

ФГБНУ ФИЦВиМ		
СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА (СОП)		СОП 00573-01
Название:	Определение патогенных свойств штаммов и изолятов вируса АЧС на целевых животных	Страница 1 из 9

Версия № 01	Дата введения 30.11.2017
Причина пересмотра:	

Утверждение процедуры	Должность	ФИО	Подпись	Дата
Разработал	Начальник отдела ГКМ	Балышев В.М.		«14» 11 2017 г.
Разработал	Младший научный сотрудник	Иматдинов А.Р.		«14» 11 2017 г.
Согласовал	Заместитель директора по диагностическим исследованиям	Егорова И.Ю.		«27» 11 2017 г.
Согласовал	Заместитель директора по НИР	Малоголовкин А.С.		«27» 11 2017 г.
Согласовал	Начальник отдела СМК	Бобкова Т.Е.		«28» 11 2017 г.
Утвердил	Директор ФГБНУ ФИЦВиМ	Колбасов Д.В.		«28» 11 2017 г.

### 1. Цель

Установить требования к порядку определения патогенных свойства штаммов и изолятов вируса АЧС на целевых животных (свиньях).

### 2. Область применения

Данная процедура используется сотрудниками ФГБНУ ФИЦВиМ при определении патогенных свойств штаммов и изолятов вируса АЧС на свиньях, при изучении их биологических свойств.

### 3. Распределение ответственности

Ответственность за организацию и координацию работ, связанных с определением патогенных свойств штаммов и изолятов вируса АЧС на свиньях несёт заведующий лабораторией (отделом), который назначает ответственных исполнителей за проведение экспериментальных исследований.

Определение патогенных свойств штаммов и изолятов вируса АЧС на свиньях осуществляют научные сотрудники в паре с лаборантом-исследователем, имеющие высшее ветеринарное, биологическое или медицинское образование, прошедшие обучение на специализированных курсах по работе с микроорганизмами III – IV групп патогенности, сдавшие зачет по биологической безопасности и допущенные к работам приказом директора ФГБНУ ФИЦВиМ.

ФГБНУ ФИЦВиМ		
СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА (СОП)		<b>СОП 00573-01</b>
Название:	Определение патогенных свойств штаммов и изолятов вируса АЧС на целевых животных	Страница 2 из 9

Техническое обеспечение работ (стерилизация и обеззараживание посуды, инструментов, подготовка боксовых помещений, приготовление дезинфицирующих растворов) проводят лаборанты-исследователи.

#### **4. Требования безопасности**

4.1. Работу проводят согласно требованиям СП 1.3.2322-08.

4.2. Безопасность труда при работе с биологическими объектами должна соответствовать требованиям ГОСТ 12.1.008.

4.3. Соблюдение ветеринарно-санитарного режима должно соответствовать Инструкции по ветеринарно-санитарному и противоэпидемическому режиму работы при проведении научно исследовательских, экспериментальных и диагностических исследований с микроорганизмами III и IV групп патогенности в отделе ГКМ.

4.4. Соблюдение техники безопасности должно соответствовать Инструкции по охране труда для сотрудников подразделений ГНУ ВНИИВВиМ.

