ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ЖИВОТНЫХ

ВЕТЕРИНАРНАЯ МЕДИЦИНА

П. И. Барышников, В. В. Разумовская



gost.e-ecolog.ru



· 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 (специальности) «Ветеринария»

ДОПУЩЕНО
УМО вузов РФ по образованию в области зоотехнии и ветеринарии в качестве учебного пособия для студентов вузов, обучающихся по направлению подготовки (специальности) «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 аппробацию 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

КАТАРАЛЬНАЯ ЛИХОРАДКА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, ОВЕЦ И КОЗ

1.7. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ КАТАРАЛЬНОЙ ЛИХОРАДКИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, ОВЕЦ И КОЗ

(утверждены 11 июня 1986 г., № 432-5)

I. Общие положения.

1.1. Лабораторные методы исследования на катаральную лихорадку крупного рогатого скота, овец и коз включают в себя следующие:

- патогистологическое исследование;
- выделение вируса на культуре клеток и куриных эмбрионах с последующей идентификацией в реакции иммунофлуоресценции (ИФ);
- выявление группоспецифических антител в сыворотках крови больных или переболевших животных в РДСК, РДП;
- постановку биологической пробы на овцах (в сомнительных случаях).

Выделение и идентификацию вируса, исследования сывороток крови животных ветеринарные лаборатории проводят группоспецифическими методами. Окончательное титрование вируса по 23 серологическим вариантам в реакции нейтрализации проводят во Всесоюзном научно-исследовательском институте ветеринарной вирусологии и микробиологии (ВНИИВВиМ).

1.2. В лабораторию для исследования на катаральную лихорадку направляют:

- кусочки селезенки и лимфатические узлы от павших или убитых животных в свежем виде или консервиро-

ванные 30%-ным раствором глицерина, приготовленным на фосфатно-буферном растворе (pH 7,2...7,4);

- пробы крови от больных животных, взятые в период температурной реакции во флаконы в количестве 10 мл, пробы стабилизируют равным объемом антикоагулянта — раствором Эдингтона следующего состава: щавелевокислый калий — 5 г, карболовая кислота — 5 г, глицерин — 500 мл, дистиллированная вода — 500 мл;
- кусочки скелетных мышц, сердца, языка, губ, стенок книжки и рубца, фиксированные 10%-ным раствором формалина для патологогистологического исследования, а также нефиксированные кусочки лимфатических узлов, селезенки, легких, печени и почек с надпочечниками;
- сыворотку крови для серологических исследований от больных или переболевших животных в количестве 2...3 мл.

Патологический материал для вирусологических исследований отбирают не позднее, чем через два часа после гибели животных, в стерильные флаконы или пробирки и доставляют в лабораторию в термосе со льдом.

Сыворотку крови для серологических исследований можно сохранять при температуре −20°С и ниже. Консервирование сывороток химическими реактивами не допускается.

2. Патологогистологическое исследование.

2.1. Для гистологического исследования готовят парафиновые срезы из фиксированных 10%-ным раствором формалина кусочков скелетных мышц, сердца, языка, губ, стенок книжки и рубца и окрашивают гематоксилин-эозином.

Для выявления внутриклеточных цитоплазматических включений берут кусочки лимфатических узлов, селезенки, легких и почек с надпочечниками, фиксируют их в жидкости Карнуа (спирт этиловый — 60 мл, хлороформ — 30 мл, ледяная уксусная кислота — 10 мл) и заливают в парафин. Срезы окрашивают метиловым зеленым — пиронином или ШИК-реакцией.

При исследовании гистологических препаратов необходимо иметь в виду, что в случае заболевания животных

катаральной лихорадкой обнаруживают резко выраженные поражения микроциркуляторного русла в скелетных мышцах и мышечных волокнах сердца, языка, губ — колбовидное набухание, гомогенизацию, губчатый распад, лизис и некроз; в межмышечной соединительной ткани — сильный отек, кровоизлияния и лимфоидно-гистиоцитарный инфильтрат; в стенках книжки и рубца — некроз покровного эпителия и основы слизистой оболочки, а также отек, диффузные кровоизлияния и лимфоидный инфильтрат в соединительной ткани подслизистого слоя.

