МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ПРИКАЗ от 3 апреля 2006 г. N 105

ОБ УТВЕРЖДЕНИИ ВЕТЕРИНАРНЫХ ПРАВИЛ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ГРИППА А ПТИЦ

КонсультантПлюс: примечание.

Постановлением Правительства РФ от 12.06.2008 N 450 утверждено новое Положение о Министерстве сельского хозяйства РФ.

В целях повышения эффективности борьбы с гриппом птиц и в соответствии с пунктом 5.2.11 Положения о Министерстве сельского хозяйства Российской Федерации, утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 марта 2006 г. N 164 (Собрание законодательства Российской Федерации, 2006, N 14, ст. 1543), приказываю:

утвердить Ветеринарные правила лабораторной диагностики гриппа А птиц согласно приложению.

Министр А.В.ГОРДЕЕВ

Приложение к Приказу Минсельхоза России от 3 апреля 2006 г. N 105

ВЕТЕРИНАРНЫЕ ПРАВИЛА ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ГРИППА А ПТИЦ

1. Область применения

- 1.1. Настоящие Правила устанавливают обязательные требования к организации лабораторной диагностики гриппа А птиц (далее грипп птиц).
- 1.2. Положения настоящих правил обязательны для выполнения на территории Российской Федерации органами государственной власти, предприятиями или иными хозяйствующими субъектами, учреждениями, организациями, общественными объединениями, независимо от их подчинения и форм собственности, должностными лицами и гражданами.

2. Общие положения

- 2.1. Диагностические лабораторные исследования и серологические тесты по определению напряженности поствакцинального иммунитета (далее лабораторные тесты) проводят в специализированных ветеринарных учреждениях.
- 2.2. Лабораторная диагностика гриппа птиц направлена на выявление в исследуемых объектах ветеринарного надзора:

вируса гриппа птиц;

РНК вируса гриппа птиц;

антигенов вируса гриппа птиц;

антител к вирусу гриппа птиц.

2.3. При проведении лабораторных тестов могут быть использованы методы лабораторных исследований, применяющие:

тесты, утвержденные в установленном порядке;

тесты, которые реализуются с использованием тест-систем, зарегистрированных в установленном порядке в Российской Федерации.

- 3. Обязательные требования по отбору проб для проведения диагностики гриппа птиц
- 3.1. Отбор проб крови и патологического материала проводит ветеринарный работник, имеющий специальную подготовку.
- 3.2. Пробы маркируются и опечатываются. К пробам прилагается сопроводительный документ, содержащий сведения о дате и месте отбора проб, юридическом или физическом лице владельце птицы и месте его нахождения, виде, возрасте птицы и ее состоянии на момент отбора проб.
- 3.3. Для проведения исследований осуществляют отбор проб патологического материала (органы, ткани головного мозга, легких, трахеи, селезенки, участков кишечника, почек, сердца) от павшей или убитой с диагностической целью птицы.
- 3.4. От каждого стада птицы отбирают для исследований 5 10 трупов или патологический материал от 5 10 трупов, клоакальные и/или трахеальные смывы от 10 15 голов, 1 10 сборных проб помета от стада.

У мелких видов птиц для отбора проб используют свежий помет.

Пробу помета рекомендуется отбирать из расчета 1 грамм помета на 60 точек птичника (выгула или вольеры), выбранных по диагонали крест-накрест.

3.5. Пробы крови для определения антител к вирусу гриппа птиц рекомендуется отбирать у 25 - 30 птиц из стада (партии), из одного птичника (зала) или одного населенного пункта, местности (водоема).

Пробы крови отбирают из подкрыльцовой вены в пробирки, увлажненные физиологическим раствором. Кровь выдерживают до образования сгустка при комнатной температуре или в термостате при 37 град. С в течение 1 - 2 часов, затем обводят иглой или пастеровской пипеткой, отслаивая сгусток крови от стенок пробирки, и оставляют на 16 - 18 часов при температуре 2 - 4 град. С. Образовавшуюся прозрачную без признаков гемолиза сыворотку отбирают с помощью пипетки в отдельные, чистые пробирки.

