# 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

## ВИРУСНЫЕ РЕСПИРАТОРНО-КИШЕЧНЫЕ ИНФЕКЦИИ

### 3.5. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ВИРУСНЫХ РЕСПИРАТОРНО-КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

*(рекомендованы 25 июля 1978 г., б/н)*

**1. Общие положения.**

1.1. Настоящие Методические указания распространяются на следующие вирусные респираторно-кишечные инфекции (пневмоэнтериты) крупного рогатого скота: инфекционный ринотрахеит (ИРТ), парагрипп-3 (ПГ-3), вирусную диарею (ВД), аденовирусную инфекцию (адено), респираторно-синцитиальную инфекцию (РС), грипп.

1.2. Лабораторная диагностика вирусных респираторно-кишечных инфекций заключается в:

- обнаружении антигена в патологическом материале методами иммунофлуоресценции (ИФ), реакции связывания комплемента (РСК), реакции диффузионной преципитации (РДП);
- выделении возбудителя из патологического материала в культуре клеток или на куриных эмбрионах и его идентификации в одной из серологических реакций: РСК, РДП, реакции торможения гемагглютинации (РТГА), реакции торможения гемадсорбции, (РТГАд), реакции нейтрализации (РН), реакции торможения непрямой гемагглютинации (РТНГА), ИФ;

- выявлении антител в крови больных и переболевших животных (ретроспективная диагностика) в одной из серологических реакций: реакции непрямой гемагглютинации (РНГА), РДП, РН, РТГА, РСК, реакции нейтрализации вирусных гемагглютининов (РНВГ).

1.3. Схема исследований при лабораторной диагностике вирусных респираторно-кишечных инфекций крупного рогатого скота (см. стр. 209, 210).

1.4. При лабораторной диагностике вирусных респираторно-кишечных инфекций крупного рогатого скота используют соответствующие каждой инфекции диагностические наборы, выпускаемые биологической промышленностью.

1.5. Диагностика вирусных пневмоэнтеритов проводится параллельно с исследованием материала на бактериальные и хламидийную инфекции.

1.6. Лабораторный диагноз на вирусные респираторно-кишечные инфекции ставится на основании положительных результатов обнаружения антигена в патологическом материале с помощью одной из серологических реакций (ИФ, РДП, РСК) или выделения и идентификации возбудителя в одной из реакций, указанных в схеме п. 1.3, или установления четырехкратного прироста антител в крови переболевших животных.

| Болезнь | Обнаружение антигена | | Выделение вируса | Идентификация вируса (реакция) | Ретроспективная диагностика |
|---|---|---|---|---|---|
| | исследуемый патологический материал | реакция | | | |
| Инфекционный ринотрахеит | Слизистая носа, трахеи, легкие, головной мозг, органы абортированного плода | ИФ, РДП | В культуре клеток: ПЭК, ПТ, ТБ, СЭК | ИФ, РН | РНГА, РДП, РН |
| Парагрипп-3 | Слизистая носа, трахеи, легкие, селезенка | ИФ | В культуре клеток: ПЭК, ПТ, ТБ, ЛЭК, СЭК | ИФ, РТГА, РГАд, РТГАд | РНВГ |

| Болезнь | Обнаружение антигена | | Выделение вируса | Идентификация вируса (реакция) | Ретроспективная диагностика |
|---|---|---|---|---|---|
| | исследуемый патологический материал | реакция | | | |
| Вирусная диарея | Слизистая носа, кишечника, преджелудков, трахеи, легкие, почка | ИФ | В культуре клеток: СЭК, ПЭК, ТБ | ИФ, РСК, РДП, РН | РСК, РН |
| Аденовирусная инфекция | То же | ИФ, РСК | В культуре клеток: ПЭК, ТБ | ИФ, РСК, РДП, РТНГА | РНГА, РДП, РСК |
| Респираторно-синцитиальная инфекция | Слизистая носа, трахеи, легкие | ИФ | В культуре клеток: ПЭК, ТБ | ИФ, РДП, РСК | РДП |
| Грипп | То же | ИФ | На куриных эмбрионах | РТГА | РТГА |

*Обозначения:* ПЭК — почка эмбриона коров; ПТ — почка телят; ТБ — тестикулы бычков; СЭК — селезенка эмбриона коров; ЛЭК — легкие эмбриона коров.

Диагноз на вирусные пневмоэнтериты считают установленным по результатам лабораторного исследования с учетом эпизоотологических и клинических данных и патологоанатомических изменений.

1.7. Для постановки лабораторного диагноза путем обнаружения антигена в патологическом материале требуется 2...3 дня, с помощью выделения вируса и его идентификации — до 30 дней, а путем выявления прироста антител в крови животных — от 2 до 4 недель.

**2. Взятие и подготовка материала для исследования.**

2.1. В лабораторию для исследования направляют патологический материал от больных животных, взятый в период максимального проявления у них клинических признаков (температурная реакция, угнетение, воспалительные процессы в верхних дыхательных путях, сопровождающиеся серозными или слизистыми истечениями из носовой полости, поносы, иногда аборты), или от вынужденно

убитых или павших животных, взятый не позднее чем через 2 ч после их гибели.