#### **5. Процедура**

##### **5.1. Оборудование и инвентарь:**

- автоклав электрический ВК-75 или аналог 1 шт.;
- бак металлический для отходов – 3 шт.;
- бикс для стерилизации – 2 шт.;
- бокс биологической безопасности II класса защиты – 1 шт.;
- ведро пластмассовое на 8,0 дм<sup>3</sup> - 3 шт.;
- ветошь для мытья пола – 2 м;
- гидропульт ветеринарный или его аналог, объемом 8,0 – 10,0 дм<sup>3</sup> - 1 шт.;
- горелка газовая ГОСТ 21204 – 1 шт.;
- дозатор пипеточный одноканальный автоматический на 100 - 1000 мкл 1 шт.;
- инвертированный микроскоп - 1 шт.;
- корнцанги, пинцеты, ГОСТ 21241 - 4 шт.;
- лопата совковая – 3 шт.;
- ножницы медицинские – 1 шт.;
- плита газовая – 1 шт.;
- полый нож – 1 шт.;
- ручка шариковая, синяя – 1 шт.;
- сапоги резиновые 41 - 44 размер – 3 пары;
- скальпель хирургический - 3 шт.;
- скребок (мотыга) – 3 шт.;
- СО<sup>2</sup>-инкубатор -1 шт.;
- стерилизатор огневой – 2 шт.;
- холодильник бытовой «Атлант» (4°С);
- цилиндры измерительные ГОСТ 25336-82Е емкостью 250 и 1000 см<sup>3</sup> – 2 шт.;
- швабра для мытья пола пластмассовая – 2 шт.;

ФГБНУ ФИЦВиМ		
СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА (СОП)		СОП 00573-01
Название:	Определение патогенных свойств штаммов и изолятов вируса АЧС на целевых животных	Страница 3 из 9

- штатив для лабораторных изделий – 1 шт.;
- щетка гигиеническая – 1 шт.

### 5.2 Сырье и материалы:

- Альбен таблетки (Tabulettae Albenum) – 3 таблетки;
- бумага пергаментная, ГОСТ 1341-84 – 50 г;
- вакуумные пробирки с ЭДТА (8,0 см<sup>3</sup>) производства Южной Кореи или других производителей – 3 пробирки;
- вата медицинская, стерильная – 2 упаковки по 50,0 г;
- диагностический набор для постановки ПЦР при АЧС, производства ФГБНУ ФИЦВиМ – 1 шт.;
- животные – свиньи, живой массой 25 – 30 кг, не привитые против КЧС – 3 гол.;
- иглы для вакуумной системы отбора крови – 3 шт.;
- индикатор МедИс-132/20 – 5 шт.;
- комбикорм для свиней – 117 кг;
- костюмы «Тайвек» или их аналог для работы с опытными животными – 60 шт.;
- маркер перманентный – 1 шт.;
- маски медицинские одноразовые – 94 шт.;
- медицинские головные уборы одноразовые – 4 шт.;
- мыло антибактериальное жидкое – 50 см<sup>3</sup>;
- мясокостная мука – 1,1 кг;
- пакет для деструкции – 1 шт.;
- переходник для вакуумной системы отбора крови – 3 шт.;
- перчатки латексные медицинские двукратного хлорирования – 6 пар;
- перчатки резиновые анатомические – 90 пар;
- планшеты культуральные пластиковые 12 или 24 –луночные – 2 шт.;
- полотенце бумажное рулонное – 2 шт.;
- порошок стиральный «Зифа» или его аналог - 0,3 кг;
- спирт этиловый, ГОСТ 5962-67 – 0,5 дм<sup>3</sup>;
- спички ГОСТ 1820-2001 – 1 кор.;
- физиологический раствор, стерильный – 100 мл;
- флаконы пенициллиновые на 10,0 см<sup>3</sup>, ТУ 9461-025-00480678-99 – 10 шт.;
- флаконы стеклянные на 100 см<sup>3</sup>, ТУ 9461-025-00480678-99 – 4 шт.;
- халат медицинский, РТУ 31-51 – 4 шт.;
- химический индикатор серии ДЕЗИКОНТ-ХЛОРАМИН – 30 шт.;
- хлорамин Б – 5,4 кг;
- шприцы одноразовые пластиковые, на 2,0 см<sup>3</sup> – 3 шт.;
- штамм вируса АЧС – 3 амп.

### 5.3. Общие положения

ФГБНУ ФИЦВиМ		
СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА (СОП)		<b>СОП 00573-01</b>
Название:	Определение патогенных свойств штаммов и изолятов вируса АЧС на целевых животных	Страница 4 из 9

5.3.1. Все работы с вирусом АЧС проводят в боксовых помещениях в шкафах с ламинарным вертикальным потоком II класса, а работу с животными – в виварных боксах с соблюдением принципа парности.

