

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ВETERИНАРНОМУ И ФИТОСАНИТАРНОМУ НАДЗОРУ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ»
(ФГБУ «ВНИИЗЖ»)

СОГЛАСОВАНО

Директор ФГБУ «Федеральный
центр охраны здоровья животных»
(ФГБУ «ВНИИЗЖ»)



В.А. Грубый

2014 г.

« »



УТВЕРЖДАЮ

Заместитель Руководителя
Федеральной службы по ветеринарному
и фитосанитарному надзору



Е.А. Непоклонов

2014 г.

« »



МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

ПО ОТБОРУ ПРОБ МОЗГА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ДЛЯ ДИАГНОСТИЧЕСКОГО
ИССЛЕДОВАНИЯ НА ГУБКООБРАЗНУЮ ЭНЦЕФАЛОПАТИЮ

1. Введение

Прионные болезни или трансмиссивные губкообразные энцефалопатии (ТГЭ) животных и человека известны давно. Скрепи овец была зарегистрирована в XVIII в скрепи коз – в XIX в, остальные 12 – в XX в, возникновение 11 из них связано с появлением в 1985 г. в Великобритании нового заболевания – губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭ КРС).

Для прионных болезней нет средств лечения и профилактики, они вызывают 100% гибель инфицированных животных и людей. Общими для них является нейрологические поражения центральной нервной системы, проявляющиеся в большинстве случаев в виде губкообразных изменений некоторых отделов спинного и головного мозга и накоплении патогенной формы прионного белка.

Прионными болезнями болеют животные подотряда жвачных (*Ruminanta*), преимущественно семейств полорогих (*Bovidae*) и, в США, оленевых (*Cervidae*). Среди хищников высок риск заражения агентами прионных болезней кошачьих (*Felidae*) и куньих (*Mustelidae*). Значительно ниже риск заражения приматов, в том числе и человека.

Возбудителем прионных болезней является структурно измененная форма нормального прионного белка. Условием превращения нормального клеточного прионного белка в патогенную форму является его взаимодействие с патогенной формой прионного белка, а также генетические мутации, существенно повышающие риск спонтанного превращения клеточного прионного белка в патогенную форму. Возможна межвидовая передача прионных болезней.

Средний возраст КРС, у которого проявляются признаки губкообразной энцефалопатии, составляет 4–7 лет. Заражение происходит преимущественно в первые месяцы жизни животного через корм, содержащий инфекционный агент ГЭ КРС. Продолжительность клинической фазы в среднем составляет 1–4 мес.

Наличие клинических признаков нейродегенеративного характера не является достаточным основанием для постановки диагноза ГЭ КРС, поскольку аналогичные признаки могут иметь место при нарушениях функций мозга, вызванных другими причинами. Диагноз ГЭ КРС может быть поставлен только на основании результата лабораторного исследования проб мозга – выявления патогенной изоформы прионного белка иммунологическими методами или выявления вакуолизации гистологическим методом.

К марту 2012 г. зарегистрированы 190639 случаев ГЭ КРС в 27 странах. Контроль эпизоотической ситуации по прионным болезням сельскохозяйственных животных, прежде всего ГЭ КРС, является важным направлением деятельности ветеринарных служб во многих европейских странах, США, Канаде и Японии. Он необходим в связи с опасностью заражения не только животных, но и человека, а также значительными экономическими потерями для животноводческой отрасли даже в тех странах, в которых эта болезнь не зарегистрирована, поскольку, в связи с риском её появления, необходимо проводить строгие карантинные мероприятия и дорогостоящие диагностические исследования сотен тысяч и даже миллионов проб мозга в год. В 2003 г. в Германии проведен анализ 2 589 073 проб, во Франции – 3 205 963. При стоимости одного анализа около 50 евро это составило, соответственно, 129 и 160 млн. евро.

Доказано, что для человека опасны агенты ГЭ КРС и хронической изнуряющей болезни оленей (распространена только в США и Канаде). При попадании в организм человека они могут вызвать новый вариант болезни Крейтцфельдта-Якоба (вБКЯ), – прионную болезнь человека, возникающую преимущественно в возрасте 25–30 лет и отличающуюся некоторыми особенностями патогенеза от классической БКЯ, возникающей преимущественно в возрасте 65 лет и старше.

