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

ПАРВОВИРУСНЫЙ ЭНТЕРИТ СОБАК

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.)

1. Общие положения.

1.1. Назначение набора. Набор предназначен для выявления иммуноферментным анализом (ИФА) специфического антигена парвовирусного энтерита собак (ВЭС), вирусного энтерита норок и панлейкопении кошек в биологическом материале от больных и экспериментально зараженных животных. Набор рассчитан на проведение 45 анализов (в двух повторах). Компоновка набора допускает возможность дробного использования компонентов для проведения нескольких серий анализов по мере поступления биоматериала.

1.2. Состав набора. Набор состоит из 12 компонентов.

Специфические компоненты:

1) специфический иммуноглобулин G (IgG) к ВЭС, лиофилизированный — 1 флакон, 0,1 мл;

2) положительный контроль ($К^+$) — специфический антиген ВЭС, лиофилизированный, 0,1 мл — 1 флакон;

3) отрицательный контроль ($К^-$) — лизат клеток без вируса, лиофилизированный, 0,1 мл — 1 флакон;

4) конъюгат — меченный пероксидазой хрена специфический иммуноглобулин G к ВЭС, лиофилизированный, 0,1 мл — 1 флакон.

Неспецифические компоненты:

5) 1 М карбонатно-бикарбонатный буфер (КББ): pH 9,4... 9,6, жидкий, 11 мл — 1 флакон.

6) 20-кратный концентрат фосфатно-солевого, содержащего твин 20, буферного раствора (ФСБТ), pH 7,2...7,4, жидкий — 2 флакона по 25 мл;

7) буферный раствор для разведения реагентов (БДР), pH 7,2...7,4, жидкий — 2 флакона по 20 мл;

8) субстратный раствор с перекисью водорода для разведения хромогена (СР), жидкий, 5,1 мл — 1 флакон;

9) хромоген — 3,3',5,5'-тетраметилбензидин (ТМБ) жидкий, 5,1 мл — 1 флакон;

10) 1 М серная кислота, стоп-раствор, жидкий, 5,1 мл — 1 флакон;

11) плоскодонный полистироловый планшет 96-луночный — 1 шт.;

12) наставление по применению набора — 1 экз.

1.3. Упаковка и маркировка. Компоненты набора выпускаются в закрытых флаконах. На флаконы с каждым компонентом наклеивают или наносят несмываемой краской по стеклу этикетки с указанием товарного знака и наименования предприятия-изготовителя, названия компонента, его номера и количества, номера серии и контроля, срока годности. На каждую коробку с диагностическим набором наклеивают этикетку, в которой указывают наименование и товарный знак предприятия-изготовителя, полное название набора, номер серии набора и контроля, срок годности, условия хранения и обозначение ТУ; в коробку вкладывают наставление по применению набора.

1.4. Набор хранят при температуре от 2 до 8°С и относительной влажности не более 80%. Срок годности — 12 мес. с даты изготовления.

Примечание. Набор содержит все необходимые для анализа компоненты. Дополнительно требуются микропипетки на 10, 100, 200 и 1000 мкл, мерная лабораторная посуда, дистиллированная вода, суховоздушный термостат с температурой 37°С, спектрофотометр для иммуноферментного анализа со светофильтром на 450 нм.

ВНИМАНИЕ! В состав компонентов набора входят токсические консерванты — мертиолят и азид натрия. Не допускайте попадания их внутрь и на слизистые оболочки. Серная кислота вызывает раздражение при попадании на кожу и слизистые оболочки.

2. Принцип метода.

2.1. Метод основан на взаимодействии иммобилизованного на поверхности лунок планшета специфического иммуноглобулина с антигеном ВЭС из исследуемой пробы и последующем выявлении полученного комплекса конъюгатом (меченым пероксидазой хрена специфическим к антигену ВЭС иммуноглобулином G). Связанная пероксидаза вызывает разложение находящейся в хромоген-субстратном растворе перекиси водорода и окисление хромогена. В лунках развивается окраска, интенсивность которой прямо пропорциональна количеству антигена в определяемой пробе.

3. Подготовка материала для анализа и рабочих растворов.

3.1. Подготовка биологического материала.