2.2. От больных животных берут: 1) тампонами мазки со слизистой носовой полости (при ИРТ — со слизистой глаз, влагалища, препуция) для реакции иммунофлуоресценции и для выделения возбудителя; 2) фекалии — для выделения возбудителя и 3) пробы крови — для выявления в ней титра антител.

Тампоны с материалом помещают в пенициллиновые флаконы с 2...5 мл питательной среды для культуры клеток или раствора Хенкса, содержащие 1000 ЕД/мл пенициллина и 1000 мкг/мл стрептомицина.

Кровь в объеме не менее 5,0 мл берут в пробирки, после свертывания доставляют в лабораторию.

2.3. От павших и вынужденно убитых животных берут кусочки носовой перегородки, трахеи, легких, селезенки, почки, средостенные и брыжеечные лимфатические узлы и при поносах — кусочки тонкого отдела кишечника. От абортированных плодов берут кусочки паренхиматозных органов, околоплодную жидкость.

2.4. Флаконы с патологическим материалом доставляют в лабораторию в термосе со льдом.

2.5. В лаборатории флаконы с тампонами встряхивают 2...3 мин, тампоны отжимают и удаляют, а содержимое флакона центрифугируют при 2 тыс. об/мин в течение 10 мин. Надосадочную жидкость отсасывают в стерильную пробирку, куда вносят по 500 ЕД/мл пенициллина и 500 мкг/мл стрептомицина, выдерживают при 4°С в течение 2...4 ч и используют для заражения культуры клеток или куриных эмбрионов. Из осадка центрифугата готовят мазки для исследования методом иммунофлуоресценции.

2.6. Флаконы с фекалиями замораживают при температуре −20°С (в морозилке холодильника) в течение 18 ч, после чего оттаивают при 37°С и центрифугируют при 5 тыс. об/мин в течение 20 мин. Надосадочную жидкость отсасывают в стерильную пробирку, вносят 1000 ЕД/мл пенициллина, 1000 мкг/мл стрептомицина и 50 ЕД/мл нистатина, выдерживают при 4°С в течение 2...4 ч, дополнительно

центрифугируют и используют для заражения культуры клеток или куриных эмбрионов.

2.7. Со слизистой носовой перегородки, трахеи, влагалища, бронхов и кишечника делают скальпелем соскобы, вносят их в центрифужную пробирку с 5 мл физиологического раствора и центрифугируют при 2 тыс. об/мин в течение 10 мин. Осадок клеток суспендируют в 0,5 мл того же раствора и готовят мазки на обезжиренных предметных стеклах для исследования методом иммунофлуоресценции.

Из кусочков легкого и лимфатических узлов готовят отпечатки на предметных стеклах или срезы толщиной 5 микрон для исследования тем же методом.

2.8. Из кусочков органов готовят 10...20%-ную суспензию для выделения возбудителя и приготовления комплементсвязывающего и преципитирующего антигенов.

2.9. Для получения суспензии (с целью выделения вируса) ткань измельчают, растирают в ступке со стеклянным песком, разводят раствором Хенкса, содержащим антибиотики, центрифугируют при 5 тыс. об/мин в течение 20 мин. Надосадочную жидкость отсасывают, выдерживают при температуре 4°С в течение 2...4 ч и используют для заражения культуры клеток или куриных эмбрионов.

2.10. Для изготовления испытуемого комплементсвязывающего антигена ткань измельчают в ступке или специальном микроизмельчителе, разводят 1:5 содержащим антибиотики физиологическим раствором, pH 7,2...7,4. Полученную 20%-ную суспензию замораживают при температуре −20°С в течение 16...18 ч, быстро оттаивают при температуре 37°С, повторно растирают или гомогенизируют, а затем центрифугируют при 5 тыс. об/мин в течение 20 мин. Надосадочную жидкость отсасывают и далее используют, как указано в п. 5.1.

**3. Обнаружение вирусных антигенов в патологическом материале методом иммунофлуоресценции.**

3.1. Метод иммунофлуоресценции для обнаружения вируса применяется при диагностике всех респираторно-кишечных инфекций, указанных в п. 1.1.

3.2. Полученные мазки, отпечатки и срезы подсушивают на воздухе, фиксируют в ацетоне в течение 5 мин и окрашивают флуоресцирующими сыворотками, имеющимися в наборах диагностикумов. Каждой сывороткой окрашивают по 4 препарата из каждого органа.

3.3. Окрашивание препаратов ведут во влажной камере при температуре 37°С в течение 45 мин. Затем препараты споласкивают в трех сменах физиологического раствора, pH 7,2...7,4, и в дистиллированной воде, подсушивают на воздухе. На препараты наносят нефлуоресцирующее масло и исследуют их под люминесцентным микроскопом.

3.4. Для контроля специфичности свечения ставят реакцию подавления иммунофлуоресценции. Для этого на два препарата из органа, при исследовании которого получена положительная реакция иммунофлуоресценции, наносят соответствующую выявленному вирусу сыворотку в разведении 1:10 и выдерживают их в термостате во влажной камере в течение 30 мин.

