход продуктов (в том числе и вареных кормов) для животных всех видов, содержащихся в виварии, а также указание часов, в которые производится кормление и смена воды в поилках.

5. Размер клеток для экспериментальных животных должен обеспечивать животному свободное передвижение.

Переноска животных

Переноска крыс и мышей осуществляется либо за хвост, либо хваткой под брюшко. Последнее предпочтительнее. Переноска кролика осуществляется двумя руками: одной за кожу шеи, а другой за кожу спины. Нельзя переносить кролика хваткой за уши.

Обращение с мышью

1. Возьмите мышь за основание хвоста большим и указательным пальцем и перенесите ее на решетку крышки (рис. 1) или на поверхность, в которую она может вцепиться (например, рукав лабораторного халата).

Естественная реакция животного – вырваться от удерживающего, поэтому, продолжая осторожно оттягивать мышь назад за хвост, следует прижать ее к решетке большим и согнутым указательным пальцами другой руки.

2. Приноровившись, плотно захватите большим и указательным пальцами кожу шеи за ушками.

3. Удерживайте хвост безымянным пальцем, мизинцем и ладонью (рис. 1). Если держать мышь только за загривок или недостаточно плотно захватить ее кожу за ушами, она может укусить. Чтобы захватить или удержать мышь, часто пользуются большим анатомическим пинцетом или корнцангом.

Такие процедуры, как прощипывание ушей, подкожные и внутрибрюшинные инъекции, пальпирование делают, держа мышь в по-

ложении, показанном на рисунке 1.

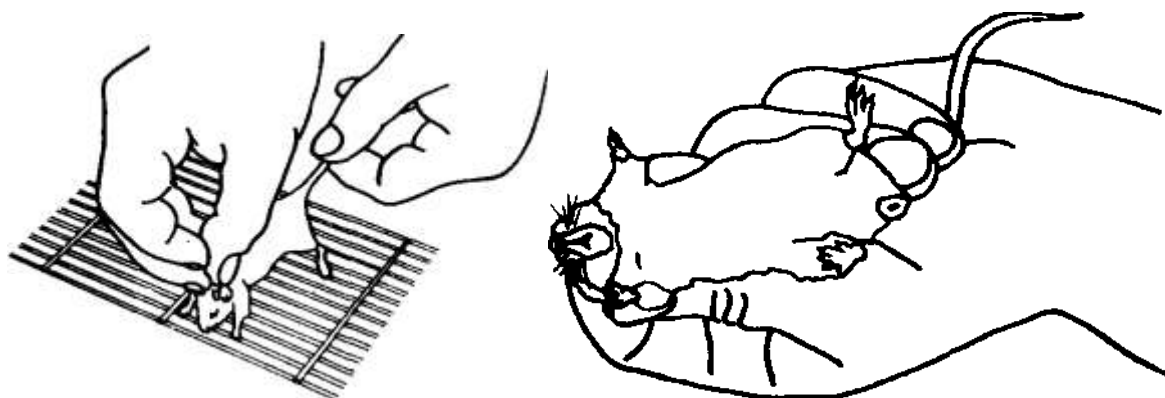


Рисунок 1 – Правильное удержание мыши

Трудно иметь дело с дикими мышами, поскольку они прыгают. В этом случае, прежде чем открыть клетку, рекомендуется поместить ее в глубокий бокс. При перемещении мышей из клетки в клетку лучше заманить их в банку, чем брать руками.

Подготовка животного к эксперименту

1. В период введения в эксперимент животное должно адаптироваться к обстановке лаборатории и привыкнуть к экспериментатору.

2. При доставке в лабораторию крупных животных запрещается применение силовых или болезненных приемов. В случае агрессивных или истеричных животных можно сделать предварительную премедикацию.

3. Мелких животных (грызунов и пр.) следует брать осторожно, применять корнцанги только с резиновыми насадками, не сжимать животных сильно руками, что причиняет животным травмы и боль. Запрещается оставлять животных в ожидании эксперимента больше, чем это необходимо для проведения премедикации.

4. Запрещается переносить мелких животных по холоду в неутепленных клетках.

Премедикация. Фиксация животного

1. Премедикация проводится лицом, ответственным за работу с животным, или под его наблюдением.

2. Если животное испугано или состояние наркоза наступает не сразу, экспериментатор должен ждать, пока животное не успокоится или не заснет.

3. Животное можно фиксировать только после того, как подействует наркоз.

4. При проведении процедур, которые требуют иммобилизации бодрствующих животных, разрешается привязывать животное к лабораторной доске только на непродолжительное время. Для иммобилизации животного на продолжительное время следует применять ящики-домики и щитки-ошейники.

5. После фиксации собак с них снимаются повязки-намордники.

6. Повязки на конечностях животного должны быть мягкими, не препятствовать кровообращению; животному не должна быть придана неудобная поза с вывернутыми конечностями.

7. После наркоза животному необходим постоянный контроль со стороны экспериментатора (или анестезиолога) за уровнем наркоза.

Эвтаназия животного

1. Гуманным умерщвлением животного (эвтаназией) называется быстрое и безболезненное умерщвление животного, не сопровождающееся у него чувством тревоги и страха.

2. Животное должно получать адекватный уход (анестетики, питание, поение и т. п.) вплоть до самого момента его умерщвления.

3. Умерщвление животных не должно производиться в помещении, где содержатся животные, запрещается умерщвлять одних животных на глазах у других.

4. В острых опытах животное должно умерщвляться до прекращения действия наркоза. Во всех случаях животное должно умерщвляться своевременно – до наступления у него болезненных состояний.

5. Оптимальным и универсальным методом умерщвления животных является передозировка наркоза – введение анестетика в летальной дозе (дозировка для наркоза $\times 3$).

6. При соблюдении этих условий допустимо умерщвление животного другими методами:

– мелких животных: мышей, крыс, лягушек, птиц и т.д. – путем декапитации;

– кроликов – путем воздушной эмболии;

– крупных животных: взрослых собак, свиней и пр. – с помощью пропускания электрического тока, при этом электроды вводятся в область продолговатого мозга и в область крестца.

7. Допускается умерщвление животных, используемых в производственных целях, путем обескровливания. При этом может быть подобран метод обезболивания, отличный от фармакологического воздействия.

8. Допускается умерщвление мелких животных с помощью ингаляционного наркоза без предварительного введения других видов анестетиков. Наиболее пригодным для этой цели является хлороформ. Но при этом эвтаназия должна производиться в специальной камере, в теплом помещении; подача хлороформа должна вестись очень небольшими дозами – по капле.

РАБОТА 2. Расчёт дозы наркотического вещества для неингаляционного наркоза

Цель работы

Определить дозу наркотического вещества и стадии наркоза.

Материалы и оборудование

Наркотическое вещество, мыши, шприцы.

Ход работы

Взять мышь и определить ее массу.

В соответствии с приведенными в таблице 1 данными рассчитать дозу гексенала. Развести наркотическое вещество, ввести мышке, отметить время его введения.

Таблица 1 – Дозы наркотических веществ для белых мышей

Вещество	Доза (по литературным источникам), мг/кг в/б – внутривенно; п/к – подкожно,
Гексенал	250 мг/кг, в/б
Барбитал	50 мг/кг, п/к
Уретан	1200 мг/кг, п/к
Хлоралгидрат	300 мг/кг, п/к
Барбитал Na (мединал)	200 мг/кг, п/к
Этаминал Na	40 мг/кг, в/б

Записать время наступления и продолжительность каждой из стадий наркоза. Записать данные обследования животных в таблицу, отмечая характер дыхания, подвижность, реакцию зрачков на свет, роговичный рефлекс, болевую чувствительность, акт дефекации и мочеиспускания. Сделать вывод из полученных результатов.

РАБОТА 3. Расчёт эффективной дозы эфира для общей анестезии

Цель работы

Научиться определять дозу эфира, необходимую для эффективной дачи наркоза животному.

Материалы и оборудование

Эксикатор, шприцы, мыши, эфир.

Ход работы

Измерить объем эксикатора. Посадить мышь в эксикатор.

Шприцем ввести в эксикатор 1,5 мл эфира и отметить время от момента введения до момента наступления наркотического сна. Повторить процедуру с 2,5 и 5 мл эфира. Выбрать наиболее эффективную дозу, произведя соответствующие расчеты. Сделать вывод.

Занятие 2. Выделение органов и клеток иммунной системы у лабораторных животных

РАБОТА 1. Вскрытие трупа мыши и изъятие органов для исследования

Цель работы

Овладеть методикой вскрытия трупа мыши и изъятия органов для исследования.

Материалы и оборудование

Мыши, скальпель, глазные ножницы, пинцеты, препаровальный столик, спиртовые салфетки.

Ход работы

Взять мышь и определить ее массу.

Провести эвтаназию животного путем передозировки наркоза – ввести мыши анестетик в летальной дозе (дозировка для наркоза $\times 3$) или путем разрыва шейных позвонков. Дождаться наступления смерти.

Разрыв шейных позвонков

1. Поместить мышку на сетку, как показано на рисунке 2, удерживая за хвост.

2. Потянуть за хвост (неслишком сильно) – мышшь, сопротивляясь, будет тянуться вперёд, держась за прутья – это исходное положение, дальше желательнее работать уверенно и быстро.

3. Большим пинцетом или ножницами прижать (достаточно плотно, чтобы не вывернулась) голову мышши (сразу за затылком) к сетке.

4. Потянуть за хвост, одновременно поднимая мышшь до угла $\sim 90^\circ$ (вы должны почувствовать разрыв позвонков).

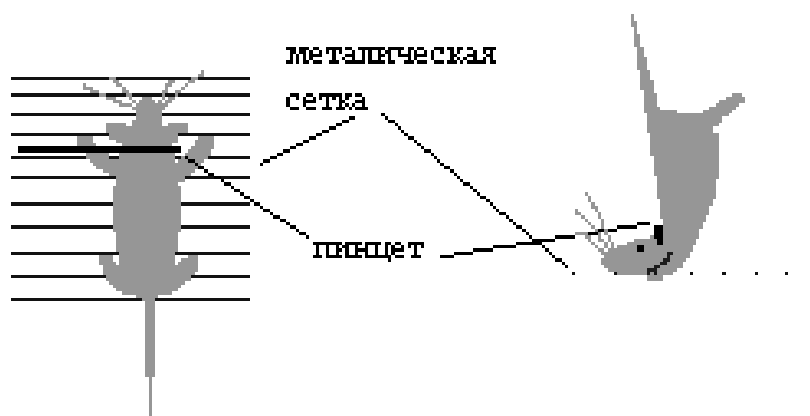


Рисунок 2 – Положение мышши при разрыве шейных позвонков

Предварительный осмотр

1. Определить, самец это или самка.

2. Проверить состояние шерсти. Она должна быть чистой и ровной (это критерий нормального самочувствия).

3. Выяснить, нет ли дегидратации (защемлённая кожа должна быстро возвращаться на место).

Зафиксировать труп животного на операционном столике брюшком кверху. Взять скальпель и произвести разрез кожи по средней линии от нижней челюсти до лонного сочленения. На шее развести мышшь пинцетом, найти трахею и щитовидный хрящ, ниже его, непосредственно на трахее, найти узкую полосу ярко-красного цвета.

Это щитовидная железа. С помощью пинцета и остроконечных ножниц осторожно отделить ее от трахеи и поместить в чашку Петри в физиологический раствор. Вам потребуется две чашки. В одну следует помещать все непарные и левые органы, в другую – все правые. Стеклографом пометьте их соответствующим образом. Вскрыть скальпелем брюшную полость. Тупой branшей ножниц войти в брюшную полость и произвести разрез брюшной стенки параллельно

реберным дугам. То же самое сделать в области лонного сочленения.

Вскрыть ножницами диафрагму, после чего от середины реберной дуги ножницами пересечь ребра по направлению к плечевому суставу. Откинуть грудину с остатками ребер к краниальному концу животного. Захватить пинцетом трахею, аорту и прилежащие ткани, ножницами пересечь их выше захвата. Потянуть все это кверху и ножницами осторожно отделить комплекс «сердце–легкие» от задней грудной стенки. Поместить комплекс в чашку Петри и отделить сердце от легких и каждый орган от прилежащих тканей. Поместить легкие и сердце в соответствующие чашки. Найти в жировой клетчатке в области верхнего полюса левой почки плотное образование дискообразной формы серо-желтого цвета. Это надпочечник.

Осторожно отделить его от окружающих тканей и поместить в чашку Петри. Прodelайте ту же процедуру с правым надпочечником. Выделить почки, печень, а также селезенку.

Если это самка, в области лонного сочленения найти тело матки и ее рога. На конце рога, примерно на уровне почки, найти темно-красное, бугристое образование, окруженное жировой клетчаткой. Отсечь яичник от окружающих тканей и поместить его в чашку Петри. Повторить процедуру для правого яичника. Пересечь тело матки у основания и взять для исследования.

РАБОТА 2. Определение абсолютной массы органов и расчёт их относительной массы

Цель работы

Освоить методику определения абсолютной и относительной массы органов крысы.

