Изображение Государственного Герба Республики Казахстан

**НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН**

**Птица**

**ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ОСПЫ**

**Основные положения**

**СТ РК**

*Настоящий проект стандарта не подлежит применению до его утверждения*

**Комитет технического регулирования и метрологии**

**Министерства торговли и интеграции Республики Казахстан**

**(Госстандарт)**

**Астана**

**Предисловие**

**1 РАЗРАБОТАН** **И ВНЕСЕН** Республиканским государственным предприятием на праве хозяйственного ведения «Казахстанский институт стандартизации и метрологии» Комитета технического регулирования и метрологии Министерство торговли и интеграции Республики Казахстан

**2 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ** Приказом Председателя Комитета технического регулирования и метрологии Министерства торговли и интеграции Республики Казахстан №\_\_\_\_\_\_от \_\_\_\_20 года

**3** В настоящем стандарте реализованы нормы закона Республики Казахстан «Закон Республики Казахстан «О ветеринарии»» от 10 июля 2002 года № 339

**4 ВВЕДЕН ВЗАМЕН**

*Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном каталоге национальных стандартов и национальных классификаторов технико-экономической информации Республики Казахстан, а текст изменений и поправок – в периодических информационных указателях стандартов.*   
*В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в периодическом информационном указателе стандартов*

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Комитета технического регулирования и метрологии Министерства торговли и интеграции Республики Казахстан

**Содержание**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Введение | | IV |
| 1 | Область применения |  |
| 2 | Идентификация возбудителя |  |
| 3 | Серологические тесты |  |
| 3.1 | Нейтрализация вируса |  |
| 3.2 | Иммунодиффузия в агаровом геле |  |
| 3.3 | Пассивная гемагглютинация |  |
| 3.4 | Реакция иммунофлюоресценции |  |
| 3.5 | Иммунопероксидаза |  |
| 3.6  3.7 | Твердофазный иммуноферментный анализ  Иммуноблоттинг |  |
| 4 | Биологические характеристики исходного вакцинного вируса |  |
| 4.1 | Критерии качества (стерильность, чистота, отсутствие посторонних возбудителей) |  |
| 4.2 | Валидация в качестве вакцины |  |
| Библиография | |  |
|  |  |  |

**Введение**

Морфологические характеристики вируса оспы птиц схожи с морфологическими характеристиками других вирусов семейства Poxviridae. Созревший вирус (элементарное тельце) напоминает по форме кирпичик с примерными размерами 330 \* 280 \* 200 нм. Внешнюю оболочку составляют расположенные в произвольном порядке поверхностные трубочки. Вирион содержит электронно-плотное, двояковогнутое ядро, расположенное по центру, или нуклеотид с двумя латеральными тельцами в каждом вогнутом участке, и окружен оболочкой. Геном вируса оспы птиц, состоящий из 288 тысяч пар нуклеотидов (т.п.н.), кодирует более 250 генов.

Оспа птиц распространена по всему миру и вызывается ДНК-содержащим вирусом рода Avipoxvirus, семейства Poxviridae. Показатели инцидентности болезни отличаются в зависимости от региона. Это объясняется разными климатическими условиями, разными стратегиями разведения птицы, санитарно-гигиеническими стандартами и применением на практике регулярной вакцинации. Болезнь может стать причиной снижения яйценоскости или отставания молодняка в развитии.

Оспа птиц - медленно распространяющееся вирусное заболевание кур и индеек. Кожная форма болезни, так называемая «сухая оспа», характеризуется появлением пролиферативных поражений, начиная с небольших узелков и заканчивая бородавчатыми наростами сферической формы на кожных покровах гребешка, сережек или иных участков кожи без перьев. При дифтерийной форме («влажная оспа») на слизистых оболочках появляются слегка приподнятые, белые, непрозрачные узелки. Они быстро увеличиваются в размерах, превращаясь в дифтерийные пленки желтоватого цвета. Поражения появляются на слизистых оболочках ротовой полости, пищевода, гортани или трахеи. Показатели смертности при дифтерийной форме выше, чем при кожной форме, среди молодняка смертность может достигать 50%. В геноме вируса оспы птиц удалось наблюдать интеграцию последовательностей вируса ретикулоэндотелиоза (REV). Интересно то, что данная инсерция произошла более 50 лет назад. В то время как большинство полевых штаммов вируса оспы птиц содержат провирус REV, вакцинные штаммы содержат лишь остатки длинных терминальных. Присутствие провируса REV в геноме полевых штаммов вируса оспы птиц усиливает вирулентность. Была определена полная последовательность генома вакцинно-подобного штамма вируса оспы птиц.   
В настоящее время функции большинства генов остаются неизвестными. Однако интересно, что этот вирус имеет тенденцию сохраняться в птичьей среде в течение длительных периодов времени там, где другие вирусы могут не выжить. Защита вируса от агрессивных факторов внешней среды обеспечена наличием в геноме вируса фотолиазного гена и гена телец включения типа А. Среди вирусов птичьей оспы наблюдается антигенная перекрестная реактивность, и, по-видимому, многие гены являются консервативными. В настоящее время доступна информация о небольшом количестве исследований, проведенных с целью антигенного, генетического и биологического сравнения вируса оспы птиц с другими вирусами птичьей оспы, особенно теми, которые поражают диких птиц. Недавно была представлена полная последовательность генома вируса оспы канареек.

**НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН**

**Птица**

**ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ОСПЫ**

**Основные положения**

**Дата введения \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**

**1 Область применения**

Настоящий стандарт устанавливает требования к проведению лабораторной диагностики оспы птиц.

Оспа птиц - болезнь кур и индеек, вызванная ДНК-содержащий вирусом рода Avipoxvirus, семейства Poxviridae. Вирус распространен по всему миру. Он отличается медленным распространением и тем, что приводит к образованию пролиферативных поражений и струпьев на поверхности кожи, дифтерийными поражениями в верхних частях желудочно-кишечного тракта и дыхательных путей. При кожной форме уровень смертности обычно низкий, и заболевшие птицы с большой долей вероятности выздоровеют в отличие от тех, которые страдают от дифтерийной формы. При дифтерийной форме пролиферативные поражения в носовых ходах, гортани и трахеи могут вызывать дыхательные расстройства и смерть от удушья.

Оспа птиц является причиной временного снижения яйценоскости и снижения показателей прироста у молодняка.

Идентификация возбудителя: Подозревать оспу птиц следует в ситуации, когда на участках кожи, подвергшихся воздействию возбудителя болезни, появляется сыпь. С помощью гистологического исследования кожных и дифтерийных поражений обнаруживают гиперплазию эпителия с внутрицитоплазматическими включениями в пораженных клетках. C помощью метода окрашивания по Хименесу в мазках, взятых от поражений, можно обнаружить элементарные тельца вируса. Электронная микроскопия поражений позволяет выявить вирусные частицы с типичными морфологическими характеристиками вируса оспы (в ходе негативного окрашивания или в ультратонких срезах с поражений).

Дифтерийная форма оспы птиц, поражающая трахею, должна быть дифференцирована от инфекционного ларинготрахеита, причиной которого является герпесвирус, и который характеризуется наличием внутриядерных телец-включений.

Выделение вируса проводят с помощью инокуляции в хорион-аллантоисные мембраны 9-12-дневных развивающихся куриных эмбрионов или в клеточные культуры птиц. Для выделения вируса следует использовать яйца от стаи, свободных от специфических патогенов.

Серологические тесты: Иммунные реакции на вирус оспы птиц могут быть продемонстрированы с помощью тестов по нейтрализации вируса, иммунодиффузии в агаровом геле, иммунофлуоресценции или пассивной гемагглютинации, твердофазного иммуноферментного анализа или иммуноблоттинга.

Требования к вакцинам: В продаже имеются модифицированные живые вакцины против вируса оспы птиц и оспы голубей, сделанные на основе куриных эмбрионов или культуры клеток птичьего происхождения. Использование вакцин показано в тех регионах, где болезнь эндемична, или в хозяйствах, где данную инфекцию уже диагностировали.

**2. Идентификация возбудителя**

Вирус оспы птиц размножается в цитоплазме клеток эпителия, образуя крупные внутрицитоплазматические тельца-включения (тельца Боллингера), которые содержат меньшие по размеру элементарные тельца (тельца Борреля). Включения могут быть продемонстрированы при окрашивании срезов кожных и дифтерийных поражений гематоксилин-эозином (ГЭ), акридиновым оранжевым или красителем Гимза (Трипати и др., 1973). Элементарные тельца можно выявить в мазках от поражений, например, с помощью метода Хименеса (Трипати и Хансон, 1976), который описан ниже. Можно использовать электронную микроскопию для демонстрации вирусных частиц, имеющих типичную для вирусов оспы морфологию, с помощью негативного окрашивания или в ультратонких срезах пораженных тканей.

