

Министерство сельского хозяйства и продовольствия
Республика Беларусь

Учреждение образования
«Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия
ветеринарной медицины»

Кафедра микробиологии и вирусологии

Метод флуоресцирующих антител (МФА)

Учебно-методическое пособие для студентов,
обучающихся по специальности 1 - 74 03 02 «Ветеринарная медицина»

Витебск
ВГАВМ
2017

УДК 619:579(07)

ББК 48.41

М54

Рекомендовано к изданию редакционно-издательским советом
УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная
академия ветеринарной медицины»
от 15.12.2016 г. (протокол № 2)

Авторы:

доктор ветеринарных наук, профессор *А. П. Медведев*, кандидат ветеринарных наук, доцент *А. А. Вербицкий*, кандидат ветеринарных наук, доцент *В. Н. Аleshkevich*, кандидат ветеринарных наук, доцент *А. В. Зайцева*, кандидат ветеринарных наук, доцент *С. В. Даровских*

Рецензенты:

доктор ветеринарных наук, профессор *В. В. Максимович*; доктор ветеринарных наук, профессор *В. С. Прудников*

Метод флуоресцирующих антител (МФА) : учеб. – метод. пособие
М54 для студентов, обучающихся по специальности 1 - 74 03 02 «Ветеринарная медицина» / А. П. Медведев [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2017 – 16 с.
ISBN 978-985-512-945-6.

Учебно-методическое пособие написано в соответствии с программой по дисциплине «Микробиология и иммунология» для высших учебных с.-х. заведений по специальности 1 - 74 03 02 «Ветеринарная медицина».

В данном пособии изложены способы получения, контроля качества и применения люминесцирующих сывороток для диагностики инфекционных болезней.

УДК 619:579(07)

ББК 48.41

ISBN 978-985-512-945-6

© УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», 2017

Оглавление

Введение	4
1. Общая схема получения и контроля качества люминесцирующей сыворотки для диагностики инфекционной болезни бактериальной этиологии	5
2. Получение рожистой агглютинирующей сыворотки	5
3. Выделение иммунных глобулинов	6
4. Люминесцентное мечение иммунного глобулина	7
5. Контроль качества люминесцирующих сывороток	8
6. Приготовление препаратов для реакции иммунофлуоресценции	10
6.1. Прямой способ РИФ	11
6.2. Непрямой способ РИФ	12
Литература	14

Введение

Метод флуоресцирующих антител относят к серологическим методам, в основе которых лежат реакции иммунитета. Реакции иммунитета - это реакции между антигенами и антителами или между антигенами и сенсibilизированными лимфоцитами, протекающие *in vivo*. Они могут быть воспроизведены *in vitro*. Эти реакции называют серологическими (от лат. *Serum* - сыворотка) или гуморальными (от лат. *Humor*-жидкость).

МФА представляет собой комплексный метод, сочетающий серологическое и микроскопическое исследования. Осуществляется метод путем постановки реакции иммунофлуоресценции (РИФ) и учета ее результата.

Впервые МФА предложен Альбертом Кунсом в 1942 г. Сущность данного метода заключается в том, что антитела меченые флуорохромом, сохраняют способность вступать в специфическую связь с гомологичным антигеном. Образующийся иммунный комплекс обнаруживают под воздействием ультрафиолетовых лучей с помощью люминесцентной микроскопии по характерному свечению, благодаря присутствию в нем флуорохрома.

Люминесцирующие сыворотки для диагностики инфекционных болезней (рожи, листериоза, сальмонеллёза, кампилобактериоза, сибирской язвы, микоплазмоза и др.) представляют собой меченые флуорохромом глобулины (антитела). Антитела, меченые флуорохромом, называют конъюгатом. В качестве флуорохрома наиболее часто используют ФИТЦ - флуоресцеина изотиоцианат (вызывает зеленое свечение) и РСХ - родамина сульфохлорид (красное свечение).

Флуоресцирующие антитела применяют для индикации микробов в различных объектах, выяснения локализации их и не корпускулярных антигенов при изучении патогенеза инфекций, выявления областей синтеза иммуноглобулинов в организме, определения чистоты микробных культур, уточнения антигенного родства микробов, постановки достоверного диагноза и других целей.