Появление в США единичного случая ГЭ КРС у импортированной из Канады коровы в декабре 2003 г. привело к снижению производства говядины в 2004 г. на 6,5%. После появления ГЭ КРС 23 декабря 2003 г. 64% сбыта на внешних рынках были потеряны и к февралю 2005 г. оставались закрытыми 41% рынков, что привело к потере 3,1 млрд.

долларов доходов от экспорта мяса КРС.

Для снижения риска распространения ГЭ КРС необходимо проводить мониторинг как ГЭ КРС, так и других прионных болезней животных, прежде всего скрепи овец и коз, хронической изнуряющей болезни оленей и лосей, а также трансмиссивной энцефалопатии норок, которая может причинить большой ущерб звероводству.

Проведение мониторинга ГЭ КРС предписано международным нормативным документом – Кодексом здоровья наземных животных МЭБ [1]. Для стран, в которых ГЭ КРС не зарегистрирована (в их числе Российская Федерация), исследование проб мозга от КРС, входящего в группы риска по этой болезни, позволяет сделать заключение о наличии или отсутствии болезни на территории страны. Результаты мониторинга ГЭ КРС необходимы для заключения экспортных контрактов на многие виды продукции, в производстве которой используют ткани КРС. Известно, например, что импортеры культуральных вакцин Российского производства требуют сведения о результатах мониторинга ГЭ КРС в тех регионах, из которых была получена сыворотка КРС, использованная для выращивания культуры клеток в процессе производства вакцины.

Первым этапом, обеспечивающим качество диагностического исследования на прионные болезни, является отбор проб мозга. С целью диагностики ГЭ КРС исследуют стволую часть мозга на наличие гистопатологических изменений или накопление агента болезни – патогенной формы прионного белка.

2. Сущность метода

«Методические указания по отбору проб мозга крупного рогатого скота для диагностического исследования на губкообразную энцефалопатию» разработаны с целью выполнения лабораторных диагностических исследований на ГЭ КРС в соответствии с программами мониторинга ГЭ КРС в Российской Федерации, в частности, действующего в 2012 г. «Плана проведения эпизоотологического мониторинга на 2012 г.», осуществляемого в рамках исполнения приказа Россельхознадзора № 75 от 22.02.2012 г. «О лабораторных исследованиях в рамках реализации мероприятий Россельхознадзора для обеспечения выполнения требований Соглашения ВТО по СФС при вступлении России в ВТО».

В 1998 г. в ФГУ «ВНИИЗЖ» была разработана и утверждена 12.11.1998 г. Департаментом ветеринарии МСХ РФ «Инструкция по отбору проб мозга крупного рогатого скота для диагностики губкообразной энцефалопатии» [2]. Вышеназванная инструкция была разработана до появления высокопроизводительных экспресс-методов диагностики ГЭ КРС. В данных «Методических указаниях по отбору проб мозга крупного рогатого скота для диагностического исследования на губкообразную энцефалопатию» предложены высокопроизводительные способы отбора проб стволую части мозга КРС, позволяющие провести отбор одной пробы в течение 20–30 сек.

3. Область применения

Отбор проб стволую части мозга КРС в соответствии с данными «Методическими указаниями...» проводят с целью последующего лабораторного диагностического исследования на ГЭ КРС у животных следующих групп риска.

3.1. КРС возрастом от 30 мес., имевшего клинические признаки губкообразной энцефалопатии – прогрессирующие нейropатологические изменения без признаков инфекционных заболеваний вирусной или микробной этиологии: нарушения в поведении, выражающиеся в нехарактерных действиях, позах, не распознавании препятствий, неуверенности при прохождении через ворота; гиперчувствительности к прикосновениям, звукам и свету, выражающейся в судорогах или лягании, и, на более поздних фазах болезни – нарушениях координации движений, начинающейся преимущественно с задних конечностей. Вероятность выявления ГЭ КРС у скота этой группы максимальна. В 2004 г. в странах Европейского союза из 3207 исследованных проб мозга КРС, имевшего клинические

признаки ГЭ, эта болезнь была выявлена у 174 (5,43%). Диагностическому исследованию подлежат все 100% таких животных.