При окраске специальными методами срезы просматривают под микроскопом с иммерсионной системой, причем в цитоплазме ретикулярных клеток и макрофагов лимфатических узлов и селезенки, в клетках легких, печени, почках и надпочечников могут быть найдены цитоплазматические включения округлой или овальной формы красного цвета (метод Браше), пурпурного или лилово-красного (ШИК-реакция). Часто обнаруживают значительное уменьшение количества лимфоцитов в селезенке и лимфатических узлах (опустошение).

2.2. По обнаруженным характерным патологогистологическим изменениям и тельцам-включениям ставят предварительный диагноз на катаральную лихорадку овец.

3. Вирусологическое исследование.

3.1. Подготовка материала к исследованию.

3.1.1. Для проведения исследований из патологического материала (селезенки, лимфатических узлов) готовят 10%-ную суспензию на фосфатном буферном растворе (pH 7,4...7,6) или на питательной среде с 0,5% гидролизата лактальбумина, к которой добавляют 1000 ЕД пенициллина и 500 мкг стрептомицина на 1 мл. Патологический материал, консервированный глицерином, предварительно отмывают в фосфатном буферном растворе (pH 7,4...7,6).

Приготовленную суспензию центрифугируют 30 мин при 2000...3000 об/мин. Надосадочную жидкость сливают в стерильную пробирку, помещают в холодильник и выдерживают при 2...4°С в течение 3...4 ч. Затем делают высевы на питательные среды (МПБ, МПА) для исключения бактериального загрязнения.

Через сутки, при отсутствии роста микрофлоры на питательных средах, надосадочную жидкость используют для заражения клеточных культур и куриных эмбрионов.

3.1.2. Пробы крови с антикоагулянтом центрифугируют 10 мин при 1000 об/мин. Осадок эритроцитов трижды промывают стерильным физиологическим раствором (pH 7,2...7,4), затем готовят 20%-ную суспензию эритроцитов на фосфатном буферном растворе (pH 7,4...7,6) для заражения культур клеток и куриных эмбрионов.

3.2. Выделение вируса на культуре клеток.

3.2.1. Выделяют вирус на первично-трипсинизированной культуре клеток почки ягнят (ПЯ) или перевиваемой линии клеток ВНК-21.

3.2.2. В матрасы на 100 мл (не менее 5) с культурой клеток ПЯ или ВНК-21 после удаления ростовой среды вносят 2...3 мл суспензии исследуемого материала и равномерно распределяют ее по монослою клеток.

Матрасы помещают в термостат на 1 ч при 37°С, после чего вносят поддерживающую среду в количестве 10...15 мл (для культуры клеток ВНК-21 — среду Игла с двойной концентрацией аминокислот; для ПЯ — 0,5%-ный раствор гидролизата лактальбумина без сыворотки).

Контролем служат матрасы с незараженной культурой клеток, в которых ростовая среда заменена поддерживающей.

3.2.3. Матрасы, зараженные исследуемым материалом, и контрольные помещают в термостат при 37°С. Для учета цитопатического действия вируса (ЦПД) проводят ежедневно микроскопическое исследование клеточных культур в течение 7 дней.

3.2.4. Цитопатическое действие вируса в культуре клеток ВНК-21 можно обнаружить через 36...40 ч по наличию округлых клеток, с последующим разрушением всего монослоя. ЦПД вируса в культуре клеток ПЯ проявляется на 6...7-й день зернистостью, округлением клеток, образованием тяжей, отслоением клеток от стекла.

В контрольных незараженных культурах цитопатические изменения должны отсутствовать.

