Изображение Государственного Герба Республики Казахстан

**НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН**

**Животные**

**ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА БОЛЕЗНИ ТЕШЕНА**

**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 | |  |
| 1 | Область применения |  |
| 2 | Идентификация возбудителя |  |
| 2.1 | Выделение вируса |  |
| 2.2 | Реакция нейтрализации вируса с целью идентификации тешовируса свиней |  |
| 2.3 | Непрямая реакция флюоресцирующих антител для подтверждения наличия в клетках антигена тешовируса свиней |  |
| 3 | Серологические тесты |  |
| 4 | Сохраненные образцы вируса |  |
| 5 | Специфическая гипериммунная сыворотка |  |
| Библиография | |  |
|  |  |  |

**Введение**

Тешовирусный энцефаломиелит (ранее называвшийся болезнью Тешена/болезнью Тальфана, а позже – энтеровирусным энцефаломиелитом) – это острое заболевание свиней, характеризующееся нарушениями центральной нервной системы (ЦНС). Тешен – это город в Чешской Республике, в котором данная болезнь была впервые зафиксирована в 1929 году (Klobouk, 1931; 1933). В 1950-х годах болезнь распространилась по всей Европе и привела к большим потерям в сфере свиноводства. Менее тяжелые формы болезни впервые были зафиксированы в Великобритании, где болезнь получила название болезни Тальфана, и в Дании, где она была названа полиомиелитом suum; эти формы относились к доброкачественным энзоотическим болезням свиней. Сообщений о заражении тешовирусным энцефаломиелитом в Западной Европе не поступало с 1980 года (Австрия), и в настоящее время эта болезнь считается редкой. За последние 20 лет (с 1996 года) о заболевании сообщили в МЭБ следующие страны: Беларусь (1996, 1999 и 2005), Япония (2002), Латвия (1997 и 2000-2002), Мадагаскар (1996-2000, 2002 и 2004-2005), Молдавия (¬2002-2004), Румыния (2002), Россия (2004), Уганда (2001) и Украина (1996-2005). В большинстве из этих случаев неизвестно, была ли болезнь диагностирована исключительно на основании клинических симптомов или в целях диагностики использовались также лабораторные испытания. Исключением является случай, зафиксированный в Японии в 2002 году.

Возбудителем тешовирусного энцефаломиелита является тешовирус свиней серотипа 1 (ТВС-1), который относится к виду Teschovirus A, роду Teschovirus, семейству Picornaviridae (Betts, 1960; Klobouk, 1933; Knowles et al., 2012). Изначально ТВС относили к роду энтеровирусов (Enterovirus), и 11 исходных серотипов энтеровируса свиней (ЭВС), от ЭВС-1 до ЭВС-11, были разбиты на три группы, I, II и III, на основании производимого ими цитопатического действия (ЦПД), серологических исследований и размножения в различных культурах клеток (Knowles et al., 1979). Серотипы от ЭВС-1 до ЭВС-7 и от ЭВС-11 до ЭВС-13 были отнесены к группе I. На основании результатов анализа секвенирования нуклеиновой кислоты и филогенетического анализа, вирусы ЭВС группы I были отнесены к роду тешовирусов. Серотипы с ЭВС-1 по ЭВС-7 были переименованы в ТВС-1 – ТВС-7, и а серотипы ЭВС-11 – ЭВС-13 – в серотипы ТВС-8 – ТВС-10; также были описаны дополнительные виды, ТВС-11 – ТВС-13 (на основании разницы в нуклеотидной последовательности в ВС1) (Boros et al., 2012; Cano-Gomez et al., 2011; Krumbholz et al., 2002). Группа II ЭВС включала в себя ЭВС-8, который также был переклассифицирован в сапеловирус (sapelovirus) свиней 1 вида Sapelovirus A рода Sapelovirus. В группу III входили ЭВС-9 и ЭВС-10, которые в настоящее время переклассифицированы в энтеровирусы G1 и G2 вида Enterovirus G рода энтеровирусов (Enterovirus).