3.2. КРС в возрасте 30 мес. и старше, направленного на санитарный убой (независимо от причины убоя, включая лежачий скот, неспособный без помощи подняться или идти), а также направленный на вынужденный убой, на мясокомбинат по показаниям, допускающим пищевое использование мясной продукции. В эту категорию входит скот, имевший некоторые клинические признаки ГЭ, которые не были распознаны. Опыт стран Европейского Союза показывает, что скот этой категории второй по риску ГЭ КРС. В 2004 г. в странах ЕС из 223357 исследованных проб мозга вынужденно убитого скота положительными были 184 (0,0824%).

3.3. КРС в возрасте 30 мес. и старше, направленного на мясокомбинат и признанного при предубойном обследовании непригодными для производства животноводческой продукции. В странах ЕС в 2004 г. из 105975 таких животных положительными по ГЭ были 24 (0,0226%).

3.4. КРС в возрасте 30 мес. и старше, павшего на ферме, при перевозке или на бойне. В эту категорию также входит скот, имевший нераспознанные клинические проявления ГЭ. В 2004 г. в странах Европейского Союза были выявлены 312 случаев ГЭ в результате диагностического исследования 1149318 проб мозга павшего скота (0,0271%).

Диагностическое исследование на ГЭ КРС клинически здоровых животных, направленных на мясокомбинат для убоя с целью производства мясной продукции нецелесообразно, поскольку выявление ГЭ у здоровых животных крайне маловероятно даже в странах, неблагополучных по этой болезни. В 2004 г. из 9 551 469 исследованных в странах ЕС проб мозга животных этой категории положительными по ГЭ были 166 (0,0017%), что в 48 раз меньше, чем среди вынужденно убитых животных.

4. Соблюдение норм биологической безопасности при извлечении мозга

Поскольку агенты прионных болезней принадлежат к возбудителям 2 класса биологической опасности, а патогенный материал, кроме агента ГЭ КРС или других прионных болезней животных, может содержать и другие возбудители опасных зоонозов, все работы необходимо проводить с соблюдением норм, предписанных Санитарно-эпидемиологическими правилами СП 1.3.1285-03. «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)», утвержденными Главным государственным санитарным врачом РФ 12 марта 2003 г. [1].

Правила безопасности при работе с возбудителями прионных болезней и деконтаминации различных объектов в 90-е годы 20 века были разработаны ветеринарными службами и исследователями стран Западной Европы, не свободных от ГЭ КРС [5, 7] и использованы нами при подготовке данной инструкции.

В ФГУ «ВНИИЗЖ» была разработана «Инструкция по биологической безопасности...», № 09-СОП-ББ-005/01, включающая правила безопасности при проведении диагностических исследований на прионные болезни животных.

Соблюдение мер безопасности при работах с агентами прионных болезней осложнено их высокой устойчивостью к физико-химическим воздействиям.

Основным приемом снижения риска при работе с инфицированным материалом является использование автоматических устройств для подготовки и обработки исследуемых образцов, что позволяет уменьшить контакт персонала с возбудителем.

Наибольшую опасность представляет попадание возбудителя ГЭ КРС в кровь вследствие порезов или проколов кожи. Риск заражения агентом ГЭ КРС вследствие попадания в пищеварительный тракт приблизительно в 1000 раз меньше. Поэтому отказ от использования режущих инструментов, которые предлагали в вышеназванной «Инструкции...» 1998 г. [2], и от процедуры распиливания черепа животного при отборе проб мозга КРС, является ключевым фактором обеспечения биологической безопасности на этапе отбора проб мозга.

Предложенный в данных «Методических указаниях ...» способ отбора проб мозга выполняется пластиковыми или металлическими пробоотборниками, которыми нельзя порезаться, кроме того полностью исключена возможность образования аэрозоля, содержащего возбудитель ГЭ КРС. Для защиты рук от попадания биоматериалов КРС применяют резиновые или пластиковые перчатки. В течение 2001–2008 г. в странах ЕС ежегодно отбирали аналогичным методом от 8 до 11 млн. проб мозга. Случаев заболевания персонала ветеринарных служб и мясокомбинатов вБКЯ не было зарегистрировано, т.е. предлагаемый способ отбора проб является безопасным.