3.2.5. При выявлении в культурах ЦПД отбирают из матрасов культуральную жидкость в объеме 0,4 мл для заражения монослоя клеток аналогичной культуры, выращенных на стеклянных пластинках (стеклышках), в пробирках или пенициллиновых флаконах. После выдерживания зараженных культур в термостате при 37°С в течение 72 ч стеклышки извлекают, высушивают на воздухе, фиксируют 10 мин в охлажденном при температуре −20°С ацетоне и используют для идентификации вируса в иммунофлуоресценции.

3.2.6. При отсутствии цитопатического действия вируса (ЦПД) проводят два последовательных пассажа в аналогичной клеточной культуре.

3.3. Выделение вируса на куриных эмбрионах.

3.3.1. Для выделения вируса на куриных эмбрионах (КЭ) суспензию исследуемого материала (см. п. 3.1) вводят 8...9-дневным КЭ в желточный мешок в дозе 0,2...0,3 мл или 13...14-дневным КЭ внутривенно в дозе 0,1...0,2 мл. Каждым материалом заражают не менее 5 эмбрионов.

3.3.2. Зараженные куриные эмбрионы помещают в термостат при 33,5°С и выдерживают в течение 5 дней. В этот период эмбрионы овоскопируют два раза в сутки. Куриные эмбрионы, погибшие в течение первых 24 ч, уничтожают (неспецифическая гибель), остальные эмбрионы после гибели и все оставшиеся живыми на 5-е сутки после заражения охлаждают в холодильнике 2...4 ч при 2...4°С, затем их вскрывают и исследуют зародыш на наличие макроскопических изменений. Характерными для возбудителя катаральной лихорадки является вишнево-красная окраска погибших куриных эмбрионов с многочисленными кровоизлияниями на голове и туловище.

3.3.3. Для идентификации выделенного вируса готовят 10%-ную суспензию из эмбрионов (без головы) и заражают клеточные культуры (см. п. 3.2.5).

3.3.4. При сохранении жизнеспособности эмбрионов или отсутствии характерных изменений у погибших проводят два последовательных пассажа на КЭ, используя 10%-ную суспензию (см. п. 3.3.3).

3.4. Идентификация вируса.

3.4.1. Для идентификации вируса пользуются прямым и непрямым методом иммунофлуоресценции.

3.4.2. При прямом методе на стеклянные пластинки (стеклышки) с зараженной культурой клеток наносят специфическую флуоресцирующую сыворотку в рабочем разведении. Препараты помещают во влажную камеру на 30 мин при 37°С, затем их промывают в двух сменах фосфатного буферного раствора по 10 мин.

В качестве контроля окрашивают стеклышки с незараженной культурой клеток.

3.4.3. При непрямом методе на стеклышки с зараженной культурой клеток наносят специфическую (немеченую) сыворотку катаральной лихорадки в рабочем разведении. Для контроля на часть препаратов наносят нормальную сыворотку овцы.

Препараты помещают во влажную камеру и выдерживают в термостате 30 мин при 37°С, затем дважды их промывают физиологическим раствором (pH 7,2...7,4) по 10 мин и после подсушивания наносят антивидовую флуоресцирующую сыворотку в рабочем разведении. Окрашивают их во влажной камере 30 мин при 37°С. После промывания препаратов в двух сменах фосфатного буферного раствора (pH 7,2...7,4) их подсушивают и просматривают в люминесцентном микроскопе.

3.4.4. При положительном результате в препаратах обнаруживают ярко светящиеся зелено-желтым цветом гранулы, конгломераты в цитоплазме и перинуклеарной зоне или такой же интенсивности диффузное свечение всей или большей части цитоплазмы.

В контрольных препаратах аналогичное свечение должно отсутствовать.

3.4.5. Метод иммунофлуоресценции является группоспецифическим и им может быть идентифицирован любой возбудитель из 23 серологических антигенных вариантов.

