



УДК 619:616-0024:616-078:639.3

РЕАКЦИЯ АГГЛЮТИНАЦИИ ЛАТЕКСА ДЛЯ БЫСТРОГО ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИТЕЛ К ВИРУСУ ИНФЕКЦИОННОГО НЕКРОЗА ГЕМОПОЭТИЧЕСКОЙ ТКАНИ ЛОСОСЕВЫХ РЫБ

М.И. Доронин¹, В.А. Пыльнов², С.С. Рыбаков³¹ аспирант, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: doronin@arriah.ru² старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир³ доктор биологических наук, профессор, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

РЕЗЮМЕ

Получены латекс-агглютинационные препараты для выявления антител к вирусу инфекционного некроза гемopoэтической ткани лососевых рыб с аналитической чувствительностью 0,9 мкг/мл. При исследовании 40 сывороток крови в реакции агглютинации латекса диагностическая чувствительность и специфичность были равны 92 и 100% соответственно. Метод агглютинации латекса простой и быстрый в исполнении, может быть применен для ретроспективной диагностики заболевания и определения титра антител к вирусу в условиях ветеринарной лаборатории и даже рыбного хозяйства.

Ключевые слова: реакция агглютинации латекса, вирус инфекционного некроза гемopoэтической ткани, специфические антитела, аналитическая чувствительность, диагностическая специфичность и чувствительность.

UDC 619:616-0024:616-078:639.3

LATEX AGGLUTINATION TEST FOR RAPID DETECTION OF ANTIBODIES TO INFECTIOUS HEMATOPOIETIC NECROSIS VIRUS OF SALMON

M.I. Doronin¹, V.A. Pylnov², S.S. Rybakov³¹ post-graduate student, FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: doronin@arriah.ru² senior researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI «ARRIAH», Vladimir³ Doctor of Science (Biology), Professor, FGBI «ARRIAH», Vladimir

SUMMARY

Latex-agglutination preparations were produced for detection of antibodies to infectious hematopoietic necrosis virus of salmon with analytical sensitivity of 0,9 µg/ml. While testing 40 blood samples using latex-agglutination test the diagnostic sensitivity and specificity were 92 and 100%, respectively. The latex-agglutination is a simple and rapid test; it can be used for retrospective diagnostics of the disease and determination of the titer of antibodies to the virus under conditions of a veterinary laboratory and even a fish farm.

Key words: latex-agglutination test, infectious hematopoietic necrosis virus, specific antibodies, analytical sensitivity, diagnostic specificity and sensitivity.

ВВЕДЕНИЕ

Инфекционный некроз гемopoэтической ткани (ИНГТ, ИН) — высококонтагиозное вирусное заболевание лососевых рыб, протекающее по типу эпизоотии и характеризующееся развитием септического процесса, тяжелым поражением органов гемopoэза, кровоизлияниями в органы и ткани, массовой гибелью молоди. Возбудитель принадлежит к порядку *Mononegavirales*, семейству *Rhabdoviridae*, роду *Novirhabdovirus* (Murphy, 1999) [6]. Вирус ИНГТ вызывает эпизоотии как у выведенных в рыбоводствах (Williams and Amend, 1976), так и среди свободно обитающих лососевых рыб (Groberg and Fryer, 1983) [7]. В пресноводной аквакультуре вспышки заболевания регистрируют у нерки, чавычи, кеты, горбуши, симы, стальноголового лосося и радужной форели. Гольцы и кижуч считаются устойчивыми к заболеванию, но могут быть носителями вируса [6].

Вирус ИНГТ распространен по всему миру (Wolf, 1988). По данным Всемирной организации здравоохранения животных (OIE, МЭБ), в течение последних 10 лет было зарегистрировано около 100 вспышек ИНГТ в различных странах мира [6]. Эпизоотическая ситуация по данному заболеванию в нашей стране является довольно неблагоприятной. В 2000 г. в экспериментальном форелевом хозяйстве п. Рыбное Московской области у молоди радужной форели впервые возникла эпизоотия ИНГТ. Вирус был занесен в хозяйство с икрой неизвестного происхождения. В 2001 г. возбудителя регулярно выявляли у тихоокеанских лососевых, заходивших на нерест в реки Камчатки. В 2004 г. вирус ИНГТ обнаружили в ООО «Селекцентр» в г. Удомля Тверской области. В настоящее время приказом Министерства сельского хозяйства РФ данная вирусная инфекция отнесена к особо опасным заболеваниям. Болезнь представляет опасность не только для аквакультуры, но и для диких популяций лососевых рыб [5].

