26073-84

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ
СОЮЗА ССР

ЖИВОТНЫЕ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫЕ

МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ПАРАТУБЕРКУЛЕЗА

ГОСТ 26073—84
(СТ СЭВ 3458—81)

Издание официальное

Цена 5 коп.

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР ПО СТАНДАРТАМ
Москва

gost.e-ecolog.ru

РАЗРАБОТАН Министерством сельского хозяйства СССР

ИСПОЛНИТЕЛИ

Н. П. Овдиенко, В. А. Шаров, В. Е. Щуревский, Н. И. Данилова, Н. А. Иванова, О. В. Якушева, А. Н. Шаров, Э. С. Плотников

ВНЕСЕН Министерством сельского хозяйства СССР

Зам. начальника Главного управления ветеринарии **П. П. Рахманин**

УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 9 января 1984 г. № 46

УДК 636.576.8.07 : 006.354 Группа С79

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ СОЮЗА ССР

ЖИВОТНЫЕ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫЕ

Методы лабораторной диагностики паратуберкулеза

Agricultural animals. Methods of laboratory diagnostics of paratuberculosis

ГОСТ 26073—84

(СТ СЭВ 3458—81)

ОКСТУ 9809

Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 9 января 1984 г. № 46 срок действия установлен

с 01.07.84
до 01.07.89

Несоблюдение стандарта преследуется по закону

Настоящий стандарт распространяется на крупный и мелкий рогатый скот и устанавливает методы лабораторной диагностики заболевания паратуберкулезом, вызываемого микобактериями M. paratuberculosis.

Стандарт применяют при диагностировании заболевания в лабораториях ветеринарных научно-исследовательских институтов, республиканских и областных (краевых) ветеринарных лабораториях.

Стандарт полностью соответствует СТ СЭВ 3458—81.

1. МЕТОД ОТБОРА ПРОБ

1.1. Для бактериоскопического исследования берут от живых животных не менее 10 см³ фекалий и соскобы слизистой оболочки прямой кишки.

От павших или убитых животных берут не менее трех — пяти различных участков подвздошной кишки, два—четыре брыжеечных лимфатических узла, кусочек илеоцекальной заслонки с прилегающим лимфатическим узлом. При отборе патологического материала прежде всего берут измененные участки кишечника с утолщением, выраженной складчатостью слизистой оболочки и увеличенные лимфатические узлы.

1.2. Пробы патологического материала (отрезки кишечника, лимфатические узлы) для проведения культурального исследования замораживают или консервируют стерильным 30%-ным раствором глицерина.

Издание официальное **Перепечатка воспрещена**

© Издательство стандартов, 1984

Отрезки кишечника и лимфатические узлы помещают в разные стерильные пакеты из пергаментной бумаги или банки.

1.3. Для гистологического исследования отрезки кишечника и лимфатические узлы фиксируют в 10%-ном растворе формалина.

1.4. Для серологического исследования берут из яремной вены 5—10 $см^3$ крови в стерильные пробирки или используют кровь, полученную при убое животного.

Из отобранных проб крови получают сыворотку методом отстоя. Для свертывания крови и отстаивания сыворотки пробирки с кровью выдерживают 30—60 мин при температуре 20—30°С, а затем при температуре 4—10°С. Сыворотка крови должна быть прозрачной, без признаков гемолиза.

Допускается консервировать сыворотку 5%-ным раствором карболовой кислоты (1—2 капли на 1 $см^3$ сыворотки) или сухой борной кислотой (2% кислоты к объему сыворотки).

Неконсервированные сыворотки пригодны для исследования в течение 6 сут со дня взятия пробы, сыворотки консервированные — в течение 30 сут со дня консервирования при условии сохранения ее первоначального вида.

1.5. Пробы для исследования упаковывают в полиэтиленовые пакеты, помещают в ящик, опечатывают и вместе с сопроводительным документом направляют в лабораторию.

В сопроводительном документе указывают наименование и адрес отправителя, опись проб патологического материала, акт с эпизоотологическими данными.

2. МЕТОД БАКТЕРИОСКОПИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Сущность метода заключается в обнаружении микобактерий паратуберкулеза в исследуемом материале и определении их морфологических и тинкториальных свойств путем микроскопии.

