ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ЖИВОТНЫХ

ВЕТЕРИНАРНАЯ МЕДИЦИНА

П. И. Барышников, В. В. Разумовская



gost.e-ecolog.ru



ЛАНЬ®
· САНКТ-ПЕТЕРБУРГ ·
· МОСКВА ·
· КРАСНОДАР ·
· 2015 ·

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ЖИВОТНЫХ

Составители:
П. И. Барышников,
В. В. Разумовская

Издание второе, исправленное

ДОПУЩЕНО
Министерством сельского хозяйства РФ в качестве учебного пособия для студентов вузов, обучающихся по направлению подготовки (специальность) «Ветеринария»

ДОПУЩЕНО
УМО вузов РФ по образованию в области зоотехнии и ветеринарии в качестве учебного пособия для студентов вузов, обучающихся по направлению подготовки (специальность) «Ветеринария» (квалификация (степень) «Ветеринарный врач»)

ЛАНЬ®
·САНКТ-ПЕТЕРБУРГ·МОСКВА·КРАСНОДАР·
·2015·

ББК 48.7я73
Л 12

Л 12 Лабораторная диагностика вирусных болезней животных / Сост. П. И. Барышников, В. В. Разумовская: Учебное пособие. — 2-е изд., испр. — СПб.: Издательство «Лань», 2015. — 672 с.: ил. — (Учебники для вузов. Специальная литература).

ISBN 978-5-8114-1882-4

Учебное издание содержит действующие методические указания, наставления и инструкции по лабораторной диагностике вирусных болезней животных, утвержденные Министерством сельского хозяйства СССР, РФ и Россельхознадзором РФ. Документы систематизированы по видам животных, в большинстве прошли многолетнюю апробацию в Алтайской краевой ветеринарной лаборатории и включены в «Перечень нормативной документации, разрешенной для использования в государственных ветеринарных лабораториях при диагностике болезней животных, рыб, пчел, а также контроля безопасности сырья животного и растительного происхождения» (по состоянию на июль 2011 г.). Приводятся предметный указатель и библиографический список.

Предназначено для студентов, обучающихся по специальности «Ветеринария» и направлению «Ветеринарно-санитарная экспертиза», ветеринарных врачей и лаборантов ветеринарных лабораторий.

ББК 48.7я73

Рецензенты:
И. И. ГУСЛАВСКИЙ — доктор ветеринарных наук, профессор кафедры микробиологии, эпизоотологии, паразитологии и ВСЭ Алтайского государственного аграрного университета;
В. И. ПЛЕШАКОВА — доктор ветеринарных наук, профессор, зав. кафедрой ветеринарной микробиологии, вирусологии и иммунологии Омского государственного аграрного университета им. П. А. Столыпина;
В. А. СИНИЦЫН — доктор ветеринарных наук, зав. отделом ФГБУ «Новосибирская межрегиональная ветеринарная лаборатория».

Обложка
Е. А. ВЛАСОВА

© Издательство «Лань», 2015
© Коллектив авторов, 2015
© Издательство «Лань», художественное оформление, 2015

5.
БОЛЕЗНИ СВИНЕЙ

КЛАССИЧЕСКАЯ ЧУМА

5.1.
МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ КЛАССИЧЕСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ

(утверждены 30 декабря 1996 г., № 13-4-2/809)

1. Общие положения.

1.1. Лабораторная диагностика классической чумы свиней (КЧС) основана на:

- обнаружении антигена вируса КЧС реакцией прямой иммунофлуоресценции в клетках мазков-отпечатков проб органов;
- выделении эпизоотического вируса КЧС из патологического материала инокуляцией перевиваемой культуры клеток почки поросенка (РК-15) и его идентификации реакцией прямой иммунофлуоресценции;
- обнаружении специфических антител в сыворотках крови переболевших классической чумой свиней реакцией нейтрализации флуоресцирующих микробляшек или реакцией непрямой иммунофлуоресценции;
- выделении и идентификации вируса КЧС биопробой на животных.

Для постановки иммунофлуоресцентных реакций используют «Набор препаратов для иммунофлуоресцентной диагностики классической чумы свиней».

1.2. При проведении лабораторной диагностики руководствуются «Правилами работы и охраны труда в ветеринарных лабораториях», утвержденными Министерством сельского хозяйства СССР 14 января 1975 г.

2. Схема проведения лабораторных исследований.

2.1. Отбор проб органов и подготовка патологического материала для исследования.

2.2. Приготовление мазков-отпечатков для постановки реакции прямой иммунофлуоресценции и экстрактов проб исследуемых органов для инокуляции культуры клеток (проводится одновременно).

2.3. Постановка реакции прямой иммунофлуоресценции (РПИФ) с целью обнаружения специфического антигена вируса КЧС в мазках-отпечатках из проб органов. По положительным или отрицательным результатам реакции ставят предварительный диагноз.

2.4. Инокуляция культуры клеток РК-15 экстрактами суспензий проб исследуемых органов с последующей постановкой РПИФ для обнаружения и идентификации эпизоотического вируса КЧС.

2.5. Исследование сывороток крови свиней в реакции нейтрализации флуоресцирующих микробляшек (РНФМ) или реакции непрямой иммунофлуоресценции (РНИФ). Серологические исследования проводят в тех случаях, когда пробы крови получены от свиней, подозреваемых в переболевании классической чумой (ретроспективные исследования из хозяйств, не применяющих вакцинацию против КЧС в течение последних 2 лет.

2.6. Постановку биопробы проводят только по указанию Департамента ветеринарии, когда при подозрении на КЧС на основании эпизоотологического обследования получены отрицательные результаты лабораторных исследований.

3. Отбор и подготовка проб к исследованию.

3.1. Для исследования берут лимфатические узлы (подчелюстные и мезентериальные), части миндалин, селезенки, легкого, почки, кровь и костный мозг (из грудной или трубчатой кости) от 3...5 животных, убитых в стадии агонии, или не позже чем через 2...3 ч после гибели.

3.2. Пробы отбирают в стерильные флаконы массой 5...10 г каждый, герметически укупоривают резиновыми пробками.

Флаконы снаружи обрабатывают 5%-ным раствором едкого натра или осветленным 20%-ным раствором хлорной извести, обертывают марлей, смоченной тем же раствором, укладывают в полиэтиленовый пакет и помещают в

термос со льдом. В случае длительной транспортировки (более 2 сут) пробы органов замораживают. Термос помещают в металлический контейнер, опечатывают и доставляют с нарочным в лабораторию с сопроводительным документом.

3.3. При ретроспективной диагностике направляют 5...10 проб крови (по 5...8 $см^3$) от свиней, подозреваемых в переболевании классической чумой. Кровь берут не ранее чем через 15...20 сут после установления признаков болезни.

3.4. В лаборатории пробы селезенки, лимфатических узлов, легкого, почки каждого животного очищают от жировой и соединительной тканей и готовят по 2 мазка-отпечатка каждого органа для РПИФ. Для этого обезжиренные спирт-эфиром (1:1) покровные стекла укрепляют в расщепах деревянных палочек с условными номерами и делают мазок-отпечаток, прикладывая стекло к поверхности среза исследуемого органа (каждый отпечаток делается новым срезом органа). Мазки-отпечатки высушивают на воздухе при комнатной температуре (30...60 мин) и помещают в химический стакан с холодным (2...4°С) ацетоном. Фиксацию проводят в камере бытового холодильника при (4±2)°С в течение 10...15 мин. Затем мазки-отпечатки извлекают из ацетона, высушивают и используют для постановки РПИФ. Хранят мазки-отпечатки при (4±2)°С не более 3 сут.

Контрольные отрицательные мазки-отпечатки готовят заранее, используя пробы органов от здоровых животных.