Препараты споласкивают в трех сменах физиологического раствора, pH 7,2...7,4, и окрашивают флуоресцирующей сывороткой.

3.5. Учет реакции. Положительным результатом исследования методом ИФ считается наличие специфической флуоресценции, которая характеризуется тем, что в препаратах, окрашенных флуоресцирующей сывороткой, ткань флуоресцирует тусклым зеленовато-серым цветом, а вирусный антиген при этом выявляется в виде ярких зеленовато-желтых различных по величине гранул или в виде диффузного свечения в цитоплазме или (при ИРТ, адено) в ядре.

В контрольных препаратах, обработанных последовательно специфической и флуоресцирующей сыворотками, специфическая флуоресценция должна отсутствовать.

Диагноз на вирусную респираторно-кишечную инфекцию ставят при обнаружении специфической флуоресценции не менее чем в трех полях зрения при наличии в каждом из них 3...5 и более флуоресцирующих клеток или при наличии 15...20% флуоресцирующих клеток при подсчете не менее 100 клеток в препарате. При выявлении меньшего числа флуоресцирующих клеток диагноз подтверждают

исследованием антител в парных пробах сывороток крови больных животных или выделением возбудителя.

3.6. При исследовании материала от животных, привитых живыми вакцинами против инфекций, на которые проводятся диагностические исследования, положительные результаты ИФ во всех случаях следует подтверждать исследованием парных проб сывороток крови.

**4. Обнаружение антигена вируса ИРТ в РДП.**

4.1. РДП ставят в агаровом геле.

4.2. Компоненты реакции: специфическая преципитирующая сыворотка; контрольная отрицательная сыворотка; исследуемый материал от больных животных; специфический антиген.

4.3. Агаровую среду готовят по прописи: агар — 1,0, физиологический раствор pH 7,4 — 100,0 мл. Агар расплавляют на водяной бане и разливают в чашки Петри по 25 мл или на обезжиренные предметные стекла. В слое застывшего агара при помощи штампа нарезают лунки — одну центральную и 6 вокруг нее на расстоянии 0,5...0,7 см.

4.4. Постановка реакции. В центральную лунку вносят специфическую сыворотку, в лунки по окружности — испытуемый материал. Параллельно испытуемый материал исследуют с отрицательной сывороткой.

Контроли:

1) контрольный положительный антиген + специфическая сыворотка;

2) контрольный положительный антиген + отрицательная сыворотка.

Чашки Петри или предметные стекла помещают во влажную камеру, выдерживают при температуре 37°С в течение 18...24 ч и затем при комнатной температуре в течение такого же времени.

4.5. Учет реакции. Реакцию считают положительной при условии образования ясно выраженной линии преципитации между лунками с исследуемым антигеном и специфической сывороткой, а также между контрольным положительным антигеном и специфической сывороткой при отрицательном результате с отрицательной сывороткой.

**5. Обнаружение антигена адено в патологическом материале в РСК.**

5.1. Комплементсвязывающий антиген готовят из 20%-ной суспензии патологического материала, обработанной, как указано в п. 2.10. Для этого к ней добавляют 1%-ный раствор гексаметафосфата натрия до конечной концентрации 0,05% и раствор 1 н. HCl для снижения pH до 4,1.

Смесь оставляют на 30 мин, а затем центрифугируют при 5 тыс. об/мин в течение 30 мин. Надосадочную жидкость сливают, а осадок растворяют в 1/20 первоначального объема суспензии 0,1 М (моль/л) фосфатно-буферного раствора, pH 7,9, содержащего 0,85% хлористого натрия. Полученный раствор осветляют центрифугированием при том же режиме и исследуют в РСК с иммунными сыворотками к аденовирусу крупного рогатого скота.

5.2. Компоненты реакции: испытуемый антиген; два стандартных специфических антигена, относящиеся к двум антигенным подгруппам; отрицательный антиген; две специфических сыворотки, соответствующие антигенным подгруппам; нормальная сыворотка.

5.3. Испытуемый антиген исследуют в двукратных разведениях, остальные антигены и сыворотки — в удвоенном титре.

5.4. Постановка реакции. Реакцию ставят в пробирках в объеме 0,5 мл или используют микротитратор Такачи. РСК проводят в три этапа: титрование комплемента в чистом виде, титрование комплемента в присутствии антигенов и сывороток, главный опыт.

5.5. Для титрования комплемента во вспомогательном ряду пробирок готовят различные дозы по следующей схеме:

| Компоненты, мл | Искомые дозы комплемента | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0,16 | 0,19 | 0,22 | 0,25 | 0,28 | 0,31 |
| Комплемент 1:20 | 0,16 | 0,19 | 0,22 | 0,25 | 0,28 | 0,31 |
| Физиологический раствор | 0,34 | 0,31 | 0,28 | 0,25 | 0,22 | 0,19 |

Комплемент титруют по следующей схеме:

| Компоненты, мл | Искомые дозы комплемента | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0,16 | 0,19 | 0,22 | 0,25 | 0,28 | 0,31 |
| Комплемент в разных дозах | 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 |
| Гемолитическая система | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 |
| Результат | ++++ | ++ | 0 | 0 | 0 | 0 |

За титр комплемента принимается наименьшая доза его, вызывающая полный гемолиз эритроцитов гемолитической системы через 30 мин при температуре 37°С.