2.1. **Аппаратура и реактивы**

Аппарат для встряхивания (шутель-аппарат).

Центрифуга лабораторная с частотой вращения 2500—3000 об/мин.

Стекла предметные по ГОСТ 9284—75.

Пробирки центрифужные.

Микроскоп биологический с иммерсионной системой по ГОСТ 8284—78.

Пипетки пастеровские.

Глицерин по ГОСТ 6259—75.

Спирт этиловый ректификованный по ГОСТ 5962—67.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709—72.

Фуксин Циля карболовый; готовят следующим образом: 1 г основного кристаллического фуксина растирают в ступке с 5 г кристаллической карболовой кислоты и 0,5 $см^3$ глицерина, добав-

ляя порциями 10 см³ этилового спирта. После растворения краски добавляют при помешивании 100 см³ дистиллированной воды. Раствор краски через 24 ч пропускают через бумажный фильтр. Фуксин Циля стойкий и его хранят во флаконах из темного стекла с притертой пробкой.

Спирт солянокислый 3%-ный; готовят следующим образом: 3 см³ концентрированной соляной кислоты по ГОСТ 3118—77 добавляют к 97 см³ 96%-ного этилового спирта.

Синь метиленовая (метиленовый голубой), насыщенный раствор; готовят следующим образом: 8—9 г кристаллической метиленовой сини растворяют в 100 см³ этилового спирта.

Синька Леффлера метиленовая, водно-спиртовой раствор; готовят следующим образом: 30 см³ насыщенного раствора метиленовой сини пропускают через бумажный фильтр, добавляют 1 см³ 1%-ного раствора гидроокиси калия и разбавляют 100 см³ дистиллированной воды. Раствор устойчив в течение длительного времени.

Масло иммерсионное для микроскопии по ГОСТ 13739—78.

2.2. **Подготовка к исследованию**

2.2.1. Готовят мазки из слизистой оболочки кишечника и брыжеечных лимфатических узлов растиранием материала между двумя предметными стеклами. Перед тем как сделать мазки, слизистую оболочку промывают водой или физиологическим раствором от фекалий.

Мазки высушивают на воздухе, фиксируют над пламенем и окрашивают по методу Циль-Нильсена.

На мазки кладут полоску фильтровальной бумаги, наливают на нее раствор фуксина Циля и нагревают до появления пара (два-три раза) в течение 5 мин, не допуская краситель до кипения и добавляя каждый раз раствор краски.

Дают препарату остыть, удаляют пинцетом бумагу, сливают избыток красителя. Мазки промывают водой, после чего обесцвечивают 3%-ным солянокислым спиртом (20—30 с) до слабо-розового окрашивания.

Мазки промывают водой и окрашивают раствором метиленовой синьки Леффлера в течение 3—5 мин, краску сливают, мазок промывают водой и высушивают на воздухе.

2.3. **Проведение исследования**

2.3.1. Мазки просматривают под микроскопом. Если бактерий не обнаруживают или наблюдают единичные, просматривают не менее 50 полей зрения.

2.4. **Обработка результатов**

2.4.1. Для микобактерий паратуберкулеза характерны палочки темно-красного цвета, которые располагаются на синем фоне палисадом (частоколом) или кучками по две, три и более.

Обнаружение бактерий с указанными признаками дает основание для предварительного заключения о наличии возбудителя этой болезни.

При обнаружении в мазках единичных и нетипично расположенных кислотоустойчивых бактерий из исследуемого материала повторно готовят и просматривают 4—6 мазков.

3. МЕТОД КУЛЬТУРАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Сущность метода заключается в выделении культуры микобактерий паратуберкулеза из исследуемого материала и их идентификации на специальных питательных средах.

3.1. **Аппаратура, материалы и реактивы**

Центрифуга с частотой вращения 3000 об/мин.

Баня водяная с терморегулятором на 30—70°С.

Холодильник электрический.

Автоклав.

pH-метр.

Весы лабораторные по ГОСТ 24104—80.

Весы торсионные.

Холодильник Либиха.

Пипетки стеклянные мерные вместимостью на 1, 5, 10 $см^3$ по ГОСТ 20292-74.

Ступки на 100 и 200 $см^3$.