С целью укрепления безопасности страны в области рыболовства, а также сохранения биоразнообразия рыб в природе проводится масштабный контроль заболевания аквакультуры, важным звеном которого является эпизоотологический серомониторинг. В настоящее время разрабатываются различные диагностические методы, позволяющие контролировать иммунный статус аквакультуры и обеспечить биозащиту рыбоводных хозяйств. Серологические исследования сывороток, взятых от перенесших вирусную инфекцию лососевых рыб, проводят в летнее время, когда в крови появляются специфические антитела и вероятность выделения антигенов вируса ИНГТ незначительна. Поиск антител, специфичных к антигенам вируса ИНГТ, осуществляют с помощью реакции нейтрализации в культуре клеток из гонад радужной форели (RTG-2), а также в иммуноферментном анализе (ИФА) [6]. При этом для перечисленных методов характерны весьма существенные недостатки — высокие требования к условиям постановки реакций, значительная трудоемкость при проведении и учете результатов анализа, наличие специально подготовленного персонала и высокий уровень оснащённости лаборатории.

В настоящее время в медицине и ветеринарной практике активно разрабатывают и применяют серологические методы, позволяющие повысить экспрессность и упростить проведение лабораторного исследования. К таким методам относят реакцию агглютинации

латекса (РАЛ), преимущество которой заключается в возможности применения для ретроспективной диагностики ИНГТ и определения титра сывороточных антител к антигенам вируса в условиях ветеринарной лаборатории и даже рыбоводческого хозяйства. Латексные препараты представляют собой гомогенные водные дисперсии унифицированных по размеру частиц латекса, поверхность которых в процессе физической адсорбции или ковалентного связывания сенсibilizирована биополимерами [2]. Создание латексных препаратов является сравнительно простой задачей, не требующей особых условий и глубокой методической подготовки. Стоимость исследования значительно ниже, чем при использовании других диагностических тестов. Реакция длится от 10 до 30 минут. При этом метод является достаточно чувствительным и специфичным, что позволяет получить достоверные результаты при оценке иммунного статуса рыбы. По своей диагностической чувствительности РАЛ значительно превышает иммунодиффузные тесты, реакцию преципитации в геле и встречный иммуноэлектрофорез и при использовании специальных анализаторов для учета степени агглютинации может конкурировать с иммуноферментным и радиоиммунным анализами. В отличие от иммунохроматографического метода, своего конкурента по скорости выполнения анализа, изготовление латексных препаратов технологически быстрее, проще и экономичнее [4]. Основным недостатком РАЛ является вероятность возникновения неспецифической агглютинации. Однако количество ложноположительных результатов минимизируют благодаря использованию положительных и отрицательных контролей и применению современных технологий изготовления латексных препаратов [3].

В настоящее время диагностические системы на основе РАЛ разрабатываются и широко используются как в медицинской, так и ветеринарной лабораторной диагностике. В ФГБУ «ВНИИЗЖ» (г. Владимир) проводились исследования по разработке данного метода для диагностики других вирусных болезней, в частности бешенства животных [3].

Цель исследований — разработать метод выявления антител к антигену вируса ИНГТ и определения их титра в латекс-агглютинационном анализе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве антигена использовали вирус ИНГТ штамма «Аркус 32/87», репродуцированный в монослойной перевиваемой культуре клеток из гонад радужной форели (RTG-2) в среде Игла MEM с двойным набором аминокислот и витаминов, с титром инфекционной активности 7,25 Ig ТЦД₅₀/мл. Полученную вирусную клеточную суспензию очищали и концентрировали так, как описано ранее [1].