РИФ является высокоспецифичной и чувствительной, позволяет провести исследование в течение 2-3 часов, идентифицировать микроорганизмы в материале без выделения чистой культуры, т.к. взаимодействие антигена с антителами происходит на предметном стекле, где находится антиген. РИФ можно использовать для выявления антител в крови животных и человека. С помощью РИФ можно выявить биологически активные вещества, содержащиеся в исследуемом материале в минорных количествах – 10^{-1} – 10^{-12} г/л. К тому же, при наличии необходимых ингредиентов, постановка реакции не требует стерильной работы, высокой квалификации исполнителя, проста в техническом отношении. При положительной реакции результаты ее исключительно демонстративны, что позволяет документировать их путем фотографирования.

Способы получения, контроля качества и применения люминесцирующих сывороток для диагностики различных инфекционных болезней аналогичны. Однако для более доступного восприятия материала, касающегося МФА, в данном учебно-методическом пособии мы изложили методику получения и контроля качества конкретного препарата - рожистой люминесцирующей сыворотки.

Полагаем, что пособие содержит необходимую информацию относительно технологии получения, контроля и применения люминесцирующих сывороток.

По нашему мнению, руководствуясь данным пособием, квалифицированные специалисты сумеют приготовить даже в лабораторных условиях люминесцирующие сыворотки, нужные для диагностики определенных инфекционных болезней.

Надеемся, что пособие будет востребовано специалистами биологической промышленности и ветеринарных лабораторий, студентами и преподавателями учреждений образования ветеринарного, медицинского и биологического профилей, для которых оно, собственно, и предназначено.

1. Общая схема получения и контроля качества люминесцирующей сыворотки для диагностики инфекционной болезни бактериальной этиологии

Приготовление и контроль качества люминесцирующей сыворотки проводят по следующей схеме:

- получение агглютинирующей сыворотки от продуцентов, гипериммунизированных специфическим антигеном;
- выделение иммунных глобулинов из агглютинирующей сыворотки;
- люминесцентное мечение иммунного глобулина (антител);
- очистка люминесцирующих антител от несвязанного красителя;
- определение физических свойств сыворотки;
- определение массовой доли белка в сыворотке;
- контроль люминесцирующей сыворотки на активность;
- контроль препарата на специфичность.

2. Получение рожистой агглютинирующей сыворотки

Агглютинирующую сыворотку получают путем гипериммунизации кроликов рожистым антигеном. Антиген готовят из типичных штаммов возбудителя рожи серотипов А и В. Типичный штамм возбудителя рожи свиней представляет собой мелкие, прямые или слегка изогнутые неподвижные палочки, положительно окрашивающиеся по Граму. При росте в МПБ микробы вызывают его равномерное помутнение. При встряхивании пробирки хорошо заметна волнистость. На МПА бактерии формируют мелкие, круглые, прозрачные росинчатые колонии. Культуры рожистой палочки со специфической сывороткой должны давать четкую агглютинацию до ее предельного титра, не иметь признаков самоагглютинации в физиологическом растворе.

Выращивают штаммы в бульоне Хоттингера в течение 24 часов при 37°C. Выращенные культуры центрифугируют при 3,5-4 тыс. об/мин. в течение 30 минут. Надосадочную жидкость декантируют, осадок промывают физиологи-

ческим раствором с последующим центрифугированием. Промытый осадок разводят физиологическим раствором до концентрации 5-8 млрд микробных тел в 1 см³, добавляют 0,3% формалина с содержанием 40% формальдегида, выдерживают двое суток при 37°C, перемешивая при этом несколько раз, проверяют на стерильность и используют для гипериммунизации кроликов.

Гипериммунизацию кроликов массой 2-3 кг проводят отдельно антигенами серотипов А и В. Делают 5 инъекций антигена в краевую ушную вену в дозах от 0,1 до 2 см³ с интервалом в 3-4 суток, а затем - 3 инъекции живой культурой в дозах 0,2 - 0,5 - 2,0 см³ с интервалом 5-6 суток.