Воронка делительная вместимостью 300 $см^3$ по ГОСТ 25336—82.

Петли бактериологические.

Эксикатор по ГОСТ 23932—82.

Чашки Петри по ГОСТ 10373—75.

Холодильник обратный.

Аппарат Коха.

Насос вакуумный (Камовского).

Кислота серная по ГОСТ 4204—77, концентрированная, 3 и 6%-ная.

Кислота соляная по ГОСТ 3118—77.

Кислота щавелевая по ГОСТ 22180—76, 5%-ный раствор.

Калия гидроокись по ГОСТ 24363—80.

Натрий хлористый по ГОСТ 4233—77, 0,85%-ный раствор, pH 7,0.

Калий фосфорнокислый однозамещенный по ГОСТ 245—76.

Натрий фосфорнокислый двузамещенный по ГОСТ 4172—76.

Магний сернокислый по ГОСТ 4523—77.

Кальций хлористый по ГОСТ 4209—77.

Цинк сернокислый по ГОСТ 4174—77.

Медь сернокислая по ГОСТ 4165-78.

Железо аммонийное лимоннокислое.

Хлороформ по ГОСТ 20015—74.
Глицерин по ГОСТ 6259—75.
Спирт этиловый ректификованный 96%-ный по ГОСТ 5962—67.
Вода дистиллированная по ГОСТ 6709—72.
Аспарагин.
Казеин гидролизат.
Агар Дифко.
Панкреатин.
Пенициллин.
Среда Левенштейна—Йенсена.
Сыворотка инактивированная крупного рогатого скота.

Микобактин (спиртовой экстракт из микобактерий флей по Смиту); готовят следующим образом: культуру микобактерий флей (тимофеевой травы) выращивают на мясопептонном бульоне, содержащем 4% пептона и 10% глицерина (среда Френсиса, pH 7,2). Через 3 4 недели при получении пышного роста культуры микробную массу отделяют от жидкости, пропуская через двойной бумажный фильтр. Культуру отжимают в воронке, промывают стерильной дистиллированной водой и нагревают при 80°С в течение 30 мин в аппарате Коха. Высушивают в эксикаторе в чашках Петри над серной кислотой или хлористым кальцием или в термостате при 45°С, а затем помещают в стерильную ступку и тщательно растирают в порошок;

20 г сухого порошка три раза экстрагируют кипячением в спирте в течение 20 мин в колбе с обратным холодильником, приливая каждый раз 150 см³ спирта.

Все порции экстракта собирают и оставляют на ночь. Надосадочную жидкость пропускают через бумажный фильтр и сливают в колбу, затем сгущают при пониженном давлении до образования вязкой красновато-оранжевой жидкости. Полученную жидкость смешивают с 80 см³ 50%-ного раствора глицерина, приготовленного на дистиллированной воде. Устанавливают pH 7,6. Жидкость прогревают в кипящей водяной бане в течение 10 мин. Горячую жидкость помещают в делительную воронку и оставляют на ночь.

Нижнюю светлую часть жидкости (pH 7,0) сливают, разливают в ампулы, запаивают и автоклавируют при 120°С в течение 20 мин. Экстракт хранят при комнатной температуре.

Модифицированная казеиновая питательная среда Дюбо—Смита (ВИЭВ А. П. Аликаева) следующего состава:

однозамещенный фосфорнокислый калий	— 1 г;
двузамещенный фосфорнокислый натрий	— 6,25 г;
сернокислый магний	— 0,01 г;
хлористый кальций	— 0,0005 г;
сернокислый цинк	— 0,0001 г;
сернокислая медь	— 0,0001 г;

лимоннокислое аммонийное железо	— 0,05 г;
аспарагин	— 1 г;
гидролизат казеина	— 80 см³;
микобактин	— 20 см³;
дистиллированная вода	— до 1 дм³;
агар Дифко	— 1,5%;
стерильная инактивированная сыворотка крупного рогатого скота (нормальная)	— 20%.
пенициллин	— 50 ЕД/см³ среды.