Отбор крови допускается проводить с помощью иглы и шприца (или вакуумной пробирки).

Рекомендуется проводить центрифугирование проб крови для получения сыворотки в течение 10 - 15 минут при 1000 об./мин. для осаждения свободных эритроцитов.

Для серодиагностики используют парные пробы сывороток крови, полученные от больных или инфицированных птиц, в начале заболевания и через 4 - 10 дней.

3.6. Пробы транспортируются во влагонепроницаемой таре, в контейнере с хладоэлементами или в термосе со льдом. Допускается однократное замораживание сывороток.

При транспортировке проб соблюдают установленные ветеринарно-санитарные правила и меры безопасности, предъявляемые к транспортировке биологических материалов, содержащих инфекционные агенты 3-й группы патогенности.

3.7. Если немедленное исследование проб невозможно, допускается сохранять образцы на протяжении 4 дней при температуре 4 град. С.

При необходимости для увеличения срока хранения диагностические образцы и/или изолят помещают в морозильную камеру с температурой -80 град. С.

- 4. Методы и сроки проведения лабораторных исследований
- 4.1. Для установления диагноза на грипп птиц допускается применение следующих методов:
- а) для выявления вируса гриппа птиц биопроба на СПФ (свободных от патогенной микрофлоры) цыплятах с обязательным последующим подтверждением специфичности биологической реакции;
- б) для выделения вируса гриппа птиц метод выделения вируса на СПФ куриных эмбрионах или в культуре клеток;
 - в) для обнаружения антигенов вируса гриппа птиц;

иммунохроматографические методы (далее - ИХА);

иммуноферментный анализ (ИФА) для обнаружения одного или нескольких белков вируса;

иммунопреципитация (двойная иммунодиффузия по Оухтерлони (далее - РДП) или иммуноэлектроосмофорез (далее - ИЭОФ);

```
радиоиммунный анализ (далее - РИА);
     непрямая гем- и латексагглютинация;
     реакция связывания комплемента (далее - РСК);
     г) для обнаружения гемагглютинина (гемагглютинирующей активности) вируса гриппа птиц:
     реакция гемагглютинации (далее - РГА) с подтверждением специфичности в реакции
торможения гемагглютинации (РТГА);
     ИФА на основе моноспецифических сывороток или моноклональных антител к вирусному
гемагглютинину;
     д) для обнаружения РНК вируса:
     полимеразная цепная реакция (далее - ПЦР);
     ПЦР с последующим секвенированием ее продуктов;
     Дот-блот и блот гибридизация нуклеиновых кислот;
     е) для обнаружения антител к вирусу гриппа птиц:
     ИФА:
     РДП и ИЭОФ:
     ИХА;
     РИА:
     ΡΤΓΑ;
     РСК;
```

ж) для субтипирования вируса по гемагглютинину и нейраминидазе:

ΡΤΓΑ;

ПЦР;

сиквенс к ДНК или ПЦР-продукта;

Дот-блот и блот гибридизация нуклеиновых кислот;

ИФА на основе моноспецифических сывороток или моноклональных антител к вирусному гемагглютинину;

з) для субтипирования противовирусных антител по гемагглютинину:

ΡΤΓΑ;

ИФА на основе моноспецифических сывороток или моноклональных антител к вирусному гемагглютинину.

- 4.2. Применение иных тестов допускается для получения предварительных результатов.
- 4.3. Методы проведения лабораторных исследований реализуются на основе утверждаемых в установленном порядке методик проведения обязательных диагностических исследований.
- 4.4. Сроки проведения лабораторных исследований устанавливаются в зависимости от метода исследования и не могут превышать 1 месяца.