На 10-й день после последней инъекции у кроликов берут кровь из сердца вплоть до тотального обескровливания. Путем отстоя крови получают сыворотку, консервируют ее мертиолятом 1:5000, затем составляют серии сыворотки типов А и В.

Агглютинирующую сыворотку подвергают контролю на стерильность, активность и специфичность.

Стерильность проверяют высевом сыворотки из двух флаконов на МПА и в МПБ, МППБ под вазелиновым маслом. Питательные среды в течение 10 суток выдерживания их в термостате при 37°C не должны давать видимого роста микроорганизмов.

Активность сыворотки определяют в РА с антигенами гомологичного типа, использованными для гипериммунизации кроликов. Титр сыворотки должен быть не ниже 1: 1600.

Контролем специфичности служат: негативная сыворотка в тех же разведениях, что и испытуемая, листериозный антиген с проверяемой сывороткой. Негативная сыворотка с рожистым антигеном и испытуемая с листериозным антигеном не должны давать положительной реакции агглютинации.

3. Выделение иммунных глобулинов

Выделение глобулинов производят из охлажденных сывороток, применяя охлажденные реактивы. Сыворотку разводят дистиллированной водой 2:1 и добавляют по каплям равный объем насыщенного раствора серноокислого аммония при постоянном помешивании, для чего используют электромешалку. Смесь отстаивают в холодильнике 1-1,5 часа, затем центрифугируют 15 минут при 4,5 тыс. об/мин, надосадочную жидкость удаляют, осадок глобулинов растворяют дистиллированной водой до полного растворения глобулинов и вновь осаждают насыщенным раствором сульфата аммония. Его берут в равном объеме с дистиллированной водой, взятой для растворения осадка глобулинов. Пересаживание и центрифугирование производят трижды.

Затем осадок глобулинов растворяют в дистиллированной воде, переносят в целлофановый мешочек и подвергают диализу против буферного физиологического раствора рН - 7,4. Диализ ведут при постоянном помешивании с помощью электромешалки при t=+2-6°C, меняя раствор 2-3 раза в сутки. Диализ обычно длится 2-3 суток. Время окончания диализа определяют пробой на

наличие сульфата в диализе с помощью 5%-ного раствора хлористого бария.

В концентрированном растворе глобулинов определяют содержание белка (в %) и его активность в РА с гомологичным антигеном.

4. Люминесцентное мечение иммунного глобулина

Принцип метода основан на свойстве флуорохрома вступать в химическое соединение с сывороточными белками (антителами) без повреждения их специфических иммунных свойств.

Для люминесцентного мечения глобулина необходимы флуорохром, карбонатно-бикарбонатный буферный раствор с рН 8,8-9,0, порошок из печени белых мышей.

Карбонатно-бикарбонатный буферный раствор получают путем смешивания 15 см³ раствора углекислого натрия (58 г Na₂CO₃ в 1 л дистиллированной воды) и 185 см³ раствора двууглекислого натрия (42 г NaHCO₃ в 1 л дистиллированной воды). Если рН полученного раствора не соответствует заданному значению, изменением соотношения компонентов добиваются необходимой величины показателя концентрации водородных ионов.

Печеночный порошок готовят следующим образом. Печень здоровых белых мышей освобождают от желчных пузырей, многократно промывают физраствором, измельчают до кашицеобразной консистенции, заливают двойным объемом физиологического раствора, добавляют 4 объема химически чистого ацетона, затем отстаивают или центрифугируют. После этого надосадочную жидкость сливают, осадок несколько раз промывают физиологическим раствором для удаления гемоглобина. Отмытый от гемоглобина осадок разбавляют двумя объемами физраствора и 4 объемами ацетона, а затем отстаивают или центрифугируют, надосадочную жидкость сливают. Полученный осадок заливают 4 объемами ацетона, фильтруют через бумажный фильтр, высушивают в термостате при 37°C в течение 16-18 часов. Высушенный порошок растирают в ступке, просеивают через мелкое сито и хранят в эксикаторе, на дне которого находится поглотитель влаги. Хранение допускают в холодильнике при 2-6°C.