Для окончательного установления типа возбудителя применяют реакцию нейтрализации (во ВНИИВВиМ).

4. Биологическое исследование.

4.1. Для постановки биологической пробы используют овец породы «прекос» 6...8-месячного возраста из хозяйства, благополучного по инфекционным болезням.

Перед заражением исследуют сыворотку крови овец на наличие антител к вирусу катаральной лихорадки в РДСК и РДП.

4.2. Биопробу ставят на двух овцах, которым вводят суспензию исследуемого материала внутривенно в дозе 10 мл.

4.3. Результаты биологического исследования считают положительными в случае повышения температуры (до 41...42°С) у овец на 5...7-й день после заражения; появления гиперемии слизистых оболочек рта и носа, отека губ, языка; эрозии в уголках губ, на деснах, языке; угнетения; поражения конечностей; цианоза слизистых оболочек и языка у отдельных овец, выпадения шерсти.

4.4. При отсутствии характерных клинических симптомов заболевания катаральной лихорадкой от зараженных овец берут пробу крови в период температурной реакции (или на 5...7-е сутки после заражения) для выделения вируса на культуре клеток (см. п. 3.2) и через 2...3 недели после заражения исследуют сыворотки крови в РДСК, РДП для обнаружения специфических антител.

5. Серологическая диагностика.

5.1. Реакция длительного связывания комплемента (РДСК) и реакция диффузионной преципитации в агаровом геле (РДП) — групповые специфические методы, применяемые для обнаружения антител к вирусу катаральной лихорадки в сыворотке крови овец, коз и крупного рогатого скота, переболевших данной болезнью (ретроспективная диагностика).

У крупного рогатого скота серологическая реакция на вирус может быть слабой, поэтому при постановке РДСК антиген берут в меньшем разведении.

5.2. Реакция длительного связывания комплемента.

5.2.1. Компоненты реакции:

- сыворотки испытуемые и контрольные (специфическая и контрольная);
- антигены — специфический и нормальный;
- эритроциты барана — 2%-ная взвесь;

- гемолитическая сыворотка (гемолизин) биофабричного производства;
- комплемент — биофабричного производства или свежая сыворотка морской свинки;
- 0,85%-ный раствор химически чистого хлорида натрия на дистиллированной воде, pH 7,2...7,4.

5.2.2. Подготовка компонентов реакции.

Испытуемые сыворотки разводят физиологическим раствором в отношении 1:8, контрольные — до рабочего разведения, указанного на этикетке. Разведенные сыворотки мелкого рогатого скота инактивируют 30 мин при 60°С, крупного рогатого скота — при 58°С.

Проросшие и гемолизированные сыворотки для исследования непригодны.

Специфический и нормальный антигены разводят физиологическим раствором до объема, указанного на этикетке. При исследовании сывороток крупного рогатого скота рабочее разведение антигенов в два раза ниже указанного на этикетке.

Эритроциты барана отмывают физиологическим раствором путем центрифугирования при 2500...3000 об/мин в течение 10 мин до полной прозрачности надосадочной жидкости и готовят 2%-ную взвесь из осадка.

Гемолизин используют в четырехкратном титре. Так, при титре гемолизина 1:3000 его рабочее разведение 1:750.

Для приготовления гемолитической системы гемолизин в рабочем разведении смешивают с равным объемом 2%-ной взвеси эритроцитов и выдерживают 20...30 мин при комнатной температуре.

Комплемент титруют в гемолитической системе перед каждой постановкой реакции. Для этого берут 10 пробирок. В первую вносят 5,4 мл, а в остальные по 1 мл физиологического раствора. Затем в первую пробирку добавляют 0,6 мл разведенного до первоначального объема комплемента, хорошо перемешивают и переносят 5 мл во вторую пробирку, из второй — 5 мл в третью и т. д. Получают ряд последовательных разведений комплемента от 1:10 до 1:51,5. Для определения титра комплемента из каждого его разведения переносят по 0,1 мл в соответствующую пробирку основного ряда.