В исследованиях использовали полистирольные частицы латекса с диаметром 340 нм, концентрацией -COOH, -NH₂, -SO₄ функциональных групп 1,98 мкг-экв/мл и содержанием сухого вещества 10% (ООО «Диафарм», г. Санкт-Петербург). Латексные препараты готовили по схеме, описанной в предыдущей работе [1]. Отмывание микросфер от компонентов сурфактанта проводили с помощью глицин-солевого буферного раствора (ГСБР) (ионная сила 5 мМ, pH 7,0, близкий к изоэлектрической точке иммуноглобулина класса G). Сенсibilizацию латексных частиц с разными функциональными группами (-COOH, -NH₂, -SO₄-группами) проводили антигеном ви-

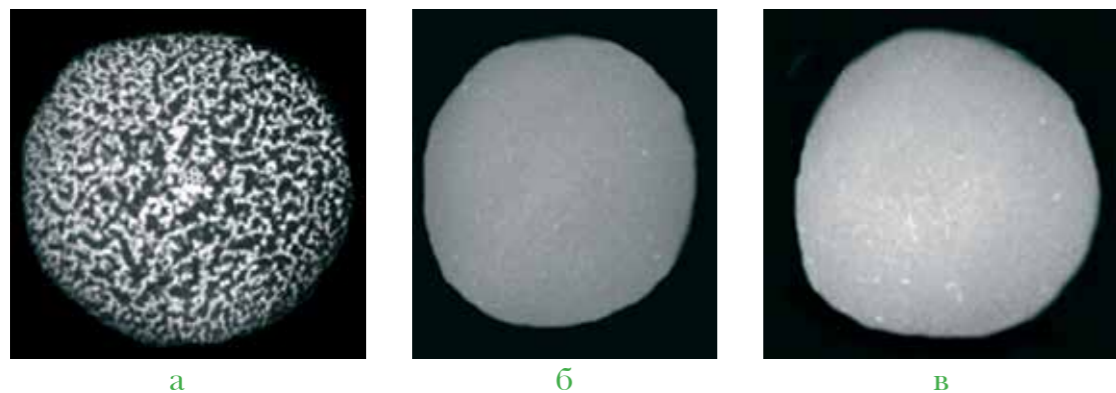


Рис. 1. Выявление антител, специфичных к антигенам вируса ИНГТ в реакции латекс-агглютинации
 а — положительный контроль;
 б — отрицательный контроль;
 в — тест на неспецифическую агглютинацию.

руса ИНГТ с концентрациями 2000, 1000, 500, 250 мкг/мл. Для блокирования сайтов неспецифического связывания на поверхности частиц применяли глицин-белковый буферный раствор (ГББР), содержащий 1% бычьего сывороточного альбумина (BSA) в ГСБР.

Степень адсорбции антигенов вируса ИНГТ на поверхности полистирольных латексных частиц с разными функциональными группами (-COOH, -NH₂, -SO₄) определяли с использованием метода Лоури.

Концентрацию поликлональных антител к антигенам вируса ИНГТ определяли с помощью градуировочного графика (по 3 измерениям) на портативном многоканальном спектрофотометре (построение кривой проводили с использованием компьютерной программы Magellan for F50 V 7.0).

Количественную чувствительность полученных латексных препаратов определяли, используя суспензии поликлональных антител к антигенам вируса ИНГТ в ГСБР с концентрациями 30, 15, 7,5, 3,6, 1,8, 0,9, 0,45, 0,23 мкг/мл. Положительными и отрицательными контрольными препаратами служили сыворотки крови, содержащие и не содержащие антитела против антигенов вируса ИНГТ соответственно. Тест на неспецифическую агглютинацию проводили с помощью ГББР. Реакцию учитывали так, как описано ранее [6]. При агглютинации в 2–4 креста результат считали положительным, в 1 крест — сомнительным, а при отсутствии агглютинации — отрицательным. Учет РАЛ проводили в том случае, если с положительной контрольной сывороткой наблюдалась агглютинация на 3–4 креста (рис. 1а), а с отрицательной сывороткой (рис. 1б) и с ГББР агглютинация отсутствовала (рис. 1в).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследовали влияние концентрации антигенов вируса ИНГТ на степень сенсibilизации им полистирольных латексных частиц с разными функциональ-

Таблица 1
 Степень сенсibilизации антигенами вируса ИНГТ полистирольных частиц латекса с разными функциональными группами (-COOH, -NH₂, -SO₄)
 n=3