**3 Серологические тесты**

Хотя и клеточно-опосредованный иммунитет (КОИ), и гуморальный иммунитет играют важную роль в случаях заражения оспой птиц, использование теста на КОИ в рутинном режиме не совсем целесообразно. Поэтому для измерения специфического гуморального иммунного ответа можно применить следующие серологические тесты: реакция нейтрализации вируса, реакция иммунодиффузии в агаровом геле (РИД), реакция пассивной гемагглютинации, реакция иммунофлюоресценции, а также твердофазный иммуноферментный анализ (ИФА). Подтверждение удачной вакцинации можно получить, проверив стаю в возрасте 7-10 дней после вакцинации на наличие «видимых реакций в месте введения вакцины». К таким реакциям относится отек кожного покрова или струп в месте введения вакцины. Наличие этих признаков является свидетельством удачной иммунизации.

**3.1 Нейтрализация вируса**

После перекрёстного взаимодействия вирус\сыворотка остаточную активность вируса можно проанализировать в куриных яйцах с развивающимися эмбрионами или в культуре клеток (Морита, 1973). Этот технически сложный тест не удобен для использования в целях рутинной диагностики. Лишь у некоторых отобранных штаммов вируса есть способность к бляшкообразованию в клетках куриных эмбрионов. Нейтрализующие антитела вырабатываются в течение 1-2 недель после заражения.

**3.2 Иммунодиффузия в агаровом геле**

Преципитирующие антитела можно выявить в реакции тест-сывороток против вирусных антигенов. Антиген можно получить путем разрушения ультразвуком и гомогенизации пораженной кожи или ХАМ поражений, а также в результате обработки зараженных культур клеток. Лизированную суспензию центрифугируют, а появившийся супернатант используют в качестве антигена. Среда для диффузии в геле состоит из 1% агара, 8% хлорида натрия и 0,01% тиомерсола. Антиген вируса помещают в центральную лунку, а тест-сыворотки помещают в боковые лунки. Важно включить сыворотки положительного и отрицательного контроля. Планшеты инкубируют при комнатной температуре. Линии преципитации проявляются через 24-48 часов после инкубации антигена антителами к гомологичным или близкородственным штаммам. Тест менее чувствителен, чем ИФА, или реакция пассивной гемагглютинации.

**3.3 Пассивная гемагглютинация**

Таннизированные эритроциты овцы или лошади сенсибилизируют частично очищенным антигеном вируса оспы птиц (Трипати и др., 1970). Антиген готовят из зараженных ХАМ или клеток, как описано ниже в Разделе 2.6. Пассивная гемагглютинация является более чувствительным тестом, чем РИД. Этот тест вызывает перекрестные реакции среди вирусов осп у птиц.

**3.4 Реакция иммунофлюоресценции**

Прямые и непрямые реакции иммунофлуоресценции позволяют обнаружить внутрицитоплазматическое свечение в зараженных клетках. Обычно используется второй тест и состоит он из двух этапов: антитела против вируса оспы птиц вступают в реакцию с антигеном в зараженных клетках, после чего вступают в реакцию вторичные, меченые флуоресцеин-изотиоцианатом антитела против куриного гамма глобулина (например, козий антикуриный). Такие меченые антитела имеются в продаже. В этой связи в реакциях иммунофлуоресценции можно эффективно использовать срезы тканей, зафиксированные в формалине.

**3.5 Иммунопероксидаза**

Провести специфическое окрашивание цитоплазматических включений получается, когда специфические поликлональные антитела, конъюгированные с пероксидазой хрена, против вируса оспы птиц вступают в реакцию с гидратизированными срезами фиксированных тканей, зараженных оспой птиц (ХАМ и кожа), или с клеточной культурой. Похожие результаты получают при использовании либо поликлональных или моноклональных антител в непрямой реакции. Преимущество этой методики заключается в том, что срезы можно проверить в световом микроскопе и хранить их в течение длительного времени без потери цвета.

**3.6 Твердофазный иммуноферментный анализ**

Для выявления гуморальных антител к вирусу оспы птиц были разработаны различные варианты ИФА. Они могут выявлять антитела на 7-10 день после заражения, но пока нет коммерческих наборов для этих реакций.