Для анализа используют пробы фекалий, дефибринизированную кровь, а также участки тонкого и толстого отделов кишечника, взятые от павших или вынужденно убитых животных в первые часы после гибели. Из материала готовят 10%-ную суспензию на забуференном физрастворе (в набор не входит) и центрифугируют ее 10 мин при 2000...3000 об/мин. Анализируют полученный супернатант.

Предназначенный для исследования материал можно хранить в морозильной камере бытового холодильника. Размораживать только перед анализом!

3.2. Подготовка рабочих растворов.

3.2.1. Перед началом работы все компоненты выдерживают не менее 0,5 ч при комнатной температуре.

3.2.2. Буфер для растворения специфического иммуноглобулина G — карбонатно-бикарбонатный буфер (флакон 5 — КББ) готов к употреблению.

3.2.3. Рабочий раствор для промывки планшетов (ФСБТ). Содержимое флаконов 6 растворяют в 1000 мл дистиллированной воды. Готовый раствор стабилен 3 сут при 4°С. Для более длительного хранения неиспользованный раствор замораживают и хранят при −20°С.

3.2.4. Раствор для блокировки свободной поверхности лунок и для растворения положительного ($К^+$) и отрицательного ($К^-$) контролей и конъюгата (флакон 7, БДР) готов к употреблению.

3.2.5. Рабочий хромоген-субстратный раствор. Раствор хромогена (ТМБ — флакон 9) разводят субстратным раствором (флакон 8) в соотношении 1:1 и перемешивают. *Пример*: для приготовления 5 мл рабочего раствора к 2,5 мл раствора ТМБ добавляют 2,5 мл субстратного раствора. Раствор готовят непосредственно перед использованием.

3.2.6. Раствор специфического иммуноглобулина для сенсибилизации планшета. Содержимое флакона 1 растворяют в 11 мл КББ. Раствор готовят непосредственно перед использованием.

3.2.7. Раствор положительного контроля ($К^+$). Содержимое флакона 2 — специфический антиген — растворяют в 2 мл БДР (флакон 7). Раствор готовят непосредственно перед использованием. Неиспользованный раствор фасуют в пробирки типа «Эппендорф» по 0,25 мл и хранят при температуре −20°С и ниже до следующего исследования, избегая повторного замораживания.

3.2.8. Раствор отрицательного контроля ($К^-$). Содержимое флакона 3 — лизат клеток без вируса — растворяют в 2 мл БДР (флакон 7). Раствор готовят непосредственно перед использованием. Неиспользованный раствор фасуют в пробирки типа «Эппендорф» по 0,25 мл и хранят при температуре −20°С и ниже до следующего исследования, избегая повторного замораживания.

3.2.9. Раствор конъюгата. Содержимое флакона 4 — конъюгат — растворяют в 0,1 мл БДР (флакон 7) и доводят объем до 10 мл этим же буфером. Раствор готовят непосредственно перед использованием. Неиспользованный раствор фасуют в пробирки типа «Эппендорф» по 0,8 мл и хранят при температуре −20°С и ниже до следующего исследования, избегая повторного замораживания.

3.2.10. Раствор для остановки реакции (стоп-раствор, флакон 10) готов к употреблению.

4. Постановка реакции.

4.1. Во все лунки планшета вносят по 100 мкл раствора специфического иммуноглобулина G (см. п. 3.2.6).

4.2. Планшет помещают в полиэтиленовый пакет и инкубируют 3...4 ч при 37°С или 18 ч при 4°С.

4.3. Планшет промывают 4 раза буфером ФСБТ (300 мкл/лунка) (см. п. 3.2.3), каждый раз полностью удаляя жидкость из лунок постукиванием перевернутого планшета по фильтровальной бумаге.

4.4. Во все лунки планшета вносят по 200 мкл буфера БДР (см. п. 3.2.4). Планшет помещают в полиэтиленовый пакет и инкубируют 0,5 ч при 37°С.

4.5. **ВНИМАНИЕ!** Если количество образцов для исследования не позволяет использовать планшет полностью, то неиспользованные стрипы замораживают с раствором БДР. Стрипы помещают в полиэтиленовый пакет и хранят до момента использования при температуре от −20 до −40°С, не допуская повторного замораживания. По мере необходимости стрипы размораживают, промывают раствором ФСБТ и используют в реакции, начиная с п. 4.6).