Отходы, содержащие биоматериалы, расходные материалы и прочие стораемые отходы необходимо уничтожать сжиганием. Инструменты необходимо обрабатывать следующими способами: автоклавированием при избыточном давлении 3 атм. и температуре 134–138°C в течение 20–30 мин или 2% раствором гипохлорита натрия не менее 1 ч, или 8% раствором гидроокиси натрия в течение 3–4 мин.

5. Извлечение ствловой части мозга пробоотборниками

Диагностическому исследованию на ГЭ КРС подлежит только ствловая часть головного мозга, от шейного отдела спинного мозга до среднего мозга (рис. 1). Ствловую часть мозга извлекают из отрезанной по атланта-затылочному сочленению головы животного.

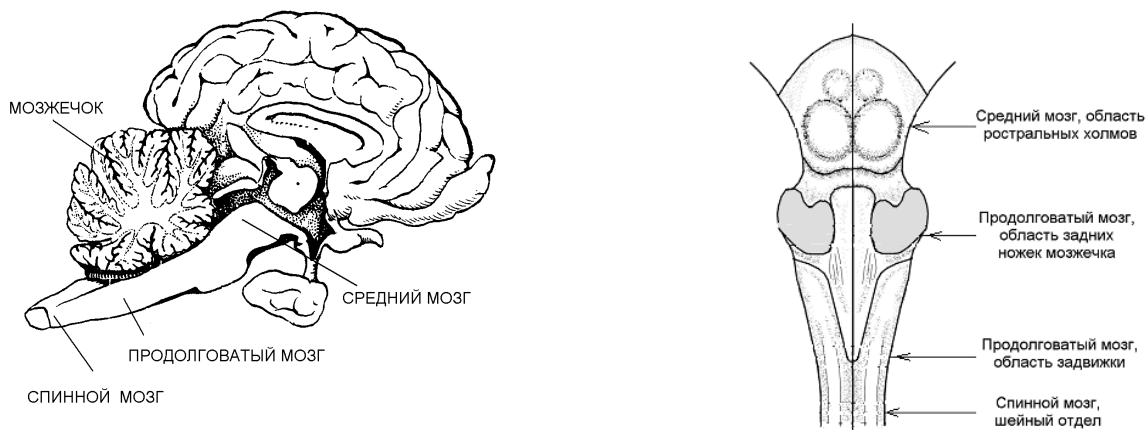


Рис. 1. Мозг КРС – разрез (слева) и ствловая часть мозга (справа)

Пробоотборники для извлечения ствловой части мозга через большое затылочное отверстие, с целью последующего исследования на ГЭ КРС, были предложены фирмой «Bio-Rad» (Франция), (рис. 2) [7] и фирмой «IZTL» (Германия), (рис. 3) [7]. Преимущество метода – высокая производительность (до нескольких сотен проб мозга в день) и безопасность для персонала.



Рис. 2. Пробоотборник для взятия проб стволовой части мозга КРС производства фирмы «Bio-Rad» [7]



Рис. 3. Пробоотборник для взятия проб стволовой части мозга КРС производства фирмы «IZTL» [7]

Способ отбора проб мозга через большое затылочное отверстие позволяет получить препараты, пригодные для диагностического исследования на губкообразную энцефалопатию КРС как иммунологическими методами с использованием диагностических наборов, предлагаемых фирмами «Prionics», «Enfer», «IDEXX» и «Bio-Rad» [7], так и гистологическим [4] и иммуногистохимическим [3] методами.

Пробоотборники фирмы «IZTL» (изготовленные из титана) и разовый пластиковый фирмы «Bio-Rad» применяют в западноевропейских странах, неблагополучных по ГЭ КРС, с целью отбора, в условиях боен, большого количества проб мозга скота, предназначенного для потребления человеком, а также у вынужденно убитых и павших животных.

Способ отбора ткани мозга через большое затылочное отверстие позволяет снизить риск контаминации проб, что важно при исследовании иммунологическими методами. Стволовую часть мозга целесообразно извлечь сразу после убоя животного, или в течение нескольких часов, до наступления автолиза, поскольку автолизированный, а также замороженный-размороженный мозг таким способом извлекается не столь полно, как свежий.