Среду готовят следующим образом:

приготовление гидролизата казеина: нагревают до 28°С 1 дм³ водопроводной воды и добавляют 84 г казеина. Устанавливают раствором гидроокиси калия pH 8,0. Подогревают на водяной бане в течение 3 ч при комнатной температуре 28°С. Снова доводят pH до 8,0. Добавляют 2 г панкреатина и 25 см³ хлороформа. Полученную смесь переливают в бутыль, закрывают резиновой пробкой и оставляют при комнатной температуре. Спустя 10 сут смесь фильтруют через полотно, устанавливают pH 7,4, разливают по флаконам и стерилизуют при 120°С в течение 30 мин. Гидролизат хранят при комнатной температуре;

приготовление солевых компонентов: взвешивают 1 г однозамещенного фосфорнокислого калия, 6,25 г двузамещенного фосфорнокислого натрия, 0,01 г сернокислого магния и растворяют в 100—250 см³ дистиллированной воды в колбе вместимостью 1 дм³. В другой колбе, в таком же объеме воды при подогревании поочередно растворяют 1 г аспарагина и 0,05 г лимоннокислого аммиачного железа. Полученный раствор смешивают с первоначально приготовленным раствором солей. Затем прибавляют хлористый кальций, сернокислый цинк и сернокислую медь. Сернокислый цинк и сернокислую медь дозируют следующим образом: взвешивают на торсионных или аналитических весах 10 мг вещества, которое растворяют в 10 см³ воды. К 1 см³ этого разведения приливают 9 см³ воды и получают раствор, в 1 см³ которого содержится 0,0001 г сернокислого цинка (меди).

Для приготовления нужной концентрации раствора хлористого кальция взвешивают 50 мг вещества, а затем поступают, как указано выше. На 1 дм³ среды добавляют по 1 см³ каждого конечного разведения соответствующего вещества;

порядок составления среды: в колбу с растворами солей и аспарагина добавляют 80 см³ гидролизата казеина, 20 см³ микобактина, доливают дистиллированной воды до 1 дм³ и пропускают через бумажный фильтр.

Устанавливают соляной кислотой pH 6,5. Раствор разливают равномерно по флаконам, добавляют 1,5% агара и стерилизуют при 120°С в течение 20 мин или при 112°С — 30 мин. Такой полуфабрикат длительно хранится при комнатной температуре.

Перед употреблением к расплавленному в водяной бане полуфабрикату добавляют 20% стерильной, инактивированной при 50°С в течение 1 ч сыворотки крупного рогатого скота и пенициллин из расчета 50 ЕД на 1 см³ среды.

Готовую среду разливают по пробиркам, скашивают, выдерживают при комнатной температуре в течение 24 ч. Для проверки на стерильность пробирки со средой помещают в термостат на 2—3 сут при температуре 38°С. При посевах используют свежую среду, приготовленную не более чем за 14 сут до исследования. Среды хранят в сухом прохладном месте.

3.2. **Проведение исследования**

3.2.1. Фекальные массы, измельченные и растертые в ступке (около 10 см³), смешивают с 10 частями 5%-ного раствора щавелевой кислоты в стерильном флаконе с крышкой и встряхивают.

Флакон со смесью ставят на 20—30 мин при 37°С на водяную баню, а затем центрифугируют с частотой вращения 2500—3000 об/мин в течение 15 мин.

После центрифугирования отделяют надосадочную жидкость, осадок отмывают стерильным физиологическим раствором, затем с поверхности его бактериологической петлей берут материал и высевают в 5—6 пробирок с питательной средой с микобактином и для контраста в среду Левенштейна—Йенсена.

3.2.2. Кусочки лимфатических узлов и отдельно соскобы (ткань) слизистой оболочки и подслизистого слоя кишечника (5—6 кусочков) измельчают ножницами до 2—3 мм и помещают в разные стерильные ступки, покрытые пергаментной бумагой.

Лимфатические узлы заливают 3%-ным раствором серной кислоты в соотношении 1 : 10, а слизистую оболочку кишечника — 6%-ным раствором этой кислоты и выдерживают в течение 10—15 мин.

Раствор серной кислоты сливают, а патологический материал заливают в зависимости от концентрации серной кислоты на 5 или 10 мин соответственно стерильным физиологическим раствором в таком же объеме.

Физиологический раствор сливают, кусочки материала растирают и суспензируют в небольшом количестве стерильного физиологического раствора, а затем высевают в 5—6 пробирок на питательную среду с микобактином и среду Левенштейна—Йенсена, как указано в п. 3.2.1.