Для мечения специфических антител готовят смесь, в которой соблюдают следующее соотношение ингредиентов: глобулинов - 2%, карбонатно-бикарбонатного буфера (рН 8,8-9,0) - 15%, а количество физиологического раствора соответствует разнице при вычитании объема глобулинов и буфера из общего количества смеси, которое устанавливается соответственно 2% к содержанию белка в ней. Например, для мечения взято 100 см³ 10% раствора иммунного глобулина, что соответствует 10 г сухого белка, или в 1 см³ содержится 100 мг белка. Для приготовления 2%-ного раствора глобулина исходный раствор нужно развести в 5 раз. Следовательно, общий объем смеси должен быть равен 500 см³. В этот объем ее входит: 100 см³ раствора глобулинов, 75 см³ карбонатно-бикарбонатного буфера, 3-5 см³ физиологического раствора и 300 мг флуоресцеинтиоизоцианата.

Перечисленные ингредиенты вносят и мензурку в следующей последова-

тельности. Сначала наливают необходимое количество охлажденного буфера и физиологического раствора, затем, при постоянном помешивании, понемногу добавляют исходный раствор глобулина. Мензурка при этом должна находиться в сосуде со льдом. Смесь охлаждают до 2-4°C и постепенно, небольшими порциями, прибавляют флуорохром. После прибавления красителя смесь оставляют в холодильнике на 18-20 часов. По истечении указанного срока производят очистку люминесцирующих антител от несвязанного красителя. Для этого раствор иммунных глобулинов вносят в целлофановый мешочек и подвергают диализу против буферного физиологического раствора с рН 7,4. Если при диализе конъюгат начинает мутнеть, то процесс продолжают вести против того же физиологического раствора, но со значением рН 8,8-9,0. Диализ проводят при 2-5°C в течение 7-15 суток до отсутствия люминесценции диализирующей жидкости в ультрафиолетовых лучах. В процессе диализа в первые дни диализирующий раствор меняют три раза в сутки, в последующем - два раза. По окончании диализа к конъюгату добавляют печеночный порошок из расчета 80-100 мг на 1 см³ для адсорбции химически не связавшегося флуорохрома. Адсорбцию производят при комнатной температуре при многократном помешивании материала в течение часа. Порошок от конъюгата отделяют центрифугированием в течение 30 минут при 5-6 тыс. об/мин. Надосадочную жидкость сливают и консервируют мертиолятом натрия в соотношении 1:5000. Эта жидкость представляет собой приготовленную люминесцирующую сыворотку.

Необходимо отметить, что люминесцирующие сыворотки не только для диагностики рожи свиней, но и других болезней, должны быть прозрачными или слегка опалесцирующими желтого или оранжево-желтого цвета жидкостями с зеленоватой люминесценцией и содержанием белка 1,5-2%.

Флуоресцирующие сыворотки выпускают в ампулах и флаконах в жидком или сухом виде. На ампулы и флаконы наклеивают этикетки с указанием учреждения, изготовившего препарат, наименованием его, номера серии и объема, рабочего разведения и срока годности сыворотки. Рабочее разведение рассчитывают по красящему титру. Оно должно быть в два раза более концентрированным по сравнению с красящим титром. Красящий титр - это разведение сыворотки, способное вызывать специфическое свечение бактерий в препаратах из чистых культур не менее, чем на три креста.

Хранят сыворотки в сухом темном месте при 2-4°C в течение установленного срока годности препаратов.

Флуоресцирующие сыворотки в рабочем разведении можно использовать в течение двух недель при условии хранения их при температуре 2-4°C.

5. Контроль качества люминесцирующих сывороток

Люминесцирующие сыворотки проверяют на активность, специфичность, определяют содержание белка в них и физические свойства.

Физические свойства определяют визуально. Жидкие сыворотки должны быть прозрачными, желтого или желто-оранжевого цвета с зеленоватым оттен-

ком, не содержать посторонних примесей. Лиофилизированные сыворотки представляют собой пористую массу желто-оранжевого цвета.