5.1. Способ извлечения стволовой части мозга КРС с использованием пластикового пробоотборника из набора для отбора проб мозга фирмы «Bio-Rad»

Набор фирмы Bio-Rad для отбора проб мозга содержит пластиковые пробоотборники и пробирки или банки с завинчивающейся крышкой объемом 50 или 100 мл, по две пары анатомических перчаток на пробу мозга, заклеиваемые пакеты и этикетки для емкостей с пробами мозга, все части набора размещены в упаковочном пакете.

Отбор проб необходимо проводить в следующей последовательности.

– Отрезанную голову животного разместить на столе большим затылочным отверстием к оператору. Положение пробоотборника перед вводом в большое затылочное отверстие представлено на рис. 4, фото 1.

– Пробоотборник вставить в большое затылочное отверстие выпуклой частью вверх так, чтобы при продвижении вглубь выступ пробоотборника двигался в направлении среднего мозга, перерезая краниальные нервы (рис. 4, фото 2 и 3).

– Сочетанием движений «назад – поворот влево или вправо на 15–20° – вперед» сделать полный оборот, перерезая ножки мозжечка (рис. 4, фото 4).

– Сочетанием небольших поворотов пробоотборника вдоль оси влево-вправо и движением назад (рис. 5, фото 5) извлечь стволовую часть мозга (рис. 4, фото 6) и перенести в предварительно маркированную емкость для проб (рис. 4, фото 7).

– Емкость с пробой мозга поместить в заклеиваемый пакет для проб (рис. 4, фото 8) и в таком состоянии передать в лабораторию для проведения диагностического исследования, а пробоотборник и перчатки положить в упаковочный пакет и сжечь.

5.2. Способ извлечения стволовой части мозга КРС с применением титанового пробоотборника производства фирмы «IZTL»

Стволовую часть мозга извлекают титановым пробоотборником через большое затылочное отверстие из отрезанной по атланта-затылочному сочленению головы КРС. Процесс отбора пробы мозга с помощью пробоотборника представлен на рис. 5, фотографиях 1–6.

– Голову животного разместить на анатомическом столе в перевернутом положении, затылочной частью к оператору.

– Ввести пробоотборник полуцилиндрическим выступом вверх в большое затылочное отверстие так, чтобы шейный отдел спинного мозга вошел в полость пробоотборника (рис. 5, фото 1).

– Продвинуть пробоотборник внутрь черепа, не поворачивая, на 10–12 см так, чтобы полуцилиндрический выступ скользил вдоль стволовой части мозга, перерезая нервы и кровеносные сосуды, и достиг среднего мозга (рис. 5, фото 2 и 3).

– Повернуть прибор влево и вправо на 180°, или сделать оборот на 360°, с целью перерезания ножек мозжечка и нервов (рис. 5, фото 4).

– Повернуть прибор полуцилиндрическим выступом вниз (для облегчения извлечения пробы мозга целесообразно также наклонить голову животного большим затылочным отверстием вниз) и извлечь стволовую часть мозга (рис. 5, фото 5).

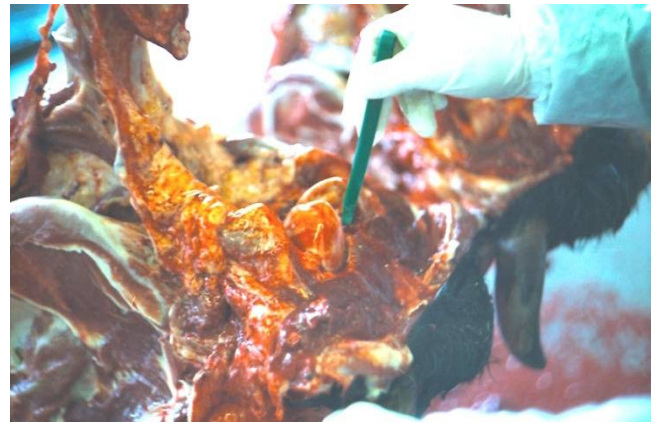
– Переместить мозг из полости пробоотборника в емкость для проб (рис. 5, фото 6), при этом необходимо проверить наличие в отбираемом материале области задвижки продолговатого мозга, наиболее важной для диагностики ГЭ КРС.

– С целью дезинфекции погрузить режущую часть прибора в емкость с 4–7% раствором гидроксида натрия на 3–4 мин. При таких условиях происходит денатурация патогенного прионного белка – возбудителя ГЭ КРС. Затем прибор промыть от щелочи проточной водой и использовать для отбора следующей пробы. При отборе большого количества проб необходимо иметь несколько (4–5) пробоотборников для обеспечения непрерывного процесса их отбора.