5.3.2. Подготовку боксового помещения, в котором проводятся работы с ПБА, проводят до начала работ, обеззараживание – по их окончании в соответствии с требованиями Инструкции по соблюдению требований ветеринарно-санитарного режима и противоэпидемической безопасности в подразделении.

5.3.3. Перед проведением работ готовят рабочий (5 %) и аварийный (10 %) растворы хлорамина Б по СОП ОО-00470. Срок годности растворов 15 суток. Контроль концентрации АДВ в рабочих и аварийных растворах проводят при помощи химических индикаторов серии ДЕЗИКОНТ-ХЛОРАМИН.

5.3.4. Различают следующие формы болезни вируса АЧС: сверхострая – (гибель свиней в течение 3 – 4 суток после заражения), острая – (гибель свиней в течение 5 – 14 суток после заражения), подострая – (гибель свиней в течение 15 – 30 суток после заражения), хроническая – (гибель свиней в течение 30 – 60 суток после заражения, часть из которых может выжить после переболевания), бессимптомная – (отсутствие клинических признаков болезни и гибели инфицированных свиней в течение 2 – 6 месяцев после заражения).

В зависимости от этого, по степени патогенности все изоляты и штаммы вируса АЧС разделяют на:

- высоковирулентные (вызывающие сверхострую и острую формы болезни);
- низко вирулентные (вызывающие подострую и хроническую формы болезни);
- авирулентные (вызывающие бессимптомную форму болезни).

5.3.5. Для определения патогенных свойств вируса АЧС на целевых животных используют 3-х свиней живой массой 20 – 25 кг. У свиней предварительно, за 14 дней до постановки эксперимента, проводят дегельминтизацию с использованием противопаразитарных препаратов согласно инструкции по их применению. Полученных из отдела подготовки подопытных животных карантинируют в течение 14 дней. В течение карантинирования уход (кормление и уборка) за животными проводит лаборант-исследователь, фиксация и термометрия – микробиолог и научный сотрудник. Данные термометрии вносят в рабочий журнал.

5.3.6. Перед получением свиней зав. лабораторией (отделом) пишет на имя директора ФГБНУ ФИЦВиМ служебную записку, в которой указывает цель получения животных, краткую схему опыта, место его проведения, а также ответственного исполнителя. Служебная записка согласовывается с заместителем директора по научной работе.

ФГБНУ ФИЦВиМ		
СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА (СОП)		<b>СОП 00573-01</b>
Название:	Определение патогенных свойств штаммов и изолятов вируса АЧС на целевых животных	Страница 5 из 9

5.3.7. После согласования работы с зав. ООББ НИР ответственный исполнитель заполняет Журнал учёта поступления животных в санитарную зону института (хранится в ООББ НИР), в котором указывает: количество животных, место и сроки проведения опыта, ответственного исполнителя.

Аналогичная запись делается в Журнале учёта опытных животных в корпусе 30. На время всего эксперимента ответственный исполнитель делает заявку на корм для опытных животных, который получают из кормоцеха ФИЦВиМ. Кормление животных проводят в соответствии с принятыми зоотехническими нормами.

5.3.8. Свиной из сектора подготовки подопытных животных перевозят в виварий корпуса 30 на специальном автотранспорте. Животных размещают в отдельные станки одного из виварных боксов корпуса 30.

5.3.9. Работу со свиньями проводят в соответствии с Инструкцией по ветеринарно-санитарному и противоэпидемическому режиму работы при проведении научно-исследовательских, экспериментальных и диагностических исследований с микроорганизмами III – IV групп патогенности в отделе Государственной коллекции микроорганизмов ФГБНУ ФИЦВиМ.