Материалы и оборудование

Мыши, скальпель, глазные ножницы, пинцеты, препаровальный столик, спиртовые салфетки, весы.

Ход работы

Отмойте органы от крови в чашках Петри и осушите их фильтровальной бумагой. Определите массу щитовидной железы, надпочечников, яичников и других органов на электронных весах. Вычислите относительную массу каждого органа по формуле:

$$Mi = \frac{m}{M} \times 100, \quad (1)$$

где m – масса органа, M – масса тела животного.

Полученные вами и вашими сокурсниками данные запишите в таблицу, где в первой графе будет номер животного, во второй – масса, а в последующих вначале абсолютная, а затем относительная масса каждого органа. Сравните полученные данные с литературными и сделайте вывод.

Занятия 3–4. Определение лейкоцитарной формулы периферической крови

РАБОТА 1. Определение лейкоцитарной формулы периферической крови

Цель работы

Освоить определение лейкоцитарной формулы при оценке функциональной способности кроветворных органов.

Материалы и оборудование

Исследуемая кровь, предметные стекла, спиртовые салфетки, шлифованное стекло, метанол, либо 75 %-й этанол, либо смесь Никифорова, краситель Романовского–Гимзы, микроскоп.

Теоретический материал

Определение лейкоцитарной формулы периферической крови в клинической практике используется для выявления аномальных сдвигов в лейкоцитарной формуле и оценки состояния организма. При расчете лейкоцитарной формулы и ее анализе учитывают соотношения в крови лейкоцитарных клеток разных типов.

Лейкограммой (лейкоцитарной формулой) называется процентное соотношение между отдельными видами лейкоцитов в крови.

Анализ лейкоцитарной формулы имеет большое диагностическое и прогностическое значение при оценке функциональной способности кроветворных органов. При различных патологических процессах и в зависимости от их силы, глубины, характера и локализации лейкоцитарная формула может существенно изменяться. Все изменения лейкоцитарной формулы сводятся главным образом к следующему: 1) увеличению процентного содержания одних форм клеток белой крови за счет уменьшения в той или иной степени других форм; 2) появлению молодых незрелых лейкоцитов; 3) структурным

изменениям самих клеток.

Краткое описание некоторых форм клеток крови

Эритроцит – безъядерная клетка, окрашивающаяся кислыми красками в розовый цвет и имеющая форму несколько уплощенного круга с вдавлением в центре. Диаметр – около 8 микрон.

Лейкоциты различаются среди эритроцитов по их большей величине, по наличию ядра и по характеру окраски. Различают лейкоциты: базофильные, эозинофильные, нейтрофильные, лимфоциты и моноциты.

Первые три вида объединяются в группу гранулоцитов, т. е. клеток, в протоплазме которых имеется зернистость.

Базофилы. В нормальной крови – это наиболее редко встречающаяся форма лейкоцитов. Базофилы – клетки размером 12–14 микрон. Ядра их неправильной формы, расплывчатые, в редких случаях сегментированы, различного размера. Протоплазма содержит многочисленные крупные зерна, и окрашивается в бледно-розовый или фиолетовый цвет. Типичным для базофилов является наличие в ядрах слабой или интенсивной зернистости фиолетового цвета. Количество клеток не превышает 0,5–1 %.

Эозинофилы. Крупные клетки размером 12–15 микрон. Ядра по структуре и по форме напоминают ядра нейтрофилов, имеют сегментированное ядро в виде двух грушевидных сегментов, соединенных между собой тонким мостиком. Чаще встречаются формы, имеющие ядра из двух, реже – из трех сегментов. Протоплазма слабо базофильная, густо заполненная крупными, одинаковой величины зернами, ярко-розового, красного или кирпично-красного тона. Наиболее характерным признаком эозинофила является зернистость протоплазмы ярко-красного цвета. Количество эозинофилов в норме от 1 до 4 %.

Нейтрофилы. Нейтрофилы – круглые клетки, средняя величина 9–12 микрон. По степени зрелости делятся на 4 класса: миелоциты, юные нейтрофилы, палочкоядерные, сегментоядерные, которые различаются по форме и структуре ядра, Ядра миелоцитов круглые, ядра клеток юных и палочкоядерных – вытянутые в виде палочек или коротких жгутов разной толщины, причем ядра юных более утолщенные. Ядра сегментированных нейтрофилов разделены на сегменты (2, 4 и более), разрозненные или соединенные нитями. По нежной и рыхлой структуре ядра миелоцитов и юных нейтрофилов сходны между собой. Ядра палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов

грубые, представляют собой переплетение нитей хроматина. Ядро окрашивается основными красками в сине-фиолетовый цвет. Протоплазма всех нейтрофилов фиолетово-розового оттенка со специфической мелкой зернистостью, заполняющей всю клетку.

Сегментоядерные нейтрофилы составляют от 50 до 68 %, палочкоядерные нейтрофилы – 1–4 %. Еще реже, около 1 %, встречаются нейтрофилы с круглым ядром – юные формы.

Увеличение числа палочкоядерных, появление юных, вплоть до миелоцитов, носит название сдвига влево, или регенеративного сдвига. Сдвигом вправо называется изменение формулы лейкоцитов в сторону увеличения более зрелых клеток.

Лимфоциты. Небольшие клетки размером 7–9 микрон. Лимфоциты бывают малые, средние и широкопротоплазменные. Ядро круглое или овальное, плотной и грубой структуры, сине-фиолетового цвета. Протоплазма различных оттенков – от темно-голубого до бесцветного, нередко различаются ярко-красные зерна. Вокруг ядра в протоплазме всегда заметна светлая зона (ободок). В норме лимфоциты составляют 25–38 %.

Моноциты. Это самые большие клетки (диаметр 12–20 микрон), встречающиеся в нормальной периферической крови. Ядра с неровными контурами, разнообразной изменчивой конфигурации, чаще почковидной или подковообразной формы, нежные, с широкониточной хроматиновой сетью. Протоплазма мелкозернистая, базофильная (синего тона). В протоплазме имеется субстанция, окрашивающаяся в розоватый оттенок, что придает протоплазме серовато-дымчатый тон. Светлая зона вокруг ядра отсутствует. Моноциты составляют 6–8 % всех лейкоцитов крови.

Ход работы.

Приготовление мазков

На сухое обезжиренное предметное стекло ближе к короткой стороне наносят небольшую каплю крови стеклянной палочкой или непосредственно из места укола пальца и оставляют стекло в горизонтальном положении. Шлифованное стекло, которым будет сделан мазок, ставят на предметное стекло под углом 30–45° на 1–2 мм перед каплей крови и движут назад так, чтобы оно коснулось крови и капля распространилась по всему короткому ребру шлифованного стекла. Затем быстрым движением делают мазок.

Мазки высушивают на воздухе и маркируют. Высохший мазок

должен быть равномерно тонким, желтоватого цвета, занимать около 2/3 общей длины стекла и заканчиваться «метелочкой».

Фиксация

Фиксация мазков необходима, чтобы впоследствии клетки не претерпели каких-либо морфологических изменений и чтобы предотвратить повреждение мазка при дальнейшем окрашивании.

Фиксируют мазки в метаноле, либо в 75 %-м этаноле, либо в смеси Никифорова (1 часть этанола: 1 часть эфира) в течение 5 мин либо 30–40 мин соответственно. Затем высушивают на воздухе. Фиксированные мазки окрашивают классическим способом, поместив в кювету с красителем Романовского-Гимзы на 25–40 мин. Краситель Романовского-Гимзы состоит из щелочной и кислой частей. Щелочная часть – азур II, а кислая часть – эозин. Азур II окрашивает в яркосиний цвет, эозин – в розово-красный.

Чтение мазка

На сухой окрашенный мазок нанести каплю иммерсионного масла и, закрепив препарат в препаратоводителе, просматривать его при окуляре 7(10) и объективе 90. Для лучшей освещенности поля зрения конденсор поднять до конца, а диафрагму открыть.

Необходимо помнить, что даже в идеально подготовленных мазках лейкоциты распределяются неравномерно: нейтрофилы, эозинофилы, базофилы обычно располагаются по краям мазка; лимфоциты, моноциты – в центре мазка.

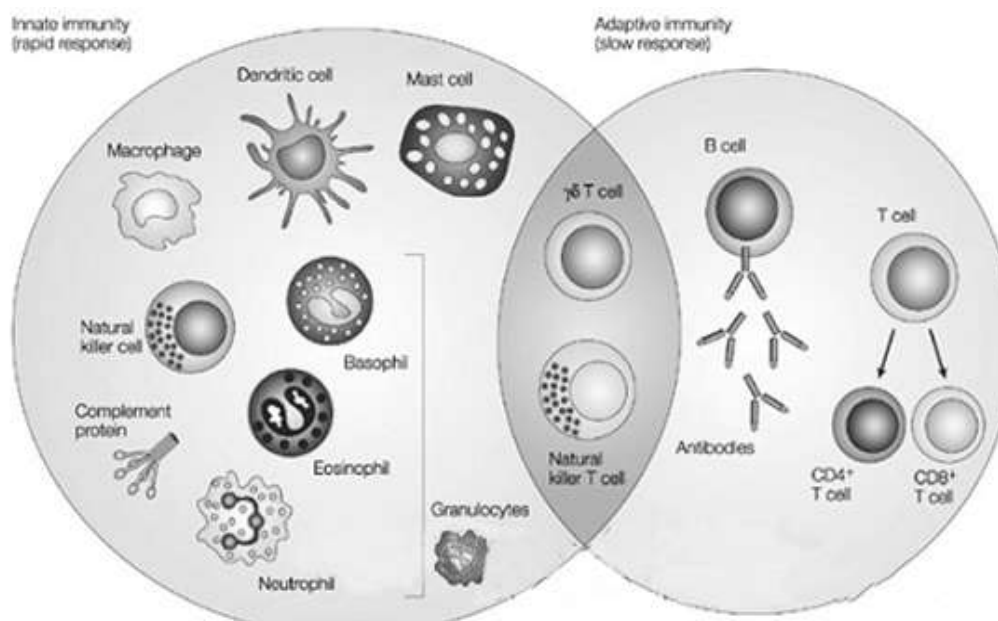


Рисунок 3 – Виды клеток

В начальных частях мазка находится большее количество клеточных элементов, а в конечных – меньшее.

При описании лейкоцитарной формулы пользуются буквенными обозначениями: Б – базофилы, Э – эозинофилы, М – миелоциты, Ю – юные нейтрофилы, П – палочкоядерные нейтрофилы, С – сегментоядерные нейтрофилы, Л – лимфоциты, М – моноциты. Изменения лейкоцитарной формулы могут быть в сторону как увеличения, так и уменьшения тех или иных форм лейкоцитов.

При просмотре рекомендуется руководствоваться атласом клеток крови, описанием клеток.

При определении вида клеток рекомендуется сомнительные из них относить или в ту группу, которая представлена наибольшим числом, или в группу «атипичные клетки».

Произвести подсчет 200 клеток (по 50 в каждом углу) в мазке крови, передвигая препарат согласно схеме, изображенной на рисунке 4.

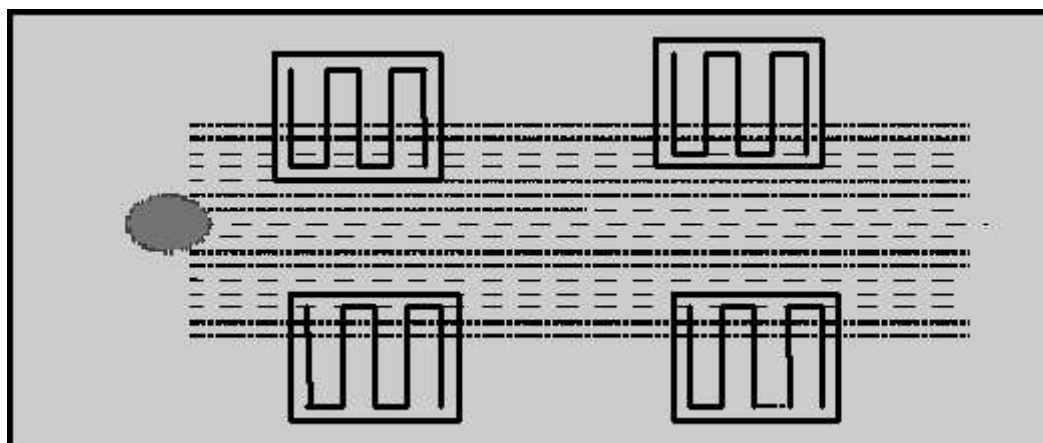


Рисунок 4 – Схема передвижения мазка при подсчете лейкоцитарной формулы

Результат подсчета представить в виде табл. 2.

Таблица 2 – Лейкоцитарная формула

Нейтрофилы			Эозинофилы	Базофилы	Лимфоциты	Моноциты
юные	палочкоядерные	сегментоядерные				

Подсчитанную сумму отдельных форм лейкоцитов разделить пополам и, получив их процентное содержание, вывести лейкоцитарную формулу. Полученные цифры сверить с данными, приведенными в таблице 3.