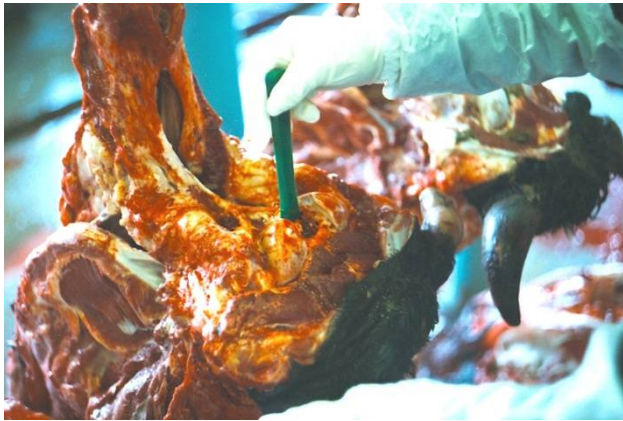
– После окончания работы пробоотборник дезинфицировать 4–7% раствором гидроксида натрия, промыть горячей водой с моющим средством и щеткой, и затем высушить.



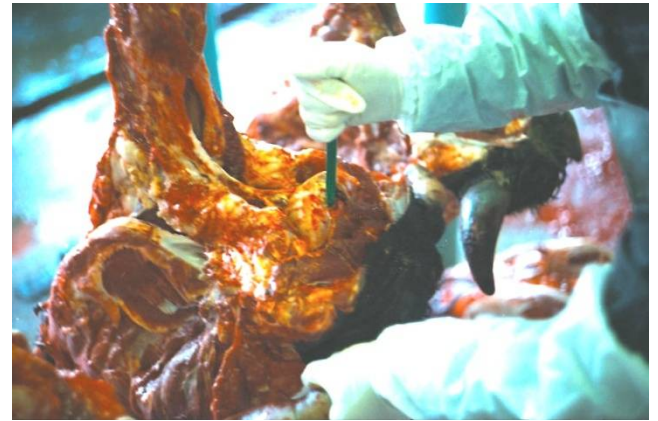
1



2



3



4



5



6



7



8

Рис. 4. Отбор проб мозга пластиковым пробоотборником фирмы «Bio-Rad» (фото 1–8)