Питательные среды после высева материала выдерживают в термостате при 38°С в течение 3—4 мес.

Рост возбудителя паратуберкулеза на средах с сильным обсеменением тканей появляется через 18—20 сут, при слабом — в течение 3—4 мес. Культуры вырастают в виде плоских колоний с неровными краями и ядром в центре. В дальнейшем они принимают бугристый вид.

Для идентификации выделенную культуру высевают на среду с микобактином и без него. Возбудитель паратуберкулеза в первых генерациях размножается на питательной среде только в присутствии микобактина.

3.3. **Обработка результатов**

3.3.1. Результат исследования считают положительным, если культура выросла на среде с микобактином и отсутствует ее рост на средах без него.

4. МЕТОД СЕРОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Сущность метода заключается в выявлении комплемент—связывающих антител в сыворотке крови животных, инфицированных микобактериями паратуберкулеза, реакцией связывания комплемента (РСК).

4.1. **Аппаратура, материалы и реактивы**

Центрифуга с частотой вращения 3000 об/мин.

Термостат с регулированием температуры на 37—38°С.

Баня водяная с терморегулятором на 30—70°С.

pH-метр ЛПУ-01 или другого типа того же класса точности.

Автоклав.

Антиген паратуберкулезный для РСК.

Сыворотка положительная контрольная.

Сыворотка отрицательная контрольная.

Сыворотка гемолитическая для РСК по ГОСТ 16445—78.

Комплемент сухой по ГОСТ 16446—78.

Эритроциты крови барана, 2,5%-ная взвесь.

Глюкоза по ГОСТ 975—75.

Натрий хлористый по ГОСТ 4233—77, 0,85%-ный раствор, pH 7,0—7,2.

Натрий лимоннокислый по ГОСТ 22280—76.

Кислота лимонная по ГОСТ 3652—69.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709—72.

Раствор Альсивера; готовят следующим образом: растворяют в 1 $дм^3$ дистиллированной воды 18,7 г глюкозы, 4,2 г хлористого натрия, 8,0 г лимоннокислого натрия, 0,5 г лимонной кислоты. Раствор доводят до кипения, охлаждают, пропускают через бумажный фильтр, разливают в колбы или флаконы и стерилизуют в автоклаве.

4.2. **Подготовка к исследованию**

4.2.1. Для приготовления суспензии эритроцитов крови барана берут кровь из яремной вены барана (овцы) с соблюдением правил асептики в сосуд, содержащий стеклянные или фарфоровые бусы, и дефибринируют или в сосуд, содержащий раствор Альсивера (для консервирования) в количестве, равном количеству крови.

Свежедефибринированную кровь или кровь через 6—14 сут после ее консервирования два-три раза отмывают в течение 15 мин на центрифуге с частотой вращения 2000—3000 об/мин в физиологическом растворе до полного обесцвечивания надосадочной жидкости. Для постановки реакции готовят из осадка взвесь эритроцитов в физиологическом растворе.

4.2.2. Для приготовления гемолитической системы, применяемой в РСК, смешивают равные объемы гемолитической сыворотки в удвоенном титре, указанном учреждением, ее изготовившим, и взвеси эритроцитов. Смесь оставляют на 15 мин для сенсибилизации.

4.3. **Проведение исследования**

4.3.1. Реакцию связывания комплемента (РСК) проводят в пробирках вместимостью 2,5 см³ по 0,5 см³ каждого компонента — сыворотки (испытуемой и контрольных), антигена, комплемента и 1 см³ гемолитической системы.

Предварительно испытуемую сыворотку, сыворотки отрицательную и положительную (контроли) разбавляют физиологическим раствором 1 : 10, инактивируют в водяной бане при температуре 61—62°С в течение 30 мин.

Реакцию связывания комплемента проводят в водяной бане при температуре 37—38°С. Время связывания комплемента 20 мин, время реакции после добавления гемолитической системы — 20 мин.

В качестве контроля вместо испытуемой сыворотки в РСК используют отрицательную, а также положительную паратуберкулезные сыворотки в разведениях 1 : 10 с антигеном и 1 : 10 без антигена.