При просмотре ампул (флаконов) определяют не только отсутствие механических примесей, плесени, следов оттаивания сухих препаратов, но и плотность укупорки и правильность этикетировки.

Растворимость высушенных препаратов определяют путем добавления во флаконы (ампулы) 1 см³ дистиллированной воды. Сухая масса должна полностью растворяться в течение 2-3 минут.

В сухих препаратах определяют массовую долю воды любым общеизвестным в биохимии методом. Содержание воды не должно превышать более 4%.

Содержание белка в сыворотках определяют любым методом по азоту. Массовая доля белка должна составлять не менее 10 мг/см³.

Важнейшими показателями качества флуоресцирующих сывороток являются их активность и специфичность. Активность определяют установлением красящего титра. Для этого готовят последовательные разведения исследуемого препарата: 1:2, 1:5, 1:10, 1:20, 1:40, 1:60, 1:80 и т.д. на буферном физиологическом растворе с рН 7,4.

Сыворотки проверяют не менее чем на двух гомологичных культурах. Из культур готовят мазки в количестве, соответствующем количеству разведений сыворотки, которые фиксируют этиловым спиртом в течение 15 минут. После высыхания спирта на препарат наносят сыворотку. Затем препараты-мазки увлажняют буферным физраствором с рН 7,4 и укладывают в чашки Петри на фильтровальную бумагу, смоченную дистиллированной водой для предотвращения высыхания сывороток. Препараты в закрытых чашках выдерживают в термостате при 37°С в течение 30 минут, промывают буферным физраствором с рН 7,4 в течение 20 минут, меняя раствор дважды, ополаскивают дистиллированной водой, высушивают и микроскопируют.

Оценку активности препарата проводят по четырехкрестовой системе:

++++ - яркая, сверкающая зеленая люминесценция морфологически типичных бактерий с более интенсивным свечением по их периферии;

+++ - отчетливо выраженная, достаточно яркая зеленая люминесценция бактерий с более выраженным свечением по их периферии;

++ - недостаточно яркая желтовато-зеленоватая люминесценция, периферический ободок выявляется нечетко;

+ - люминесценция очень слабая, морфология бактерий выявляется с трудом;

- - люминесценция отсутствует, видны лишь тени бактерий.

Красящий титр рожистой люминесцирующей сыворотки должен быть не ниже, чем 1:30. Титр других сывороток зависит от биологических свойств вида микроорганизмов, используемых для гипериммунизации кроликов. Например, красящий титр листериозной сыворотки должен быть не ниже, чем 1:10, кампилобактериозной - 1:10 - 1:30.

Необходимо иметь в виду, что светящиеся микробы выглядят несколько длиннее и толще, чем при обычной световой микроскопии, за счет образования

ареола вокруг клетки.

Специфичность люминесцирующих сывороток проверяют люминесцентной микроскопией препаратов, приготовленных из двух гомологичных культур и не менее пяти гетерологичных, обработанных приготовленными сыворотками в рабочем разведении. Бактерии гомологичных культур должны давать ярко выраженное свечение, а бактерии гетерологичных культур люминесцировать не могут.

6. Приготовление препаратов для реакции иммунофлуоресценции

Для приготовления и исследования препаратов в реакции иммунофлуоресценции необходимо иметь:

- специфическую флуоресцирующую сыворотку;
- люминесцентный микроскоп МЛ-1, МЛ-2, МЛД;
- нефлуоресцирующее иммерсионное масло или его заменитель (диметилфталата чистого 100 см³ + нафталина сублимированного 1,75 г или тимола чистого 5 г);
- глицерин с фосфатным буфером рН 8,0 (9 частей глицерина нейтрального + 1 часть фосфатного буфера рН 8,0);
- физиологический раствор с фосфатным буфером рН 8,0;
- спирт этиловый и метиловый;
- покровное стекло толщиной не более 0,2 мм;
- предметные стекла нелюминесцирующие и хорошо обезжиренные.

Для РИФ готовят препараты-мазки из чистых или смешанных культур, бактериальной суспензии или же препараты-отпечатки из органов и тканей.