Вспышки тяжелого тешовирусного энцефаломиелита у свиней отмечались на Гаити в феврале 2009 года, и ТВС-1 был выделен из образцов головного мозга больных свиней. На основании результатов филогенетического анализа гена полипротеина было установлено, что выделенный на Гаити вирус был тесно связан с другими штаммами ТВС-1, включая штамм Konratice, выделенный в Чешской Республики из биоматериала, взятого у свиней с болезнью Тешена (Deng et al., 2012). В результате мониторингового исследования было установлено, что инфекция преобладала во множестве различных регионов на Гаити и в Доминиканской Республике.

Серотипы ТВС-2, -3, -4, -5, -6, -9 и -10 были выделены у свиней с более легкими формами болезни (Witte von et al., 1994). Инфекции ТВС часто не имеют клинических симптомов. Серотипы могут быть дифференцированы методом нейтрализации вируса (НВ) (Betts, 1960; Knowles et al., 1979), а также с помощью реакции связывания комплемента (Knowles & Buckley, 1980) или непрямой реакции флюоресцирующих антител (НРФА).

Инфекции ТВС поражают только свиней (включая диких кабанов); какая-либо информация о чувствительности к вирусу других видов животных, включая людей, отсутствует.

Дифференциальная диагностика включает диагностику инфекционного бульбарного паралича (болезни Ауески) и классической чумы свиней (в острой форме). Кроме того, в отдельных случаях схожие клинические симптомы могут проявляться при японском энцефалите, при заражении бактерией Streptococcus suis, а также при гемагглютинирующем энцефаломиелите. Необходимо также учитывать неинфекционную этиологию, в частности, токсичность.

ТВС может быть идентифицирован серологически с помощью стандартных антисывороток, приготовленных методом гипериммунизации морских свинок, кроликов или не получающих молозива поросят стандартными штаммами серотипов 1–11 ТВС; наличие этих реагентов для типов 12 и 13 неизвестно.

Вирус проникает в организм животных через ротовую или носовую полость. Период инкубации составляет около 14 дней. Основными признаками продромального периода являются температура до 41,5°C, утомление, анорексия и локомоторные нарушения. За этим этапом следует этап гиперчувствительности, тремора, клонических спазмов ног, периферического паралича, опистотонуса и нистагма; у молодых свиней могут наблюдаться конвульсии. На последней клинической стадии, паралич распространяется с задней части тела на переднюю часть тела через поясничный отдел. Паралич терморегуляторного центра приводит к гипотермии. В случае паралича дыхательных мышц животное умирает от удушья.

Для постановки гистологического диагноза, собираются образцы тканей головного мозга, мозжечка, промежуточного мозга, продолговатого мозга, а также спинного мозга из шейного и поясничного отделов. Образцы фиксируются в формальдегиде, и срезы окрашиваются традиционными гистологическими методами. Вирус размножается в ЦНС, приводя к развитию негнойного полиоэнцефаломиелита с лимфоцитарными периваскулярными «манжетами», особенно, в спинном мозгу (Klobouk, 1931). Патологические изменения наблюдаются в сером веществе промежуточного мозга, мозжечка, продолговатого мозга и в передних рогах серого вещества спинного мозга, обязательно включая дорсальные корешковые ганглии и ганглии тройничного нерва (ганглионеврит), и, в меньшей степени, в полушариях головного мозга. У очень молодых животных, очаги поражения могут охватывать задние рога спинного мозга. Дегенерация нейронов (набухание, хроматолиз, некроз, нейронофагия, аксональная дегенерация) и ее замещение микроглиозом (астроцитозом, астроглиозом) развиваются на последней стадии болезни.

Обнаружение антигенов тешовируса методом иммуногистохимического исследования на фиксированных и залитых парафином срезах тканей ЦНС является очень сложной процедурой, проведение которой возможно не во всех случаях. В случае наличия соответствующих специфических антисывороток или моноклональных антител, а также специфических техник обнаружения, взаимосвязь патологических изменений с локализацией возбудителя может быть установлена на фиксированных и залитых парафином срезах тканей ЦНС.

Лабораторная диагностика болезни основана на идентификации вируса, находящегося в ЦНС зараженных свиней, а также на обнаружении специфических антител в крови выздоравливающих животных

**НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН**

**Животные**

**ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА БОЛЕЗНИ ТЕШЕНА**

**Основные положения**

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

**1 Область применения**

Настоящий стандарт устанавливает требования к проведению лабораторной диагностики болезни Тешена.