Таблица 3 – Лейкоцитарная формула животных, %

Вид животных	Гранулоциты					Лимфоциты	Моноциты
	Базофилы	Эозинофилы	Нейтрофилы				
			юные	палочкоядерные	сегментоядерные		
1	2	3	4	5	6	7	8
Крупный рогатый скот	0–2	5–8	0–1	2–5	20–35	40–65	2–7
Овцы	0–1	4–12	0–2	3–6	35–45	40–50	2–5
Козы	0–1	3–12	0–2	1–5	29–38	47–64	2–4
Верблюды	0–1	4–12	0–1	1–6	40–52	29–45	1–5
Северные олени	0–1	3–7	0	2–5	55–66	21–37	1–4
Буйволы	0–2	3–10	0–1	1–6	24–46	45–66	2–5
Яки	0–2	2–3	0	2–8	20–43	40–76	2–9
Лоси	0–1	2–9	0–4	2–6	48–58	28–42	–
Маралы	0–2	2–28	0–1	1–9	23–56	24–68	1–5
Лошади	0–1	2–6	0	3–6	45–62	24–44	0–3
Ослы	0–1	2–4	0	2–6	50–80	18–38	2–4

Окончание табл. 3

1	2	3	4	5	6	7	8
Свиньи	0–1	1–4	0	2–4	40–48	40–50	1–5
Собаки	0–1	3–9	0–1	1–6	43–71	21–40	2–6
Кошки	0–1	2–8	0–1	3–9	40–45	36–51	1–5
Норки	0–1	1–9	0–1	1–25	29–54	25–78	2–4
Песцы	0–1	2–8	0–2	5–10	45–65	26–45	1–8
Соболи	0–1	3–13	0	2–8	15–36	40–75	2–4
Кролики	0–2	1–3	0	5–9	33–39	43–62	2–5
Морские свинки	0–2	4–12	–	1–5	30–45	36–54	1–3
Крысы белые	0–2	1–5	–	1–4	20–35	55–75	3–8
Мыши белые	0–2	0–4	–	1–5	18–30	60–78	2–5
Хомячки золотистые	0–1	–	–	3–10	22–32	58–72	1–2
Ежи	1–5	–	–	2–4	15–30	57–80	0–3
Голуби	1–5	–	–	–	30–42	49–60	4–8

Сделать вывод о состоянии системы белой крови у обследуемого животного.

Тестовые задания для самопроверки

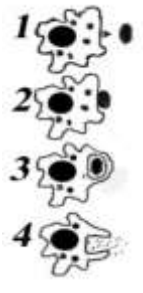
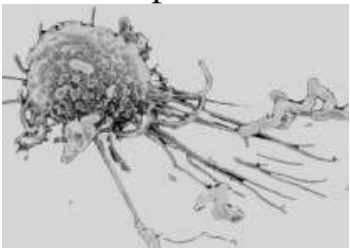
Но- мер	ТЕСТОВОЕ ЗАДАНИЕ
1	Способность организма противостоять неблагоприятному воздействию факторов внешней среды – это _____
2	Рождение науки об иммунитете как самостоятельной дисциплины связывается с: а) 1883г.; б) 1885г.; в) 1887г.; г) 1889г.
3	Основоположником науки об иммунитете считается: а) И.И. Мечников;

	б) П. Эрлих; в) Э. Райт; г) Л. Пастер
4	Основная функция иммунной системы: а) контроль процессов пролиферации; б) поддержание молекулярного постоянства организма; в) поддержание генетического гомеостаза организма; г) обеспечение оптимальных условий тканевого обмена
5	Центральным органом иммунной системы является: а) тимус; б) миндалина; в) селезенка; г) лимфатический узел
6	Периферическим органом иммунной системы является: а) селезенка; б) тимус; в) костный мозг; г) поджелудочная железа
7	К центральным органам иммунной системы относятся: а) костный мозг, тимус, кровь, лимфатические узлы; б) костный мозг, тимус, фабрициева сумка у птиц, кровь; в) костный мозг, тимус, фабрициева сумка у птиц, пейеровы бляшки, миндалины; г) тимус, кровь, лимфатические узлы
8	Главной клеткой иммунной системы является: а) макрофаг; б) полипотентная стволовая клетка; в) лимфоцит; г) тимоцит
9	Клетками-предшественниками макрофагов являются: а) нейтрофилы; б) моноциты; в) тучные клетки; г) эозинофилы
10	Клетки, определяющие специфический характер реагирования иммунной системы, называются: а) макрофаги;

	б) лимфоциты; в) моноциты; г) гранулоциты
11	Единым предшественником клеток иммунной системы является: а) эпителиоцит; б) стволовая клетка; в) миелобласт; г) эндотелиоцит
12	Генетически чужеродные вещества, которые при внедрении в организм способны стимулировать иммунный ответ – это _____
13	Антигены – это: а) специальные белки, продуцируемые В–лимфоцитами; б) макромолекулы, несущие генетически чужеродную информацию; в) вещества, которые способны индуцировать митотическое деление лимфоцитов; г) белки, способствующие усилению фагоцитоза
14	Факторы неспецифической защиты: а) гуморальные; б) иммунологическая память»; в) кожные и слизистые барьеры; г) клеточные
15	Естественные биологические барьеры: а) кожа; б) гистогематические барьеры; в) фагоциты; г) слизистые оболочки
16	Барьеры, образованные рядом биологических мембран между кровью и тканями – это _____
17	Лизоцим относится к: а) гуморальным факторам; б) противовирусным веществам; в) кожным и слизистым барьерам; г) клеточным факторам
18	Система комплемента относится к: а) гуморальным факторам;

	б) противовирусным веществам; в) кожным и слизистым барьерам; г) клеточным факторам
19	Фагоцитоз относится к: а) гуморальным факторам; б) иммунологической памяти; в) кожным и слизистым барьерам; г) клеточным факторам
20	Нормальные антитела относятся к: а) гуморальным факторам; б) противовирусным веществам; в) кожным и слизистым барьерам; г) клеточным факторам
21	Пропердин относится к: а) гуморальным факторам; б) противовирусным веществам; в) кожным и слизистым барьерам; г) клеточным факторам
22	Интерферон относится к: а) гуморальным факторам; б) противовирусным веществам; в) кожным и слизистым барьерам; г) клеточным факторам
23	Ингибиторы относятся к: а) гуморальным факторам; б) противовирусным веществам; в) кожным и слизистым барьерам; г) клеточным факторам
24	К моноцитарно-макрофагальной системе относятся: а) моноциты; б) дендритные клетки; в) клетки Купфера; г) естественных киллеров
25	Основные функции макрофага: а) фагоцитоз; б) презентация антигена к Т-клеткам; в) повреждение клеток-мишеней; г) синтез АТ

26	Макрофаги поглощают антигены преимущественно путем: а) пиноцитоза; б) экзоцитоза; в) фагоцитоза; г) эндоцитоза
27	Белые клетки крови, поглощающие и разрушающие бактериальные и другие клетки, несущие на поверхности комплекс «антиген–антитело» – это _____
28	Захват и внутриклеточное переваривание корпускулярного материала (бактерий, чужеродных и собственных отмирающих клеток, инертных частиц и др.) _____
29	Хемотаксис клеток – это: а) направленное движение клеток; б) прилипание клеток друг к другу; в) поглощение бактерий фагоцитирующими клетками; г) стимуляция бактерицидной функции
30	Семейство белков, специфически реагирующих с антигеном, который индуцировал их образование, – это _____
31	Молекула иммуноглобулина состоит из: а) трёх тяжёлых и двух лёгких полипептидных цепей; б) трёх тяжёлых и трёх лёгких полипептидных цепей; в) одной тяжёлой и одной лёгкой полипептидных цепей; г) двух тяжёлых и двух лёгких полипептидных цепей
32	Адгезия – это: а) направленное движение клеток; б) захват микроорганизмов; в) образование фagosомы с заключенным внутри объектом; г) атака комплексом различных микробицидных факторов
33	Эндоцитоз – это: а) направленное движение клеток; б) захват микроорганизмов; в) образование фagosомы с заключенным внутри объектом; г) атака комплексом различных микробицидных факторов
34	Внутриклеточное переваривание – это: а) направленное движение клеток; б) захват микроорганизмов; в) образование фagosомы с заключенным внутри объектом; г) атака комплексом различных микробицидных факторов

Соответствие рисунка стадии фагоцитоза и ее названия	
стадия	название
35	 <p>а) переваривание и выброс остатков; б) хемотаксис; в) фагосома; г) адгезия</p>
36	<p>Стадия фагоцитоза, изображенная на рисунке называется:</p>  <p>а) переваривание и выброс остатков; б) хемотаксис; в) фагосома; г) адгезия</p>
37	<p>Лимфоцитоподобные клетки, лишенные признаков Т- или В-клеток; способны к уничтожению некоторых опухолевых и вирусинфицированных клеток; являются важным фактором неспецифического (врожденного) иммунитета – это _____</p>
38	<p>Альтернативный путь активации комплемента запускается:</p> <p>а) через пропердиновую систему; б) комплексом антиген – Ig M; в) комплексом антиген – Ig M; г) липополисахаридами микробов</p>
39	<p>Классический путь активации комплемента запускается:</p> <p>а) комплексом «антиген – антитело»; б) комплексом «антиген – Ig M»; в) комплексом «антиген – Ig G»; г) липополисахаридами микробов</p>
40	<p>Активация комплемента может начинаться с компонента:</p> <p>а) C1; б) C2; в) C3;</p>

	г) С4
41	<p>Функции интерферона в организме животного:</p> <p>а) цитотоксическое действие на чужеродные клетки;</p> <p>б) расщепление полисахаридного компонента клеточных стенок чужеродных клеток;</p> <p>в) участие в инактивации микроорганизмов;</p> <p>г) индуцирование антивирусного состояния клетки</p>
42	<p>Функции лизоцима в организме животного:</p> <p>а) цитотоксическое действие на чужеродные клетки;</p> <p>б) расщепление полисахаридного компонента клеточных стенок чужеродных клеток;</p> <p>в) участие в инактивации микроорганизмов;</p> <p>г) индуцирование антивирусного состояния клетки</p>
43	<p>Биологические жидкости, в которых содержится лизоцим:</p> <p>а) слезы;</p> <p>б) тканевая жидкость;</p> <p>в) слюна;</p> <p>г) сыворотка</p>
44	<p>Интерфероны:</p> <p>а) продуцируются фибробластами и Т-лимфоцитами;</p> <p>б) продуцируются лейкоцитами;</p> <p>в) обладают иммуномодулирующими свойствами;</p> <p>г) обладают видовой специфичностью</p>
45	<p>Функции естественных киллеров в организме животного:</p> <p>а) цитотоксическое действие на чужеродные клетки;</p> <p>б) расщепление полисахаридного компонента клеточных стенок чужеродных клеток;</p> <p>в) участие в инактивации микроорганизмов;</p> <p>г) индуцирование антивирусного состояния клетки</p>
46	<p>Функции системы комплемента в организме животного:</p> <p>а) цитотоксическое действие на чужеродные клетки;</p> <p>б) расщепление полисахаридного компонента клеточных стенок чужеродных клеток;</p> <p>в) участие в инактивации микроорганизмов;</p> <p>г) индуцирование антивирусного состояния клетки</p>
47	<p>Общее название, под которым в настоящее время объединяют ряд белков со сходными свойствами, выделяемые клетками организма в ответ на вторжение вируса –</p>

	это _____
48	Интерфероны как противовирусные факторы действуют только: а) во внеклеточном пространстве; б) в отношении РНК-содержащих вирусов; в) в отношении ДНК-содержащих вирусов; г) на внутриклеточном уровне

Занятия 5–6. Определение уровня фагоцитоза

РАБОТА 1. Определение уровня фагоцитоза

Цель работы

Освоить методику определения уровня фагоцитоза.

Материалы и оборудование

Исследуемая кровь, термостат, пробирки, предметные и покровные стекла, суспензия кармина или туши, взвесь бактерий, краситель Романовского, раствор Рингера, 2 %-й раствор цитрата натрия, этиловый спирт, вата, марля, микроскоп.

Ход работы

В пробирку помещают 0,1 мл раствора цитрата натрия, 0,4 мл свежезятой крови и 0,1 мл суспензии однородных зернышек кармина (туши) или взвесь микробных тел.

Смесь в пробирке взбалтывают 5 минут и ставят в термостат на 30 минут при 37° С. В течение этого времени через равные промежутки дважды по одной минуте помешивают содержимое пробирки. Затем готовят мазки крови, которые фиксируют 5 минут метиловым спиртом, красят по Романовскому и микроскопируют. На край мазка наносят каплю иммерсионного масла и погружают в нее объектив (x90) под визуальным контролем. При хорошем освещении поля зрения находят 100 лейкоцитов и анализируют в них активность фагоцитоза. Для этого определяют процент лейкоцитов, поглотивших инородные частицы – зернышки краски или микробные клетки, а также фагоцитарное число, т. е. среднее количество инородных частиц, поглощенных одним лейкоцитом.