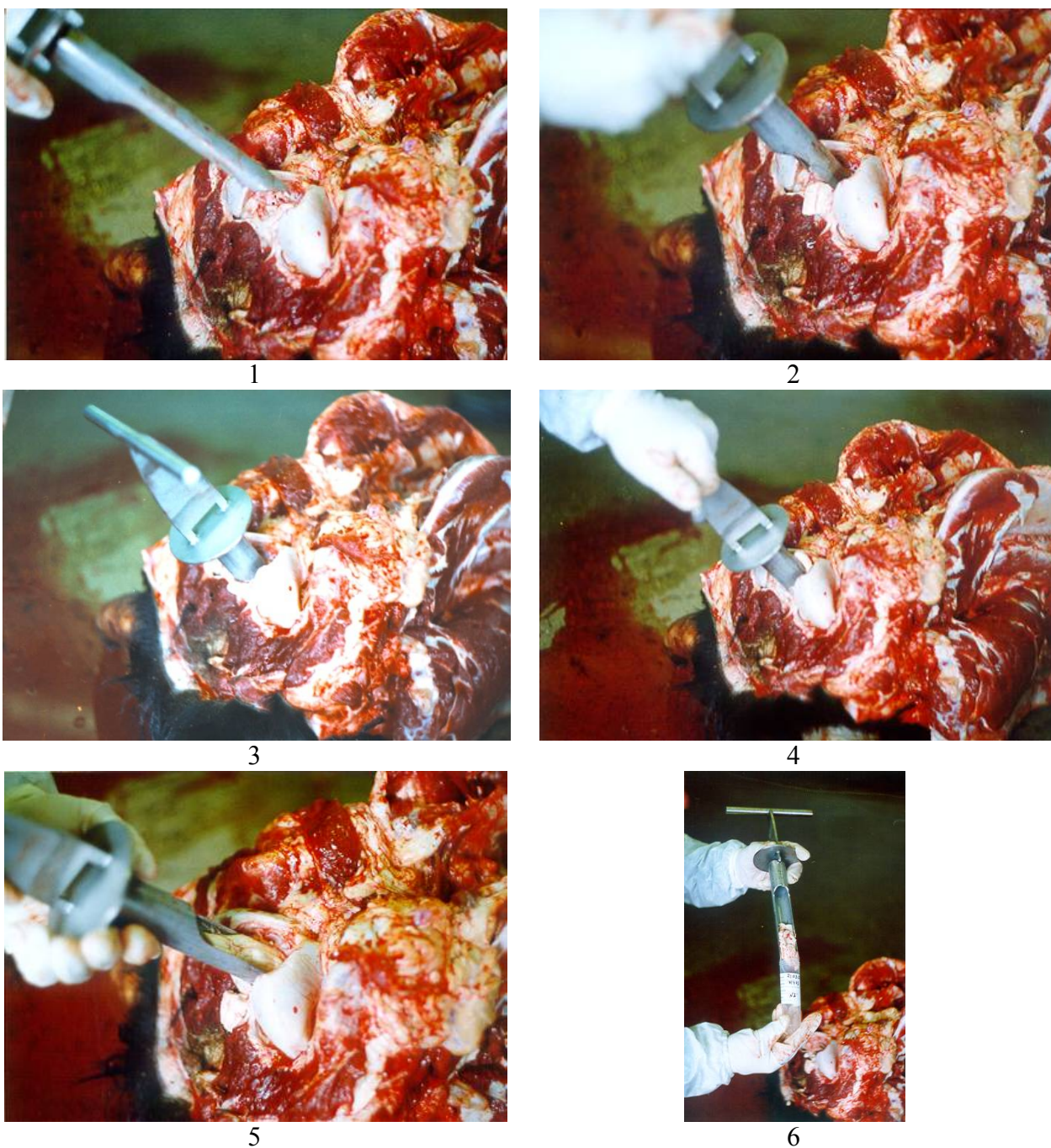


Рис. 5. Процесс взятия пробы мозга через большое затылочное отверстие титановым пробоотборником фирмы «IZTL» (фото 1–6)

6. Условия хранения и перевозки проб мозга КРС для лабораторного диагностического исследования на ГЭ КРС

Какой способ консервации проб использовать – замораживание или фиксирование формалином, предварительно необходимо согласовать с диагностической лабораторией.

6.1. Условия хранения и перевозки проб, предназначенных для исследования иммуноферментным методом

Пробы мозга, предназначенные для исследования методом иммуноферментного анализа, сразу после отбора следует поместить в пластиковые флаконы с плотно закрывающейся крышкой и доставить в диагностическую лабораторию. Если время хранения и доставки в сумме не более 24 ч, то замораживать пробы не следует. Если время хранения и доставки проб превышает сутки, то их следует заморозить (замороженные пробы мозга

можно хранить неограниченно долго) и транспортировать в замороженном состоянии.

6.2. Условия хранения и перевозки проб, предназначенных для исследования гистологическим или иммуногистохимическим методами

Пробы мозга, предназначенные для исследования гистологическим и иммуногистохимическим методами, замораживать нельзя ни на одном этапе хранения, обработки или перевозки. Также ни на одном этапе обработки ткань мозга нельзя подвергать сжатию, изгибу, скручиванию и другим механическим воздействиям, которые могут вызвать разрывы или искажения естественной формы.

Сразу после отделения стволую часть мозга фиксировать в 4% растворе формальдегида, приготовленном на 0,075 М фосфатно-буферном растворе, pH 7,0. Раствор приготовить из расчета 4,0 г $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ и 6,5 г Na_2HPO_4 на 1 л 4% формальдегида, который предварительно приготовить смешиванием 100 мл 40% раствора формалина и 900 мл дистиллированной воды.

Образцы ткани мозга от каждого животного разместить в отдельных емкостях, подписанных порядковыми номерами. Мозг фиксировать в течение 14 сут. Объем фиксирующего раствора должен быть в 5–10 раз больше объема мозга.