Комплемент титруют не чаще 1 раза в месяц.

Титрование комплемента в присутствии антигенов и сывороток проводят по следующей схеме (см. с. 216).

Инкубируют систему на водяной бане при температуре 37...38°С в течение 60...90 мин, добавляют гемолитическую систему по 0,2 мл во все пробирки всех рядов.

| Ряд | Компоненты, мл | Искомые дозы комплемента | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 0,19 | 0,22 | 0,25 | 0,28 | 0,31 | 0,34 |
| 1 | Антиген специфический | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| | Физиологический раствор | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| | Комплемент | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| 2 | Антиген испытуемый | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| | Физиологический раствор | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| | Комплемент | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| 3 | Сыворотка специфическая | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| | Физиологический раствор | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| | Комплемент | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| 4 | Сыворотка отрицательная | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| | Физиологический раствор | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| | Комплемент | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 |

За рабочую дозу комплемента принимают его наименьшее количество, которое вызывает полный гемолиз эритроцитов во всех рядах с антигенами и сыворотками. Результаты учитывают через 30...45 мин инкубации при температуре 37...38°С. В главном опыте используют 1,5 или 2 дозы комплемента.

5.6. Главный опыт. Положительной считается реакция, при которой наблюдается связывание комплемента (полная задержка гемолиза) в пробирках первого или второго рядов, содержащих испытуемый антиген и одну из специфических сывороток, при задержке гемолиза — в этих же рядах со специфическими антигенами. В пробирках третьего ряда с отрицательной сывороткой и в контролях на антикомплементарность должен быть полный гемолиз.

Главный опыт ставят по следующей схеме:

| Ряд | Сыворотка | Антиген | | | | | | | | Антикомплементарность |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | специфический | | отрицательный | 1:2 | 1:4 | 1:8 | 1:16 | 1:32 | |
| | | 1-й подгруппы | 2-й подгруппы | | | | | | | |
| 1 | Специфическая | ++ | + | 0 | ++ | ++ | ++ | + | 0 | 0 |
| | 1-й подгруппы | ++ | – | | ++ | ++ | ++ | | | |
| 2 | Специфическая | + | ++ | 0 | ++ | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 2-й подгруппы | – | ++ | 0 | ++ | | | | | |
| 3 | Отрицательная | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | Антикомплементарность антигена | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

**6. Выделение вирусов респираторно-кишечных инфекций.**

6.1. С целью выделения вируса используют соскобы со слизистой носовой полости, трахеи, кишечника, кусочки паренхиматозных органов и пробы фекалий. Исследуемый материал предварительно обрабатывают, как указано в пп. 2.5, 2.6 и 2.9.

6.2. Выделение вируса проводят путем заражения первично-трипсинизированных или субкультур клеток почек эмбриона коров (ПЭК), почек телят (ПТ), тестикул бычков (ТБ), селезенки эмбриона коров (СЭК), легких эмбриона коров (ЛЭК), а также куриных эмбрионов в соответствии со схемой п. 1.3.

Культуры клеток готовят в соответствии с «Методическими указаниями по приготовлению и контролю культур клеток крупного рогатого скота».

6.3. Выделение вируса в культуре клеток. Пробирки с монослоем клеток отмывают раствором Хенкса и заражают по 0,2...0,3 мл каждым испытуемым материалом. Пробирки выдерживают в термостате при температуре 37°С в течение 60...90 мин, а затем из них удаляют испытуемую жидкость и добавляют 1 мл поддерживающей среды, содержащей 200 ЕД/мл пенициллина и 200 мкг/мл стрептомицина. Для контроля оставляют 5 пробирок, в которых заменяют ростовую среду на поддерживающую.

Зараженные и контрольные культуры клеток инкубируют при температуре 37°С до 7...14 сут и ежедневно просматривают под микроскопом с целью выявления цитопатического действия (ЦПД) вируса, имея в виду, что характер ЦПД и сроки его появления зависят от свойств размножающегося вируса и вида культуры клеток.

6.3.1. Вирус ИРТ вызывает ЦПД, как правило, раньше, чем вирусы ПГ-3, РС, ВД и адено. ЦПД характеризуется округлением клеток, отслоением их от стекла и полным разрушением клеточного монослоя.

6.3.2. ЦПД вируса ПГ-3 характеризуется очаговым округлением и зернистым перерождением пораженных клеток, появлением удлиненных полиморфных клеток, симпластов и синцитиальных полей, которые отслаиваются от стекла, разрежая монослой.

6.3.3. Респираторно-синцитиальный вирус в культуре ткани ПЭК и ТБ вызывает округление клеток, слияние их сначала в небольшие, но постепенно увеличивающиеся синцитиальные поля. Часть клеток отслаивается от стекла, образуя пустоты в монослое.