п/п №	Функциональная группа латексных частиц	Концентрация антигенов вируса ИНГТ до адсорбции, мкг/мл	Средняя концентрация адсорбированного вируса, мкг/мл	Степень адсорбции антигенов вируса, %	Степень сенсibilизации латексных частиц, %
1	-COOH	2000	711,33±0,06	35,57±0,05	100
2		1000	708,67±0,09	70,83±0,10	100
3		750	708,33±0,08	94,46±0,09	100
4		500	500	100	70,45±0,05
5		250	250	100	35,24±0,04
6	-NH ₂	2000	715,33±0,06	35,77±0,04	100
7		1000	714,33±0,08	71,37±0,07	100
8		750	714,17±0,09	95,22±0,14	100
9		500	500	100	69,71±0,20
10		250	250	100	34,85±0,10
11	-SO ₄	2000	699,05±0,05	34,95±0,07	100
12		1000	699,67±0,06	69,77±0,10	100
13		750	699,77±0,12	93,29±0,33	100
14		500	500	100	71,55±0,05
15		250	250	100	35,75±0,02

ными группами (-COOH, -NH₂, -SO₄). Результаты степени адсорбции антигенов и степени сенсibilизации полистирольных микросфер приведены в табл. 1.

Из табл. 1 видно, что при сенсibilизации латексных частиц антигенами с концентрациями 500 и 250 мкг/мл на поверхности микросфер адсорбировался весь белок, при этом возможно адсорбировать большее количество вируса, что подтверждали данные, полученные при использовании антигенов вируса с концентрациями 750, 1000 и 2000 мкг/мл. Было определено наибольшее количество антигенов вируса ИНГТ, при котором достигается плато изотермы адсорбции (рис. 2). Таким образом, путем количественного контроля адсорбции иммуноглобулина был оптимизирован процесс сенсibilизации латексов с разными ионогенными группами. Максимальная степень сенсibilизации микросфер с -NH₂-группой составляла 714,61±0,29 мкг/мл, с -COOH-группой — 709,44±0,77 мкг/мл, с -SO₄-группой — 699,60±0,52 мкг/мл. Наибольшее количество антигенов вируса ИНГТ адсорбировалось на поверхности аминированных частиц, наименьшее — на поверхности частиц с -SO₄-группами. Оптимальной концентрацией антигенов вируса ИНГТ для сенсibilизации латексов с разными функциональными группами (-COOH, -NH₂, -SO₄), проявляющих лучшие показатели аналитической чувствительности, была выбрана 750 мкг/мл. Выявлена зависимость степени сенсibilизации латексных частиц с разными ионогенными группами от концентрации антигенов вируса ИНГТ и отражена в виде изотерм адсорбции (рис. 2).

Для более точной оценки диагностических возможностей синтезированных латексных препаратов опре-

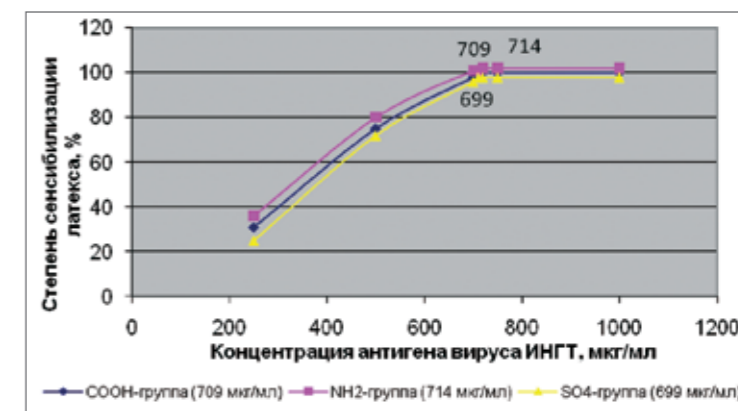


Рис. 2. Зависимость степени сенсibilизации латексных частиц с -COOH-, -NH₂-, -SO₄-группами от концентрации антигена вируса ИНГТ

деляли их аналитическую чувствительность, используя серию разведений поликлональных антител к антигенам вируса ИНГТ в ГСБР с диапазоном концентраций 30–0,23 мкг/мл (табл. 2).