Схема приготовления разведений и титрования комплемента дана в таблице 12.

Титром комплемента считают наибольшее его разведение, дающее полный гемолиз эритроцитов. Рабочее разведение соответствует разведению комплемента в четвертой пробирке влево от последней пробирки с полным гемолизом. В приведенном примере титр комплемента — 1:29,8; рабочее разведение для главного опыта — 1:14,4.

Расчет количества чистого комплемента, необходимого для постановки главного опыта, делают по формуле

$$X = \frac{A \cdot B}{C},$$

где A — доза комплемента для главного опыта; B — количество пробирок главного опыта; C — рабочее разведение комплемента.

Таблица 12

Схема разведения и титрования комплемента

	Номера пробирок									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Физиологический раствор в мл	5,4	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Комплемент, разведенный до нативного состояния	0,6 во все пробирки последовательно переносят по 5 мл									
Полученные разведения комплемента	1,10	1,12	1/14,4	1/17,3	1/20,7	1/24,8	1/29,8	1/35,8	1/42,9	1/51,5
Комплемент в разведениях	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Физиологический раствор	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Гемолитическая система	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Водяная баня при 37...38°С 15 мин										
Результат титрования	ПГ	ПГ	ПГ	ПГ	ПГ	ПГ	ЧГ	ЧГ	ЗГ	ЗГ

Обозначения: ПГ — полный гемолиз; ЧГ — частичный гемолиз; ЗГ — задержка гемолиза.

Например, для постановки реакции в 100 пробирках требуется неразведенного комплемента:

$$\frac{0,1 \cdot 100}{14,4} = 0,69 \text{ мл.}$$

Количество разведенного комплемента для всей реакции составляет 10 мл (0,1 · 100), следовательно к 0,69 мл комплемента добавляют 9,31 мл физиологического раствора.

5.2.3. Постановка главного опыта.

Реакцию ставят в объеме 0,5 мл в пробирках Флоринского. Каждую разведенную инактивированную сыворотку (см. п. 5.2.2) разливают в три пробирки по 0,1 мл. В каждую первую пробирку добавляют 0,1 мл специфического антигена, во вторую — 0,1 мл нормального антигена, в третью — 0,1 мл физиологического раствора. Затем во все пробирки вносят по 0,1 мл комплемента в рабочем разведении и реакцию помещают на холод при +2...–4°С на 18...20 ч. После реакцию выдерживают в течение 15...20 мин при комнатной температуре и в каждую пробирку добавляют по 0,2 мл гемолитической системы, пробирки встряхивают и помещают на водяную баню при 37...38°С на 15...20 мин.

Одновременно с главным опытом ставят следующие контроли: позитивной и негативной сывороток в разведениях, указанных на этикетке по схеме главного опыта; специфического и нормального антигенов — на антикомплементарность.

Схема постановки главного опыта и контролей представлена в таблице 13.

5.2.4. Результаты реакция учитывают через 25...30 мин после выемки штативов из водяной бани.

Результаты реакции считают действительными при следующих показаниях контролей:

- задержка гемолиза — в пробирке с позитивной сывороткой и специфическим антигеном;
- полный гемолиз — в пробирках с позитивной и негативной сыворотками без антигенов и с нормальным антигеном, негативной сывороткой со специфическим антигеном, а также в контролях антигенов на антикомплементарность.