3.5. Навески каждого органа (примерно по 2 г) отдельно растирают в ступке со стерильным порошком из стекла или песком и готовят 20%-ную суспензию на стерильном 0,85%-ном растворе хлористого натрия. Приготовленные суспензии дважды замораживают при −10...−12°С, оттаивают при 30...37°С и центрифугируют в рефрижераторной центрифуге при 2500...3000 об/мин в течение 10...15 мин. Надосадочную жидкость (экстракт) отсасывают, вносят 100 ЕД/$см^3$ пенициллина и 100 мг/$см^3$ стрептомицина (конечная концентрация), выдерживают 1 ч при (37±0,5)°С и готовят разведения 1:5 и 1:10 на стерильном 0,85%-ном растворе хлористого натрия. Для инокуляции культуры клеток используют как исходные (неразведенные) экстракты, так и разведенные.

3.6. Для получения сыворотки пробы крови выдерживают 1 ч в термостате при (37±0,5)°С или при комнатной температуре до образования сгустка. Сгусток обводят и пробы переносят в камеру бытового холодильника на 10...14 ч. Сыворотку отсасывают и используют для исследования.

4. Обнаружение антигена вируса КЧС реакцией прямой иммунофлуоресценции в мазках-отпечатках.

4.1. Содержимое ампулы ФИТЦ-иммуноглобулинов КЧС растворяют 0,5 $см^3$ дистиллированной воды и готовят рабочее разведение препарата на 0,01 М фосфатно-солевом буферном растворе — ФСБ (приготовление буферного раствора в Приложении, п. 1), указанное на ампуле.

4.2. Препараты мазков-отпечатков, приготовленные по п. 3.4, помещают на капли ФИТЦ-иммуноглобулинов КЧС, нанесенные в рабочем разведении на края предметных стекол, находящихся во влажной камере, и выдерживают при (37±0,5)°С в течение 30 мин.

4.3. Препараты снимают с предметных стекол, ополаскивают ФСБ и свободными концами спичек укрепляют в гнездах отмывочного штатива. Штатив помещают в цилиндрическую банку с раствором ФСБ, установленную на магнитную мешалку. Отмывание мазков-отпечатков от несвязавшихся или неспецифически связавшихся ФИТЦ-иммуноглобулинов ведут в течение 20 мин в темном месте, сменяя буферный раствор через 10 мин.

4.4. После отмывания препараты ополаскивают дистиллированной водой, подсушивают на воздухе и помещают на капли нефлуоресцирующего глицерина, разведенного раствором ФСБ в соотношении 9:1, нанесенные на прозрачные обезжиренные предметные стекла. Края препаратов заливают расплавленным парафином.

4.5. Люминесцентную микроскопию препаратов проводят в сине-фиолетовом свете при освещении их сверху, через объектив на микроскопах типа «ЛЮМАМ». Возбуждающий светофильтр ФС-1-2 или СС-15-2; запирающий ЖС-18 + ЖЗС-19. Препараты последовательно просматривают при увеличении 7×10, 7×40 («сухая» микроскопия), затем при необходимости в иммерсионной системе при уве-

личении 7×90, используя неразведенный нефлуоресцирующий глицерин.

4.6. Специфическую флуоресценцию учитывают в лимфоидных клетках паренхимы селезенки, лимфатических узлов, легкого, расположенных группами, а также в эпителиальных клетках миндалин и клетках эпителия почечных канальцев, расположенных группами. Флуоресценцию обнаруживают в виде яркого, зеленого, диффузного свечения цитоплазмы антигенсодержащих клеток.

4.7. Учет и оценка результатов.

Проводят по условной четырехкрестовой шкале при увеличении 5×40: (++++, +++, ++, +) обнаружение во всех полях зрения множества групп клеток с яркой зеленой цитоплазматической флуоресценцией — результат положительный; (±) обнаружение в 5...10 полях зрения единичных групп, состоящих из 3...5 клеток с зеленой цитоплазматической флуоресценцией — результат сомнительный; отсутствие в мазках-отпечатках клеток с цитоплазматической флуоресценцией. Свечение клеток тускло-зеленое — результат отрицательный.

Отдельно расположенные клетки с флуоресценцией цитоплазмы или ядра не учитывают.

5. Выделение эпизоотического вируса КЧС из патологического материала инокуляцией перевиваемой культуры клеток почки поросенка (РК-15) и идентификация его реакцией прямой иммунофлуоресценции.

5.1. Подготовленные для исследования экстракты 20%-ных суспензий проб органов (п. 3.5) вносят по 0,5...0,6 $см^3$ в пробирки с культурой клеток РК-15, выращенной на стеклянных пластинках из покровных стекол (выращивание культуры клеток РК-15 в Приложении, п. 2), предварительно удалив ростовую среду. Для инокуляции суспензии каждого органа берут не менее 8 пробирок.

Пробирки помещают в термостат (37±0,5)°С на 2 ч. По истечении указанного времени инокулюм удаляют, монослой клеток однократно промывают средой Игла (МЕМ) без сыворотки. Затем в пробирки вносят по 2,0 $см^3$ питательной среды, содержащей 2% фетальной сыворотки крупного рогатого скота (поддерживающая среда), и инкубируют

24...96 ч. Через 24 ч после инокуляции поддерживающую среду меняют на свежую. В качестве контроля культуры клеток (отрицательные препараты) 8 пробирок оставляют интактными, предварительно сменив ростовую среду на поддерживающую.

5.2. Каждые 24 ч по 2 пластинки с культурой клеток, инокулированной исследуемым экстрактом суспензии каждого органа, извлекают из пробирок, вставляют в расщепы спичек с номерами, обсушивают на воздухе до полного удаления влаги и фиксируют холодным ацетоном в течение 10 мин (п. 3.4).

5.3. С препаратами, приготовленными по п. 5.2, ставят РПИФ и проводят люминесцентную микроскопию (пп. 4.2...4.5).

5.4. Оценка результатов.

5.4.1. При обнаружении специфической желто-зеленой или зеленой диффузной флуоресценции в цитоплазме клеток, расположенных группами («флуоресцирующие микроблящки»), и отсутствии ее в отрицательных препаратах вирус КЧС считают выделенным и идентифицированным, а результат положительным.

5.4.2. В случае обнаружений тусклой, диффузной зеленой флуоресценции в клетках препаратов и при отсутствии «флуоресцирующих микробляшек» после 96-часовой инкубации проводят 2 дополнительных пассажа.

Для этого пробирки с инокулированной культурой 1-го пассажа, взятые через 96 ч культивирования (п. 5.1), дважды замораживают при −10...−12°С, оттаивают при 30...37°С и культуральную жидкость используют в качестве инокулюма для проведения 2-го пассажа (пп. 5.1...5.4). 3-й пассаж проводят аналогично.

В случае отсутствия «флуорецирующих микробляшек» в третьем пассаже результат считают отрицательным.

6. Обнаружение специфических антител в сыворотках крови переболевших классической чумой свиней реакцией нейтрализации флуоресцирующих микробляшек и реакцией непрямой иммунофлусресценции.

6.1. Постановка реакции нейтрализации флуоресцирующих микробляшек (РНФМ).

6.1.1. Исследуемые сыворотки и контрольные (специфическую и нормальную сыворотки, взятые из «Набора препаратов», перед постановкой реакции растворяют 0,5 $см^3$ дистиллированной воды), прогревают при 56°С 50 мин и разводят в пенициллиновых флаконах средой Игла (МЕМ) 1:8 (к 0,2 $см^3$ сыворотки добавляют 1,4 $см^3$ среды).

6.1.2. Во флаконы с разведенными сыворотками вносят равный объем 1000 $ККИД_{50}/см^3$ вируса КЧС, шт. «Щи-Мынь», (титрование вируса и расчет рабочей дозы вируса в Приложении, п. 3), тщательно встряхивают и инкубируют в течение 60 мин в термостате при (37±5)°С.