#### **5.4. Подготовка боксовых помещений и посуды к работе**

Подготовку боксовых помещений к работе проводят по СОП АД-00003. Учет ресурса работы бактерицидных ламп, замеров показателей микроклимата в лабораторных помещениях, проведения текущих и генеральных уборок регистрируют в журналах соответствующих форм (Журнал учета работы бактерицидных облучателей, Журнал учета проведения текущих и генеральных уборок, Журнал приготовления дезрастворов, Журнал учета температуры и влажности в боксовых помещениях, Журнал учета температуры в термостатах, Журнал учета температуры в холодильниках). Подготовку посуды к работе проводят по СОП АД-00167.

#### **5.5. Выполнение процедуры**

5.5.1. Для оценки патогенных свойств вновь выделенных изолятов вируса АЧС на свиньях используют полученные при проведении диагностических и мониторинговых исследований вирусосодержащую кровь, органно - тканевую суспензию и другой материал содержащий вирус АЧС, который получают из лаборатории Диагностики и мониторинга или другого подразделения ФГБНУ ФИЦВиМ.

5.5.2. Патогенность длительно хранившихся штаммов вируса АЧС проверяют на свиньях с учётом активности, указанной в паспорте на испытуемый штамм. Из 3 ампул лиофилизированного вирусосодержащего материала, ресуспендированного в физрастворе, готовят среднюю пробу. Для заражения животных, используют вирус в дозе 3,0 lg ГАЕ<sub>50</sub>.

ФГБНУ ФИЦВиМ		
СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА (СОП)		СОП 00573-01
Название:	Определение патогенных свойств штаммов и изолятов вируса АЧС на целевых животных	Страница 6 из 9

5.5.3. Разведённый на физрастворе (рН 6,8 – 7,2) вирусосодержащий материал вводят свиньям внутримышечно в бедренную группу мышц или в область шеи в объёме 1,0 см<sup>3</sup>.

5.5.4. За инфицированными животными ведут наблюдение с ежедневной термометрией в течение 7 – 45 суток (в зависимости от патогенности вируса АЧС). Ежедневный уход (кормление и уборка) за животными проводит лаборант-исследователь. Отходы жизнедеятельности инфицированных животных собираются в металлические баки, которые перед вывозом обсыпают порошком хлорамина Б (из расчета 100 грамм дезинфектанта на 1 емкость с отходами) и автоклавируют в проходном автоклаве и при температуре (132 ± 2)°С в течение 2,5 часов, а затем сжигают в кремпечи корпуса 30. Уборочный инвентарь после каждого применения помещается в емкость из нержавеющей стали с дезинфектантом (5 % раствор хлорамина Б) и хранится до следующего использования. Фиксация и термометрия проводится микробиологом и научным сотрудником, после использования термометры помещают в емкость с дезинфицирующим средством. Данные термометрии вносят в рабочий журнал.

5.5.5. У заболевших животных отмечают длительность инкубационного периода, длительность болезни, сроки гибели или её отсутствие. Результаты наблюдений фиксируют в рабочем журнале.

5.5.6. Вскрытие животных для учета выраженности патологоанатомических изменений производится стерильными хирургическими инструментами с соблюдением принципа парности. Выживших животных выводят из опыта путем тотального обескравливания полым ножом.

5.5.7. Специфичность заболевания и гибели свиней от АЧС подтверждают методом аутогемадсорбции (ГОСТ 28573 – 90) и методом ПЦР с использованием диагностического набора для постановки ПЦР при АЧС, производства ФГБНУ ФИЦВиМ.

5.5.8. По завершении опыта павших и вынужденно убитых животных помещают металлические баки, обсыпают порошком хлорамина Б (из расчета 100 грамм дезинфектанта на 1 емкость) и автоклавируют в проходном автоклаве при температуре (132 ± 2) °С в течение 2,5 часов, а затем сжигают в кремпечи корпуса 30.