6.3.4. ЦПД вируса диареи выражается в появлении мелкозернистой инфильтрации, округлении и отторжении клеток от стекла. Часто обнаруживают вакуолизацию цитоплазмы пораженных клеток. Возможно выделение нецитопатогенных штаммов.

6.3.5. Размножение аденовирусов в культуре клеток сопровождается медленным развитием ЦПД. Вначале отдельные клетки, а затем группы клеток увеличиваются в объеме, становятся рефрактерными, приобретают округлую форму, собираются в конгломераты, похожие на гроздья винограда.

6.3.6. При отсутствии ЦПД в первых пассажах или слабом его проявлении проводят три последовательных пассажа. Каждый пассаж проверяют в реакции гемадсорбции (см. п. 9) с эритроцитами морской свинки.

При наличии в культуре клеток цитопатических изменений или положительной гемадсорбции проводят идентификацию выделенного вируса.

6.4. Выделение вируса на куриных эмбрионах. Для заражения используют куриные эмбрионы 9...11-суточного возраста. Эмбрионы заражают в аллантоисную полость в дозе 0,2 мл. После заражения их инкубируют при температуре 37°С и ежедневно овоскопируют.

Гибель эмбрионов в течение 48 ч считают неспецифической. Эмбрионы, погибшие через 3...7 сут после заражения, вскрывают и отбирают экстраэмбриональную жидкость для проверки ее на гемагглютинирующую активность с эритроцитами петуха и проведения исследований по идентификации вируса-изолята. При отсутствии гибели эмбрионов в первом пассаже проводят второй и третий пассажи, используя для заражения экстраэмбриональную жидкость.

**7. Идентификация возбудителей методом иммунофлуоресценции.**

7.1. Для идентификации выделенного вируса им заражают культуру клеток, выращенную в пробирке на покровном стеклышке. В момент появления выраженного ЦПД в зараженной культуре стеклышки вынимают из пробирок, фиксируют в ацетоне и окрашивают флуоресцирующими сыворотками, как описано в п. 3.

**8. Идентификация вируса ИРТ и ВД в реакции нейтрализации в культуре клеток.**

8.1. Компоненты реакции: испытуемый (выделенный) вирус; специфическая сыворотка; контрольная отрицательная сыворотка.

8.2. Сыворотки перед постановкой реакции разводят 1:10 питательной средой, инактивируют на водяной бане при 56°С 30 мин. В два ряда стерильных пробирок (по 7 шт.) вносят по 2 мл сыворотки, в первый ряд — специфическую, во второй ряд — контрольную отрицательную.

Готовят десятикратные разведения вируса от $10^{-1}$ до $10^{-7}$ на питательной среде в объемах, достаточных для постановки реакции, и вносят в два ряда с сыворотками, начиная с разведения $10^{-7}$, в объеме по 2 мл каждого разведения на пробирку.

Пробирки со смесью разведений вируса и сывороток встряхивают и выдерживают в термостате при 37°С 1 ч. Каждую смесь сыворотки с разведениями вируса вносят по 1 мл в 4 пробирки с культурой клеток. Пробирки инкубируют при температуре 37°С и учитывают результаты реакции по ЦПД на 5...7-е сутки.

Определяют титр вируса в присутствии специфической и отрицательной сывороток и выражают его в $\lg ТЦД_{50}$/мл. Видовую принадлежность вируса устанавливают при наличии разности в титрах вируса с отрицательной и положительной сыворотками не менее чем на 2 логарифма.

**9. Идентификация вируса ПГ-3 в реакциях гемадсорбции (РГАд) и торможения гемадсорбции (РТГАд).**

9.1. Постановка реакции гемадсорбции. В пробирки с культурой клеток на 3...7-й день после заражения исследуемым материалом вносят по 1 мл 0,5%-ной взвеси эритроцитов морской свинки.

Пробирки выдерживают в наклонном положении клеточным слоем вниз при комнатной температуре в течение 10...15 мин, после чего их слегка встряхивают для отделения от клеток неадсорбированных эритроцитов, затем микроскопируют.

При наличии вируса в материале отчетливо видны прикрепившиеся к клеткам эритроциты, тогда как в контрольных пробирках они проплывают в поле зрения.

При положительной гемадсорбции идентификацию вируса проводят в реакции торможения гемадсорбции со специфической сывороткой к вирусу ПГ-3.

9.2. Постановка реакции торможения гемадсорбции. Реакцию ставят после 3...7-суточного инкубирования пробирок с инфицированной культурой клеток. Для этого из них удаляют питательную среду, промывают клетки раствором Хенкса и вносят в каждые 4 пробирки по 0,5 мл специфической к вирусу ПГ-3 сыворотки в разведении 1:10. Пробирки в наклонном положении оставляют при комнатной температуре на 30 мин для контакта клеток с антителами. Затем во все пробирки вносят по 1 мл 0,5%-ной суспензии эритроцитов морской свинки. Через 30 мин учитывают реакцию гемадсорбции. Отсутствие гемадсорбции в пробирках со специфической сывороткой и проявление ее в пробирках с зараженной культурой клеток, но не обработанной специфической сывороткой, свидетельствует о наличии вируса ПГ-3 в культуре клеток.