6.1.3. После инкубации по 0,5 $см^3$ смеси вносят в пробирки с выращенной культурой клеток РК-15 на стеклянных пластинках, предварительно удалив ростовую среду. На каждую сыворотку берут по 4 пробирки. В качестве контроля токсичности разведенные сыворотки без вируса в объеме 0,5 $см^3$ вносят в 4 пробирки и 4 пробирки оставляют интактными, сменив ростовую среду на поддерживающую («контроль культуры клеток»).

6.1.4. Через 2 ч смесь из пробирок удаляют, монослой дважды промывают средой Игла (МЕМ) и заливают поддерживающую среду. Каждые 24 ч культуру клеток просматривают под малым увеличением светового микроскопа для контроля дегенерации клеток.

6.1.5. При отсутствии дегенеративных изменений клеток через 48 ч после внесения смесей пластинки извлекают из пробирок, готовят препараты (п. 5.2), ставят реакцию прямой иммунофлуоресценции (пп. 4.2...4.4) и проводят люминесцентную микроскопию (п. 4.5).

6.1.6. Оценка результатов.

Результаты начинают оценивать в том случае, если в препаратах, обработанных смесью «нормальная сыворотка — вирус», обнаруживают флуоресцирующие микробляшки при их отсутствии в препаратах, обработанных смесью «специфическая сыворотка — вирус».

При отсутствии флуоресцирующих микробляшек в препаратах, обработанных смесью «исследуемая сыворотка — вирус», результат считают положительным, в случае обнаружения — отрицательным.

6.2. Постановка реакции непрямой иммунофлуоресценции (РНИФ).

6.2.1. Положительные и отрицательные тест-препараты (приготовление в Приложении, п. 4) помещают на капли исследуемых и контрольных (специфической и нормальной) сывороток, разведенных 1:20, нанесенные на края предметных стекол во влажной камере. На каждую сыворотку берут по 2 положительных и отрицательных тест-препарата. Обработку тест-препаратов сыворотками проводят при (37±0,5)°С в течение 30 мин.

6.2.2. Отмывание тест-препаратов от несвязавшихся антител проводят по п. 4.3.

6.2.3. Тест-препараты слегка подсушивают и помещают на капли раствора ФИТЦ-иммуноглобулинов антисвиных в рабочем разведении, нанесенные на края предметных стекол во влажной камере. Обработку тест-препаратов ФИТЦ-иммуноглобулинами антисвиными проводят при (37±0,5)°С в течение 30 мин.

6.2.4. Отмывание тест-препаратов от несвязавшихся ФИТЦ-иммуноглобулинов антисвиных, подготовку препаратов для люминесцентной микроскопии и микроскопию проводят по пп. 4.3–4.5.

6.2.5. Оценка результатов.

Проводят по интенсивности свечения антигенсодержащих клеток флуоресцирующих микробляшек положительных и отрицательных тест-препаратов, обработанных исследуемыми и контрольными сыворотками:

- яркое, желто-зеленое или изумрудное свечение вирусспецифических антигенов в зараженных клетках положительных тест-препаратов, обработанных исследуемыми и контрольными сыворотками;
- яркое, желто-зеленое или изумрудное свечение вирусспецифических антигенов в зараженных клетках положительных тест-препаратов, обработанных исследуемыми сыворотками, — результат положительный;
- тусклое зеленое свечение в клетках положительных тест-препаратов — результат отрицательный.

В положительных тест-препаратах, обработанных специфической сывороткой, наблюдают яркое желто-зеленое

или изумрудное свечение вирусспецифических антигенов в зараженных клетках и отсутствие подобного свечения в специфических тест-препаратах, обработанных нормальной сывороткой; в отрицательных тест-препаратах, обработанных специфической и нормальной сыворотками, наблюдают тусклое зеленое свечение цитоплазмы клеток.

7. Выделение и идентификация вируса КЧС биопробой на животных.

7.1. Для постановки биопробы используют 4 здоровых поросят 2...4-месячного возраста, полученных от свиноматок, не вакцинированных против КЧС и не содержащих в сыворотке крови специфических антител к вирусу КЧС, и 2 поросят такого же возраста, иммунных против КЧС. Для иммунизации поросятам вводят по 1000 $ИмД_{50}/см^3$ вирусвакцины ЛК ВНИИВВиМ против классической чумы свиней и через 10...15 сут после прививки используют для постановки биопробы.

7.2. Животных помещают в разные боксы по два подсвинка в каждый станок.

7.3. Двух неиммунных подсвинков содержат в отдельном помещении в качестве контрольных.

7.4. Содержание и кормление животных должны соответствовать зоотехническим нормам.

7.5. Непосредственно перед введением готовят экстракты 20%-ных суспензий лимфатических узлов и селезенки подозреваемых в заболевании классической чумой свиней (п. 3.5) и фильтруют через фильтр «Миллипор» (или его аналог) с величиной пор 0,22...0,48 мкм.

Равные объемы экстрактов органов смешивают, при этом общий объем смеси должен быть не менее 20 $см^3$.

7.6. Подготовленный материал вводят двум восприимчивым и двум иммунным животным внутримышечно, соблюдая правила асептики, с внутренней стороны бедра в количестве 3...5 $см^3$ каждому поросенку. За животными ведут клиническое наблюдение с ежедневным измерением температуры тела в течение 15 сут.

7.7. Оценка результатов.

7.7.1. При повышении температуры тела у невакцинированных поросят до 40,5...42°С, угнетении, отсутствии аппетита через 3...5 сут после введения исследуемого матери-

ала, на 5...10-е сутки после повышения температуры тела выше нормы проводят убой поросят и отбор проб органов (п. 3.1), их подготовку (п. 3.5) и исследование (пп. 5.1...5.4) с целью реизоляции и идентификации вируса КЧС. При выделении и идентификации вируса результат биопробы считают положительным.

7.7.2. При установлении заболевания и гибели невакцинированных и вакцинированных против КЧС поросят проводят дифференциальные лабораторные исследования на африканскую чуму свиней.

8. Постановка лабораторного диагноза.

Диагноз на классическую чуму свиней считают установленным в случае:

- выделения и идентификации вируса КЧС в одной из исследуемых проб органов;
- выявления специфических антител в сыворотках крови свиней, полученных из хозяйств, не применяющих вакцинацию против КЧС в течение последних 2 лет;
- получения положительных результатов биопробы на животных, реизоляции и идентификации вируса.

9. Срок исследований: вирусологических — 2...12 сут, серологических — 1...2 сут, биопроба — 12...24 сут.

ПРИЛОЖЕНИЕ к Методическим указаниям по лабораторной диагностике классической чумы свиней.

1. Материалы и реактивы для постановки реакции прямой и непрямой иммунофлуоресценции.

1.1. Предметные стекла по ГОСТ 9284-75, обезжиренные спирт-эфиром, взятыми в соотношении 1:1.

1.2. Влажная камера (чашка Петри) или стерилизатор с увлажненной фильтровальной бумагой.

1.3. Фосфатно-солевой буферный раствор (ФСК) 0,01 М pH 7,2...7,5 готовят, смешивая:

а) 0,01 М раствор двузамещенного фосфата натрия (1,42 г Na_2HPO_4 безводного или 1,78 г $N_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) с 0,85% хлористого натрия, воды дистиллированной до 1 дм^3;

б) 0,001 М раствор однозамещенного фосфата калия (1,36 г KH_2PO_4) с 0,85% хлористого натрия, воды дистиллированной до 1 дм^3.

Для приготовления 0,01 М ФСБ с pH 7,2...7,4 смешивают 850 $см^3$ раствора «а» с 250 $см^3$ раствора «б».