Патматериал для исследования должен быть свежим. Из органов и тканей можно готовить препараты-отпечатки или препараты-мазки из предварительно полученной суспензии исследуемого материала. Обычно из паренхиматозных органов готовят суспензию на физрастворе в соотношении 1:5. После осаждения крупных частиц из суспензии приготавливают препараты-мазки.

Препараты с нанесенным материалом подсушивают на воздухе и фиксируют путем нанесения на них ацетона на 5 минут или же метанола на 5-10 минут. Фиксацию можно осуществлять путем проведения препаратов через пламя спиртовки, как при обычной световой микроскопии. Препараты-отпечатки из органов и тканей лучше фиксировать ацетоном, охлажденным до минус 20°С.

Окрашивание подготовленных препаратов можно проводить в зависимости от целей исследования прямым и непрямым способами.

6.1. Прямой способ РИФ

При прямом способе происходит непосредственное связывание антигена с соответствующими ему флуоресцирующими антителами. На предметное стекло с фиксированным антигеном наносят каплю люминесцирующей сыворотки, содержащей антитела против предполагаемого антигена. Сыворотку для окрашивания препаратов используют в рабочем разведении. Во избежание высыхания препараты помещают в чашку Петри с фильтровальной бумагой, смоченной водой, и выдерживают в термостате при 37-38°C в течение 15-30 минут. После этого сыворотку отмывают, погружая препараты в кювету, наполненную физиологическим раствором с фосфатным буфером pH 7,4, на 20 минут. Раствор в кювете периодически помешивают и меняют через 10 минут. Отмытые препараты ополаскивают дистиллированной водой, высушивают на воздухе или в термостате. Затем на их поверхность наносят каплю глицерина с буфером pH 8,0, накрывают покровным стеклом, на которое капают каплю нефлуоресцирующего иммерсионного масла или его заменитель, и микроскопируют.

Люминесцентный микроскоп рекомендуют устанавливать в хорошо вентилируемой комнате с частично затемненным окном.

Диагностическую оценку интенсивности свечения возбудителя рожи свиней производят следующим образом:

++++ - яркая зеленая люминесценция морфологически типичных бактерий с более интенсивным свечением по их периферии (реакция положительная);

+++ - отчетливо выраженная, достаточно яркая люминесценция морфологически типичных бактерий с более интенсивным свечением по их периферии (реакция положительная);

++ - недостаточно яркая желтовато-зеленоватая люминесценция, свечение периферии бактерий выявляется с трудом (реакция сомнительная);

+ - люминесценция очень слабая, морфология бактерий различается с трудом (реакция отрицательная). Когда видны лишь тени клеток, но отсутствует их свечение, такую реакцию обозначают знаком минус (-).

Прямой способ постановки РИФ используют только для установления вида неизвестного антигена. Недостатком этого способа является необходимость приготовления люминесцирующих сывороток для каждого вида идентифицируемых микроорганизмов.

6.2. Непрямой способ РИФ

Этот способ впервые предложен Weller и Coons (1954). Он считается более универсальным, т.к. с помощью одной люминесцирующей антивидовой сыворотки можно выявлять различные виды микроорганизмов.

Сущность непрямого метода заключается в том, что реакция проходит в два этапа: взаимодействие антигена с антителами соответствующей немеченой диагностической сывороткой, а затем присоединение к нефлуоресцирующему комплексу (антиген + антитело) видоспецифического флуоресцирующего глобулина.

При непрямом методе на препараты, содержащие антиген, наносят каплю диагностической немеченой сыворотки, помещают их во влажную камеру (чашки Петри с фильтровальной бумагой, смоченной водой), выдерживают в термостате при 37-38°C в течение 15-30 минут. Затем промывают 10-20 минут от не связавшихся белков 0,15 М раствором хлорида натрия или же водопроводной водой и подсушивают на воздухе. На подсушенные препараты наносят люминесцирующую антивидовую сыворотку против глобулинов того вида животного, от которого была получена диагностическая агглютинирующая сыворотка. После нанесения антивидовой люминесцирующей сыворотки, препараты помещают в термостат во влажной камере на 15-30 мин., промывают, как указано выше, подсушивают и просматривают под люминесцентным микроскопом.