**10. Идентификация вирусов парагриппа-3 и гриппа в реакции торможения гемагглютинации (РТГА).**

10.1. Реакцию проводят в панелях с лунками из оргстекла в объеме 0,45 мл или микрометодом.

10.2. Вначале вирус титруют в РГА и определяют его рабочее разведение. Для этого вирус разводят в объеме 0,2 мл на физиологическом растворе от 1:2 до 1:256. Затем во все лунки вносят по 0,05 мл (по одной капле) 5%-ной взвеси эритроцитов морской свинки. Для контроля на спонтанную агглютинацию смешивают в нескольких лунках по 0,05 мл взвеси эритроцитов с 0,2 мл физиологического раствора. Для перемешивания компонентов панели встряхивают и оставляют при комнатной температуре на 60...90 мин до полного оседания эритроцитов в контрольных лунках, после чего их просматривают на освещенном белом фоне.

Положительная РГА оценивается по форме осадка эритроцитов, которые осаждаются на стенках, образуя «зонтик».

10.3. Титром вируса считается наибольшее разведение его, при котором наблюдается агглютинация эритроцитов, что соответствует одной гемагглютинирующей единице (1 ГАЕ) в 0,2 мл. Рабочее разведение должно содержать в 0,2 мл 4 ГАЕ, поэтому показатель последнего разведения антигена, вызвавшего агглютинацию, делят на 4. Например, если агглютинирующий титр равен 1:128, то рабочее разведение (4 ГАЕ в 0,2 мл) будет соответствовать 1:32 (128 : 4 = 32).

10.4. Рабочую дозу антигена контролируют в РГА. Для этого в 4 лунки наливают по 0,2 мл физиологического раствора. В первую лунку вносят 0,2 мл рабочего разведения вируса, смешивают и переносят в последующие лунки. Из четвертой лунки 0,2 мл удаляют. Во все лунки добавляют по 0,2 мл физиологического раствора и по 0,05 мл взвеси эритроцитов. Реакцию учитывают через 60...90 мин. При правильном выборе рабочего разведения вируса в первой и второй лунках, содержащих соответственно 2 ГАЕ и 1 ГАЕ, должна быть полная агглютинация, а в третьей и четвертой лунках агглютинации не должно быть.

10.5. Для постановки основного опыта в одном ряду готовят в объеме 0,2 мл двукратные разведения специфической сыворотки до указанного на этикетке ампулы титра. Во втором ряду разводят отрицательную сыворотку. В каждую лунку обоих рядов вносят по 0,2 мл рабочего разведения вируса, содержащего 4 ГАЕ. В третьем ряду ставят контроль эритроцитов (0,05 мл эритроцитов и 0,4 мл физиологического раствора). Панели встряхивают и после 60...90-минутного контакта сыворотки с вирусом в каждую лунку добавляют по 0,05 мл 5%-ной взвеси эритроцитов.

Реакцию учитывают через 60...90 мин после оседания эритроцитов в контрольных лунках третьего ряда.

Идентификация вируса считается завершенной, если специфическая сыворотка тормозит гемагглютинирующую активность вируса до ее титра.

**11. Идентификация вирусов РС, адено и диареи в реакции диффузионной преципитации (РДП).**

11.1. Для идентификации в РДП респираторно-синцитиального вируса, аденовируса и вируса диареи необходимо изготовить из вируссодержащей культуральной жидкости концентрированный антиген. Для этого к 10 мл вируссодержащей жидкости с разрушенными путем однократного замораживания и оттаивания клетками добавляют 0,5 мл 1%-ного раствора гексаметафосфата натрия, после чего добавляют 0,1 н. раствор соляной кислоты для снижения pH смеси в пределах 3,8...4,1. Смесь выдерживают при комнатной температуре в течение 30 мин, затем центрифугируют при 3...4 тыс. об/мин в течение 30 мин. Надосадочную жидкость выбрасывают, а осадок растворяют в 1 мл 0,1 М фосфатно-буферного раствора pH 7,9, содержащего 0,85% хлористого натрия. Нерастворившиеся частицы осаждают повторным центрифугированием при том же режиме. Надосадочную жидкость, представляющую собой концентрированный антиген, исследуют в РДП или РСК.

11.2. Реакцию ставят в чашках Петри, в слое застывшего агара, приготовленного, как указано в п. 4.3, делают лунки диаметром 5...7 мм при помощи металлического штампа. Лунки заполняют, как указано на рисунке 21.

11.3. Учет реакции проводят через 24 и 48 ч. Первые сутки чашки выдерживают при температуре 37°С, вторые — при комнатной температуре.