1.4. Штатив для отмывки препаратов изготавливают из пенопласта размером 10×10×2 см или из деревянной дощечки такого же размера.

1.5. Банка цилиндрическая по ГОСТ 23932-79.

1.6. Нефлуоресцирующий глицерин или глицерин для люминесцентной микроскопии (фирмы «Merck» art..4095 или любой другой фирмы).

1.7. Парафин по ГОСТ 23683-79.

1.8. Магнитная мешалка любого типа.

1.9. Набор препаратов для иммунофлуоресцентной диагностики классической чумы свиней.

2. Поддержание и выращивание перевиваемой культуры клеток почки поросенка (РК-15).

2.1. Работу проводят в изолированном, стерильном помещении. При одновременной работе с другими линиями клеток принимают меры для предотвращения контаминации одной линии клетками другой.

2.2. Материалы, необходимые для поддержания и культивирования культуры клеток РК-15.

Среда Игла (МЕМ), содержащая L-глутамин (300 мг на 1 $дм^3$).

Сыворотка фетальная крупного рогатого скота (КРС), не содержащая антител к вирусу диареи крупного рогатого скота.

- 0,25% раствор трипсина;
- 0,02% раствор версена;
- пенициллин, стрептомицин;
- пробирки биологические;
- флаконы (матрасы) РУ;
- покровные стекла 18×18;
- стерильные центрифужные флаконы 100...500 $см^3$;
- рефрижераторная низкоскоростная центрифуга.

2.3. Культивирование клеток.

2.3.1. Суспензию клеток готовят на среде Игла (МЕМ), содержащей 5...10% фетальной сыворотки крупного рогатого скота, прогретой при (56±2)°С в течение 30 мин — ростовая среда. Ростовую среду считают пригодной для работы,

если монослой формируется на 3...4-е сутки при посадочной концентрации клеток 100 000 в 1 $см^3$ и объеме суспензии 100 $см^3$/флакон РУ. Монослой клеток должен представлять собой единый пласт клеток с четким разделением границ между ними. При наличии округлых клеток с вакуолями, включениями и другими признаками цитопатологии данную партию культуры выбраковывают.

2.3.2. Пассаж (пересев) клеток проводят после образования сплошного монослоя клеток. Для этого из матраса удаляют ростовую среду и вносят подогретую до (37±0,5)°С смесь 0,25%-ного раствора трипсина и 0,02%-ного раствора версена в соотношении 1:9. Матрас помещают в термостат на 5...7 мин. Как только часть клеток начинает отслаиваться от стекла, 90...95% диспергирующего раствора удаляют, добавляют небольшое количество ростовой среды и матрацы энергично встряхивают до полного отделения клеток от стекла и берут пробу суспензии для подсчета клеток. Суспензию клеток разводят ростовой средой до концентрации 100 000 клеток/$см^3$. К приготовленной суспензии клеток добавляют антибиотики из расчета 100 ЕД/$см^3$ пенициллина и 100 мг/$см^3$ стрептомицина и разливают во флаконы РУ по 100 $см^3$ и по 2 $см^3$ в пробирки с покровными стеклами. Инкубируют при (37±0,5)°С. В случае неудовлетворительного роста клеток и формирования монослоя ростовую среду меняют на свежую.

3. Титрование и определение инфекционной активности вируса КЧС. Вируссодержащую культуральную жидкость, разведенную от 10^{-1} до 10^{-6} раствором Эрла или Хенкса, вносят в объеме 0,5 $см^3$ в пробирки с культурой клеток РК-15, выращенной на покровных стеклах, при этом ростовую среду предварительно удаляют. На каждое разведение вируссодержащего материала берут по 4 пробирки с хорошим монослоем.

После 2 ч контакта при (37±0,5)°С вируссодержащий материал удаляют и вносят по 2 $см^3$ поддерживающей среды и инкубируют 3 сут при (37±0,5)°С. Затем пластинки из пробирок извлекают, высушивают, обрабатывают холодным ацетоном. После фиксации ацетон с препаратов удаляют обсушиванием на воздухе (1...2 мин) и ставят РНИФ.

Титром вируса КЧС считают наибольшее его разведение, при котором обнаруживают флуоресцирующие микробляшки или единичные клетки, содержащие специфический цитоплазматический антиген вируса. Вычисляют титр по методу Рида и Менча (или его модификации), выражая его в клеточно-культуральных 50%-ных инфекционных дозах ($ККИД_{50}$/объем).

4. Приготовление тест-препаратов для постановки РНИФ.

4.1. Перевиваемую культуру клеток почки поросенка (РК-15), выращенную на покровных пластинках в пробирках, заражают стандартным вирусом КЧС (штамм «Ши-Мынь») в дозе 0,001...0,0001 $ККИД_{50}$/клетка в объеме 0,5 $см^3$ на пробирку, предварительно удалив ростовую среду, и помещают в термостат при (37±0,5)°С на 2 ч. Затем, удалив вируссодержащую жидкость, вносят поддерживающую среду. Зараженную культуру клеток инкубируют в условиях термостата при (37±0,5)°С.

4.2. Через 48 ч инкубации пластинки с зараженной культурой клеток извлекают, укрепляют в расщепы спичек, высушивают, обрабатывают холодным ацетоном в течение 10 мин и хранят в герметически закрытом контейнере при температуре −10...−12°С. Отрицательные тест-препараты готовят аналогично, исключая этап заражения культуры клеток.

КРАТКИЙ СЛОВАРЬ ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ВЕТЕРИНАРНЫХ ТЕРМИНОВ

Антигены (анти + греч. *genes* — порождающий) — чужеродные для организма высокомолекулярные органические вещества коллоидной структуры (белки, белково-липидные и белково-полисахаридные комплексы), способные при поступлении (введении парентерально) вызывать синтез особых глобулинов-антител и вступать в специфическое взаимодействие с ними.

Антитела (анти. + тело) — противотела — специфические белки (иммуноглобулины), образующиеся в организме под воздействием антигенов. Они накапливаются в сыворотке крови и тканях, вступают в специфическую связь с соответствующими антигенами и разрушают или обезвреживают их.

Биологическая проба (биопроба) — один из методов диагностики инфекционных болезней с помощью заражения патологическим материалом подопытных животных (куриных эмбрионов, культур клеток) и их исследования.

Вирион — полноценная внеклеточная вирусная частица.

Вирусовыделение — выделение возбудителей инфекции из организма больного животного или вирусоносителя.

Вирусоносительство — наличие возбудителя инфекции в определенных органах и тканях клинически здорового животного, не сопровождающееся иммунологической перестройкой организма.

Вирусы (лат. *virus* — яд) — облигатные внутриклеточные паразиты, отличающиеся от растительных и животных организмов малыми размерами, отсутствием клеточного строения и автономного метаболизма, наличием только одного типа нуклеиновой кислоты и дезъюнктивным способом размножения.

В. безоболочечные — вирусы, в структуре которых отсутствует липопротеидная оболочка.

В. оболочечные — вирусы, в структуре которых присутствует липопротеидная оболочка.

Вирусоскопия (вирусы + *skopeo* — смотрю, наблюдаю) — метод микроскопического изучения морфологии вирусов.

Гемагглютинация (греч. *haima* — кровь + *agglutinatio* — склеивание) — склеивание и выпадение в осадок эритроцитов под воздействием вирусов, бактерий, токсинов и др., способных адсорбироваться на поверхности эритроцитов, а также гемагглютининов.

Гемадсорбция (греч. *haima* — кровь + *adsorbtio* — поверхностное поглощение) — способность культур клеток, зараженных вирусами, адсорбировать эритроциты различных животных, что объясняется включением в плазматическую мембрану синтезирующихся вирусных белков.