5.5.9. После вывоза животных и уборки крупного мусора виварный бокс обрабатывают 5,0 % раствором хлорамина с помощью гидропульта мелкокапельным распылением при норме расхода дезинфектанта 0,25 дм<sup>3</sup> на 1,0 м<sup>2</sup> площади, кормушки заливают 5,0 % раствором хлорамина. Через 24 часа в виварном боксе проводят влажную механическую уборку с применением гигиенических щеток и стирального порошка.

ФГБНУ ФИЦВиМ		
СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА (СОП)		<b>СОП 00573-01</b>
Название:	Определение патогенных свойств штаммов и изолятов вируса АЧС на целевых животных	Страница 7 из 9

5.5.10 На следующие сутки виварный бокс двукратно с интервалом в 24 часа дезинфицируют 5,0 % раствором хлорамина с помощью гидропульта мелкокапельным распылением при норме расхода дезинфектанта 0,25 дм<sup>3</sup> на 1,0 м<sup>2</sup> площади.

5.5.11 Контроль качества проведенной заключительной дезинфекции проводят по СОП-00587.

### **5.6 Обеззараживание посуды, одежды**

При работе с вирусом АЧС использованный лабораторный пластик (планшеты, наконечники) после их обеззараживания в 5%-ном растворе хлорамина Б в течение не менее 24 часов, костюмы для работы с опытными животными, перчатки, маски медицинские помещают в пакет для деструкции, который перекрывают зажимом. Стеклянную посуду помещают в биксы для стерилизации. Заполненные пакеты для деструкции и биксы для стерилизации автоклавируют в течение 2 часов при (132 ± 2)°С (2 кГс/см<sup>3</sup>). Для контроля работы автоклава производят закладку термохимических тестов МедИС-132/20 соответствии с «Методическими указаниями по контролю работы паровых и воздушных стерилизаторов» № 15/6-5 от 28.02.1991 г.

## **6. Термины и определения**

*Патогенность* - способность микроорганизмов (вирусов, хламидий, микоплазм, риккетсий, бактерий, грибов) вызывать инфекционный процесс – проникать в организм человека или животного, использовать его как среду своей жизнедеятельности и размножения и вызывать патологические изменения в органах и тканях.

## **7. Сокращения**

- 7.1. АДВ – активное действующее вещество;
- 7.2. АЧС – африканская чума свиней;
- 7.3. ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота;
- 7.4. ООББ НИР – Отдел обеспечения биологической безопасности научно-исследовательских работ;
- 7.5. ПЦР – полимеразная цепная реакция;
- 7.6. СОП – стандартная операционная процедура;
- 7.7. СП – Санитарные правила;
- 7.8. ФГБНУ ФИЦВиМ – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии».

## **8. Ссылки**

- 8.1. СП 1.3.2322 – 08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности)».

ФГБНУ ФИЦВиМ		
СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА (СОП)		<b>СОП 00573-01</b>
Название:	Определение патогенных свойств штаммов и изолятов вируса АЧС на целевых животных	Страница 8 из 9

8.1. СП 1.3.2322 – 08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности)».

8.2. ГОСТ 12.1.008 «Система стандартов безопасности труд. Биологическая безопасность. Общие требования».

8.3. СОП АД – 00003 «Подготовка производственных помещений к работе. Уборка помещений класса чистоты С и Д».

8.4. СОП ВС – 00069 «Инструкция по ветеринарно-санитарному режиму и технике безопасности при работе в боксах».

8.5. СОП АД – 00167 «Подготовка посуды к работе».

8.6. СОП ОО – 00470 «Инструкция по приготовлению дезинфицирующих растворов Хлорамина Б».

8.7. ГОСТ 28573 – 90 «Свиньи. Методы лабораторной диагностики африканской чумы».

8.8. СОП 00587 – 01 «Микробиологический контроль качества текущих, плановых и заключительных дезинфекций лабораторных и виварных помещений»

## **9. История внесения изменений**

Отсутствует.

## **10. Приложения**

Приложение №1 – Лист ознакомления с требованиями СОП.