Пример расчета. Пусть в 87 лейкоцитах из 100 обнаружены микробы; следовательно, процент фагоцитоза составит 87 %. Пусть внутри этих 87-ми лейкоцитов найдены 610 инородных частиц, тогда фагоцитарное число составит $610:87=7,01$.

Опsono-фагоцитарная реакция

Метод заключается на определении в условиях *in vitro* способности нейтрофилов периферической крови исследуемых животных (постановкой опsono-фагоцитарной реакции – ОФР) фагировать (поглощать) микробные клетки. В качестве тест-культуры для ОФР используется чаще всего белый стафилококк – *Staph. albus*.

До сих пор у исследователей нет единой (унифицированной) терминологии относительно тех явлений фагоцитоза, которые они оценивают, а также и единого мнения о количестве тестов, оценивающих уровень фагоцитоза в организме животных.

О фагоцитарной способности лейкоцитов крови можно судить по данным их фагоцитарной активности, показателям общей фагоцитарной емкости, фагоцитарного числа и индекса, а также показателю завершенного фагоцитоза.

Фагоцитарная активность выражается процентным отношением активных, участвовавших в фагоцитозе лейкоцитов к общему числу подсчитанных нейтрофильных лейкоцитов.

Ход работы

Для определения фагоцитарной активности лейкоцитов берется кровь (из ушных сосудов или при общих анализах из яремной вены) в количестве 0,1 мл, вносится в стерильную пробирку с 0,05 мл 2 %-го раствора лимоннокислого натрия (или гепарина) и осторожно смешивается. После этого в каждую пробирку со стабилизированной кровью вносится убитая при 70° С в течение 30 мин суточная двухмиллиардная культура определенного тест-микроба. В зависимости от цели исследования для постановки опыта могут быть использованы различные виды микроорганизмов. Наиболее часто при изучении состояния естественной резистентности используется культура золотистого или белого стафилококка того или иного штамма (209, 997 и др.).

Пробирку с приготовленной смесью осторожно встряхивают и ставят на 30 мин в водяную баню или термостат при температуре 37–38° С. Через каждые 10 мин пробирки встряхивают, затем из крови готовят тонкие мазки. Их фиксируют метиловым спиртом и окрашивают методом Романовского–Гимза. При микроскопии мазка подсчитывают число фагоцитировавших лейкоцитов (чаще нейтрофилов, но можно также и других клеток – лимфоцитов, эозинофилов, моноцитов) из общего числа подсчитанных. Для получения достоверных

результатов количество последних должно быть не менее 100.

Фагоцитарный индекс определяется средним числом фагоцитированных микробов, приходящихся на один активный лейкоцит. Фагоцитарный индекс характеризует интенсивность фагоцитоза. Для определения фагоцитарного индекса служат те же самые мазки, по которым определялась фагоцитарная активность лейкоцитов. В препаратах, приготовленных описанным выше способом, подсчитывают не менее 100 лейкоцитов и количество поглощенных ими микробных тел. Вычисляется фагоцитарный индекс путем деления числа фагоцитированных бактерий на число активных лейкоцитов.

Пример. При изучении мазка установлено, что из 100 просмотренных лейкоцитов в фагоцитозе приняло участие 80 лейкоцитарных клеток, которые фагоцитировали 400 микробных тел. Следовательно, фагоцитарный индекс равен 5 ($400 : 80$).

Фагоцитарное число является дополнительным показателем, характеризующим как агрессивность лейкоцитов, так и их активность. Вычисляется фагоцитарное число путем деления числа фагоцитированных бактерий на общее число подсчитанных лейкоцитов.

Пример. При просмотре мазка установлено, что на 100 учтенных лейкоцитов приходится 400 фагоцитированных микробных тел. Тогда фагоцитарное число будет равно 4 ($400:100$).

Фагоцитарная емкость определяется количеством микробных тел, фагоцитированных лейкоцитами 1 мм^3 крови. Этот показатель характеризует общую фагоцитарную активность крови и зависит от количества лейкоцитов, содержащихся в 1 мм^3 ее. Некоторые авторы этот показатель называют фагоцитарной интенсивностью, абсолютным фагоцитозом или общим фагоцитозом. Определяется фагоцитарная емкость умножением фагоцитарного числа на количество лейкоцитов в 1 мм^3 крови.

Пример. Подсчетом мазков установлена величина фагоцитарного числа 4, а в 1 мм^3 крови найдено 7 тыс. лейкоцитов. Следовательно, фагоцитарная емкость будет равна 28 тыс. микробных тел (4×7000).

Завершенный фагоцитоз – показатель, определяемый количеством клеток с завершенным фагоцитозом на 100 фагоцитированных сегментоядерных нейтрофилов. Процесс фагоцитоза складывается из ряда последовательных фаз, финалом которых является разрушение микробов в фагоцитах. Однако установить завершенность фагоцитарного процесса трудно в связи с отсутствием достоверных методов

оценки физиологического состояния микробов, поглощенных лейкоцитами.

Завершенность фагоцитоза определяется по отсутствию роста микробов внутри лейкоцитов и наличию признаков их разрушения.

Техника анализа. В мерную центрифужную пробирку с 5–10 мг щавелевокислого натрия вносят 0,5 – 1 мл исследуемой крови. После тщательного перемешивания в пробирку добавляют равное количество двухмиллиардной взвеси микробов (стафилококка, кишечной палочки и др.). После перемешивания смесь помещают в термостат при 37° С на 30 мин. Затем несколько капель исследуемой лейкоцитарно-микробной взвеси вносят в чашку Петри с застывшим хорошо подсушенным 2 %-м мясо-пептонным агаром и распределяют, как при обычном приготовлении мазков крови.

Засеянные чашки помещают в термоста при 37° С для выращивания микробов и наступления третьей фазы фагоцитарной реакции, т. е. захватывания микробов фагоцитами. Время экспозиции чашек в термостате может варьировать в зависимости от задач опыта и видов микробов. После окончания установленного срока инкубации приступают к изготовлению мазков-отпечатков. Для этого хорошо очищенные и обезжиренные предметные стекла подогревают на пламени горелки и, положив на поверхность агара, слегка прижимают к мазку крови, находящемуся на поверхности агаровой среды. Приготовленные таким образом мазки-отпечатки высушивают, фиксируют 3 мин метиловым спиртом и окрашивают по способу Романовского–Гимзы.

При микроскопировании препаратов, приготовленных из лейкоцитарно-микробной взвеси, инкубированной в термостате, отчетливо видны различия между жизнеспособными и нежизнеспособными клетками. Первые характеризуются гигантскими размерами, вторые сохраняют исходную величину.

В случаях, когда процесс фагоцитоза носит завершенный характер, внутри лейкоцитов отмечают фрагменты разрушенных клеток, имеющих разнообразную форму, и отдельные микробные тела значительно меньших размеров, чем в лейкоцитах с незавершенным фагоцитозом.

Занятия 7–8. Определение бактерицидной активности сыворотки крови разными методами

РАБОТА 1. Определение бактерицидной активности сыворотки крови с использованием тест-микробов

Цель работы

Освоить методику определения бактерицидной активности сыворотки крови с использованием тест-микробов

Материалы и оборудование

Сыворотка крови, термостат, пробирки, взвесь бактерий, спиртовые салфетки, физиологический раствор, чашки Петри, микроскоп.

Ход работы

При проведении исследований указанным методом в качестве тест-микроба используют культуру кишечной палочки, паратифа и др. Исследования бактерицидной активности ведут на пластинке МПА в бактериальных чашках с определенной площадью, учитывается интенсивность и продолжительность роста культуры тест-микроба спустя 30 и 60 мин, 2, 3, 4, 24, 48 и 72 ч после контакта исследуемой сыворотки с тест-микробом. Для этого в стерильную пробирку берут 2 мл сыворотки, туда же вносят 0,05 мл суточной бульонной культуры тест-микроба, разведенной физиологическим раствором 1 : 1000. Контролем служит такая же пробирка с 2 мл физиологического раствора и 0,05 мл культуры. Из этих пробирок делают последовательно высевы через 30, 60 мин, 2, 3, 4, 24, 48 и 72 ч контакта исследуемой сыворотки с культурой тест-микроба.

Посевы делают в стерильных условиях, платиновой петлей с диаметром 2 мм на заранее приготовленный в пробирках (по 5 мл) стерильный агар. Последний перед каждым пересевом расплавляют, и после остывания до температуры 40–45°С в одну пробирку высевают культуру с сывороткой, в другую – культуру с физиологическим раствором (контроль). Сразу после посева агар тщательно перемешивают с культурой, переливают в чашки Петри и ставят в термостат для инкубации при 37° С на 24 ч. Затем при помощи специальной сетки или счетчика микробных колоний подсчитывают число выросших колоний тест-микроба. Подсчет обычно ведется в 20 квадратах

сетки. Определяется среднее количество колоний на площади 1 см² и на всей чашке.

Интенсивность бактерицидного действия сыворотки крови определяется путем вычисления процента колоний, прекративших свое развитие, по отношению к количеству их в момент контакта сыворотки с культурой (первый посев).

РАБОТА 2. Определение бактерицидной активности сыворотки (фотонейфелометрический метод)

Цель работы

Освоить методику определения бактерицидной активности сыворотки крови фотонейфелометрическим методом.

Материалы и оборудование

Сыворотка крови, термостат, пробирки, взвесь бактерий, краситель Романовского, спиртовые салфетки, физиологический раствор, чашки Петри, микроскоп.

Ход работы

Фотонейфелометрический метод основан на учете изменений оптической плотности среды, содержащей микробную взвесь и сыворотку крови.

Метод состоит в следующем.

Сначала готовят суточную агаровую культуру тест-микроба (например, *E. coli*), затем ее смывают физиологическим раствором и полученную суспензию стандартизируют по оптическому стандарту до содержания в 1 мл 500 млн. микробных тел.

В качестве питательной среды при определении бактерицидной активности сыворотки крови используют казеиновую среду, которая готовится из казеинового гидролизата, обогащенного пептоном по такой прописи: казеиновый гидролизат с содержанием в 100 г амминного азота 200 мг, 0,5 % пептона, 0,5 % Na₂HPO₄ и 0,3% NaCl. Смесь подщелачивается до pH 7.

В стерильные кюветы с рабочей длиной 10 мм разливают стерильной пипеткой по 4,5 мл питательной среды и добавляют по 0,5 мл испытуемой сыворотки крови (опытные кюветы), затем микропипеткой (или бактериологической петлей диаметром 4 мм) вносят по 0,005 мл взвеси суточной агаровой культуры кишечной палочки.

В контрольные кюветы вносят те же компоненты, что и в опытные, только вместо сыворотки крови в них добавляют по 0,5 мл стерильного физиологического раствора. Содержимое всех кювет тщательно перемешивают платиновой иглой, после чего кюветы закрывают ватно-марлевыми пробками. Затем на фотоэлектроколориметре (ФЭК-М-56) определяют оптическую плотность среды в опытных и контрольных кюветах сразу. После этого кюветы ставят в термостат при температуре 37–38°C. Повторное определение оптической плотности содержимого кювет производят через 3, 5, 7, 9, 12, 24 ч. Установку «0» на ФЭКе производят с помощью кюветы, заполненной дистиллированной водой.

Получив по каждой исследуемой сыворотке крови и контролю исходные данные оптической плотности, вычисляют бактерицидную активность сыворотки крови для каждого промежутка времени инкубирования по формуле, составленной О.В. Смирновой и Т.А. Кузьминой (1966):

$$A = 100 - \frac{100 \times D_t - D_c}{D' t - D' c}, \quad (2)$$

где A – бактерицидная активность, %; D_t – оптическая плотность через 3, 5, 7, 9, 12, 24 ч; D_c – оптическая плотность перед постановкой в термостат; $D' t$ – оптическая плотность контроля через 3, 5, 7, 9, 12, 24 ч; $D' c$ – оптическая плотность контроля перед постановкой в термостат; t – время экспозиции кювет в термостате, ч

Вычислив уровень бактерицидности испытуемой сыворотки через исследуемые промежутки времени, определяют среднюю НБА по формуле:

$$\text{средняя НБА} = \frac{\sum A_n T_n}{\sum T_n} = \frac{A_1 T_1 + A_2 T_2 + A_3 T_3 + \dots + A_n T_n}{T_1 + T_2 + T_3 + \dots + T_n}, \quad (3)$$

где – средняя НБА (средняя напряженность бактерицидной активности сыворотки крови); $A_1, A_2, A_3, \dots, A_n$ – бактерицидная активность сыворотки крови через 3, 5, 7, ..., 24 ч, %; $T_1, T_2, T_3, \dots, T_n$ – продолжительность термостатирования, ч.