Диагностика (греч. *diagnostikos* — способный распознавать) — раздел клинической ветеринарии о методах исследования животных для распознавания их болезней и состояния организма с целью назначения необходимого лечения и профилактических мероприятий.

Диагностический набор — набор стандартных препаратов, используемых для постановки диагноза (антиген, специфическая и контрольная сыворотки и др.).

ДНК-зондов метод — метод генодиагностики, основанный на способности меченой одноцепочечной молекулы ДНК взаимодействовать с комплементарной ей молекулой нуклеиновой кислоты определенного вируса с образованием двухцепочечной структуры.

ДНК-содержащие вирусы — вирусы, имеющие один тип нуклеиновой кислоты — ДНК, у большинства она представлена двухцепочечной структурой, у некоторых — одной цепью.

Идентификация (лат. *identifico* — отождествляю) — признание тождественности, опознание-определение видовой (типовой) принадлежности микроорганизма на основании всестороннего изучения его свойств.

Иммуноферментный анализ — группа методов, позволяющих выявлять комплекс антиген — антитело с помощью субстрата, который расщепляется ферментом (пероксидазой, щелочной фосфатазой и др.) с появлением окрашивания.

Инактивация вирусов (лат. *inactivus* — неактивный) — уничтожение инфекционной активности вирусов путем повреждения генома физическим или химическим воздействием.

Индикация возбудителя инфекции (лат. *indicatio* — указание) — выявление и идентификация патогенных микроорганизмов в различных объектах.

Инокуляция возбудителя (лат. *inoculatio* — прививка) — введение возбудителя путем инъекции (искусственное заражение или внесение его в организм животного членистоногими переносчиками при укусах).

Консервирование вирусов (лат. *conservare* — сохранять) — общее название методов воздействия физическими и (или) химическими факторами на какие-либо объекты с целью длительного сохранения в них вирусов.

Контаминация (лат. *contaminatio* — смешение) — обсеменение поверхности тела животного, предметов ухода, почвы, воды, кормов, биопрепаратов и других объектов патогенными микроорганизмами.

Культивирование вирусов — выращивание вирусов в искусственных условиях.

Культуры клеток (клеточные культуры) — клетки многоклеточного организма, живущие вне его в искусственно созданных условиях среды.

Куриный эмбрион — оплодотворенное куриное яйцо, выдержанное в инкубаторе.

Лабораторные животные — животные, используемые в лабораториях при проведении исследований (мыши, крысы, кролики, морские свинки, хомяки, голуби и др.).

Лиофилизация (греч. *lyo* — растворяю + *phileo* — люблю) — высушивание предварительно замороженного материала в глубоком вакууме.

Моноклональные антитела — строго специфические антитела, способные выявить минимальные различия в химическом составе и пространственной конфигурации молекул, являются продуктом отдельных клонов антителопродуцирующих клеток.

Парные сыворотки — сыворотки, взятые в самом начале заболевания и 2...3 недели спустя. Повышение титра антител в 4 раза и более считается основой положительной реакции.

Пассаж (фр. *passage* — переход) — последовательное заражение восприимчивых объектов (животные, куриные эмбрионы, культуры клеток) микроорганизмами.

Полимеразная цепная реакция (от англ. *Polymerase Chain Reaction*, ПЦР) — метод генодиагностики, основанный на многократном увеличении копий строго определенных фрагментов

молекулы ДНК вируса при помощи фермента термостабильной ДНК-полимеразы.

Реакция гемагглютинации (РГА) — метод обнаружения и идентификации вирусов, основанный на способности многих вирусов, обладающих тканевым тропизмом, агглютинировать эритроциты определенных видов животных.

Реакция иммунофлуоресценции (РИФ) (лат. *fluorescens* — светящийся) — серологическая реакция, основанная на взаимодействии антиген — антитело, при этом один из компонентов, участвующий в реакции, связан с флуоресцирующим красителем.

Реакция нейтрализации (РН) — метод идентификации вируса, основанный на феномене потери им инфекционности в результате взаимодействия со специфическими антителами.

Реакция связывания комплемента (РСК) — метод серологического исследования, основанный на способности образующегося комплекса антиген — антитело связывать комплемент, что выявляется по отсутствию гемолиза при добавлении гемолизина и эритроцитов.

Реакция торможения гемагглютинации (РТГА) — метод идентификации вируса или выявления противовирусных антител в сыворотке крови, основанный на феномене отсутствия агглютинации эритроцитов вирусом, в присутствии специфических к нему антител.

РНК-содержащие вирусы — вирусы, имеющие один тип нуклеиновой кислоты — РНК, у большинства она представлена одной цепью, у некоторых — двухцепочечной структурой.

Серовариант — самостоятельная группа внутри определенного вида и серогруппы (серотипа) микроорганизмов, обусловленная наличием антигенов, отличающихся от антигенов других микроорганизмов этого вида и серогруппы (серотипа), что выявляется с помощью серологических реакций.

Серогруппа (серотип) — самостоятельная группа внутри определенного вида микроорганизмов, обусловленная наличием антигенов, отличающихся от антигенов других микроорганизмов этого вида, что выявляется с помощью серологических реакций.

Серологические реакции — реакции, широко используемые при постановке диагноза инфекционных болезней, методы обнаружения антител и антигенов в крови и других тканях.

Сыворотка крови (лат. *serum* — сыворотка + *sanguis* — кровь) — составная часть крови, представляющая собой плазму, из которой удалены форменные элементы и фибрин в процессе свертывания крови.

Тельца включения — своеобразные морфологические образования, обнаруживаемые в цитоплазме или ядрах клеток определенных тканей при некоторых вирусных инфекциях и состоящие из скопления вирионов и вирусных белков.

Термолабильность (греч. *thermos* — теплый + лат. *labilis* — нестойкий) — неустойчивый к тепловому воздействию, изменяющийся при нагревании.

Термостабильность (греч. *thermos* — теплый + лат. *stabilis* — неизменный) — сохраняющий свои свойства при нагревании.

Титр вируса — концентрация инфекционных единиц вируса в определенном объеме материала.

Цитопатогенное действие вирусов (ЦПД, цитопатический эффект) — специфическая морфологическая деструкция (разрушение) и функциональная патология зараженных вирусами клеток в культурах.

Штамм (нем. *stamm* — род, корень) — культура микроорганизмов одного вида с одинаковыми морфологическими и биологическими свойствами.

Элементарные тельца — см. Вирион (2, 3).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Лабораторные исследования в ветеринарии. Вирусные, риккетсиозные и паразитарные болезни : справочник / под ред. Б. И. Антонова. — М. : Агропромиздат, 1987. — 240 с.
2. *Бакулов, И. А.* Эпизоотологический словарь-справочник / И. А. Бакулов, Г. Г. Юрков, В. А. Ведерников [и др.]. — М. : Россельхозиздат, 1986.
3. *Нымм, Э. М.* Словарь ветеринарных микробиологических и вирусологических терминов / Э. М. Нымм, К. А. Петерсон, Э. А. Алвер [и др.]. — М. : Росагропромиздат, 1989.