Таблица 13

Схема постановки главного опыта РДСК и контролей

№ п/п	Компоненты реакции	№ пробирок			Контроли							
					Позитивной сыворотки			Негативной сыворотки			Антикомплементарности антигена	
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	Специфический	Нормальный
1	Испытуемая сыворотка в разведении 1:8	0,1	0,1	0,1	–	–	–	–	–	–	–	–
2	Позитивная сыворотка в рабочем разведении	–	–	–	0,1	0,1	0,1	–	–	–	–	–
3	Нормальная сыворотка в рабочем разведении	–	–	–	–	–	–	0,1	0,1	0,1	–	–
4	Антиген специфический в рабочем разведении	0,1	–	–	0,1	–	–	0,1	–	–	0,1	–
5	Антиген нормальный в рабочем разведении	–	0,1	–	–	0,1	–	–	0,1	–	–	0,1
6	Физиологический раствор	–	–	0,1	–	–	0,1	–	–	0,1	0,1	0,1
7	Комплемент в рабочем разведении	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
18...20 ч при +2...4°С и 15...20 мин при комнатной температуре												
8	Гемолитическая система	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
15...20 мин на водяной бане при 37...38°С												

5.2.5. Оценку результатов реакции проводят по степени задержки гемолиза эритроцитов и выражают крестами: ++++ (4 креста) — отсутствие гемолиза, надосадочная жидкость прозрачная; +++ (3 креста) — гемолиз 25% эритроцитов; ++ (2 креста) — гемолиз 50% эритроцитов; + (1 крест) — гемолиз 75% эритроцитов; – (минус) — полный гемолиз эритроцитов, осадок отсутствует.

5.2.6. Реакцию считают:

- положительной — при задержке гемолиза эритроцитов на 3...4 креста;
- сомнительной — при задержке гемолиза на 2 креста;
- отрицательной — при задержке гемолиза на 1 крест или полном гемолизе эритроцитов.

5.2.7. При получении сомнительных результатов сыворотку крови от таких животных исследуют повторно через 14...21 день. При повторном получении сомнительной реакции результат исследования считают отрицательным.

5.3. Реакция диффузионной преципитации.

5.3.1. Преципитирующие антитела обнаруживают в сыворотке крови в течение года с момента переболевания.

5.3.2. Компоненты реакции и подготовка их к работе:

- специфический преципитирующий антиген, приготовленный из аттенуированного штамма вируса катаральной лихорадки, выпускается в лиофилизированном состоянии. Перед применением антиген разводят физиологическим раствором или дистиллированной водой до исходного объема и готовят рабочее разведение, как указано на этикетке;
- нормальный антиген, приготовленный из неинфицированных клеточных культур, используют в тех же разведениях, что и специфический;
- испытуемые сыворотки от больных или переболевших животных должны быть прозрачными, без примеси эритроцитов. При длительном хранении сывороток (не более 6 мес.) допускается консервирование их замораживанием;
- специфическая и нормальная контрольные сыворотки, которые разводят физиологическим раствором или ди-

стиллированной водой до исходного объема, указанного на этикетке;

- агар «Дифко», отечественный или японский агар-агар.

Агар-агар промывают проточной водопроводной водой в течение 24 ч, затем дистиллированной — в течение того же времени. После промывания агар отжимают и высушивают на стекле до первоначального веса.

Для постановки РДП готовят 1%-ный агаровый гель на физиологическом растворе с добавлением риванола (10 мг на 1 л геля).

Расплавленный агаровый гель разливают в чашки Петри, установленные в строго горизонтальном положении слоем в 0,4...0,5 см и дают застыть. В затвердевшем агаре с помощью штампа делают лунки диаметром 7 мм, расстояние между краями лунок 3 мм. На одной чашке Петри можно расположить 4 фигуры по 7 лунок в каждой (1 в центре, 6 вокруг). Агар из лунок удаляют с помощью вакуума, пастеровской пипетки или пинцета.

5.3.3. Постановка реакции.

Каждую сыворотку испытывают одновременно со специфическим и нормальным антигенами. Сыворотки и антигены разливают в объеме 0,05 мл. Специфический антиген вносят в центральную лунку одной из фигур, нормальный — в центральную лунку соседней фигуры. Испытуемые сыворотки вносят в периферические, аналогично расположенные лунки обоих фигур. Одновременно в одной из чашек ставят контроли специфической и нормальной сыворотки с обоими антигенами.