Из табл. 2 видно, что визуальный предел обнаружения на 2 креста поликлональных антител к антигенам вируса ИНГТ, при использовании аминированных латексов, сенсibilизированных 750 мкг антигенов/мл, составил 0,90 мкг/мл, латексных микросфер с -COOH- и -SO₄-группами с той же концентрацией антигенов — 1,80 мкг/мл при учете реакции через 10 минут. Аналогичные данные получены через 30 минут. Исследования показали, что для постановки РАЛ достаточно 10 минут. Лучшие показатели аналитической чувствительности полученных латексных препаратов отмечали при

Таблица 2
 Аналитическая чувствительность латексных препаратов с -COOH-, -NH₂-, -SO₄-группами, сенсibilизированных антигенами вируса ИНГТ с разными концентрациями

Характеристика полистирольного латексного препарата				Интенсивность агглютинации (кресты) при разных концентрациях поликлональных антител, мкг/мл*							
функциональная группа	диаметр частиц, нм	концентрация антигенов вируса ИНГТ, мкг/мл	титр инфекционной активности вируса ИНГТ, lg ТЦД ₅₀ /мл	30	15	7,5	3,6	1,8	0,9	0,45	0,23
-NH ₂	340	2000	6,95	4+	4+	4+	3+	2+	2+	1+	0
		1000	6,65	4+	4+	4+	3+	2+	2+	1+	0
		750	6,50	4+	4+	4+	3+	2+	2+	1+	0
		500	6,35	4+	3+	3+	2+	1+	0	0	0
		250	6,05	2+	2+	2+	1+	1+	0	0	0
-COOH	340	2000	6,95	4+	4+	3+	3+	2+	1+	1+	0
		1000	6,65	4+	4+	3+	3+	2+	1+	1+	0
		750	6,50	4+	4+	3+	3+	2+	1+	1+	0
		500	6,35	4+	3+	3+	2+	1+	0	0	0
		250	6,05	3+	2+	2+	1+	1+	0	0	0
-SO ₄	340	2000	6,95	4+	4+	3+	3+	2+	1+	0	0
		1000	6,65	4+	4+	3+	3+	2+	1+	0	0
		750	6,50	4+	4+	3+	2+	2+	1+	0	0
		500	6,35	4+	3+	3+	2+	1+	1+	0	0
		250	6,05	2+	2+	2+	1+	0	0	0	0

* результаты исследований, проведенных 3 раза, были идентичны друг другу через 10 и 30 минут после начала постановки реакции.

Таблица 3
Результаты исследования в РАЛ и ИФА сывороток, содержащих антитела к антигенам вируса ИНГТ

№ сыв-ки	Результаты исследования в ИФА			Результаты исследования в РАЛ*		
	концентрация антител к антигенам вируса ИНГТ, мг/мл	титр антител к антигенам вируса ИНГТ, log ₂	+/-	титр антител к антигенам вируса ИНГТ, log ₂	интенсивность агглютинации (количество крестов)	положительный/сомнительный/отрицательный
1	1,90	10,6	+	10,6	2	положительный
2	3,50	11,6	+	11,6	3	положительный
3	1,40	10,6	+	9,6	2	положительный
4	2,10	10,6	+	10,6	2–3	положительный
5	6,90	12,6	+	12,6	4	положительный
6	7,10	12,6	+	12,6	4	положительный
7	2,30	10,6	+	10,6	2–3	положительный
8	1,80	10,6	+	10,6	2	положительный
9	1,70	10,6	+	10,6	2	положительный
10	3,30	11,6	+	10,6	3	положительный
11	3,90	11,6	+	11,6	3	положительный
12	2,10	10,6	+	10,6	2–3	положительный
13	1,60	10,6	+	9,6	2	положительный
14	1,80	10,6	+	10,6	2	положительный
15	7,10	12,6	+	12,6	4	положительный
16	1,20	10,6	+	9,6	2	положительный
17	3,00	11,6	+	11,6	3	положительный
18	3,50	11,6	+	11,6	3	положительный
19	1,00	10,6	+	7,6	1	сомнительный
20	0,90	10,6	+	6,6	0	отрицательный