Антигены вируса оспы птиц приготавливают либо из зараженных QT-35 клеточных монослоев или из ХАМ поражений. Зараженные QT-35 клетки осаждают центрифугированием (700 g в течение 10 минут при 4°С), промывают в изотоническом растворе (10 ммоль Трис, pH 8.0, 150 ммоль NaCl, 5 ммоль этилен-диамин тетрауксусная кислота [EDTA]), проводят лизис в гипотоническом растворе (10 ммоль Трис, pH 8.0, 10 ммоль KCl, 5 ммоль EDTA), содержащем 0,1 % Тритон Х-100 и 0,025% бета-меркаптоэтанол. Клеточный и ядерный дебрис удаляют с помощью низкоскоростного центрифугирования (500 g в течение 5 минут при 4°С), и полученный в результате супернатант используют, как источник антигенов вируса оспы птиц для ИФА и иммуноблоттинга. Для выделения вирусного антигена из ХАМ поражений требуется первоначальное измельчение поражений с последующей обработкой детергентами, как описано ранее. Вирус, размноженный в фибробластах куриных эмбрионов и в клетках дермы куриных эмбрионов, также используется в качестве антигена. Подготовка антигена осуществляется тем же способом, что и для клеток QT-35.

Лунки микротитрационных планшетов сенсибилизируют 1 мкг растворимого антигена вируса оспы птиц в 100 мкл сенсибилизирующего буфера (15 ммоль Na2CO3, 35 ммоль NaHCO3, pH 9.6) и инкубируют в течение ночи при 4°С. Каждую лунку затем единожды промывают в промывном растворе (0.29 моль NaCl, 0.05% Твин 20) и блокируют в течение 1 часа при 37°С с помощью фосфатного буферного раствора (ФБР, рН 7.4), содержащего 3% альбумин бычьей сыворотки (АБС). После одного промывания в лунки добавляют серийные разведения тест-сывороток в ФБР, содержащем 1% АБС. После интенсивного качания в течение 2 часов при 37°С лунки трижды промывают перед тем, как добавить в них 100 мкл/лунку коньюгированных с пероксидазой хрена козьих антител, полученных против куриных IgY (H+L), при рекомендованном разведении в ФБР. После 2 часов инкубации при 37°С и трех последующих промываний в каждую лунку добавляют 100 мкл cубстрата пероксидазы ТМБ3. Реакции останавливают добавлением 1 моли фосфорной кислоты, а с помощью ИФА-ридера регистрируют абсорбцию при 450 нм.

**3.7 Иммуноблоттинг**

Антигенные отличия между штаммами вируса оспы птиц можно оценить с помощью иммуноблоттинга или вестерн-блоттинга. При использовании этого метода антигены вируса, сепарированные с помощью электрофореза в полиакриламидом геле в присутствии додецилсульфата натрия (SDS PAGE), вступают в реакцию либо с поликлональными, либо с моноклональными антителами против вируса оспы птиц.   
Для рутинной диагностики этот метод не подходит.

**4 Биологические характеристики исходного вакцинного вируса**

Для профилактики возникновения оспы птиц среди домашней птицы используются живые вирусные вакцины против оспы птиц, произведенные либо на основе вируса оспы кур, либо на основе вируса оспы голубей. Вирус размножают либо в куриных эмбрионах, свободных от специфических патогенов (СПФ-эмбрионах), либо в культуре клеток от птиц. Необходимо установить исходный вакцинный вирус и использовать его в соответствии с требованиями системы посевных серий. Необходимо четко регистрировать источник, историю пассажей и характеристики.

**4.1 Критерии качества (стерильность, чистота, отсутствие посторонних возбудителей)**

Размножение исходного вакцинного вируса следует проводить в условиях и с использованием материалов, которые соответствуют установленным стандартам. Его следует проверять на свободу от контаминации, идентичность и чистоту.

**4.2 Валидация в качестве вакцины**

Чистота. До проведения тестов на чистоту исходный вакцинный вирус можно нейтрализовать специфической гипериммунной сывороткой. В силу сложностей нейтрализации вируса оспы птиц допускается проведение центрифугирования исходного вакцинного вируса при 1000 g в течение 20 минут, после которого следует провести фильтрацию через 0,2 мкм фильтр. Затем в тестах используют нейтрализованный или фильтрованный исходный вакцинный вирус, чтобы продемонстрировать отсутствие посторонних возбудителей. Такие тесты следует проводить на яйцах с развивающими эмбрионами или клеточных культурах птицы, чтобы продемонстрировать отсутствие репликации посторонних вирусов, и на СПФ-цыплятах, чтобы продемонстрировать отсутствие антител к посторонним возбудителям.