Тешовирусный энцефаломиелит впервые был описан, как чрезвычайно вирулентный энцефаломиелит свиней с высокими показателями смертности и ранее был известен как болезнь Тешена (или энтеровирусный энцефаломиелит). Эта болезнь вызывается штаммами серотипа 1 тешовируса свиней (ТВС-1), принадлежащего к роду тешовирусов (Teschovirus) семейства пикорнавирусов (Picornaviridae). Менее легкие формы болезни впервые были зафиксированы в Великобритании, где болезнь получила название болезни Тальфана, а также в континентальной Европе, где она была названа полиомиелитом suum или доброкачественным энзоотическим парезом. Кроме штаммов ТВС-1, более легкие формы болезни могут вызываться другими серотипами ТВС, включая ТВС-2, -3, -4, -5, -6, -9 и -10.

Впервые болезнь была описана в городе Тешен в Чехословакии в 1929 году. В течение 1940- х и 1950-х годов она стала причиной серьезных потерь в странах Европы и распространилась на другие континенты. Относительно недавно вспышки этой болезни наблюдались на Гаити и в Доминиканской Республике. Несмотря на это, клиническая форма болезни встречается редко, и случаев ее развития в Западной Европе не отмечалось с 1980 года. Тем не менее, было получено серологическое доказательство того, что непатогенные варианты вируса и варианты вируса с низкой патогенностью циркулируют в популяциях свиней.

Идентификация возбудителя: Вирус обладает афинностью к центральной нервной системе, и, по этой причине, суспензии головного и спинного мозга зараженных вирусом свиней используются в качестве инокулята при выделении вируса. Вирус успешно размножается на монослоях клеток ткани свиней, в частности, ткани почки. Штамм ТВС, в случае его наличия, вызывает специфическое цитопатическое действие, характеризующееся появлением округленных сокращающихся клеток. Для идентификации и серотипирования штаммов ТВС применяются соответствующие испытания с использованием специфических антисывороток или моноклональных антител к стандартным штаммам ТВС. Предпочтительны тесты на нейтрализацию вируса и непрямые тесты на флуоресцентные антитела. Амплификация частей вирусного генома с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией возможна, но пока нет специфических тестов, официально принятых для диагностики.

Серологические тесты: Поскольку доминирование серотипа ТВС-1 в популяциях здоровых свиней в Центральной Европе может превышать 60%, а идентичные клиническое симптомы могут вызваться и другими вирусами, включая другие серотипы ТВС, единственное серологическое испытание для обнаружения ТВС-1, дающее положительные результаты, не указывают на то, что наблюдающиеся неврологические симптомы фактически вызваны заражением ТВС-1. Четырехкратное повышение титра вместе с типичными симптомами заражения вирусом должны рассматриваться как показатель того, что инфекция ТВС-1 стала причиной развития клинической болезни. Для проведения скрининга на наличие специфических антител в популяциях свиней, рекомендуется использовать метод нейтрализации вируса на микротитрационных планшетах или метод твердофазного иммуноферментного анализа.

Требования к вакцинам: Когда клиническая форма болезни была распространенной, вакцины были доступны и использовались, однако в настоящее время, когда болезнь является редкой, вакцины недоступны.

**2. Идентификация возбудителя**

**2.1 Выделение вируса**

Прогресс в методах диагностики тешовирусного энцефаломиелита и в производстве вакцин стал возможным благодаря размножению вируса в культуре клеток.

Образцы тканей головного и спинного мозга собираются у свиней, забитых на ранней клинической стадии болезни. Если образцы не подвергаются обработке незамедлительно, их необходимо поместить в раствор, приготовленный из забуференного фосфатом изотонического солевого раствора (ФБР), pH 7,4, и глицерина в равных долях. Фрагменты ткани измельчаются для приготовления 10% (процентное соотношение массы и объема) суспензии в ФБР. Полученная суспензия центрифугируется с центробежным ускорением 800 g в течение 10 минут. Надосадочная жидкость используется для инокуляции культур клеток. Монослойные культуры, полученные из исходной почки свиньи, или сформированные (устойчивые) клеточные линии, полученные из ткани свиньи, подходят для выделения ТВС.