В каждой чашке Петри можно исследовать 12 сывороток со специфическим и нормальным антигенами (см. рис. 8).

После внесения компонентов чашки закрывают крышками и выдерживают 24...48 ч при комнатной температуре.

5.3.4. Учет и оценка результатов РДП.

Реакцию учитывают через 24...48 ч в проходящем свете.

Показания реакции считают действительными при получении следующих результатов контролей: наличие линии преципитации между лунками со специфическими антигеном и сывороткой и отсутствие такой линии между лунками с нормальным антигеном и контрольными

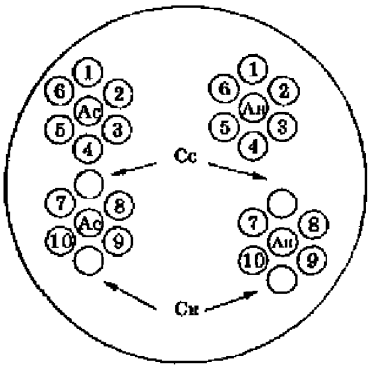

Рис. 8
Схема расположения лунок в чашке Петри и заполнения их диагностикумами и испытуемыми сыворотками при постановке РДП:

Ас — антиген специфический; Ан — антиген нормальный; Сс — сыворотка специфическая; Си — сыворотка нормальная; 1...10 — сыворотки испытуемые.

сыворотками (специфической и нормальной), а также специфическим антигеном и нормальной сывороткой.

Реакцию с испытуемой сывороткой считают положительной при наличии линии преципитации между лунками со специфическим антигеном и данной сывороткой и отсутствии такой линии между лунками с этой же сывороткой и нормальным антигеном.

При отрицательной реакции линия преципитации между испытуемой сывороткой и специфическим антигеном отсутствует.

6. Диагноз на катаральную лихорадку.

6.1. Диагноз на катаральную лихорадку крупного рогатого скота, овец, коз ставят на основании комплекса эпизоотологических, клинических, патологоанатомических данных, а также результатов вирусологических, патологогистологических и серологических исследований.

Патологогистологические и серологические исследования необходимы для постановки предварительного диагноза.

Окончательный диагноз на катаральную лихорадку устанавливают на основании выделения, идентификации и типирования вируса.

6.2. Сроки исследований:

- патологогистологических — 12 дней;
- вирусологических — 10...30 дней;
- серологических — 4 дня;
- биологической пробы — 7...20 дней.

ПРИЛОЖЕНИЕ к Методическим указаниям по лабораторной диагностике катаральной лихорадки крупного рогатого скота и овец.

Катаральная лихорадка овец, крупного рогатого скота (справка).

1. Эпизоотологические данные.

В естественных условиях к вирусу катаральной лихорадки восприимчивы овцы, особенно в молодом возрасте (от 6 мес. до 1 года). Овцы европейских пород более чувствительны, чем животные африканских и азиатских пород. Крупный рогатый скот, буйволы, козы и другие жвачные животные длительное время могут быть вирусоносителями, не проявляя клинических признаков болезни.

Возбудитель от больных животных к здоровым передается кровососущими насекомыми (мокрецы). Заболевание отмечается в период активного лёта кровососущих насекомых (летне-осенний) в местах их массового обитания (природный очаг). Болезнь чаще встречается в долинах, вблизи рек, водоемов. Обычно погибает от 2 до 30% овец, но иногда летальность достигает 90...100%.

2. Клинические признаки.

Инкубационный период болезни при естественном заражении 6...8 дней, при экспериментальном — 4...5 сут. При остром течении болезни отмечают лихорадку (40,5...42°С), гиперемию слизистой оболочки ротовой и носовой полостей; кровоизлияния, эрозии и язвы на слизистой губ, языка, десен, щек; повышенную саливацию («влажный рот»), водянистые с переходом в слизисто-гнойные истечения из носа, отек век, ноздрей, губ, подчелюстного пространства, шеи и груди; резкое опухание и багрово-синее окрашивание языка, иногда выпадение его через беззубый край, ихорозный запах изо рта; диарею.