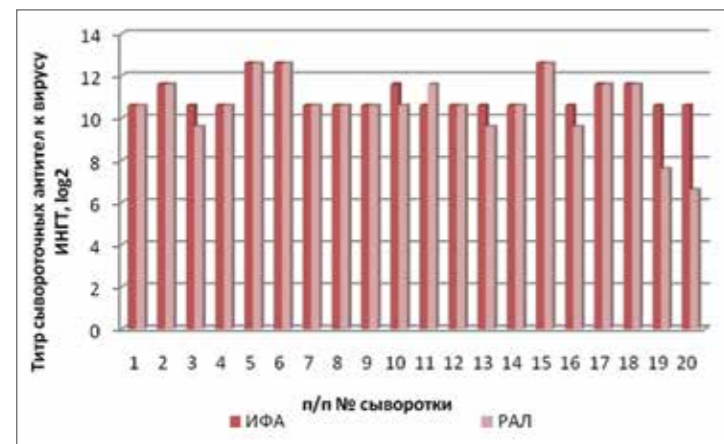
* результаты исследования в РАЛ одинаковы чрез 10 и 30 минут.

сенсibilизации микросфер антигенами вируса ИНГТ с концентрациями 750 мкг/мл и более. Достаточной для сенсibilизации латексных микросфер была выбрана концентрация антигенов вируса ИНГТ 750 мкг/мл (плата изотермы адсорбции для латексов с -NH₂-группами достиглось при 714,61±0,29 мкг антигенов/мл; для латексов с -COOH-группами — при 709,44±0,77 мкг антигенов/мл; для латексов с -SO₄-группами — при

699,60±0,52 мкг антигенов/мл). С повышением концентрации антигенов вируса ИНГТ степень адсорбции белка и аналитическая чувствительность синтезированных латексных препаратов не изменялись (0,90 мкг/мл антител — для аминированных латексов, 1,80 мкг/мл антител — для латексных микросфер с -COOH- и -SO₄-группами). При уменьшении концентрации антигенов значения степени его адсорбции и аналитической чувствительности латексных препаратов снижались. Таким образом, сенсibilизированные антигенами вируса ИНГТ аминированные латексные частицы позволяли выявлять специфические антитела в сыворотках крови с концентрацией иммуноглобулинов класса G 0,90 мкг/мл и более.

Оценку диагностической чувствительности и специфичности синтезированных латексных препаратов проводили, исследуя 20 позитивных и 20 негативных сывороток крови для выявления антител к антигенам вируса ИНГТ. В эксперименте использовали серию разведенных сывороток в диапазоне 1:100–1:12800 в ГСБР. Постановку РАЛ и учет результатов реакции проводили, как описано выше. В РАЛ применяли аминированный латексный препарат, сенсibilизированный антигенами вируса ИНГТ с концентрацией 750 мкг/мл, который проявил лучшие диагностические характеристики. Параллельно проводили тестирование сывороток крови в непрямом варианте ТФ ИФА. Со всеми 20 сыворотками, не содержащими специфические антитела, в РАЛ

Рис. 3. Корреляция между результатами по определению титров сывороточных антител к антигенам вируса ИНГТ в ИФА и РАЛ



отмечалось отсутствие агглютинации. Таким образом, диагностическая специфичность латексного препарата, полученного на основе аминированных микросфер с диаметром частиц 340 нм и концентрацией функциональных групп 1,98 мкг-экв/мл, составила в РАЛ — 100%.

При исследовании 20 положительных в ИФА сывороток крови в РАЛ 18 были положительными, 1 — сомнительной и 1 — отрицательной (табл. 3). Диагностическая чувствительность аминированного латексного препарата в РАЛ составила 92%.

Используя методы ИФА и РАЛ, были определены титры сывороточных антител к антигенам вируса ИНГТ при исследовании 20 позитивных сывороток в диапазоне разведений 1:100–1:12800. По сравнению с ИФА в РАЛ 14 образцов показали те же титры антител, в то время как у 6 сывороток (№№ 3, 10, 13, 16, 19, 20) значения титров были ниже (рис. 3).

Анализируя данные табл. 3, можно выделить 3 группы исследуемых сывороток по диагностическому критерию, позволяющему точно интерпретировать результаты РАЛ. Положительная группа — сыворотки, вызывающие агглютинацию на 2–4 креста, содержащие антитела к антигенам вируса ИНГТ, с концентрацией 0,90 мкг/мл и более, что соответствует установленному пределу аналитической чувствительности полученных латексных препаратов. Сомнительная группа — сыворотки, которые вызывают агглютинацию на 1 крест и содержат антитела к антигенам вируса ИНГТ, с концентрацией ниже 0,90 мкг/мл и являющиеся положительными в ИФА. Отрицательная группа — сыворотки, не проявляющие агглютинацию, содержащие антитела с концентрацией ниже 0,90 мкг/мл и отрицательные по результатам ИФА.