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

Агар мясо-пептонный (МПА) *101, 109, 125, 326, 387, 444, 456, 476, 483, 542, 588*
Альбумин бычий *7, 226, 618*
Аппарат Кинга *126, 480*

Бульон мясо-пептонный (МПБ) *78, 101, 109, 125, 326, 444, 456, 476, 483, 496, 542, 588*
— тритозо-фосфатный *519*
Буфер вероналовый *35, 375*
— боратный *148*
— фосфатно-солевой *174, 315, 328, 561, 604*
— калий-фосфатный *231, 236, 407*
— карбонатно-бикарбонатный *335, 561, 604, 618*

Гемолизин *25, 114, 300, 369, 507*
Гемолитическая система (гемсистема) *25, 116, 216*

Жидкость Руге *106, 446*
— Карнуа *108*

Иммуноасцитическая жидкость (ИАЖ) *84*

Комплемент *27, 116, 216, 300, 370, 507*

Метод вирусоскопии *99, 443, 548*
— Кербера *66*
— иммуноферментного анализа (ИФА) *88, 159, 178, 228, 233, 244, 314, 328, 335, 349, 406, 409, 436, 561, 603, 609, 617*
— кофал-теста *514*
— перекрестного иммунитета *64*
— полимеразной цепной реакции (ПЦР) *180, 253, 307, 342, 416, 425, 625*
— Рида и Менча *66, 242, 297, 324, 380, 394, 500, 523, 552, 556*
— электронной микроскопии *327, 593*

Окраска гистопрепаратов по Ленцу *80*
— Турбиной *584*
— Туревичу *81, 584*
— мазков по Борману — Гайнуллиной *74*
— Микину *74*
— Морозову *100, 446*
— Муромцеву *73*
— Пашену *100, 447*
— Селлерсу *74*

Перевиваемая линия почки свиньи (СПЭВ) *70, 386, 392*

— культура клеток ВНК-*21* *18, 110*
— культура клеток почки поросенка (РК-*15*) *289, 392*
Первично-трипсинизированная культура клеток почки свиньи (ПЭС) *70, 141, 386*
— почки эмбриона коров (ПЭК) *141, 218, 239*
— селезенки эмбриона коров (СЭК) *218*
— легкие эмбриона коров (ЛЭК) *218*
— тестикулов бычка (ТБ) *218, 239*
— почка ягненка *110*

Раствор *30-50%*-ного стерильного глицерина *21, 72, 100, 108, 385, 482, 588, 616*
— азида натрия *600*
— азотнокислого серебра *106, 446*
— Альсевера *55, 271, 361*
— бис-диазобензидина *55*
— борно-боратный буферный *576*
— бромистого этидия *180, 253, 306, 342, 416, 625*
— версена *17, 69, 296*
— гексаметафосфата натрия *215*
— забуференый физиологический (ЗФР) *7, 298, 325, 358, 386, 399, 563, 596*
— лимоннокислого натрия *127, 135, 402, 448, 458, 469, 476, 535*
— мединал-вероналовый *83, 569*
— мертиолята *376, 600*
— натрия хлористого *7, 171, 215, 269, 276, 287, 352, 376, 392, 571, 611*
— трипсина *18, 69, 295*
— физиологический *21, 54, 78, 83, 101, 110, 127, 134, 212, 236, 257, 263, 265, 303, 364, 367, 419, 428, 444, 448, 455, 469, 475, 482, 507, 535, 542, 547, 554, 616, 630*
— фосфатно-буферный *7, 21, 54, 77, 109, 215, 229, 234, 271, 294, 322, 353, 358, 362, 367, 386, 448, 502, 507, 591, 620*
— формалина *86, 100, 108, 482, 503, 537, 617*
— Хенкса *18, 70, 87, 141, 211, 240, 296, 323, 377, 387, 486, 492, 536, 589, 616*
— хромоген-субстратный *318, 332, 338, 358, 564, 606*
— Эвенса *299*
— Эдингтона *108*
— Эрла *18, 296, 589*
Реакция гемагглютинации (РГА) *127, 135, 221, 270, 359, 403, 449, 459, 472, 477, 543, 597*
— гемадсорбции (РГАд) *142, 220*
— диффузионной преципитации (РДП) *4, 75, 118, 145, 214, 268, 280, 376, 483, 488, 493, 500, 536, 545, 552, 599*
— длительного связывания комплемента (РДСК) *113*
— иммунодиффузии (РИД) *154, 170, 276*
— иммунофлуоресценции (РИФ) *77, 112, 142, 212, 242, 262, 268, 298, 322, 378, 385, 516, 552, 591*
— иммуноосмофореза *84*
— иммуноэлектроосмофореза (РИЭОФ) *569, 573*
— нейтрализации (РН) *69, 86, 143, 227, 241, 324, 379, 389, 393, 395, 464, 493, 497, 522, 543, 548*
— нейтрализации вирусных гемагглютининов (РНВГ) *226*
— непрямой гемагглютинации (РНГА) *83, 227, 325, 494, 501, 516*

— непрямой иммунофлуоресценции (РНИФ) *5, 112, 292, 322*
— пассивной гемагглютинации (РПГА) *53*
— подавления иммунофлуоресценции *213, 386*
— радиальной иммунодиффузии (РРИД) *5, 276*
— серозащиты (РЗ) *65*
— связывания комплемента (РСК) *24, 35, 215, 268, 299, 368, 507*
— угнетения связывания комплемента (РУСК) *59*
— торможения (задержки) гемагглютинации (РТГА, РЗГА) *125, 135, 144, 221, 262, 265, 272, 357, 361, 399, 448, 457, 477, 597*
— гемадсорбции (РТГАд) *142, 220, 262*
— непрямой гемагглютинации (РТНГА) *225*

Среда *199, 323, 386, 486, 518, 540, 590*
— 0,5%-ногогидролизаталактальбумина *18, 70, 110, 240, 323, 386, 486, 518, 540, 589*
— 5%-ногогемогидролизата *386*
— Игла *18, 70, 110, 486, 518, 540, 590*
— Игла (МЕМ) *289, 393*
— Китта-Тароцци *326, 542*
— поддерживающая *18, 323, 386, 393, 486, 518, 540, 590*
— ростовая *18, 296, 393, 486, 518, 590*

Тельца Бабеша — Негри *74*
Термолабильные ингибиторы *126, 403, 449, 480*
Термостабильные ингибиторы *126, 480*
Тканевая цитопатическая доза (ТЦД) *18, 70, 87, 143, 380, 394, 544*

Цитопатическое действие (ЦПД) *19, 70, 87, 110, 143, 219, 241, 324, 380, 388, 394, 486, 544*

Эритроцитарный диагностикум *55, 83, 325*

СОДЕРЖАНИЕ

1. Болезни, общие для всех или нескольких видов животных 5
Ящур 5
1.1. Методические указания по выявлению, идентификации типовой специфичности и количественному определению антител к вирусу ящура в сыворотке крови животных (утверждены 10 февраля 1983 г., № 115-6а) 5
1.2. Методические указания по выделению и идентификации штаммов вируса ящура (одобрены и рекомендованы 15 октября 1973 г., б/н) 20
Бешенство 72
1.3. Методические указания по лабораторной диагностике бешенства (утверждены 27 февраля 1970 г., б/н) 72
Болезнь Ауески 82
1.4. Методические указания по лабораторной диагностике болезни Ауески животных (рекомендованы 18 мая 1978 г., б/н) 82
1.5. Инструкция по применению набора для определения антител к гликопротеину gI вируса болезни Ауески в сыворотке крови свиней методом конкурентного иммуноферментного анализа «ZETEST-Серелиза-АУЕСКИ-Ат» 88
Оспа 98
1.6. Методические указания по лабораторной диагностике оспы крупного рогатого скота, овец, коз, свиней и верблюдов (утверждены 12 ноября 1985 г., № 115-6а) . 98

Катаральная лихорадка крупного рогатого скота, овец и коз 107
1.7. Методические указания по лабораторной диагностике катаральной лихорадки крупного рогатого скота, овец и коз (утверждены 11 июня 1986 г., № 432-5) .. 107

2. Болезни лошадей 123
Грипп 123
2.1. Временное наставление по лабораторной диагностике гриппа лошадей (рекомендовано 15 января 1973 г., б/н) ... 123
2.2. Наставление по применению набора антигенов и сывороток для диагностики гриппа лошадей (утверждено 27 февраля 2004 г., б/н) 133
Ринопневмония 140
2.3. Методические указания по лабораторной диагностике ринопневмонии лошадей (утверждены 27 августа 1980 г., б/н) 140
Инфекционная анемия 145
2.4. Инструкция по применению набора для диагностики инфекционной анемии лошадей в реакции диффузионной преципитации (РДП) (утверждена 24 марта 2009 г.) 145