4.6. В лунки A1...B1 вносят по 100 мкл БДР — контроль конъюгата.

4.7. В лунки C1...D1 вносят по 100 мкл раствора отрицательного контроля ($К^-$) (см. п. 3.2.8).

4.8. В лунки E1...F1 вносят по 100 мкл раствора положительного контроля ($К^+$) (см. п. 3.2.7).

4.9. В остальные лунки вносят по 100 мкл исследуемых образцов (см. п. 3.1) (по 2 лунки на каждый образец).

4.10. Планшет помещают в полиэтиленовый пакет и инкубируют 1 ч при 37°С.

4.11. Планшет 4 раза промывают буфером ФСБТ (см. п. 4.3).

4.12. Во все лунки планшета вносят по 100 мкл конъюгата (см. п. 3.2.9).

4.13. Планшет помещают в полиэтиленовый пакет и инкубируют 1 ч при 37°С.

4.14. Планшет 4 раза промывают буфером ФСБТ (см. п. 4.3).

4.15. Во все лунки планшета вносят по 100 мкл рабочего хромоген-субстратного раствора (см. п. 3.2.5).

4.16. Планшет инкубируют 20 мин при комнатной температуре в темном месте.

4.17. Реакцию останавливают добавлением во все лунки планшета 50 мкл стоп-раствора (флакон 10).

5. Учет и интерпретация результатов.

5.1. Визуальный учет. (Останавливать реакцию не рекомендуется.) Лунки с положительным контролем должны иметь сине-голубое окрашивание до остановки реакции (желтое после остановки реакции). Лунки с отрицательным контролем и контролем конъюгата должны оставаться бесцветными (до и после остановки реакции). Лунки с исследуемыми образцами, в которых присутствует специфический антиген, имеют сине-голубое (желтое после остановки реакции) окрашивание различной интенсивности в зависимости от концентрации антигена.

Реакцию считают положительной, когда заметна четкая разница в интенсивности окрашивания опытных и контрольных отрицательных ($К^-$) лунок планшета.

5.2. Инструментальный учет.

Результаты ИФА учитывают спектрофотометрически при длине волны 450 нм после остановки реакции кислотой. Положительной считают реакцию при соотношении величины оптической плотности в лунке с исследуемой пробой (P) к величине оптической плотности в лунке с отрицательным контролем (N) (P/N), равном не менее 2,1. Величина оптической плотности для положительного контроля ($К^+$) должна быть не ниже 0,4 единиц.

6. Порядок предъявления рекламаций.

6.1. Рекламацию на качество наборов для выявления антигена ПВЭС, в соответствии с указанием Главного управления ветеринарии «О порядке предъявления рекламации на ветеринарные препараты отечественного производства и закупаемые по импорту» № 22-7/28 от 8 мая 1992 г. направляют на предприятие-изготовитель: 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, 16, НПО НАРВАК, во Всероссийский государственный научно-исследовательский институт контроля, стандартизации и сертификации ветеринарных препаратов (ВГНКИ) по адресу: 123022, г. Москва. Звенигородское шоссе, 5, и ЦНМВЛ (Москва, Оранжерейная, 23).

Наставление разработано НПО НАРВАК.

Одобрено Советом по ветеринарным препаратам Департамента ветеринарии Минсельхозпрода РФ, протокол № 1 от 15 февраля 2000 г., ПВР-1-1.0/-325.

С утверждением настоящего наставления утрачивает силу Наставление по применению набора для выявления антигенов парвовирусного энтерита собак, вирусного энтерита норок и панлейкопении кошек иммуноферментным анализом, утвержденное Департаментом ветеринарии Минсельхозпрода РФ № 13-7-2/1970 от 24 апреля 2000 г.

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, 8).

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 Киппа *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*

Гемолизии *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*
— 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*, *615*
— 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-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*, *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*, *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 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-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 ВНИИВТ 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., № 13-7-2/1241) 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 ВАРЫШНИКОВ,
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»
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru
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: gost.e-ecolog.ru **: 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»: gost.e-ecolog.ru
«Сова»: gost.e-ecolog.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 ролевой струйной печати
в АО «Первая Образцовая типография»
Филиал «Чеховский Печатный Двор»
142300, Московская область, г. Чехов, ул. Полиграфистов, д. 1
Сайт: gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru **199)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