Контролем гемолитической системы является 1,5 см³ физиологического раствора и 1 см³ гемолитической системы.

При постановке опыта проводят титрование комплемента в соответствии с ГОСТ 16448—78. В РСК берут комплемент в количестве на два интервала выше его титра (при титре 0,16—0,22; пентитре 0,22—0,28).

Титры каждой серии антигена и гемолитической сыворотки устанавливают предприятия-изготовители.

Реакцию связывания комплемента учитывают визуально один раз через 16—18 ч выдерживания в прохладном месте.

4.4. **Обработка результатов**

Результаты реакции учитывают по следующей схеме:

++++ (4 креста) — отсутствие гемолиза, надосадочная жидкость прозрачная и бесцветная;

+++ (3 креста) — 25% гемолиза эритроцитов;

++ (2 креста) — 50% гемолиза эритроцитов;

+ (1 крест) — 75% гемолиза эритроцитов;

— (минус) — полный гемолиз, осадка эритроцитов нет, жидкость интенсивно окрашена гемоглобином.

Реакцию связывания комплемента, оцененную в два креста и более при полном гемолизе эритроцитов в контрольном опыте без антигена, считают положительной.

Задержку гемолиза в «один крест» принимают за сомнительный результат и сыворотку крови от этого животного через 15—20 сут исследуют повторно.

5. МЕТОД ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Сущность метода заключается в выявлении в тканях животных, больных паратуберкулезом, микобактерий возбудителя болезни и характерных морфологических изменений.

5.1. **Аппаратура, материалы, реактивы**

5.1.1. Аппаратура, материалы и реактивы, указанные в п. 2.1, и дополнительно:

микротом с микротомными ножами;
блоки деревянные;
стекла покровные по ГОСТ 6672—75;
спирт этиловый ректификованный, 96%-ный по ГОСТ 5962—67;
формалин по ГОСТ 1625—75, 10%-ный раствор;
углекислота;
эфир;
хлороформ по ГОСТ 20015—74;
ксилол (пара, орто, мета) по ГОСТ 9949—76;
гемотоксилин;
эозин – 1,5%-ный раствор;
фуксин основной;
парафин по ГОСТ 23683—79;
целлоидин;
бальзам пихтовый по ГОСТ 2290—76 или кедровый, или канадский.

5.2. **Подготовка к исследованию**

5.2.1. Кусочки ткани заливают в целлоидин или парафин и делают срезы. Срезы готовят также и на замораживающем микротоме. Препараты окрашивают гемотоксилин-эозином и по Цильд-Нильсену в модификации для окраски срезов.

5.3. **Проведение исследования**

5.3.1. Срезы просматривают под микроскопом.

5.4. **Обработка результатов**

5.4.1. Обнаружение в стенке кишечника и брыжеечных лимфатических узлах пролиферации из эпителиоидных и гигантских клеток с микобактериями или без них (у $^1/_3$ животных гигантские клетки и микобактерии могут отсутствовать) свидетельствует о типичных для паратуберкулеза гистологических изменениях.

При дифференциальной диагностике паратуберкулеза учитывают сходные изменения, наблюдаемые при туберкулезе, неспецифическом катаре кишечника и паразитарных болезнях.

При туберкулезе кишечника находят обизвествленные казеозные очаги в стенке кишечника, брыжеечных и других лимфатических узлах и органах, отсутствующих при паратуберкулезе. При окраске срезов по Циль-Нильсену обнаруживают редко единичные микобактерии.

Паразитарные узелки дифференцируют по нахождению паразита и эозинофильноклеточной пролиферации.

При неспецифическом — банальном катаре кишечника отсутствуют эпителоидные пролифераты в стенке кишки и в регионарных лимфатических узлах.

Редактор *Р. С. Федорова*
Технический редактор *Г. Н. Макарова*
Корректор *В. С. Черная*

gost.e-ecolog.ru

Подп. в печ. 02.04.84 1,0 усл. п. ч.
0,77 уч.-изд. л. Тир. 16 000 Цена 5 коп.

Ордена «Знак Почета» Издательство стандартов, 123840, Москва, ГСП, Новопресненский пер., 3
Тип. «Московский печатник», Москва, Лялин пер., 6. Зак. 227