Тестовые задания для самопроверки

Но- мер	ТЕСТОВОЕ ЗАДАНИЕ
1	<p>Методы изучения некоторых клеточных факторов естественной резистентности – это определение:</p> <p>а) фагоцитарной активности; б) завершенного фагоцитоза; в) комплементарной активности сыворотки крови; г) фагоцитарной емкости</p>
2	<p>Методы изучения некоторых гуморальных факторов естественной резистентности – это определение:</p> <p>а) бактерицидной активности сыворотки крови; б) завершенного фагоцитоза; в) комплементарной активности сыворотки крови; г) пропердина в сыворотки крови</p>
3	<p>Показатели изучения некоторых клеточных факторов защиты</p> <p>а) фагоцитарная активность; б) бактерицидная активность; в) завершенный фагоцитоз; г) комплементарная активность</p>
4	<p>Показатели изучения некоторых гуморальных факторов защиты:</p> <p>а) фагоцитарная активность; б) бактерицидная активность; в) завершенный фагоцитоз; г) комплементарная активность</p>
5	<p>Фагоцитарная активность определяется:</p> <p>а) количеством клеток с завершенным фагоцитозом на 100 фагоцитированных нейтрофилов; б) процентным отношением активных, участвовавших в фагоцитозе лейкоцитов к общему числу посчитанных нейтрофильных лейкоцитов; в) средним числом фагоцитированных микробов, приходящихся на один лейкоцит; г) количеством микробных тел, фагоцитированных лейкоцитами 1 мм³ крови</p>
6	<p>Фагоцитарный индекс определяется:</p>

	<p>а) количеством клеток с завершенным фагоцитозом на 100 фагоцитированных нейтрофилов;</p> <p>б) процентным отношением активных, участвовавших в фагоцитозе лейкоцитов к общему числу посчитанных нейтрофильных лейкоцитов;</p> <p>в) средним числом фагоцитированных микробов, приходящихся на один лейкоцит;</p> <p>г) количеством микробных тел, фагоцитированных лейкоцитами 1 мм³ крови</p>
7	<p>Фагоцитарная емкость определяется:</p> <p>а) количеством клеток с завершенным фагоцитозом на 100 фагоцитированных нейтрофилов;</p> <p>б) процентным отношением активных, участвовавших в фагоцитозе лейкоцитов к общему числу посчитанных нейтрофильных лейкоцитов;</p> <p>в) средним числом фагоцитированных микробов, приходящихся на один лейкоцит;</p> <p>г) количеством микробных тел, фагоцитированных лейкоцитами 1 мм³ крови</p>
8	<p>Завершенный фагоцитоз определяется:</p> <p>а) количеством клеток с завершенным фагоцитозом на 100 фагоцитированных нейтрофилов;</p> <p>б) процентным отношением активных, участвовавших в фагоцитозе лейкоцитов к общему числу посчитанных нейтрофильных лейкоцитов;</p> <p>в) средним числом фагоцитированных микробов, приходящихся на один лейкоцит;</p> <p>г) количеством микробных тел, фагоцитированных лейкоцитами в 1 мм³ крови</p>
9	<p>Лизоцимная активность сыворотки крови – это способность:</p> <p>а) сыворотки крови останавливать рост микроорганизмов;</p> <p>б) нейтрофилов захватывать тест-микробов;</p> <p>в) растворять эталонную культуру микроорганизмов;</p> <p>г) сыворотки крови к разрушению эритроцитов барана</p>
10	<p>Бактерицидная активность сыворотки крови – это способность:</p> <p>а) сыворотки крови останавливать рост микроорганизмов;</p> <p>б) нейтрофилов захватывать тест-микробов;</p> <p>в) растворять эталонную культуру микроорганизмов;</p>

	г) сыворотки крови к разрушению эритроцитов барана
11	Фагоцитарная активность сыворотки крови – это способность: а) сыворотки крови останавливать рост микроорганизмов; б) нейтрофилов захватывать тест-микробов; в) растворять эталонную культуру микроорганизмов; г) сыворотки крови к разрушению эритроцитов барана
12	Комплементарная активность сыворотки крови – это способность: а) сыворотки крови останавливать рост микроорганизмов; б) нейтрофилов захватывать тест-микробов; в) растворять эталонную культуру микроорганизмов; г) сыворотки крови к разрушению эритроцитов барана
13	Культура микроорганизмов, типичная по набору признаков, характеризующих их родовую (видовую, типовую) принадлежность, и используемая при бактериологических или иммунологических исследованиях – это _____
14	Чистая культура микроорганизмов, изолированная в определённое время и в определённом месте – это _____
15	Бактерии, используемые для определения лизоцимной активности сыворотки крови (%): а) <i>Staphylococcus albus</i> ; б) <i>Escherichia coli</i> ; в) <i>Bacterium bifidum</i> ; г) <i>Mycrococcus lysodeicticus</i>
16	Бактерии, используемые для определения уровня фагоцитоза: а) <i>Staphylococcus albus</i> ; б) <i>Escherichia coli</i> ; в) <i>Bacterium bifidum</i> ; г) <i>Mycrococcus lysodeicticus</i>
17	Бактерии, используемые для определения бактерицидной активности сыворотки крови: а) <i>Staphylococcus albus</i> ; б) <i>Escherichia coli</i> ; в) <i>Bacterium bifidum</i> ; г) <i>Mycrococcus lysodeicticus</i>
18	Агглютинины вызывают: а) склеивание антигенов;

	б) усиление фагоцитарной активности макро- и микрофагов; в) осаждение антигенов; г) растворение антигенов
19	Лизины вызывают: а) склеивание антигенов; б) усиление фагоцитарной активности макро- и микрофагов; в) осаждение антигенов; г) растворение антигенов
20	Преципитины вызывают: а) склеивание антигенов; б) усиление фагоцитарной активности макро- и микрофагов; в) осаждение антигенов; г) растворение антигенов
21	Опсонины вызывают: а) склеивание антигенов; б) усиление фагоцитарной активности макро- и микрофагов; в) осаждение антигенов; г) растворение антигенов
22	Проявлением реакции агглютинации является: а) гемолиз эритроцитов; б) образование осадков в виде «песчинок»; в) образование мутного «кольца»; г) изменение окраски
23	Проявлением реакции преципитации является: а) гемолиз эритроцитов; б) образование осадков в виде «песчинок»; в) образование мутного «кольца»; г) изменение окраски
24	Индекс стабильности повышения температуры тела цыплят определяется по формуле: а) $\frac{X_n + M_n}{X_n - M_n}$; б) $100 - 10(ВТ - 101)$; в) $\frac{T_d}{T_y} + \frac{D_d}{D_y}$; г) $X_1 + 3,69X_2$
25	Коэффициент выносливости определяется по формуле:

	<p>а) $\frac{X_n + M_n}{X_n - M_n}$;</p> <p>б) $100 - 10(ВТ - 101)$;</p> <p>в) $\frac{T_d}{T_y} + \frac{D_d}{D_y}$;</p> <p>г) $X_1 + 3,69X_2$</p>
26	<p>Степень теплоустойчивости определяется по формуле:</p> <p>а) $\frac{X_n + M_n}{X_n - M_n}$;</p> <p>б) $100 - 10(ВТ - 101)$;</p> <p>в) $\frac{T_d}{T_y} + \frac{D_d}{D_y}$;</p> <p>г) $X_1 + 3,69X_2$</p>
27	<p>Генетически обусловленные антигенные варианты белков сыворотки крови, по которым дифференцируются группы особей одного вида – это _____</p>
28	<p>Полиморфный признак, выявляемый методами молекулярной биологии на уровне нуклеотидной последовательности ДНК, для определенного гена или для любого другого участка хромосомы при сравнении различных генотипов, особей, пород, сортов, линий – это _____</p>
29	<p>SNP-чип содержит генетические маркеры генома свиней в количестве:</p> <p>а) 3 000;</p> <p>б) 10 000;</p> <p>в) 60 000;</p> <p>г) 100 000</p>
30	<p>Использование маркеров для маркирования генов количественного признака, что дает возможность установить наличие или отсутствие в геноме определенных генов (аллелей генов) – это _____</p>

31	<p>Антигенный состав эритроцитов всех систем крови организма – это:</p> <p>а) группа крови; б) тип крови; в) система крови; г) антигены крови</p>
32	<p>Совокупность всех аллелей одного локуса, определяющих разнообразие групп крови (в пределах данной системы) – это:</p> <p>а) группа крови; б) тип крови; в) система крови; г) антигены крови</p>
33	<p>Определённое сочетание антигенов эритроцитов, находящихся под контролем генов одной системы – это:</p> <p>а) группа крови; б) тип крови; в) система крови; г) антигены крови</p>
34	<p>Зебу приобрели высокую устойчивость к:</p> <p>а) холоду; б) влажности; в) жаре; г) сухости воздуха</p>
35	<p>Гибриды зебу с красной степной породой скота устойчивы к заболеваниям:</p> <p>а) акариазным; б) гельминтозным; в) энтомозным; г) кровепаразитарным</p>
36	<p>Ослы и мулы невосприимчивы к заболеваниям:</p> <p>а) акариазным; б) гельминтозным; в) энтомозным; г) кровепаразитарным</p>
37	<p>Яки приобрели высокую устойчивость к:</p> <p>а) холоду; б) влажности; в) жаре;</p>

	г) сухости воздуха
38	Буйволы приобрели высокую устойчивость к: а) холоду; б) влажности; в) жаре; г) сухости воздуха
39	К чуме крупного рогатого скота абсолютно резистентны: а) козы; б) свиньи; в) верблюды; г) лошади
40	При отборе цыплят на жизнеспособность руководствуются индексом: а) выживаемости; б) фагоцитарным; в) стабильности повышения температуры тела; г) интенсивности роста
41	Аллергены – это антигены, которые при первом поступлении в орган вызывают: а) активацию В-клеток; б) дезагрегацию тучных клеток; в) состояние гиперчувствительных киллеров; г) образование Т-лимфоцитов
42	Антиген внешней среды, инициирующий аллергическую реакцию гиперчувствительности немедленного типа, – это _____
43	Реакция организма на тканевое повреждение, инфекцию; характеризуется повышением проницаемости сосудов, накоплением жидкости и клеток в месте инфекции или физического повреждения – это _____

МОДУЛЬ 2. Внешние и внутренние факторы, воздействующие на естественную резистентность

Занятие 9. Микроцитотоксический тест-реакция *in vitro* для оценки повреждающего действия различных факторов на клетки

РАБОТА 1. Микроцитотоксический тест

Цель работы

При помощи микроцитотоксического теста оценить повреждающее действие на клетки различных факторов.

Материалы и оборудование

Исследуемая кровь, экстракт из пищевого продукта, термостат, микроскоп, меланжеры лейкоцитарные, камера Горяева, стерильные пробирки, пипетки, гепарин, жидкость Тюрка, 0,9 %-й раствор хлористого натрия, предметные стекла.

Ход работы

В стерильную пробирку, смоченную гепарином (0,1 мл), набирают 5 мл венозной крови и тщательно перемешивают. Затем разливают по 0,45 мл гепаринизированной крови в стерильные пробирки, одна из которых является контрольной. Добавляют в контрольную пробирку 0,05 мл 0,9 %-го раствора хлористого натрия, а в опытные – по 0,025 мл 0,9 %-го хлористого натрия и по 0,025 мл аллергена (отдельного для каждой пробирки). Пробирки инкубируют в термостате при 37° С 80 минут, после этого они тщательно перемешиваются и под малым увеличением микроскопа подсчитывается количество лейкоцитов в камере Горяева (в 25 больших квадратах) в контрольной и в каждой опытной пробирке.

Реакция считается положительной, если произошло снижение количества лейкоцитов в опытной пробирке по сравнению с контрольной более чем на 10 %. Результат определяется по формуле:

$$\text{лизис лейкоцитов} = \frac{L_o - L_k}{L_k} \times 100, \quad (3)$$

где L_k – количество лейкоцитов в контрольной, а L_o – количество лейкоцитов в опытной пробирке.

По степени интенсивности реакция оценивается как:

- слабopоложительная (+) при лизисе 11–20 %;

- умеренно положительная (+ +) – при лизисе 20–40 %;
- резко положительная (+ + +) – при лизисе более 40 % клеток по сравнению с контролем.

Упрощенная схема. Каплю цельной крови или лейкоцитарной взвеси помещают на предметное стекло, покрытое экстрактом из пищевого продукта, и проводят микроскопическое исследование нативного (неокрашенного) препарата. В качестве исходного пищевого продукта используют гомогенат натурального пищевого продукта, не подвергнувшегося термообработке. Иногда к клеткам крови добавляют каплю воды. Просматривают неокрашенные клетки и отмечают изменения формы и вида лейкоцитов. В России этот тест применяют под названиями реакция лейкоцитоллиза (лизиса лейкоцитов) при диагностике лекарственной аллергии, а также показатель повреждения нейтрофилов для выявления бактериальной сенсibilизации; достоверность и специфичность названных тестов аналогичны цитотоксическому тесту.

Занятия 10–11. Определение зоогигиенических параметров помещения для определения влияния на естественную резистентность животных

РАБОТА 1. Процедура контроля микробной обсемененности воздуха

Цель работы

Освоить контроль микробной обсемененности воздуха.

Материалы и оборудование

Чашки Петри, питательный агар, термостат.