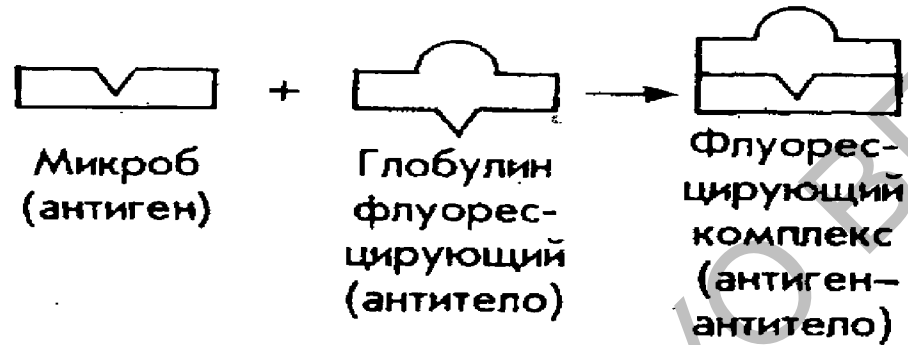
Непрямой метод МФА можно использовать не только для идентификации антигена, но и для выявления и титрования антител.

Схема вариантов МФА представлена на рисунке 1.

Для подтверждения специфичности результатов РИФ необходимы следующие контроли. При прямом способе проводят окраску гомологичных и гетерологичных в антигенном отношении бактерий люминесцирующей сывороткой. Свечение гомологичных микроорганизмов должно быть хорошо выраженным, а гетерологичные бактерии светиться не должны.

При непрямом варианте РИФ также должно быть свечение гомологичных и отсутствовать свечение гетерологичных бактерий.

А. Метод прямой (одноступенчатый)



Б. Метод не прямой (двухступенчатый)

1. Обнаружение антигена с помощью флуоресцирующего антиглобулина



Рисунок 1 – Схема вариантов МФА

Литература

1. Борисович, Ю. Ф. Ветеринарные препараты : справочник / Ю. Ф. Борисович, Л. В. Кириллов ; ред. Д. Ф. Осидзе. – Москва : Колос, 1981. – 448 с.
2. Кленова, И. Ф. Ветеринарные препараты в России : справочник / И. Ф. Кленова, Н. А. Яременко. – Москва : Сельхозиздат, 2000. – 544 с.
3. Коляков, Я. Е. Ветеринарная иммунология / Я. Е. Коляков. – Москва : Агропромиздат, 1986. – 272 с.
4. Лабораторные исследования в ветеринарии. Биохимические и микологические : справочник / Б. И. Антонов [и др.] ; ред. Б. И. Антонов. – Москва : Агропромиздат, 1991. – 287 с.
5. Машенко, А. С. Современная диагностика – залог эффективной борьбы с сальмонеллезом / А. С. Машенко // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные. – 2006. – № 4. – С. 13.
6. Микробиология и иммунология: для студентов сельскохозяйственных вузов по специальности «Ветеринарная медицина», «Зоотехния» : в 2 ч. Ч. 1. Общая микробиология и иммунология / А. А. Гласкович [и др.] ; ред.: А. А. Гласкович, П. А. Красочко. – Минск : Пион, 2002. – 248 с.
7. Мурадова, Е. О. Микробиология / Е. О. Мурадова, К. В. Ткаченко. – Москва : Эксмо, 2009. – 336 с.
8. Практикум по частной микробиологии / А. А. Солонко [и др.]. – Минск : Ураджай, 2000. – 250 с.

УО «ВИТЕБСКАЯ ОРДЕНА «ЗНАК ПОЧЕТА» ГОСУДАРСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ»

Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины является старейшим учебным заведением в Республике Беларусь, ведущим подготовку врачей ветеринарной медицины, ветеринарно-санитарных врачей, провизоров ветеринарной медицины и зооинженеров.