Полученные латексные препараты с разными функциональными группами (-COOH, -NH₂, -SO₄), сенсibilизированные антигенами вируса ИНГТ с концентрацией 750 мкг/мл, испытывали в РАЛ с неспецифичными антителами (к антигенам вируса инфекционного панкреатического некроза (IPNV, Infectious pancreatic necrosis, *Aquabirnavirus*), к антигенам вируса весенней виремии карпа (SVCV, Rhabdovirus carpio, *Vesiculovirus*), к антигенам вируса геморрагической септицемии (VHSV, Viral haemorrhagic septicaemia, *Novirhabdovirus*)). Положительными и отрицательными контрольными препаратами служили сыворотки крови, содержащие и не содержащие антитела против антигенов вируса ИНГТ соответственно. Латекс-агглютинационный анализ проводили, как описано выше, учет результатов осуществляли визуально через 10 минут (первично), через 30 минут (вторично) после постановки реакции (табл. 4).

Таблица 4
Результаты исследования сывороток, содержащих неспецифические антитела, с применением латексных препаратов, сенсibilизированных антигенами вируса ИНГТ*

Функциональные группы латексных препаратов	Результаты теста на неспецифическую агглютинацию	Контроль отрицательный	Контроль положительный	Неспецифические антитела против антигенов вирусов		
				IPNV	VHSV	SVCV
-COOH	отрицательный	0	4+	0	0	0
-NH ₂	отрицательный	0	4+	0	0	0
-SO ₄	отрицательный	0	4+	0	0	0

* интенсивность агглютинации выражена в количестве крестов (0–4).

Из табл. 4 видно отсутствие агглютинации латексных препаратов с неспецифичными сыворотками, что свидетельствовало о высокой степени специфичности теста по отношению к антителам, нейтрализующим антигены вируса ИНГТ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований были определены параметры оценки степени сенсibilизации латексных частиц с разными функциональными группами (-COOH, -NH₂, -SO₄) с использованием спектрофотометрического метода. Была определена аналитическая чувствительность синтезированных латексных препаратов, выявляющих антитела к антигенам вируса ИНГТ, разработаны условия проведения РАЛ и критерии оценки полученных результатов. Метод позволяет ретроспективно выявлять случаи ИНГТ, определять титр антител к указанному вирусу не только в рыбоводческих хозяйствах, но и в дикой природе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Метод латекс-агглютинации для выявления антигенов вируса инфекционного некроза гемопоэтической ткани лососевых / М.И. Доронин, В.А. Пыльнов, С.С. Рыбаков, Н.А. Назаров // Ветеринария. — 2014. — № 9. — С. 56–61.
2. Мешандин А.Г., Матвеев А.Г. Латексные тест-системы — основа для создания бесприборных диагностических комплексов // Труды раб. совещ. «Состояние диагностики бактериальных инфекций». — Оболонск, 1989. — 143 с.
3. Назаров Н.А., Рыбаков С.С., Метлин А.Е. Латекс-агглютинационный тест для диагностики бешенства животных // Ветеринария. — 2013. — № 6. — С. 56–61.
4. Старовойтова Т.А., Зайко В.В., Стериополо Н.А. Видеоцифровой анализ для лабораторной диагностики: комплекс «Эксперт-лаб» на основе сканера для документирования, объективизации и регистрации результатов латекс-агглютинационных, гемагглютинационных тестов, изосерологических и иммуноферментных исследований // Лаборатория. — 2006. — № 1. — С. 19–22.
5. Щелкунов И.С. Эпизоотическая ситуация по вирусным болезням культивируемых рыб // Ветеринария. — 2006. — № 4. — С. 22–25.
6. Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals / OIE. — 6nd ed. — Paris, France, 2009. — Vol. 1. — 383 p.
7. McAllister. P.E. Fish viruses and viral infections // Comprehensive Virology / ed. H.F. Conrat, R.R. Wagner. — New York, 1979. — Vol. 14. — P. 401–470.