Ход работы

Подготовительный этап

В производственных лабораториях бактериологические исследования воздуха на обсемененность предусматривают определение общего содержания микроорганизмов в 1 м³ воздуха. Контроль воздуха на микробную обсемененность проводят в посевных комнатах, боксах или в ламинарных укрытиях перед началом проведения работ. Контроль выполняет ответственный исполнитель.

Питательный агар разливают в чашки Петри диаметром 90–100 мм, слоем не менее 2 мм. Для контроля стерильности среды одну чашку из приготовленной и разлитой партии среды инкубируют при темпе-

ратуре 37° С в течение 24 часов. Учитывают наличие /отсутствие пророста среды. При обнаружении роста микроорганизмов среду выбраковывают.

Контроль воздуха на обсемененность проводят седиментационным или аспирационным методом.

Седиментационный метод

В двух точках посевной комнаты, бокса и (или) ламинарного шкафа ставят открытые чашки Петри с питательным агаром на 15 мин. После экспозиции чашки закрывают, переворачивают и помещают в термостат. Посевы инкубируют при температуре 37±1° С в течение 24±2 часов. После инкубации проводят учет количества выросших колоний микроорганизмов.

Аспирационный метод

Отбор проб воздуха проводят с помощью пробоотборных устройств для бактериологического анализа, зарегистрированных в Государстве Российской Федерации. Отбор пробы воздуха в количестве 100 л проводят согласно инструкции к пробоотборнику. После отбора пробы снимают чашку Петри и термостатируют при температуре 37±1° С в течение (24±2) часов. После инкубации проводят учет количества выросших колоний микроорганизмов.

Использование аспирационного метода не допускается для контроля воздуха укрытий с ламинарным потоком.

Допускается пророст не более 3 колоний на чашке при исследовании седиментационным методом и не выше 500 КОЕ/м³ при использовании аспирационного метода. При превышении указанных уровней общего содержания микроорганизмов немедленно извещают руководителя подразделения. Работы в боксах приостанавливают. Проводят внеплановую генеральную уборку бокса с обработкой всех поверхностей с использованием дезинфицирующих средств и обеззараживанием воздуха ультрафиолетовым облучением. После окончания мероприятий контроль микробной обсемененности воздуха повторяют. При повторном получении неудовлетворительных результатов производят оценку эффективности применения ультрафиолетового бактерицидного излучения для обеззараживания воздуха.

РАБОТА 2. Процедура исследования микробной обсемененности поверхностей

Цель работы

Освоить процедуру исследования микробной обсемененности поверхностей.

Материалы и оборудование

Чашки Петри, пробирки с 5 мл стерильной 1 %-й пептонной воды, в пробки которых вмонтированы стерильные ватные тампоны на палочках, среда Эндо, термостат, раствор нейтрализатора.

Ход работы

Подготовительный этап

Исследование проводят перед работой методом смыва, не реже одного раза в месяц. Смывы проводят с поверхности рабочих столов на каждом рабочем месте, с дверных ручек, наружных деталей приборов, со стен бокса.

Для контроля используют пробирки с 5 мл стерильной 1 %-й пептонной воды, в пробки которых вмонтированы стерильные ватные тампоны на палочках. Тампоны не должны смачиваться питательной средой.

1 %-ю пептонную воду предварительно проверяют на стерильность. Для этого 2 пробирки от приготовленной партии среды инкубируют при температуре 37° С в течение 24 часов. Учитывают наличие / отсутствие пророста среды.

В зависимости от применяемого дезинфицирующего агента в качестве нейтрализатора используют стерильные растворы следующих химических веществ:

- тиосульфат натрия (0,5 %-й раствор) – при использовании для дезинфекции хлорсодержащих, перекисных, йодосодержащих препаратов. Препарат может быть добавлен в 1 %-й раствор пептонной воды;
- сульфенол с молоком (на 1 л раствора используют 200 г сульфенола, 100 мл обезжиренного молока и 700 мл дистиллированной воды) – при использовании четвертичных аммониевых соединений;
- мыло банное (0,5 %-й раствор) – при использовании препаратов на основе анионных поверхностно активных веществ, гибитана;
- водопроводная вода – при использовании препаратов на основе фенола, глютарового альдегида;

- аммиак (0,5 %-й раствор) – при использовании формальдегида или препаратов на его основе.

Стерильный тампон, вмонтированный в пробку пробирки, погружают в 1 %-ю пептонную воду. Смоченным тампоном тщательно протирают исследуемую поверхность. При контроле мелких предметов смывы проводят с поверхности всего предмета. При контроле предметов с большой поверхностью смывы проводят с площади не менее 100 см².

После взятия смыва тампон помещают на 10–15 мин в пробирку с раствором нейтрализатора, затем переносят в пробирку с питательной средой, погрузив тампон в пептонную воду.

Контрольные смывы инкубируют при температуре 37±1° С в течение 18–24 часов.

После инкубации проводят высеивание из 1 %-й пептонной воды на среду Эндо.

Посевы на среде Эндо и незасеянную чашку среды этой же партии (отрицательный контроль) инкубируют при температуре 37±1° С в течение 18–24 часов.

Тестовые задания для самопроверки

Но- мер	ТЕСТОВОЕ ЗАДАНИЕ
1	Сельскохозяйственные животные по реакции на внешнюю температуру являются: а) гетеротермными; б) эндотермными; в) гомойотермными; г) пойкилотермными
2	Понижение температуры окружающей среды приводит к: а) повышению обмена веществ у животного; б) понижению газообмена у животного; в) понижению обмена веществ у животного; г) повышению газообмена у животного
3	Повышение температуры окружающей среды приводит к: а) повышению обмена веществ у животного; б) понижению газообмена у животного; в) понижению обмена веществ у животного; г) повышению газообмена у животного

4	<p>Повышение влажности воздуха приводит к:</p> <p>а) повышению обмена веществ у животного;</p> <p>б) понижению газообмена у животного;</p> <p>в) понижению обмена веществ у животного;</p> <p>г) повышению газообмена у животного</p>
5	<p>Физическая терморегуляция у поросят и телят начинает функционировать после рождения через:</p> <p>а) 1–2 дня;</p> <p>б) 3–5 дней;</p> <p>в) 6–10 дней;</p> <p>г) 10–15 дней</p>
6	<p>Концентрация вредных газов в воздухе животноводческих помещений не должна превышать:</p> <p>а) углекислого газа – 0,75 %, аммиака – 0,02 мг/л, сероводорода – 0,015 мг/л;</p> <p>б) углекислого газа – 0,25%, аммиака – 0,02 мг/л, сероводорода – 0,55 мг/л;</p> <p>в) углекислого газа – 0,25%, аммиака – 0,20 мг/л, сероводорода – 0,015 мг/л;</p> <p>г) углекислого газа – 0,25%, аммиака – 0,02 мг/л, сероводорода – 0,015 мг/л</p>
7	<p>Сочетание факторов, вызывающих у животных гипертермию:</p> <p>а) высокая освещённость, низкая влажность;</p> <p>б) высокая влажность и скорость движения воздуха;</p> <p>в) высокая температура, влажность и низкая скорость движения воздуха;</p> <p>г) высокая влажность и содержание углекислоты в воздухе</p>
8	<p>Сочетание факторов, вызывающих у животных гипотермию:</p> <p>а) высокая освещённость, низкая влажность;</p> <p>б) высокая влажность и скорость движения воздуха;</p> <p>в) низкая температура, влажность и высокая скорость движения воздуха;</p> <p>г) высокая влажность и содержание углекислоты в воздухе</p>
9	<p>Дифференцированный режим освещения применяют в:</p> <p>а) скотоводстве;</p> <p>б) свиноводстве;</p> <p>в) птицеводстве;</p> <p>г) овцеводстве</p>

10	<p>Усиление теплоотдачи у животных происходит путем:</p> <p>а) появления дрожи конечностей;</p> <p>б) рефлекторного расширения кожных кровеносных сосудов;</p> <p>в) рефлекторного сужения кожных кровеносных сосудов;</p> <p>г) испарения влаги с поверхности кожи</p>
11	<p>При недостатке освещенности у животных наблюдалось:</p> <p>а) снижение суточного прироста массы тела;</p> <p>б) повышение суточного прироста массы тела;</p> <p>в) суточный прирост массы тела прекращался;</p> <p>г) суточный прирост массы тела не изменялся</p>
12	<p>Тепловой стресс у животных сопровождается:</p> <p>а) ухудшением физиологического состояния и повышением естественной резистентности;</p> <p>б) улучшением физиологического состояния и повышением естественной резистентности;</p> <p>в) ухудшением физиологического состояния и снижением естественной резистентности</p>
13	<p>Солнечное освещение:</p> <p>а) уменьшает бактерицидные свойства крови;</p> <p>б) бактерицидные свойства крови не изменяет;</p> <p>в) усиливает бактерицидные свойства крови;</p> <p>г) прекращает бактерицидные свойства крови</p>
14	<p>Овцы, разводимые в горах, по сравнению с овцами, разводимыми в степной зоне, имеют показатели естественной резистентности:</p> <p>а) более низкие;</p> <p>б) не отличающиеся;</p> <p>в) более высокие</p>
15	<p>Наиболее слабым бактерицидным эффектом обладает сыворотка крови коров, отелившихся:</p> <p>а) весной;</p> <p>б) летом;</p> <p>в) зимой;</p> <p>г) осенью</p>
16	<p>При полной норме концентратов в рационе животных титр антител и опсонический индекс были:</p>

	<p>а) наивысшими;</p> <p>б) несколько ниже нормы;</p> <p>в) соответствовали норме;</p> <p>г) наименьшими</p>
17	<p>Наиболее выраженным бактерицидным эффектом обладает сыворотка крови коров, отелившихся:</p> <p>а) весной</p> <p>б) летом</p> <p>в) зимой</p> <p>г) осенью</p>
18	<p>При половинной норме концентратов в рационе животных титр антител и опсонический индекс были:</p> <p>а) наивысшими;</p> <p>б) несколько ниже нормы;</p> <p>в) соответствовали норме;</p> <p>г) наименьшими</p>
19	<p>Скармливание влажных кормосмесей в свиноводстве в отличие от сухих ведет к:</p> <p>а) понижению естественной резистентности и улучшению качества мясной продукции;</p> <p>б) повышению естественной резистентности и ухудшению качества мясной продукции;</p> <p>в) повышению естественной резистентности и улучшению качества мясной продукции;</p> <p>г) понижению естественной резистентности и ухудшению качества мясной продукции</p>
20	<p>Дефицит белка в рационе животных приводит к снижению резистентности вследствие:</p> <p>а) недостатка ферментов;</p> <p>б) расходования глобулинов;</p> <p>в) избытка аминокислот;</p> <p>г) недостатка аминокислот</p>
21	<p>Дефицит белка в рационе приводит к:</p> <p>а) снижению бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови;</p> <p>б) повышению бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови;</p> <p>в) снижению бактерицидной и повышению лизоцимной актив-</p>

	ности сыворотки крови; г) повышению бактерицидной и понижению лизоцимной активности сыворотки крови
22	Избыток белка в рационе приводит к: а) снижению бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови; б) повышению бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови; в) снижению бактерицидной и повышению лизоцимной активности сыворотки крови; г) повышению бактерицидной и понижению лизоцимной активности сыворотки крови
23	Избыток сахаров в рационе животных оказал положительное влияние на: а) опсонический индекс; б) фагоцитарный индекс; в) индекс выживаемости; г) индекс иммунизации
24	Значение сахаропротеинового отношения в рационе молодняка КРС мясного направления должно составлять: а) 1,2–1,3; б) 1,4–1,5; в) 1,5–1,6; г) 1,6–1,7
25	Наибольшее влияние на естественную резистентность оказывает витамин: а) А; б) D; в) С; г) В
26	Устойчивость организма к токсинам повышает витамин: а) А; б) D; в) С; г) В
27	Синтез белков и активность фагоцитов снижается при присутствии в организме животного гормона стресса: а) прогестерона;

- | |
|--|
| б) пролактина;
в) окситоцина;
г) кортизола |
|--|

Занятия 12–13. Определение иммуноглобулинов в молозиве (молоке)

РАБОТА 1. Определение иммуноглобулинов в молозиве (молоке)

Цель работы

Научиться определять уровень иммунных глобулинов (Ig) в молозиве (молоке).

Теоретический материал

Содержание Ig в молозиве и молоке зависит от условий кормления и содержания животных, кроме того, от времени удоя после отела (опороса). Кормление беременных животных по рационам с дефицитом протеина, незаменимых аминокислот и других элементов питания, витаминов и микроэлементов, использование недоброкачественных кормов, несоблюдение оптимальной структуры потребления кормов ведет к снижению иммунных белков в молозиве и молоке. В практике наибольшее клиническое значение имеет определение Ig в молозиве, так как от их содержания зависит здоровье новорожденного молодняка.

Потребление молозива с низким уровнем Ig сопровождается слабым насыщением ими организма новорожденных, развитием иммунного дефицита, появлением массовых желудочно–кишечных, легочных заболеваний, в том числе и инфекционной природы.