Вуз представляет собой академический городок, расположенный в центре города на 17 гектарах земли, включающий в себя единый архитектурный комплекс учебных корпусов, клиник, научных лабораторий, библиотеки, студенческих общежитий, спортивного комплекса, Дома культуры, столовой и кафе, профилактория для оздоровления студентов. В составе академии 5 факультетов: ветеринарной медицины; биотехнологический; повышения квалификации и переподготовки кадров агропромышленного комплекса; заочного обучения; довузовской подготовки, профориентации и маркетинга. В ее структуру также входят Аграрный колледж УО ВГАВМ (п. Лужесно, Витебский район), филиалы в г. Речице Гомельской области и в г. Пинске Брестской области, первый в системе аграрного образования НИИ прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии (НИИ ПВМиБ).

В настоящее время в академии обучается около 6 тысяч студентов, как из Республики Беларусь, так и из стран ближнего и дальнего зарубежья. Учебный процесс обеспечивают около 350 преподавателей. Среди них 7 академиков и членов-корреспондентов Академии наук, 25 докторов наук, профессора, более чем две трети преподавателей имеют ученую степень кандидатов наук.

Помимо того, академия ведет подготовку научно-педагогических кадров высшей квалификации (кандидатов и докторов наук), переподготовку и повышение квалификации руководящих кадров и специалистов агропромышленного комплекса, преподавателей средних специальных сельскохозяйственных учебных заведений.

Научные изыскания и разработки выполняются учеными академии на базе НИИ ПВМиБ, 24 кафедральных научно-исследовательских лабораторий, учебно-научно-производственного центра, филиалов кафедр на производстве. В состав НИИ входит 3 отдела: научно-исследовательских экспертиз, биотехнологический, экспериментально-производственных работ. Располагая уникальной исследовательской базой, научно-исследовательский институт выполняет широкий спектр фундаментальных и прикладных исследований, осуществляет анализ всех видов биологического материала (крови, молока, мочи, фекалий, кормов и т.д.) и ветеринарных препаратов, кормовых добавок, что позволяет с помощью самых современных методов выполнять государственные тематики и заказы, а также на более высоком качественном уровне оказывать услуги предприятиям агропромышленного комплекса. Активное выполнение научных исследований позволило получить сертификат об аккредитации академии Национальной академией наук Беларуси и Государственным комитетом по науке и технологиям Республики Беларусь в качестве научной организации.

Обладая большим интеллектуальным потенциалом, уникальной учебной и лабораторной базой, вуз готовит специалистов в соответствии с европейскими стандартами, является ведущим высшим учебным заведением в отрасли и имеет сертифицированную систему менеджмента качества, соответствующую требованиям ISO 9001 в национальной системе (СТБ ISO 9001 – 2009).

www.vsavm.by

210026, Республика Беларусь, г. Витебск, ул. 1-я Доватора, 7/11, факс (0212)51-68-38,
тел. 53-80-61 (факультет довузовской подготовки, профориентации и маркетинга);
51-69-47 (НИИ ПВМиБ); E-mail: vsavmpriem@mail.ru.

Учебное пособие

**Медведев Александр Петрович,
Вербицкий Анатолий Анатольевич,
Алешкевич Виталий Николаевич и др.**

Метод флуоресцирующих антител (МФА)

Учебно-методическое пособие

Ответственный за выпуск	А. А. Вербицкий
Технический редактор	Е. А. Алисейко
Компьютерный набор	А. К. Глод
Компьютерная верстка и корректор	Е. В. Морозова

Подписано в печать 26.01.2017. Формат 60x84 1/16. Бумага офсетная.

Печать ризографическая. Усл. п. л. 1,0. Уч.-изд. л. 0,75.

Тираж 150 экз. Заказ № 1643.

Издатель и полиграфическое исполнение:

учреждение образования «Витебская ордена «Знак Почета»

государственная академия ветеринарной медицины».

Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/362 от 13.06.2014.

ЛП №: 02330/470 от 01.10.2014 г.

Ул. 1-я Доватора, 7/11, 210026, г. Витебск.

Тел.: (0212) 51-75-71.

E-mail: rio_vsavm@tut.by

<http://www/vsavm.by>

ISBN 978-985-512-945-6