3. Болезни крупного рогатого скота 153
Лейкоз 153
3.1. Методические указания по диагностике лейкоза крупного рогатого скота (утверждены 23 июля 2000 г., № 13-7-2/2130) 153
3.2. Инструкция по применению набора для серологической диагностики лейкоза крупного рогатого скота (утверждена 7 мая 2010 г. с изменениями от 21 июня 2011 г.) 168
3.3. Наставление по применению набора для выявления антител к вирусу лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС) методом иммуноферментного анализа (ИФА)-Veri Test (утверждено 2 февраля 2004 г., № 13-5-02/0899) 173

3.4. Инструкция по применению тест-системы «ЛЕЙКОЗ» для выявления вируса лейкоза крупного рогатого скота (КРС) методом полимеразной цепной реакции (утверждена 19 мая 2009 г.) 180
Вирусные респираторно-кишечные инфекции 208
3.5. Методические указания по лабораторной диагностике вирусных респираторно-кишечных инфекций крупного рогатого скота (рекомендованы 25 июля 1978 г., б/н) 208
Вирусная диарея 228
3.6. Наставление по применению набора компонентов для диагностики вирусной диареи — болезни слизистых крупного рогатого скота методом иммуноферментного анализа (утверждено 15 июля 1997 г., № 13-7-2/1012) 228
3.7. Инструкция по применению набор для диагностики вирусной диареи — болезни слизистых КРС методом иммуноферментного анализа «ВД-БС ИФА ВИЭВ» (утверждена 3 марта 2008 г.) 233
Инфекционный ринотрахеит 238
3.8. Методика по исследованию спермы крупного рогатого скота на контаминацию вирусом инфекционного ринотрахеита — пустулезного вульвовагинита (ИРТ-ИПВ) (утверждена 8 февраля 1983 г., б/н) 238
3.9. Инструкция по применению набора для определения антител к вирусу инфекционного ринотрахеита/ инфекционного пустулезного вульвовагинита крупного рогатого скота в сыворотке крови методом непрямого иммуноферментного анализа «ZETECT-Серелиза-ИРТ/ИПВ-Ат» 244
3.10. Инструкция по применению тест-системы для диагностики инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота методом полимеразной цепной реакции (утверждена 21 мая 2009 г.) 253

Парагрипп 262
3.11. Наставления по применению набора диагностикумов парагриппа-3 КРС (утверждено 26 сентября 1996 г., № 13-7-2/748) 262
3.12. Временные методические указания по диагностики парагриппа-3 крупного рогатого скота методом выявления секреторных антител в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) (утверждено 17 октября 1985 г., № 115-6а) 265
Респираторно-синцитиальная инфекция 268
3.13. Наставление по применению набора диагностикумов респираторно-синцитиальной инфекции крупного рогатого скота (утверждено 26 сентября 1996 г., б/н) 268
Коронавирусный энтерит 270
3.14. Наставление по применению набора для диагностики коронавирусного энтерита крупкого рогатого скота методом гемагглютинации (утверждено 11 августа 1990 г., б/н) 270

4. Болезни мелкого рогатого скота 276
Аденоматоз овец и коз 276
4.1. Временные методические указания по лабораторной диагностике аденоматоза овец и коз (утверждены 2 июля 1985 г.) 276
Висна-мэди 280
4.2. Временное наставление по применению набора диагностикумов для серологической диагностики висна-мэди овец в реакции диффузионной преципитации (утверждено 7 июля 1992 г.) 280

5. Болезни свиней 285
Классическая чума 285
5.1. Методические указания по лабораторной диагностике классической чумы свиней (утверждены 30 декабря 1996 г., № 13-4-2/809) 285

5.2. Методические указания
по лабораторной диагностике
классической чумы свиней
(утверждены 8 июня 1978 г., б/н) 297
5.3. Инструкция по применению тест-системы
для обнаружения вируса классической
чумы свиней методом полимеразной
цепной реакции (ПЦР)
(утверждена 12 февраля 2009 г.) 306
Респираторный и репродуктивный синдром 314
5.4. Инструкция по применению набора
реагентов для выявления антител к вирусу
репродуктивно-респираторного синдрома
свиней иммуноферментным методом
«РРСС-СЕРОТЕСТ»
(утверждена 21 мая 2009 г.) 314
Трансмиссивный гастроэнтерит 321
5.5. Методические указания по лабораторной
диагностике вирусного (трансмиссивного)
гастроэнтерита свиней (рекомендованы
30 мая 1978 г., № 116-6а) 321
5.6. Инструкция по применению набора
реагентов для выявления антител к вирусу
трансмиссивного гастроэнтерита свиней
иммуноферментным методом
«ТГС-СЕРОТЕСТ»
(утверждена 12 августа 2010 г., б/н) 328
5.7. Инструкция по применению набора
для выявления антигенов вируса
трансмиссивного гастроэнтерита (ТГС)
и ротавируса свиней (РВС) методом
иммуноферментного анализа (ИФА)
(утверждена 21 мая 2009 г.) 335
Африканская чума 342
5.8. Инструкция по применению «Тест-системы
для выявления ДНК вируса АЧС методом
ПЦР» (утверждена 25 декабря 2006 г.) ... 342
5.9. Инструкция по применению
«Набора диагностикумов для
твердофазного иммуноферментного анализа
при африканской чуме свиней»
(утверждена 3 апреля 2007 г.) 349
Парвовирусная болезнь 357
5.10. Методические указания по диагностике
парвовирусной болезни свиней
(утверждены 21 января 1989 г., б/н) 357

5.11. Наставление по применению набора для диагностики парвовирусной болезни свиней в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) (утверждено 6 июня 1994 г., № 13-7-2/94) 361
Грипп 363
5.12. Наставление по применению набора антигенов и сывороток для диагностики гриппа свиней (утверждено 7 марта 1986 г.) 363
Везикулярная болезнь и везикулярная экзантема ... 366
5.13. Методические указания по лабораторной диагностике везикулярной болезни и везикулярной экзантемы свиней (утверждены 15 июня 1979 г., б/н) 366
Энзоотический эцефаломиелит (болезнь Тешена) ... 384
5.14. Методические указания по лабораторной диагностике энзоотического энцефаломиелита (болезни Тешена) свиней (утверждены 1 ноября 1985 г., № 115-6а) . 384
5.15. Методические указания по лабораторной диагностике болезни Тешена (утверждены 22 марта 2002 г., № 13-5-02/0368) 391

6. Болезни птиц 399
Синдром снижения яйценоскости 399
6.1. Инструкция по применению «Набора для выявления антител к вирусу синдрома снижения яйценоскости-76 в реакции торможения гемагглютинации» (утверждена 29 декабря 2006 г.)
6.2. Методические указания по лабораторной диагностике синдрома снижения яйценоскости у кур (ССЯ-76) методом иммуноферментного анализа (ИФА) (утверждены 12 февраля 1990 г.) .. 406
Грипп 409
6.3. Инструкция по применению набора для выявления антител к вирусу гриппа птиц (ВГП) иммуноферментным анализом (ИФА) (утверждена 22 июня 2008 г.) 409
6.4. Инструкция по применению тест-системы для обнаружения вируса гриппа А методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) (утверждена 21 мая 2009 г.) 416