В полноценном молозиве коров первого удоя содержание Ig составляет 50–100 г/л, в том числе IgG более 85 г/л, во втором удое – 28–56 г/л, или на 45 % меньше, чем в первом, в третьем удое на 75 % ниже, чем в первом, или около 1325 г/л. К седьмому дню после отела молозиво по составу Ig (5–7 г/л) приближается к молоку. В молозиве свиноматок Ig содержится 55–71 г/л (Хохлов, 1997).

Материалы и оборудование

18 %-й раствор натрия сульфита (ч.д.а), 10 %-й раствор уксусной кислоты, фотометры ФЭК; мерные колбы, пипетки.

Ход работы

При воздействии на обезжиренное молозиво (молоко) раствора натрия сульфита изменяется структура белковых молекул и раствор мутнеет, его интенсивность пропорциональна концентрации Ig.

Молозиво (молоко) центрифугируют при 3000–4000 об/мин в течение 30 мин, после этого пробу ставят в морозильную камеру холодильника на 20–30 мин, затем через тонкую иглу со шприцем, не затрагивая слой жира, набирают, примерно 2 мл обезжиренного молозива или 7 мл обезжиренного молока. Пробу молозива разбавляют дистиллированной водой в 2–4 раза. В обезжиренном разбавленном молозиве или неразбавленном обезжиренном молоке осаждают казеин и для получения прозрачного слоя центрифугируют или фильтруют через бумажный фильтр.

Для получения прозрачного центрифугата в две центрифужные пробирки вносят по 5 мл обезжиренного, разбавленного молозива или по 3–5 мл обезжиренного молока, по каплям добавляют 10 %-й раствор уксусной кислоты до осаждения казеина, размешивают и через 5–10 мин центрифугируют 10–15 мин при 3000 об/мин. Прозрачный фильтрат получают путем фильтрования через бумажный фильтр пробы молозива (молока) после осаждения казеина. В две параллельные пробирки вносят по 3–8 мл 18 %-го раствора натрия сульфита и по 0,1 мл прозрачного фильтрата или центрифугата, смешивают и фотометрируют на ФЭКе, КФК–2 при длине волны 440 нм в кювете с толщиной слоя 5 мм против раствора натрия сульфита (контроль). Содержание Ig находят по калибровочному графику, построенному по определению Ig в стандартной сыворотке с известной их концентрацией, или пользуясь таблицей М. А. Костыны, 1983г. (табл. 4).

Примечание. по изложенной выше методике можно определять содержание Ig в сыворотке крови животных. В две (параллельные) пробирки вносят по 3–8 мл 18 %-го раствора уксусной кислоты и по 0,1 мл сыворотки, смешивают и колориметрируют при длине волны 400 ± 5 нм в кювете с толщиной слоя 5 мм против 18 %-го раствора уксусной кислоты.

Таблица 4 – Содержание иммунных глобулинов в зависимости от оптической плотности

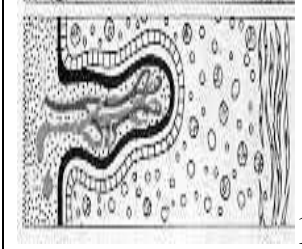
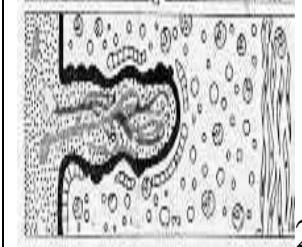
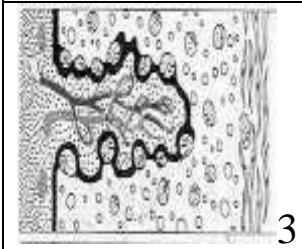
Оптическая плотность	Содержание Ig, мг/мл	Оптическая плотность	Содержание Ig, мг/мл
0,1	2,28	0,45	10,00
0,11	2,60	0,50	11,40
0,12	2,92	0,55	12,40
0,125	3,03	0,60	13,60
0,13	3,14	0,65	14,60
0,135	3,37	0,70	15,80
0,14	3,60	0,75	16,80
0,145	3,70	0,80	17,8
0,15	3,80	0,85	19,0
0,155	3,93	0,90	20,2
0,16	4,06	0,95	21,2
0,165	4,17	1,00	22,3
0,17	4,28	1,05	23,4
0,175	4,39	1,10	24,6
0,18	4,50	1,15	25,6
0,185	4,61	1,20	26,8
0,19	4,72	1,25	28,0
0,195	4,83	1,30	29,0
0,20	4,94	1,35	30,1
0,25	5,80	1,40	31,2
0,30	6,80	1,45	32,3
0,35	8,00	1,50	33,4
0,40	9,00		

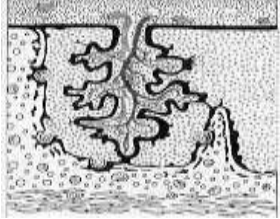
Тестовые задания для самопроверки

Но-мер	ТЕСТОВОЕ ЗАДАНИЕ
1	<p>Молодняк сельскохозяйственных животных более восприимчив к инфекционным заболеваниям, чем взрослые, так как имеет:</p> <p>а) повышенную активность физиологических барьеров;</p> <p>б) пониженную выработку антител;</p>

	<p>в) пониженную активность физиологических барьеров; г) повышенную выработку антител</p>
2	<p>Взрослые животные менее восприимчивы к инфекционным заболеваниям, чем молодняк, так как имеют:</p> <p>а) повышенную активность физиологических барьеров; б) пониженную выработку антител; в) пониженную активность физиологических барьеров; г) повышенную выработку антител</p>
3	<p>Иммунитет, формирующийся у новорожденного животного за счет молозивных иммуноглобулинов в течение первых 24–36 часов жизни – это _____</p>
4	<p>Клеточная защитная реакция организма телят наиболее выражена:</p> <p>а) в первые дни после рождения; б) на 10–15 день после рождения; в) на 30–40 день после рождения; г) в 50–70-дневном возрасте</p>
5	<p>У поросят наиболее низкие показатели фагоцитоза отмечаются</p> <p>а) в первые дни после рождения; б) на 10–15 день после рождения; в) на 30–40 день после рождения; г) в 50–70 дневном возрасте</p>
6	<p>У ягнят наиболее высокие показатели фагоцитоза отмечаются:</p> <p>а) в первые дни после рождения; б) на 10–15 день после рождения; в) на 30–40 день после рождения; г) в 50–70-дневном возрасте</p>
7	<p>Орган иммунной системы, первым формирующийся в процессе эмбрионального развития:</p> <p>а) щитовидная железа; б) поджелудочная железа; в) селезенка; г) вилочковая железа</p>
8	<p>Продолжительность колострального иммунитета составляет:</p> <p>а) 1–2 недели;</p>

	б) 3–4 недели; в) 5–6 недель; г) 7–8 недель
9	На появление лизоцима в слюне новорожденных телят влияет: а) молоко; б) молозиво; в) инфекция; г) вакцинация
10	На появление иммуноглобулинов в крови новорожденных животных влияет: а) молоко; б) молозиво; в) инфекция; г) вакцинация
11	Плацента, характеризующаяся тем, что ворсины хориона врастают в отверстия маточных желёз и контактируют с интактным эпителием этих желёз: а) эндотелиохориальная плацента; б) гемохориальная плацента; в) синдесмохориальная плацента; г) эпителиохориальная плацента
12	Плацента, характеризующаяся тем, что ворсины хориона частично разрушают эпителий желёз матки и контактируют с подлежащей соединительной тканью матки: а) эндотелиохориальная плацента; б) гемохориальная плацента; в) синдесмохориальная плацента; г) эпителиохориальная плацента
13	Плацента, характеризующаяся тем, что ворсины хориона разрушают стенки сосудов матки и контактируют с материнской кровью (омываются ею в лакунах): а) эндотелиохориальная плацента; б) гемохориальная плацента; в) синдесмохориальная плацента; г) эпителиохориальная плацента
14	Эпителиохориальная плацента характерна для: а) лошадей, свиней, китообразных; б) коров, овец, оленей;

	<p>в) кошек, собак, моржей; г) грызунов, приматов, человека</p>	
15	<p>Синдесмохориальная плацента характерна для: а) лошадей, свиней, китообразных; б) коров, овец, оленей; в) кошек, собак, моржей; г) грызунов, приматов, человека</p>	
16	<p>Эндотелиохориальная плацента характерна для: а) лошадей, свиней, китообразных; б) коров, овец, оленей; в) кошек, собак, моржей; г) грызунов, приматов, человека</p>	
17	<p>Гемохориальная плацента характерна для: а) лошадей, свиней, китообразных; б) коров, овец, оленей; в) кошек, собак, моржей; г) грызунов, приматов, человека</p>	
18	<p>Соответствие рисунка типа плаценты и ее названия</p>	
	 <p>1</p>	<p>а) эндотелиохориальная плацента</p>
	 <p>2</p>	<p>б) гемохориальная плацента</p>
	 <p>3</p>	<p>в) синдесмохориальная плацента</p>

	 <p style="text-align: right;">4</p>	г) эпителиохориальная плацента	
19	<p>Большое значение имеет выпаивание молозива матери в первые часы после рождения для:</p> <p>а) лошадей, свиней, китообразных; б) коров, овец, оленей; в) кошек, собак, моржей; г) грызунов, приматов, человека</p>		
20	<p>Время перехода IgG в лимфоток:</p> <p>а) 16 часов от рождения; б) 18 часов от рождения; в) 22 часа от рождения; г) 27 часов от рождения</p>		
21	<p>Время перехода IgM в лимфоток:</p> <p>а) 16 часов от рождения; б) 18 часов от рождения; в) 22 часа от рождения; г) 27 часов от рождения</p>		
22	<p>Время перехода IgA в лимфоток:</p> <p>а) 16 часов от рождения; б) 18 часов от рождения; в) 22 часа от рождения; г) 27 часов от рождения</p>		
23	<p>Покой ферментативного пищеварения у новорожденного наблюдается в первые:</p> <p>а) 108 часов; б) 96 часов; в) 84 часа; г) 72 часа</p>		
24	<p>Иммуноглобулины молозива не перевариваются в ЖКТ новорожденных, а усваиваются полностью, так как:</p> <p>а) поверхность ЖКТ незрелая; б) нет необходимых гормонов; в) в ЖКТ много мекония; г) нет необходимых ферментов</p>		

25	Молозиво имеет плотность: а) 1,02–1,03 г/см ³ ; б) 1,06–1,08 г/см ³ ; в) 1,05–1,06 г/см ³ ; г) 1,01–1,02 г/см ³
26	Молозиво имеет кислотность: а) рН 6,5–6,7; б) рН 7,3–7,4; в) рН 6,1–7,3; г) рН 5,7–6,8
27	Плацента, характеризующаяся тем, что ворсины хориона полностью разрушают эпителий желёз и частично – подлежащую соединительную ткань, прорастая до сосудов эндометрия: а) эндотелиохориальная плацента; б) гемохориальная плацента; в) синдесмохориальная плацента; д) эпителиохориальная плацента

Список рекомендуемой литературы для изучения дисциплины

Основная

1. Магер, С.Н. Физиология иммунной системы: учеб. пособие / С.Н. Магер, Е.Н. Дементьева, О.М. Горшкова. – Новосибирск: Изд-во НГАУ, 2010. – 248 с.

Дополнительная

2. Брондз, Б.Д. Молекулярные и клеточные основы иммунологического распознавания / Б.Д. Брондз, О.В. Рохлин. – М.: Наука, 1978.– 336 с.

3. Вершигора, А.Е. Общая иммунология / А.Е. Вершигора. – Киев: Выща школа, 1990.– 736 с.

4. Галактионов, В.Г. Иммунология / В.Г. Галактионов. – М.: РИЦМДК, 2000. – 487 с.

5. Горлов, И.Ф. Определение естественной резистентности у животных / И.Ф. Горлов //Ветеринария. – № 10. – 1987. – С. 22–25.

6. Дранник, Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология / Г.Н. Дранник. – Одесса: АстроПринт, 1999. – 604 с.

7. Коненков, В.И. Медицинская и экологическая иммуногенетика / В.И. Коненков.– Новосибирск: Изд-во СО РАМН, 1999.– 250 с.
8. Кульберг, А.Я. Молекулярная иммунология / А.Я. Кульберг. – М.: Высшая школа, 1985.– 287 с.
9. Петров, Р.В. Иммунология и иммуногенетика / Р.В. Петров. – М.: Медицина, 1976.– 338 с.
10. Плященко, С.И. Естественная резистентность организма животных / С.И. Плященко, В.Т. Сидоров. – Л.: Колос, 1979. – 184 с.
11. Ройт, А. Иммунология / А. Ройт, Дж. Брострофф, Д. Мейл. – М.: Мир, 2000. – 592 с.
12. Скопичев, В.Г. Физиолого-биохимические основы резистентности животных / В.Г. Скопичев, Н.Н. Максимюк. – СПб.: Лань, 2009. – 352 с.
13. Ткаченко, Т.Е. Роль гематологических, биохимических показателей крови, кроветворных органов, лимфы, молозива и молока в резистентности организма животных / Т.Е. Ткаченко. – Кострома: Изд-во КГУ, 2003. – 104 с.
14. Ушаков, И.Б. Реактивность и резистентность организма / И.Б. Ушаков. – М.: Наука, 2007. – 443 с.
15. Фрейдлин, И.С. Клетки иммунной системы / И.С. Фрейдлин, А.А. Тотолян. – СПб.: Наука, 2001.– 390 с.
16. Ярилин, А.А. Основы иммунологии / А.А. Ярилин. – М.: Медицина, 1999.– 608 с.