**2.2 Реакция нейтрализации вируса с целью идентификации тешовируса свиней**

Вирус, полученный из культур клеток, разводится в поддерживающей среде для культур клеток с достижением степеней разведения, находящихся в диапазоне от 10–1 до 10–6, в десять этапов. Для серологического типирования тешовируса подготавливается 12 рядов каждого разведения; 50 мкл стандартных антисывороток к ТВС-1–11, разведенные в пропорции 1/10, добавляются в ряды 1–11, а 50 мкл отрицательной сыворотки добавляется в последний ряд; в случае наличия антисывороток к типам 12 и 13 необходим второй планшет. Смеси инкубируются в течение ночи, при температуре 4°C или в течение 1 часа при температуре 37°C, после чего инокулируются в культуры, находящиеся во вращающихся пробирках, или в лунки микротитрационных планшетов с культурами клеток в виде слившегося монослоя. Инокулированные культуры клеток инкубируются при температуре 37°C. Оценка производится через 72 часа и каждый последующий день до 10 дней в зависимости от того, когда наблюдалось ЦПД. Идентификация серотипа ТВС подтверждается в том случае, если титр выделенного вируса в присутствии данной антисыворотки как минимум на 103 ниже, чем титр вируса, инкубированного с отрицательной сывороткой.

**2.3 Непрямая реакция флюоресцирующих антител для подтверждения наличия в клетках антигена тешовируса свиней**

Испытание методом НРФА основано на реакции антигенов в инфицированных клетках со специфическими антителами в положительной сыворотке (Romanenko et al., 1982). Данная реакция визуализируется антиглобулином, конъюгированным с флуоресцеинизотиоцианатом (FITC), с помощью микроскопа с источником ультрафиолетового или синего света. Антиген обнаруживается в клетках через 12 часов после заражения ТВС, т. е. перед развитием ЦПД. Поликлональные антисыворотки часто проявляют перекрестную реактивность с различными типами ТВС, что может запутать интерпретацию результатов.

**3 Серологические тесты**

Поскольку доминирование серотипа ТВС-1 в здоровой популяции свиней в некоторых странах Центральной Европы может превышать 60%, а идентичные клинические симптомы могут быть вызваны также другими вирусами, включая другие серотипы ТВС, единственное серологическое испытание на наличие ТВС-1, дающее положительные результаты, не является показателем того, что наблюдаемые неврологические симптомы фактически вызваны ТВС-1. Четырехкратное повышение титра вместе с типичными симптомами заражения вирусом должны рассматриваться как показатель того, что инфекция ТВС-1 стала причиной развития клинической болезни. Другой причиной того, что образцы парных сывороток необходимы для подтверждения значимости титров, являются зафиксированные случаи перекрестных реакций с орфанными тешовирусами.

Свиньи, выздоровевшие после перенесенной болезни, или свиньи с бессимптомной болезнью производят специфичные антитела. Для их обнаружения существуют серологические методы, самым полезным среди которых является испытание методом НВ на микротитрационном планшете с использованием культур клеток ткани почки свиньи (Mayr & Bibrack, 1971). Также разработан метод твердофазного ИФА, являющийся более чувствительным и быстрым (Hubschle et al., 1983).

Для диагностики с помощью серологических реакций, необходимо иметь стандартные штаммы серотипов ТВС, размножавшихся в культурах клеток, и гипериммунную сыворотку, моноспецифичную для типов ТВС.