6.5. Инструкция по применению тест-системы для обнаружения вируса гриппа А подтипа Н5 методом ПЦР в реальном времени (утверждена 21 мая 2009 г.) 425
Энцефаломиелит 436
6.6. Инструкция по применению набора для выявления антител к вирусам энцефаломиелита птиц (ЭП), инфекционного бронхита кур (ИБК), инфекционной бурсальной болезни птиц (ИББ), ньюкаслской болезни (НБ) и реовирусу птиц (РВП) методом иммуноферментного анализа (ИФА) (утверждена 22 июня 2008 г.) 436
Оспа 443
6.7. Методические указания по лабораторной диагностике оспы птиц (утверждены 4 июня 1985 г., № 115-6а) .. 443
Болезнь Ньюкасла 447
6.8. Методические указания по определению уровня антител к вирусу ньюкаслской болезни в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) (утверждены 23 июня 1997 г., № 13-7-2/988) 447
6.9. Методические указания по лабораторной диагностике болезни Ньюкасла и классической чумы птиц (гриппа птиц) (утверждены 1 февраля 1972 г.) 453
6.10. Методические указания по определению биологической активности вирусвакцин против ньюкаслской болезни птиц (утверждены 12 июля 1980 г., № 115-6) .. 468
Парамиксовирусы 475
6.11. Методические указания по выявлению парамиксовирусов, их идентификации и выявлению специфических антител (утверждены 6 февраля 1991 г., № 044-3) . 475
Инфекционная бурсальная болезнь 481
6.12. Временные методические указания по диагностике болезни Гамборо (утверждены 19 июля 1990 г., № 044-3) .. 481
6.13. Временное наставление по применению набора антигенов и сывороток для выявления специфических антител и антигенов вируса инфекционной бурсальной болезни в реакции диффузионной преципитации «Биотест-РДП» (утверждено в 2001 г.) 488

Инфекционный бронхит 492
6.14. **Методические указания** по лабораторной диагностике инфекционного бронхита кур (утверждены 31 июля 1980 г., № 115-6а) . 492
6.15. Наставление по лабораторной диагностике инфекционного бронхита кур (одобрено 7 мая 1973 г.) 495
Лейкоз 506
6.16. Временное наставление по лабораторной диагностике лейкоза птиц (рекомендовано 16 февраля 1975 г.) 506
Болезнь Марека (нейролимфоматоз птиц) 534
6.17. Методические указания по лабораторной диагностике болезни Марека (нейролимфоматоза) птиц (утверждены 1 марта 1979 г., № 115-6а) .. 534
Вирусный энтерит гусят 542
6.18. Методические указания по лабораторной диагностике вирусного энтерита гусят (утверждены 25 декабря 1980 г., № 115-6а) 542
Инфекционный ларинготрахеит 546
6.19. Временное наставление по лабораторной диагностике инфекционного ларинготрахеита кур (утверждено 27 августа 1964 г.) 546
6.20. Временные методические указания по определению биологической активности вирусвакцины из штамма ВНИИБТ против инфекционного ларинготрахеита птиц (утверждены 17 июля 1985 г., № 115-6а) . 553

7. Болезни плотоядных и пушных животных 561
Аденовирусная инфекция 561
7.1. Наставление по применению набора для выявления антигенов аденовирусов плотоядных иммуноферментным анализом (ИФА) (утверждено в 2002 г.) .. 561
Алеутская болезнь норок 567
7.2. Наставление по применению антигена и контрольной сыворотки для серологической диагностики алеутской болезни норок в реакции иммуноэлектроосмофореза (диагностикума) (утверждено 23 августа 1994 г., № 13-7-2/142) 567

7.8. Инструкция по применению набора антигена и контрольной позитивной сыворотки для серологической диагностики алеутской болезни норок из штамма «П-1» в РИЭОФ (утверждена 2 марта 2007 г.) 573
Вирусный энтерит норок 579
7.4. Методические указания по диагностике вирусного энтерита норок (утверждены 18 сентября 2000 г.) 579
Парвовирусный энтерит собак 603
7.5. Наставление по применению набора для выявления антигенов парвовирусного энтерита собак, вирусного энтерита норок и панлейкопении кошек иммуноферментным анализом (ИФА) (утверждено в 2002 г.) 603
Вирусная геморрагическая болезнь кроликов 609
7.6. Наставление по применению «Набора препаратов для лабораторной диагностики вирусной геморрагической болезни кроликов сэндвич-вариантом иммуноферментного анализа» (утверждено 10 марта 1989 г.) 609
Миксоматоз кроликов 615
7.7. Временные методические указания по лабораторной диагностике миксоматоза кроликов (утверждены 8 мая 1981 г., № 116-6а) 615
Чума плотоядных 617
7.8. Временное наставление по применению набора для выявления антигена вируса чумы плотоядных иммуноферментным анализом (ИФА) (утверждено 14 мая 1998 г., № 18-7-2/1241) 617
Коронавирусы собак и кошек 625
7.9. Инструкция по применению тест-системы «КОРОНАВИР» для выявления и идентификации коронавирусов кошек и собак методом полимеразной цепной реакции (утверждена 14 декабря 2009 г.) 625

Краткий словарь использованных ветеринарных терминов 654
Библиографический список 659
Предметный указатель 660

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ЖИВОТНЫХ

Составители:
Петр Иванович БАРЫШНИКОВ,
Валентина Владимировна РАЗУМОВСКАЯ

Учебное пособие

Издание второе, исправленное

Зав. редакцией ветеринарной
и сельскохозяйственной литературы *И. О. Туренко*
Ответственный редактор *А. Г. Листова*

ЛР № 065466 от 21.10.97
Гигиенический сертификат 78.01.07.953.П.007218.04.10
от 21.04.2010 г., выдан ЦГСЭН в СПб

Издательство «Лань»
lan@lanbook.ru; www.lanbook.com
192029, Санкт-Петербург, Общественный пер., 5.
Тел./факс: (812) 412-29-35, 412-05-97, 412-92-72.
Бесплатный звонок по России: 8-800-700-40-71

Где купить

Для организаций:

Для того, чтобы заказать необходимые Вам книги, достаточно обратиться в любую из торговых компаний Издательского Дома «ЛАНЬ»:

по России и зарубежью
«ЛАНЬ-ТРЕЙД». 192029, Санкт-Петербург, ул. Крупской, 13
тел.: (812) 412-85-78, 412-14-45, 412-85-82; тел./факс: (812) 412-54-93
e-mail: trade@lanbook.ru; ICQ: 446-869-967; gost.e-ecolog.ru

в Москве и в Московской области
«ЛАНЬ-ПРЕСС». 109263, Москва, 7-я ул. Текстильщиков, д. 6/19
тел.: (499) 178-65-85; e-mail: gost.e-ecolog.ru

в Краснодаре и в Краснодарском крае
«ЛАНЬ-ЮГ». 350901, Краснодар, ул. Жлобы, д. 1/1
тел.: (861) 274-10-35; e-mail: gost.e-ecolog.ru

Для розничных покупателей:

интернет-магазины:
Издательство «Лань»: http://www.lanbook.com
«Сова»: http://www.symplex.ru; «Ozon.ru»: gost.e-ecolog.ru
«Библион»: gost.e-ecolog.ru

Подписано в печать 20.03.15.
Бумага офсетная. Гарнитура Школьная. Формат 84×108 $^1/_{32}$.
Усл. п. л. 35,28. Тираж 700 экз.

Заказ № 2099.

Отпечатано способом *роцевой струйной печати*
в АО «Первая Образцовая типография»
Филиал «Чеховский Печатный Двор»
142300, Московская область, г. Чехов, ул. Полиграфистов, д. 1
Сайт: www.chpd.ru, E-mail: gost.e-ecolog.ru (499)270-73-59

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ЖИВОТНЫХ

Издательство «Лань»
победитель конкурса по качеству
«Сделано в Санкт-Петербурге»

ISBN 978-5-8114-1882-4

gost.e-ecolog.ru