Вопросы к зачету

1. Исторические аспекты исследования естественной резистентности.
2. Основные направления использования механизмов естественной резистентности.
3. Защитные функции кожи, слизистых оболочек, лимфатических узлов.
4. Барьерная функция, рН среды, бактерицидность секретов.
5. Клеточные факторы врожденного иммунитета: фагоцитирующие клетки.
6. Клеточные факторы врожденного иммунитета: нормальные (естественные) киллеры.
7. Клеточные факторы врожденного иммунитета: нормальная микрофлора организма.

8. Фагоцитоз. Роль И.И. Мечникова в развитии учения о фагоцитозе.
9. Виды и свойства фагоцитирующих клеток (нейтрофилы и макрофаги), их особенности.
10. Значение фагоцитоза в защите организма от микробов.
11. Изучение клеточных и гуморальных факторов защиты.
12. Стадии фагоцитарного процесса, их характеристика.
13. Фагоцитарный показатель (фагоцитарный индекс) и фагоцитарное число.
14. Факторы, стимулирующие и угнетающие фагоцитоз.
15. Завершенный и незавершенный фагоцитоз.
16. Естественные киллеры и их роль в защите организма.
17. Функционирование естественных киллеров.
18. Гуморальные факторы врожденного иммунитета: лизоцим, β -лизины.
19. Гуморальные факторы врожденного иммунитета: система комплемента.
20. Гуморальные факторы врожденного иммунитета: лейкоцины, нормальные антитела.
21. Гуморальные факторы врожденного иммунитета: противовирусные ингибиторы. Механизмы их защитного действия.
22. Система комплемента.
23. Классический и альтернативный пути активации комплемента.
24. Биологическая функция комплемента.
25. Интерфероны, их классификация, биологические свойства.
26. Индукторы интерферонов. Механизм образования и противовирусное действие интерферонов.
27. Принципы получения и практическое применение интерферонов.
28. Методы естественной резистентности.
29. Прогнозирование устойчивости животных
30. Видовые и породные особенности естественной резистентности
31. Влияние факторов воздушной среды на естественную резистентность.
32. Влияние освещения животноводческих помещений на естественную резистентность.
33. Влияние природно-климатических и сезонных факторов на естественную резистентность.
34. Влияние кормления на естественную резистентность организма.

35. Биологическая роль витаминов в формировании неспецифической защиты животных.
36. Значение микро- и макроэлементов в формировании неспецифической защиты животных.
37. Возрастные изменения естественной резистентности животных.
38. Колостральный иммунитет.

Словарь терминов

In vitro – культивирование части организма «в стекле» на искусственных питательных средах в асептических условиях.

In vivo – культивирование организма в естественных условиях.

Адаптивный иммунитет – (от англ. adopt – принимать) – воспринятый, пассивный иммунитет у интактного реципиента после адоптивного переноса лимфоцитов от иммунизированного донора.

Аллергены (ошибка 1 рода) – антигены, способны вызывать гиперчувствительность или аллергические реакции.

Антигенная детерминанта участок молекулы антигена, распознаваемый антителами. Синоним – эпитоп.

Апоптоз – особый тип гибели клеток, процесс их генетически запрограммированного саморазрушения, принципиально отличный от некроза. Фундаментальное явление клеточной биологии и жизнедеятельности многоклеточных организмов, механизм негативной селекции отживших клеток. Апоптоз имеет особое значение в жизненном цикле иммунокомпетентных клеток, вирусной цитопатологии, цитотоксическом взаимодействии ЦТЛ+мишень. Морфологически характеризуется конденсационными процессами, разделением и распадом клетки на апоптозные тела, подвергаемые фагоцитозу.

В-лимфоциты – популяция бурса-зависимых лимфоцитов, анатомический субстрат гуморального иммунитета. Конечный этап их дифференцировки – плазматические клетки-продуценты антител.

Естественные киллеры (НК-клетки) представлены в организме человека клетками, осуществляющими независимый от антител и комплемента лизис клеток-мишеней.

Иммунологическая память – способность иммунной системы быстрее и интенсивнее отвечать на повторную встречу с антигеном; обусловливается образованием при первичном иммунном ответе (праймировании) долгоживущих рециркулирующих Т- и В-лимфоцитов памяти.

Иммуноцитокينات – цитокины, вырабатываемые и активные в системах иммунокомпетентных клеток.

Интерлейкины – группа иммуноцитокينات с разнообразным спектром иммуномодулирующей активности в отношении иммунокомпетентных клеток.

Интерфероны – общее название, под которым в настоящее время объединяют ряд белков со сходными свойствами, выделяемые клетками организма в ответ на вторжение вируса

Комплемент – система белков, включающая около 20 взаимодействующих компонентов: С1 (комплекс из трех белков), С2, С3, ..., С9, фактор В, фактор D и ряд регуляторных белков.

Лизоцим (*мурамидаза*) – антибактериальный агент, фермент класса гидролаз, разрушающий клеточные оболочки бактерий путём гидролиза мурамилглюкозамина клеточной стенки грамположительных бактерий

Нормальная микрофлора организма – это совокупность множества микробиоценозов, характеризующихся определенными взаимосвязями и местом обитания

Опсонизация (от лат. *Opsonin* – усиливающий) соединение объекта фагоцитоза (в частности, микроорганизма) с особым растворимым белком, обуславливающим более эффективные и адгезию объекта фагоцитоза на поверхности фагоцита и его дальнейшее поглощение.

Опсонофагоцитарный индекс – это соотношение фагоцитарного индекса иммунной сыворотки к фагоцитарному индексу нормальной сыворотки.

Резистентность (от лат. *Resisto* – противостоять, сопротивляться) — свойство организма противостоять различным заболеваниям, способность определенным образом реагировать на воздействие окружающей среды.

Субпопуляции лимфоцитов – типы лимфоцитов (в основном Т-лимфоцитов), различающиеся функционально и идентифицируемые по стабильному CD-фенотипу (Т-хелперы – CD4+, Т-супрессоры/киллеры – CD8+).

Сурфактант – поверхностно–активное вещество, способное фиксировать и уничтожать грамположительные бактерии

Т-лимфоциты – популяция тимус-зависимых лимфоцитов, анатомический субстрат клеточного иммунитета.

Толерантность, иммунологическая толерантность – естест-

венное или индуцированное отсутствие иммунного ответа на конкретный антиген (толероген) при сохранении иммунореактивности на прочие антигены. Состояние переносимости антигена, столь же специфичное, но противоположное иммунологической реактивности. Толерантность к антигенам собственных тканей – важнейшее свойство иммунной системы.

Т-супрессоры/киллеры – (от англ. to kill – убивать) – Т-лимфоциты с фенотипом CD8+. В условиях обычного иммунного ответа функционируют как клетки, подавляющие функции В-лимфоцитов в антителообразовании, или как цитотоксические Т-лимфоциты.

Тучные клетки – крупные клетки миелопоэтического происхождения, распространенные во всех тканях, особенно в подкожных и подслизистых слоях. Содержат большое количество гранул, наполненных различными медиаторами с вазоактивной (гистамин), хемотаксической, активирующей, конвертазной и др. Активностью. Имеют на поверхности рецепторы к Fc-фрагментам иммуноглобулинов класса Ige, активируются последними и участвуют в локальных и системных реакциях антителозависимой гиперчувствительности

Т-хелперы – (от англ. To help – помогать) – ТН-лимфоциты с фенотипом CD4+. В условиях обычного иммунного ответа функционируют как клетки-помощники В-лимфоцитов в антителообразовании, синтезируют интерлейкины 4 и 5 (обозначаются как лимфоциты ТН2). При высокой концентрации антигенов участвуют в воспалительной реакции, активируя макрофаги, синтезируют – интерферон и другие лимфокины (обозначаются как лимфоциты ТН1).

Фагоцитарное число (ФЧ) или фагоцитарная активность определяется как доля (в процентах) профагоцитировавших клеток на 100 нейтрофилов

Фагоцитарный индекс (ФИ) рассчитывается как среднее число бактерий, захваченных одним фагоцитом.

Фагоцитоз – внутриклеточная цитотоксичность (внутриклеточный киллинг) микроорганизмов и биodeградация других частиц диаметром более 0,1 мкм.

Хемотаксис – целенаправленное движение фагоцита к объекту фагоцитоза.

Цитокины – группа секретируемых белков – гормоноподобных молекул, образующихся в клетках и влияющие на рост, развитие, функции и поведение других клеток.

Приложение

Состав среды Эндо: пептона – 1 %, лактозы — 1 %, двузамещенного фосфорнокислого калия (K_2HPO_4) – 0,35 %, агар–агара – 1,5 %. Все ингредиенты, за исключением лактозы, растворяют в воде при кипячении или в автоклаве. Во избежание карамелизации сахара лактозу добавляют после растворения всех остальных компонентов среды. Кроме лактозы, среда не должна содержать никаких других углеводов, поэтому при ее изготовлении не рекомендуется использование мясной воды; можно применять любой пептон или гидролизат белков.

Широкое распространение получил сухой агар Эндо, приготовляемый по специальной прописи и выпускаемый в виде порошка. При изготовлении среды Эндо берут 5 г порошка на 100 мл дистиллированной воды, нагревают до его растворения и, прокипятив 5 мин., разливают в стерильные чашки Петри.

Индикатор готовят по мере надобности и добавляют к расплавленной питательной основе. Среда может быть использована сразу после приготовления без предварительной стерилизации; при необходимости ее стерилизуют в течение 30 мин. при температуре $110^\circ C$; рН готовой среды 7,4–7,6.

Приготовление индикатора. Индикатором служит соединение основного фуксина с сернистоокислым натрием. 0,25 г безводного сернистоокислого натрия или 0,5 г кристаллического (из расчета на 100 мл среды) растворяют в 5 мл дистиллированной воды и добавляют спиртовой 1–2 %-й раствор основного фуксина до тех пор, пока раствор из красного не превратится в бледно-розовый.

Приготовленный индикатор добавляют к расплавленной питательной основе и после тщательного перемешивания среду разливают в стерильные чашки Петри, которые подсушивают в термостате при $37^\circ C$ в течение 30 мин. в открытом состоянии. Готовая к употреблению среда Эндо имеет бледно-розовый цвет, либо бесцветна; она должна быть использована в течение суток, так как при длительном хранении происходит покраснение среды, и она становится непригодной.

Колонии бактерий, сбрасывающих лактозу, на среде Эндо приобретают интенсивно красный цвет с зеленым металлическим блеском. Бактерии, не сбрасывающие лактозу, формируют бесцветные,

либо цвета окружающей среды колонии.

В среде Эндо основной фуксин, в химическом отношении являющийся производным солянокислого розанилина, при соединении с сернистоокислым натрием вследствие редуцирования обесцвечивается. При росте бактерий, разлагающих лактозу, промежуточный продукт (ацетальдегид), возникающий в результате окисления сахара, реагирует с сернистоокислым натрием и фуксин вновь приобретает красный цвет.

Тифо-паратифозные и дизентерийные бактерии на среде Эндо образуют бесцветные колонии, кишечная палочка и другие разлагающие лактозу микроорганизмы — красные. Необходимо помнить, что фуксин обладает бактериостатическим действием, которое более выражено при температуре 37° С. Поэтому учет результатов следует производить дважды: через 24 часа после инкубации в термостате и 24–48 часов выдерживания посевов при комнатной температуре.

Пептонная вода. Растворяют 30 г пептона в 1 л дистиллированной воды и стерилизуют 20 мин при давлении 0,1 МПа.

Пептонную воду можно также приготовить следующим образом: к 1 л дистиллированной воды добавляют при нагревании 10 г пептона, 5 г хлорида натрия и 0,1 г нитрата калия. Фильтруют через бумажный фильтр и устанавливают рН 7,6...7,8. Разливают по пробиркам и стерилизуют текучим паром дробно по 30 мин в течение 3 сут.

18 %-й раствор натрия сульфита (ч.д.а). — 18г вещества растворяют в 82 мл дистиллированной воды.

10 %-й раствор уксусной кислоты — 10 ледяной уксусной кислоты (СН₃СООН) растворяют в 90 мл дистиллированной воды.

ЕСТЕСТВЕННАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ЖИВОТНЫХ

Методические указания

Алексеева Елена Александровна

Электронное издание

Редактор М.М. Ионина

Подписано в свет 07. 07.2016. Регистрационный номер 452
Редакционно-издательский центр Красноярского государственного аграрного
университета
660017, г. Красноярск, ул. Ленина, 117
e-mail: rio@kgau.ru