**4 Сохраненные образцы вируса**

Стандартные штаммы размножаются на монослоях культуры клеток, полученных либо из исходной свиной почки, либо из свиных яичек, или на стабильной клеточной линии, например PK-15. 10% суспензия в ФБР, pH 7,4, готовится из тканей головного и спинного мозга поросят, в целях эксперимента зараженных ТВС. Некоторые типы выделяются из экскрементов. Суспензия центрифугируется, и надосадочная жидкость используется для инокуляции культур клеток. Процедура выращивания ТВС в культурах клеток выполняется следующим образом:

Питательная среда удаляется из культуры клеток, и после промывания забуференным раствором, клетки инокулируются суспензией вируса и инкубируются при температуре 37°C. Размер посевного материала должен составлять 10% от объема питательной среды. По истечении 1 часа инкубации при температуре 37°C, инокулят сливается, сосуд для культур клеток промывается забуференным раствором, и клетки покрываются соответствующим объемом среды без сыворотки с добавлением антибиотиков. ЦПД проявляется в течение 48 часов, и монослой распадается с большей или меньшей степенью полноты в течение следующих 48–72 часов. Во время последующих трех-пяти пассажей в культуру клеток развитие ЦПД ускоряется, и концентрация вирионов возрастает. Титрирование вируса выполняется в культурах клеток в пробирках или на микротитрационных планшетах. Адаптированный к клетке штамм обычно достигает цитопатической дозы (ЦПДТ) 50 (инфицирующая доза 50% культуры клеток ткани) при титрах 106 –107 на мл.

Собранная жидкость проверяется на специфичность с помощью известной специфической гипериммунной антисыворотки. Обработка 5% хлороформом и выращивание в культурах клеток тканей человека и коровы, а также в куриных эмбрионах используются для того, чтобы исключить заражение другими вирусами. ТВС устойчив к воздействию хлороформа и размножается только в культурах клеток тканей свиней. Метод иммунофлюоресцентного окрашивания антител используется для обнаружения возможных загрязнителей, которые также устойчивы к воздействию хлороформа и размножаются на клетках тканей свиньи (например, парвовирус) или которые не являются цитопатическими. Сохраненные образцы вируса должны делиться на небольшие аликвоты и сохраняться при температуре -60°C. Замороженный вирус сохраняет свои свойства в течение нескольких лет. Для сохраненного вируса, который должен использоваться в испытаниях методом нейтрализации, рекомендованной дозой является постоянная доза 100 ЦПДТ50.

**5 Специфическая гипериммунная сыворотка**

Специфическая гипериммунная сыворотка получается посредством повторной иммунизации ТВС морских свинок, кроликов или не получающих молозива поросят. Хотя животные отбираются из пород, не имеющих специфического патогена, перед иммунизацией они, тем не менее, испытываются на отсутствие антител к ТВС. Необходимо использовать стандартные штаммы. Кролики иммунизируются либо путем внутривенного введения чистой вирусной суспензии, либо путем подкожного или внутрибрюшинного введения вирусной суспензии с 10% масляного адъюванта. Хорошие результаты могут быть получены при введении трех доз по 2 мл вирусной суспензии с добавлением 0,2 мл масляного адъюванта через 2-недельные интервалы. У кроликов кровь берется через 10 дней после последней иммунизации. Поросят иммунизируют таким же образом. Собранные образцы сыворотки очищаются центрифугированием и хранятся в форме небольших аликвот при температуре –20°C. Образцы сыворотки титрируются с помощью испытания, путем нейтрализации и постоянного антигена. Только сыворотки с титром антител не меньше 1/256 могут использоваться для идентификации вируса.

**Библиография**

[1] Ауэрбах Дж., Прагер Д., Нойхаус С., Лосс У. и Витте К.Х. (1994). Группировка энтеровирусов свиней методом непрямой иммунофлюоресценции и описание новых серотипов. *Журнал ветеринарных.* [B], **41,** 277-282.

[2] Беттс А.О. (1960). Исследования на энтеровирусы свиней. VI. Связь штамма Т 80 вируса полиоэнцефаломиелита свиней с некоторыми другими вирусами, показанная тестами на нейтрализацию в тканевых культурах. *Исследования Ветеринарный учет,* **1,** 296-300.

[3] Борос А., Немес С., Панкович П., Капусински Б., Делварт Э. и Рейтер Г. (2012). Тешовирус свиней у диких кабанов в Венгрии. *Архивы вирусологии.* **157,** 1573-1578.