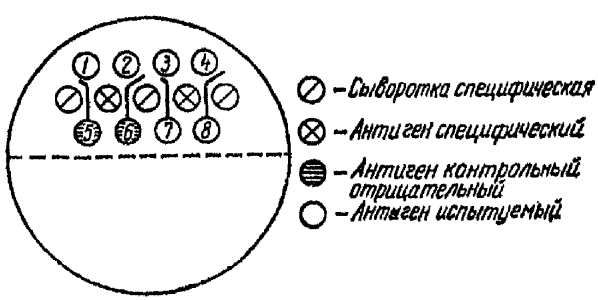



Рис. 21
*Линии преципитации между специфическим антигеном и специфической сывороткой*

В агаре находят основные линии преципитации между специфическим антигеном и специфической сывороткой (см. рис. 21). При положительном результате реакции образуется закругление (отклонение) конца основной линии преципитации в сторону между лункой с испытуемым антигеном и специфической сывороткой (*1*, *3*) или появляются четкие линии преципитации (*2*, *4*). При отрицательном результате реакции (*7*, *8*) основная линия преципитации идет по прямой к испытуемому антигену. С контрольным отрицательным антигеном (*5*, *6*) реакция должна быть отрицательной.

**12. Идентификация вируса адено, РС и диареи в реакции связывания комплемента (РСК).**

12.1. Для идентификации вирусов адено, РС, диареи в РСК из вируссодержащей культуральной жидкости готовят концентрированный в 10...20 раз антиген. Методика изготовления антигена описана в п. 11.1.

12.2. Титрование комплемента проводят по схемам, приведенным в п. 5.5.

12.3. Главный опыт ставят по следующей схеме:

| Комплемент | Антиген в разведениях | Сыворотка | | | | Антикомплементарность антигенов |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Специфическая (в удвоенном титре) | | | Контрольная отрицательная | |
| | | 1:8 | 1:16 | 1:32 | | |
| 1,5 дозы | Испытуемый | ++ | ++ | + | 0 | 0 |
| | | ++ | ++ | | | |
| | Специфический | ++ | ++ | ++ | 0 | 0 |
| | | ++ | ++ | | | |
| | Контрольный отрицательный | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Антикомплементарность сывороток | 0 | 0 | 0 | 0 | - |

Связывание комплемента проводят при температуре 4°С в течение 16...18 ч.

12.4. Положительной считается реакция, при которой происходит связывание комплемента (полная задержка ге-

молиза) в присутствии специфической сыворотки с антигеном из испытуемого материала и со специфическим антигеном, при полном гемолизе в рядах с отрицательным антигеном и отрицательной сывороткой.

**13. Идентификация аденовируса в реакции торможения непрямой гемагглютинации (РТНГА).**

13.1. Реакцию проводят в панелях с лунками из оргстекла в объеме 0,45 мл или микрометодом.

В одном ряду готовят в объеме 0,2 мл двукратные разведения испытуемого вируса от 1:1 до 1:128. Во втором разводят нормальную (безвирусную) культуральную жидкость. К каждому разведению обоих рядов добавляют по 0,2 мл специфической к аденовирусу сыворотки, разведенной на три двукратных разведения меньше, чем титр, указанный на этикетке ампулы (например, титр сыворотки в РНГА 1:128, для реакции ее разводят 1:16).

13.2. Разведения вируса, нормальной культуральной жидкости и сыворотки готовят на физиологическом растворе, pH 7,2...7,4, содержащем 1% нормальной сыворотки кролика, истощенной эритроцитами барана, или 0,02% бычьего альбумина.

Панели осторожно встряхивают и оставляют на 40... 60 мин при температуре 37°С. Затем во все лунки обоих рядов добавляют по 0,05 мл (по одной капле) эритроцитарного диагностикума (антигена). Панели повторно встряхивают и выдерживают в течение 1...2 ч при комнатной температуре.

13.3. Реакцию считают положительной, а аденовирус идентифицированным, если в первом ряду с вирусом произойдет торможение агглютинации в первых, хотя бы в 2...3, лунках при условии полной агглютинации во всех лунках второго (контрольного) ряда.

**14. Ретроспективная диагностика.**

14.1. Ретроспективную диагностику респираторно-кишечных инфекций крупного рогатого скота проводят с целью обнаружения специфических антител в сыворотке крови переболевших животных при помощи РТГА, РСК, РДП, РНГА, РН, РНВГ согласно схеме п. 1.3.

14.2. В реакции используют парные пробы сывороток, взятые в первые 2...3 сут болезни и через 14...30 сут.

Сыворотки исследуют в течение 3 сут со дня взятия крови или после хранения в замороженном виде в течение не более 3 мес.

Пробы сывороток прогревают при температуре 56°С в течение 30 мин и исследуют на наличие антител в различных серологических реакциях, используя для этой цели соответствующие наборы диагностикумов.

14.3. Методы постановки РТГА, РДП, РСК описаны в пп. 10, 11, 12.

14.4. Постановка реакции нейтрализации вирусных гемагглютининов (РНВГ) при диагностике ПГ-3. Реакцию ставят микрометодом.