Безопасность. Вакцины должны быть произведены только из вируса, который представляет собой стабильный аттенуированый штамм или естественно появившийся низковирулентный изолят.

Необходимо продемонстрировать безопасность вакцины, используя рекомендованный способ введения, т.е. прокалывание перепонки крыла, на восприимчивых птицах всех возрастов. Подходящим вариантом тестирования может быть процедура, при которой берут 10 СПФ- цыплят и каждому в перепонку крыла вводят иглу, предварительно обмакнув ее в вакцину. За птицами наблюдают в течение 7-10 дней с целью обнаружения признаков «ответной реакции в месте введения препарата» и наличия побочного действия, связанного с применением вакцины. К таким реакциям относится отек кожного покрова или струп в месте введения вакцины. Наличие этих признаков является свидетельством удачной вакцинации. Тест на безопасность следует повторить как минимум через шесть серийных пассажей вируса на СПФ-цыплятах, чтобы подтвердить отсутствие возврата к вирулентности.

Эффективность. Данные должны быть получены с использованием самого высокого уровня пассажа (пятый пассаж из исходного вакцинного вируса) и самого низкого титра вируса в готовом продукте: 20 СПФ-цыплят, достигших минимального возраста вакцинации, должны получить с помощью рекомендованного метода одну дозу вакцины. Вакцинированные птицы вместе с 20 не вакцинированными птицами того же возраста и из того же источника должны пройти процедуру контрольного заражения через 3 недели. Контрольное заражение проводят путем скарификации вирулентным штаммом вируса оспы птиц. За птицами следует наблюдать в течение 3 недель. У 90% контрольных птиц должны появиться поражения, вызванные вирусом контрольного заражения, и минимум 90% вакцинированных птиц должны остаться свободными от таких поражений.

**Библиография**

[1] АФОНСО К.Л., ТУЛМАН Э.Р., ЛУ З., ЖСАК Л., КУТИШ Г.Ф. И РОК Д.Л. (2000). Геном вируса оспы птиц. Журнал вирусологии, 74, 3815-3831.

[2] БУСКАГЛИЯ К., БАНКОВСКИЙ Р.А. И МИЕРС Л. (1985). Тест нейтрализации вируса в клеточной культуре и твердофазный иммуноферментный анализ для оценки иммунитета у цыплят против оспы. Болезни птиц, 29, 672-680.

[3] ДОАН Ф.В. И АНДЕРСОН Н. (1987). Электронная микроскопия в диагностической вирусологии: Практическое руководство и атлас. Издательство Кембриджского университета, Кембридж, Великобритания.

[4] ФАЛЛАВЕНА Л.К., КАНАЛ К.В., САЛЛЕ К.Т., МОРАЕС Х.Л., РОЧА С.Л., ПЕРЕЙРА Р.А. И ДА СИЛЬВА А.Б. (2002). Наличие ДНК вируса оспы птиц в кожной сквамозной клеточной карциноме птиц. Патология птиц, 31, 241-246.

[5] ФАТУНМБИ О.О., РИД В.М., ШВАРЦ Д.И. И ТРИПАТИ Д.Н. (1995). Двойная инфекция цыплят оспой и инфекционным ларинготрахеитом (ИЛТ), подтвержденная с помощью специфических анализов дот-блот гибридизации ДНК оспы и ИЛТ. Болезни птиц, 39, 925-930.

[6] ГИЛДЯЛ Н., ШНИЦЛЯЙН В.М. И ТРИПАТИ Д.Н. (1989). Генетические и антигенные различия между вирусами оспы птиц и перепелов. Архивы вирусологии, 106, 85-92.

[7] КИМ Т. Ж. И ТРИПАТИ Д. Н. (2001). Интеграция вируса ретикулоэндотелиоза в геном вируса оспы: не недавнее событие. Болезни птиц, 45, 663-669.

[8] ЛИ Л.Х. И ЛИ К.Х. (1997). Применение полимеразной цепной реакции для диагностики инфекции оспы птиц. Методы вирусологии, 63, 113-119.