[4] Кано-Гомес С., Палеро Ф., Буитраго М.Д., Гарсия-Касадо М.А., Фернандес-Пинеро Дж., Фернандес-Пачеко П., Агуэро М., Гомес-Техедор С. и Хименес-Клаверо М.А. (2011). Анализ генетического разнообразия тешовирусов в популяциях испанских свиней с использованием полных последовательностей VP1. *Инфекция, генетика и эволюция,* **11,** 2144-2150.

[5] Кантайл С. и Юсеф С. (2016). Нервная система. *В:* Джабб, Кеннеди и Палмер, патология домашних животных, Грант Макси М., ред. Эльзевир, Сент-Луис, Миссури, США, 372-373.

[6] Дэн М.Ю., Миллен М., Жак-Симон Р., Фланаган Дж.К., Брахт А. Дж., Каррильо С., Барретт Р. В., Фабиан А., Мохамед Ф., Моран К., Роуленд Дж., Свенсон С. Л., Дженкинс-Мур М., Костер Л., Томас Б. В., Майр Г., Пайберн Д., Моралес П., Шоу Дж., Беррадж Т., Уайт У., Макинтош М. и Метвалли С. (2012). Диагностика тешовирусного энцефаломиелита свиней в Республике Гаити. *Журнал ветеринарных диагностических исследований,* **24,** 671-678.

[7] Хубшле О.Дж.Б., Раджоанарисон Дж., Коко М., Ракотондрамари Э. и Расольфоманана П. (1983). ИФА для выявления антител к вирусу Тешена в образцах сыворотки крови свиней. *Немецкий ветеринарный еженедельник,* **90,** 86-88.

[8] Клобук А. (1931). Энцефаломиелит энзоотический. *Зверолекарский обзор,* **24,** 436-480.

[9] Клобук А. (1933). Этиология так называемой болезни Тешена - Encephalomyelitis enzootica suum. *Ветеринарные дебаты,* **8,** 85-96.

[10] Ноулз Н.Дж. и Бакли Л.С. (1980). Дифференциация сертотипов свиного энтеровируса путем фиксации комплемента. *Исследования Ветеринарный учет, 29, 113-115.*

[11] Ноулз Н.Дж., Бакли Л.С. и Перейра Х.Г. (1979). Классификация свиных энтеровирусов по антигенному анализу и цитопатическим эффектам в культуре тканей: описание 3 новых серотипов. *Архивы вирусологии,* **62,** 201-208.

[12] Ноулз Н.Дж., Хови Т., Хайпиа Т., Кинг А.М.К., Линдберг А. М., Палланш М.А., Пальменберг А.С., Симмондс П., Скерн Т., Стэнвей Г., Ямашита Т. и Зелл Р. (2012). *Пикорнавириды. В:* Таксономия вирусов: Классификация и номенклатура вирусов: Девятый доклад Международного комитета по таксономии вирусов, Кинг А.М.К., Адамс М.Дж., Карстенс Э.Б. и Лефковиц Э.Дж., ред. Эльзевир, Сан-Диего, США, 855-880.

[13] Крумбхольц А., Добер М., Хенке А., Берч-Хиршфельд Э., Ноулз Н.Дж., Стелзнер А. и Зелл Р. (2002). Секвенирование энтеровирусов свиней II и III групп выявляет уникальные особенности обеих групп вирусов. *Журнал вирусологии.,* 76,5813-5821.

[14] Мадр В. (1959). Размножение вируса болезни Тешена в клеточных культурах. *Ветеринария,* **IX,** 298-301.

[15] Майр А. и Бибрак Б. (1971). Демонстрация инфекции Тешена Талфана с использованием микромодификации теста на нейтрализацию. *Zentralbl. Veterinarmed. [B],* **18,** 657-664.

[16] Майр А. и Швебель В. (1957). Распространение вируса болезни Тешена в культурах клеток почек свиней и свойства культивируемого вируса. 1.2.3. часть. *Zentralbl. Bakteriol. [I. Orig.],* **168,** 329-359.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  |  | **МКС 11.220** |
| **Ключевые слова:** Тешена, реакции флюоресцирующих антител, Тальфана | | |

|  |  |
| --- | --- |
|  | **МКС 11.220** |
| **Ключевые слова:** Тешена, реакции флюоресцирующих антител, Тальфана | |

**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**