У переболевших овец иногда наблюдают хромоту (воспаление венчика), искривление шеи и выпадение шерсти.

При подостром течении отмечают сильное истощение, слабость и медленное выздоровление.

При абортивной форме выявляют кратковременное повышение температуры тела и быстро проходящую гиперемию слизистой оболочки ротовой полости.

3. Патологоанатомические изменения.

Характерными являются следующие патологоанатомические признаки:

- студенистый отек подкожной клетчатки губ, ноздрей, век, щек, подчелюстного пространства, шеи, подгрудка, паха;
- диффузное помутнение роговой оболочки глаза (кератит);
- цианоз и изъязвление слизистой оболочки языка, губ и десен;
- отек языка, кровоизлияния, эрозии и очаги некроза на его латеральной поверхности;
- пятнисто-полосчатые кровоизлияния и отек скелетных мышц (преимущественно в области шеи, плеч, спины и поясницы);
- множественные кровоизлияния, эрозии и язвы на слизистой оболочке рубца, кровоподтеки и кровоизлияния на границе книжки с сеткой, некротическое изъязвление слизистой оболочки дна (жолоба) книжки;
- множественные кровоизлияния в сердце, легких, печени, почках, сычуге, кишечнике, лимфатических узлах и селезенке.

Катаральную лихорадку необходимо дифференцировать от болезни Найроби, ящура, оспы, контагиозной эктимы и некробактериоза.

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.

Сероварианта — 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. Аавер [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 Кипа *126, 480*

Бульон мясо-пептонный (МПБ) *78, 101, 109, 125, 326, 444, 456, 476, 483, 496, 542, 588*
— триптозо-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, 173, 228, 233, 244, 314, 328, 336, 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, 684*
— мазков по Борману — Гайнуллиной *74*
— Михину *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, 353, 386, 399, 563, 596*
— лимоннокислого натрия *127, 135, 402, 448, 458, 469, 476, 535*
— мединал-веноналовый *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, 266, 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, 535, 589, 616*
— хромоген-субстратный *318, 332, 338, 353, 564, 606*
— Эванса *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, 562, 591*
— иммуноосмофореза *84*
— иммуноэлектроосмофореза (РИЭОФ) *569, 573*
— нейтрализации (РН) *69, 86, 143, 227, 241, 324, 379, 389, 393, 395, 464, 493, 497, 522, 545, 548*
— нейтрализации вирусных гемагглютининов (РНВГ) *226*
— непрямой гемагглютинации (РНГА) *83, 227, 325, 494, 501, 516*

— непрямой иммунофлуоресценции (РНИФ) *6, 112, 292, 322*
— пассивной гемагглютинации (РПГА) *53*
— подавления иммунофлуоресценции *213, 386*
— радиальной иммунодиффузии (РРИД) *6, 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%-ногогидролизатаалактальбумина *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 «ZETECT-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/в) 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-Сервлиза-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 крупного 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-маеди 280
4.2. Временное наставление по применению набора диагностикумов для серологической диагностики висна-маеди 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 H5 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 2006 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.007216.04.10
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: lanpress@lanbook.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://gost.e-ecolog.ru
«Сова»: gost.e-ecolog.ru ; «Ozon.ru»: http://www.ozon.ru
«Биblio»: gost.e-ecolog.ru

Подписано в печать 26.03.15.
Бумага офсетная. Гарнитура Школьная. Формат 84×108 $^1/_{32}$.
Усл. п. л. 35,28. Тираж 700 экз.

Заказ № 2099.

Отпечатано способом ролевой 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: sales@chpd.ru, тел. 8(499)270-73-59

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ЖИВОТНЫХ

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

ISBN 978-5-8114-1862-4

gost.e-ecolog.ru