25580-83
+

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ
СОЮЗА ССР

СВИНЬИ

МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ТРАНСМИССИВНОГО ГАСТРОЭНТЕРИТА

ГОСТ 25580—83
(СТ СЭВ 2698—80)

Издание официальное

Цена 3 коп.

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР ПО СТАНДАРТАМ
Москва

gost.e-ecolog.ru

РАЗРАБОТАН Министерством сельского хозяйства СССР

ИСПОЛНИТЕЛИ

Э. В. Ивановсюк, Л. А. Мельникова, Л. И. Касюк, Н. Д. Насонова

ВНЕСЕН Министерством сельского хозяйства СССР

УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 6 января 1983 г. № 15

Данные об изменениях к ГОСТ 25580-83

Сведения о регистрация изменения	Протокол №2 МГС СНГ
Дата регистрации изменения	05.10.92
Дата введения изменения в действие	05.10.92
Номер изменения к НД	0
Содержание изменения к НД	
Вид изменения	Ограничение срока действия снято
Прежнее значение измененного ЭД	
Количество страниц	

УДК 636:576.8.07:006.354 Группа С79

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ СОЮЗА ССР

СВИНЬИ

Методы лабораторной диагностики трансмиссивного гастроэнтерита

Pigs. Methods of laboratory diagnostics of transmissive gastroenteritis

ГОСТ 25580—83

(СТ СЭВ 2698—80)

Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 6 января 1983 г. № 15 срок действия установлен

с 01.07.83
до 01.07.88

Несоблюдение стандарта преследуется по закону

Настоящий стандарт распространяется на свиней и устанавливает методы лабораторной диагностики трансмиссивного гастроэнтерита.

Стандарт обязателен для научно-исследовательских учреждений.

Стандарт полностью соответствует СТ СЭВ 2698—80.

1. МЕТОДЫ ОТБОРА ПРОБ

1.1. Пробы крови берут из вены cava cramalis в объеме 5 $см^3$ с соблюдением правил асептики от свиней разных возрастных групп в количестве от 1 до 5 % поголовья.

1.2. Сыворотку исследуют в течение 3 сут после взятия крови. Допускается исследовать сыворотки в течение до 3 мес при условии хранения ее при температуре минус 20 °С.

1.3. При диагностике острой вспышки заболевания берут парные пробы крови не менее чем от 20 животных. При взятии парных проб первую пробу берут от клинически больных свиней или подсосных свиноматок, поросята которых поносят, вторую — от тех же животных через 3 недели. Парные пробы исследуют одновременно.

Издание официальное

Перепечатка воспрещена
© Издательство стандартов, 1983

2. СЕРОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД

Сущность метода заключается в выявлении способностей сывороток нейтрализовать цитопатическое действие (ЦПД) вируса трансмиссивного гастроэнтерита в культуре клеток.

2.1. Аппаратура и материалы

Для проведения исследования применяют:

микротитратор;

пластины пластмассовые с 96 лунками;

термостат для культивирования клеточных культур в атмосфере, содержащей 5 % углекислого газа;

термостат;

микроскоп;

горелку газовую;

баню водяную;

штативы для пробирок;

стерилизатор;

холодильник;

пипетки по ГОСТ 20292—74;

пробирки по ГОСТ 25336—82;

пробки резиновые;

культуры клеточные почек или щитовидных желез свиней;

среду поддерживающую с антибиотиком (пенициллин, стрептомицин или др.);

референтные штаммы вируса с известным титром;

сыворотки крови свиней отрицательную и положительную;

сыворотку крови телят для культивирования культур тканей;

трипсин, 0,2 %-ный раствор для подготовки клеточных суспензий.

2.2. Проведение исследования

Исследования проводят макро- и микрометодами.

Макрометод применяют для оценки благополучия хозяйства на трансмиссивный гастроэнтерит, микрометод — для определения стадии развития инфекционного процесса.

При постановке реакции нейтрализации вирусов указанными методами проводят контрольное титрование разведенного вируса и известной положительной и отрицательной сывороток.

2.2.1. *Макрометод*

Сыворотки крови в разбавлении 1 : 2 или 1 : 4 инактивируют в термостате при 56 °С в течение 30 мин.

В пробирки вносят по 0,4 см³ поддерживающей среды и готовят двукратные разбавления сывороток крови в соотношении от 1 : 4 до 1 : 256.

Вирус с известным титром предварительно разбавляют в поддерживающей среде так, чтобы 1 см³ содержал 100 $ТЦД_{50}$. Затем в

каждую пробирку с разбавленной сывороткой добавляют по 0,4 см³ вируса и инкубируют их в течение 60 мин при температуре 37 °С.

Каждой полученной смесью в объеме по 0,2 см³ заражают четыре пробирки с культурой клеток, из которой удалена питательная среда.

Пробирки инкубируют в течение 30 мин при температуре 37 °С, после чего в каждую вносят по 0,8 см³ поддерживающей среды, затем продолжают инкубирование в течение 48— 96 ч.

Контролем служат 5 пробирок с незараженной культурой клеток.

2.2.2. *Микрометод*

Во все лунки пластин вносят по 0,05 см³ поддерживающей среды без телячьей сыворотки.

С помощью петель готовят двукратные разбавления испытуемых сывороток в требуемом объеме и в соотношении от 1 : 4 до 1 : 256. Затем во все лунки с разбавленными сыворотками вносят по 0,05 см³ вируса, предварительно разведенного в поддерживающей среде так, чтобы 0,05 см³ содержало 100 $ТЦД_{50}$.

После 60 мин инкубирования при комнатной температуре во все лунки вносят по 0,05 см³ клеточной суспензии вторичных пассажей клеток почек или щитовидных желез свиней в концентрации 300000 клеток в 1 см³ поддерживающей среды, содержащей 30 % инактивированной телячьей сыворотки.

Пластины с культурами выдерживают в термостате с атмосферой, содержащей 5 % углекислого газа, в течение 4 сут при температуре 37 °С.

Контролем служат восемь лунок с незараженной культурой.

2.3. Обработка результатов

Реакцию нейтрализации учитывают через 48—96 ч только при условии развития цитопатического действия (ЦПД) в пробирках, инифицированных вирусом в разведениях 10^{-1} и 10^{-2}, и в пробирках, инифицированных смесью вируса с отрицательной сывороткой, а также при отсутствии ЦПД в пробирках или лунках, инифицированных смесью вируса со специфической сывороткой, и в пробирках или лунках, не зараженных вирусом.

Титр вируснейтрализующих антител представляет собой наибольшее разбавление сыворотки, которое предотвращает развитие цитопатического действия в 50 % зараженных пробирок или лунок.

Положительными считают сыворотки, которые полностью нейтрализуют 100 $ТЦД_{50}$ вируса, по крайней мере в разбавлении 1 : 4.

Редактор *Н. Е. Шестакова*
Технический редактор *О. Н. Никитина*
Корректор *А. В. Прокофьева*

gost.e-ecolog.ru

Сдано в наб. 25.01.83 Подп. к печ. 04.03.83 0,375 п. л. 0,21 уч.-изд. л. Тир. 10000 Цена 3 коп.

Ордена «Знак Почета» Издательство стандартов, 123557, Москва, Новопресненский пер., 3
Тип. «Московский печатник», Москва, Лялин пер., 6. Зак. 97