[9] МОРИТА К. (1973). Исследования вирусов оспы птиц. II. Тест нейтрализации бляшек. Болезни птиц, 17, 93-98.

ШНИЦЛЯЙН В.М., ГИЛДЯЛ Н. И ТРИПАТИ Д.Н. (1988). Геномная и антигенная характеристика вирусов оспы птиц. Исследование вируса, 10, 65-76.

[10] СИНГХ П., КИМ Т.Ж. И ТРИПАТИ Д.Н. (2000). Вновь возникающая оспа: оценка изолятов из вакцинированных стай. Патология птиц, 29, 449-455

[11] СИНГХ П., КИМ Т.Ж. и ТРИПАТИ Д.Н. (2003a). Идентификация и характеристика штаммов вируса оспы птиц с помощью моноклональных антител. Ветеринарные диагностические исследования, 15, 50-54.

[12] СИНГХ П., ШНИЦЛЯЙН В.М. и ТРИПАТИ Д.Н. (2003b). Последовательности вируса ретикулоэндотелиоза в геномах полевых штаммов вируса оспы проявляют изменчивость. Журнал вирусологии, 77, 5855-5862.

[13] СИНГХ П. И ТРИПАТИ Д.Н. (2000). Характеристика моноклональных антител против вируса оспы птиц. Болезни птиц, 44, 365-371.

[14] СРИНИВАСАН В., ШНИЦЛЯЙН В.М. И ТРИПАТИ Д.Н. (2001). Вирус оспы кур кодирует новый фермент репарации ДНК, CPD-фотолиазу, который восстанавливает инфекционность поврежденного ультрафиолетовым светом вируса. Журнал вирусологии, 75, 1681-1688.

[15] СРИНИВАСАН В. И ТРИПАТИ Д.Н. (2005). Фермент репарации ДНК, CPD-фотолиаза восстанавливает инфекционность поврежденного ультрафиолетом вируса оспы, выделенного из инфицированных струпьев цыплят. Ветеринарная микробиология, 108, 215-223.

[16] ТРИПАТИ Д.Н. (1993). Вирусы оспы птиц. В книге: Вирусные инфекции позвоночных - Вирусные инфекции птиц, том 4, МакФерран Дж.Б. и МакНалти М.С., ред. Издательство Elsevier Science Publishers, Амстердам, Нидерланды, 5-15.

[17] ТРИПАТИ Д.Н. И ХАНСОН Л.Е. (1976). Метод мазка для окрашивания элементарных тел оспы кур. Болезни птиц, 20, 609-610

[18] ТРИПАТИ Д.Н., ХЭНСОН Л.Е. И КИЛЛИНГЕР А.Х. (1973). Иммунопероксидазный метод обнаружения антигена оспы кур. Болезни птиц, 17, 274-278.

[19]ТРИПАТИ Д.Н., ХЭНСОН Л.Е. И МАЙЕРС У.Л. (1970). Тест пассивной гемагглютинации с вирусом оспы кур. Болезни птиц, 14, 29-38.

[20] ТРИПАТИ Д.Н. И РИД В.М. (2013). Оспа. В книге: Болезни домашней птицы, 13-е издание, Суэйн Д.Е., Глиссон Дж.Р., Макдугальд Л.Р., Нолан Л.К., Суарес Д.Л. и Наир В. ред. Издательство Уайли-Блэквелл, США, стр. 333-349.

[21] УИНТЕРФИЛД Р.В. И ХИТЧНЕР С.Б. (1965). Реакция цыплят на вакцинацию различными концентрациями вирусов оспы голубей и оспы кур. Болезни птиц, 9, 237-241.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  |  | **МКС 11.220** |
| **Ключевые слова:** Оспа птиц, ДНК, серологические тесты, вакцина, ретикулоэндотелиоза, иммунодиффузия | | |

|  |  |
| --- | --- |
|  | **МКС 11.220** |
| **Ключевые слова:** Оспа птиц, ДНК, серологические тесты, вакцина, ретикулоэндотелиоза, иммунодиффузия | |

**Разработчик:**

Республиканское государственное предприятие «Казахстанский институт стандартизации и метрологии» Комитета технического регулирования и метрологии Министерства торговли и интеграции Республики Казахстан

**Заместитель**

**Генерального директора Е. Амираханова**

**Руководитель**

**Департамента разработки НТД А. Сопбеков**

**Ведущий специалист**

**Департамента разработки НТД Г. Нығметолла**