Прогретые испытуемые сыворотки разводят физиологическим раствором 1:40 (или 1:32) и разливают по 0,025 мл (одной капле) в 10...12 лунок (лучше V-образной формы) по горизонтальным рядам панели микротитратора. В первый ряд (контрольный) вместо сыворотки вносят по 0,025 мл физиологического раствора. По вертикальным рядам справа налево в лунки вносят по 0,025 мл различных разведений гемагглютинирующего антигена. Готовят двукратные разведения антигена от 1:2 до 1:512...1024 в объеме 1...5 мл или больше (антиген должен быть разведен на одно разведение больше титра, указанного на этикетке ампулы). Каждое разведение антигена, начиная с наибольшего, вносят в один вертикальный ряд. Панели встряхивают и после 30...60-минутного контакта сыворотки с антигеном в каждую лунку добавляют по 0,025 мл 1%-ной взвеси эритроцитов морской свинки.

Реакцию учитывают через 60...90 мин в следующем порядке. Вначале по контрольному ряду определяют количество гемагглютинирующих единиц (ГАЕ), содержащихся в каждом разведении антигена. За одну ГАЕ принимают наибольшее разведение антигена, вызвавшее полную агглютинацию эритроцитов. Затем контролируют сыворотки на неспособность спонтанно агглютинировать эритроциты по оседанию последних в лунках вертикальных рядов справа, содержащих меньше 1 ГАЕ антигена. После этого опреде-

ляют количество ГАЕ антигена, нейтрализованных каждой сывороткой, и по нему находят титр антител.

Титр антител соответствует количеству нейтрализованных сывороткой гемагглютинирующих единиц, умноженному на 10. Например, если сыворотка нейтрализовала 8 ГАЕ антигена, то титр ее будет соответствовать 1:80 (8 · 10 = 80). При исследовании сыворотки 1:32 число ГАЕ умножают на 8.

14.5. Постановка реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) при диагностике ИРТ и аденоинфекции. Исследуемые и контрольные (специфическую и отрицательную) сыворотки разводят двукратно в объеме 0,2 мл. К каждому разведению добавляют по 0,05 мл (одной капле) эритроцитарного диагностикума.

Разведения сывороток готовят на физиологическом растворе pH 7,2...7,4, содержащем 1% нормальной сыворотки кролика, истощенной эритроцитами барана, или 0,02% бычьего альбумина. Смесь сыворотки с антигеном осторожно встряхивают и оставляют на 1...2 ч при комнатной температуре. Реакцию можно ставить микрометодом.

За титр антител принимают наибольшее разведение сыворотки, которое вызвало агглютинацию эритроцитарного диагностикума (антигена). В ряду с контрольной отрицательной сывороткой агглютинации не должно быть.

14.6. Реакцию нейтрализации с целью ретроспективной диагностики инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи ставят методом разведения испытуемых сывороток с постоянной дозой вируса.

14.6.1. Для постановки реакции нейтрализации необходимо предварительно титровать вирус в культуре клеток. Для этого сухой антиген (вирус) разводят десятикратно от $10^{-1}$ до $10^{-10}$ (конечный титр сухого антигена указан на этикетке) питательной средой. Каждым разведением в объеме 1 мл заражают по 4 пробирки с культурой клеток, отмытой раствором Хенкса. Культуры клеток инкубируют при 37°С, ежедневно просматривают и учитывают результаты на 5...7-е сутки.

Титром вируса считают наибольшее разведение его, вызывающее ЦПД в 50% культур клеток. Вычисляют титр по методу Рида и Менча и выражают в $ТЦД_{50}$/мл.

14.6.2. Испытуемые сыворотки прогревают на водяной бане при 56°С 30 мин, затем готовят двукратные разведения от 1:2 до 1:64 на питательной среде в объеме 0,5 мл. Для этого в стерильные пробирки вносят по 0,5 мл питательной среды, затем в первую пробирку вносят 0,5 мл испытуемой сыворотки, тщательно перемешивают, переносят во вторую и т. д.

Затем готовят необходимый объем вируса, содержащего 100 или 1000 $ТЦД_{50}$ в 0,1 мл, и добавляют равный объем его (0,5 мл) в каждую пробирку с разведением сыворотки. Смесь сыворотки и вируса встряхивают, выдерживают при 37°С в течение 1 ч для вируса ИРТ, для ВД — в течение 2...3 ч при температуре 4°С. После этого в 4 пробирки с культурой клеток вносят по 0,2 мл смеси сыворотки и вируса и по 0,8 мл поддерживающей среды. Культуры клеток инкубируют при 37°С.

14.6.3. Учет реакции проводят после появления цитопатических изменений в культуре клеток. Для контроля оставляют 4 пробирки с незараженной культурой клеток, 4 пробирки заражают по 0,2 мл вируса в рабочей дозе.

14.6.4. Титром сыворотки считают ее предельное разведение, сдерживающее развитие ЦПД вируса в 50% зараженных культур клеток.

14.7. Ретроспективный диагноз ставят при четырехкратном и больше приросте антител в парных пробах сывороток переболевших животных (1).

# 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 компемента (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 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*

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, 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 «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/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 «ZETEST-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.) ..... 258

**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

7.3. 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.) ..... 608
**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 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»**
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 499)270-73-59

# ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ЖИВОТНЫХ







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

ISBN 978-5-8114-1882-4




gost.e-ecolog.ru