Фиксированный мозг извлечь из раствора и поместить в маркированный порядковым номером (в соответствии с сопроводительным документом) пакет. Пакеты герметично закрыть и доставить в диагностическую лабораторию.

7. Маркировка проб, сопроводительные документы

Упаковки с пробами необходимо маркировать порядковыми номерами, в соответствии с описью. Сопроводительное письмо и опись проб должны быть составлены в соответствии с представленным ниже образцом.

На бланке, включающем наименование В ФГБУ «Федеральный центр охраны организации или предприятия, направляющего здоровья животных» пробы мозга на исследование, и реквизиты связи: адрес, телефон, факс (включая телефонный код города/района), e-mail.

В соответствии с распоряжением Россельхознадзора _____ направляются пробы стволуной части мозга КРС для лабораторного диагностического исследования на губкообразную энцефалопатию.

| № | Рег. № животного и номер ушной бирки импортированного КРС | Происхождение (страна, республика, область) | Дата рождения | Дата ввоза импортного скота | Дата отбора пробы | Категория (здоровый, вынужденно убитый или павший) | Анамнез (дата начала заболевания, клинические признаки, причина вынужденного убоя или падежа) |
|---|---|---|---------------|-----------------------------|-------------------|--|---|
| 1 | | | | | | | |
| 2 | | | | | | | |
| 3 | | | | | | | |
| 4 | | | | | | | |
| 5 | | | | | | | |

И так далее в соответствии с количеством проб

[Должность руководителя]
[управления ветеринарии],
[лаборатории, службы ... и т.д.]

[подпись]

[Фамилия И.О.]
[расшифровка подписи]

«__» _____ 201_ г.
М. П.

8. Заключение

Способ отбора проб стволовой части мозга КРС для лабораторного диагностического исследования на губкообразную энцефалопатию пластиковыми пробоотборниками производства фирмы «Bio-Rad» и титановым пробоотборником фирмы «IZTL» был испытан в лаборатории ФГУ «ВНИИЗЖ» в течение нескольких лет (2003–2011 г.), и успешно использован при отборе проб с целью выполнения «Плана государственного лабораторного эпизоотологического мониторинга в 2011 г.» в соответствии с приказом № 120 Россельхознадзора. Отбор проб проводили специалисты ветеринарных лабораторий Россельхознадзора и субъектов РФ. Отобранные таким способом пробы были в 100% случаев пригодны для диагностического исследования на ГЭ КРС. Всего за указанные годы были отобраны и исследованы 13739 проб мозга КРС.

9. Список литературы

1. Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности) Санитарно-эпидемиологические правила СП 1.3.1285-03. Утверждены Главным государственным санитарным врачом РФ 12 марта 2003 г. Зарегистрированы в Минюсте РФ 15 мая 2003 г. N 4545.
2. Инструкция по отбору проб мозга крупного рогатого скота для диагностики губкообразной энцефалопатии // С.С. Рыбаков, Е.В. Гусева, А.В. Чепуркин [и др.] // ФГУ «ВНИИЗЖ». – Владимир, 1998. – 10 с.
3. Методические указания по выявлению патогенной изоформы прионного белка в ткани головного и спинного мозга крупного рогатого скота иммуногистохимическим методом // С.С. Рыбаков, А.А. Егоров, А.А. Рябokonь [и др.]. // ФГУ «ВНИИЗЖ». – Владимир, 2001. – 12 с.
4. Рыбаков С.С., Чепуркин А.В., Егоров А.А. Методические указания по гистологической диагностике губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота // ФГУ «ВНИИЗЖ». – Владимир, 1998. – 8 с.
5. Decontamination studies with the agents of bovine spongiform encephalopathy and scrapie / D.M. Taylor, H. Fraser, I. McConnell [et al.] // Arch. Virol. – 1994. – Vol. 139. – P 313–326.
6. OIE. Terrestrial Animal Health Code, Ch. 11.5, Bovine spongiform Encephalopathy. OIE, 2011.
7. TeSeE Kit Short Assay Protocol. Bio-Rad. – URL: <http://www.bio-rad.com/de-at/sku/355-1191-tesee-kit-768-tests> (дата обращения: 16.10.12).

Настоящие методические указания вступают в силу с момента подписания.

Заместитель Руководителя Федеральной службы
по ветеринарному и фитосанитарному надзору

Н.А. Власов