



РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

(19) **KZ** (13) **U** (11) **3921**
(51) **G01N 31/00** (2006.01)
G01N 33/53 (2006.01)
A61B 10/00 (2006.01)

МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

ОПИСАНИЕ ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ К ПАТЕНТУ

(21) 2019/0063.2

(22) 24.01.2019

(45) 26.04.2019, бюл. №17

(76) Ибажанова Асем Сериковна; Ахметсадыков Нурлан Нуролдинович; Хусаинов Дамир Микдатович; Батанова Жанат Мухаметкалиевна; Шабдарбаева Гульнар Сабыровна; Кенжебекова Жулдызай Жакабаевна; Балгимбаева Айжан Ильясовна; Шманов Габдолла Сагинтаевич; Алиев Абай Канатович; Хасанова Гузель Абдулсаттаровна; Усмангалиева Сымбат Суттибаевна

(56) Наставление по диагностике сапа. Утверждено Заместителем начальника Департамента ветеринарии. В.В. Селиверстов. - 26 февраля 1996 года

(54) **СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ САПА ЛОШАДЕЙ**

(57) Полезная модель относится к ветеринарии, в частности к способам диагностики сапа лошадей.

Способ диагностики сапа лошадей, включающий исследование сыворотки крови этих животных, при этом исследование осуществляют постановкой реакции непрямой иммунофлуоресценции с использованием в качестве антигена стабилизированного эритроцитарного диагностикума сенсibilизированного сапным

антигеном, для постановки реакции на предметном стекле готовят тонкие мазки из сенсibilизированных антигеном эритроцитов, мазки высушивают на воздухе и фиксируют охлажденным ацетоном (-5-8°C) в течении 10 секунд, каждый мазок делят восковым карандашом на 6-8 зон, в которые наносят по 1-2 капли в разные зоны из сывороток лошадей (испытуемые и контрольные) в разведении 1:2 и 1:5, далее, мазки с сыворотками инкубируют во влажной камере 30-40 минут при 37-38°C, затем промывают их забуференным физиологическим раствором, мазки высушивают на воздухе и наносят по 1-2 капли антивидовой к иммуноглобулину лошадей меченной сыворотки в рабочем разведении, затем помещают их в термостат для инкубирования, по истечении 30-40 минут мазки промывают забуференным физиологическим раствором, высушивают и просматривают под люминесцентным микроскопом под иммерсией.

Способ диагностики сапа лошадей позволяет повысить чувствительность, специфичность и достоверность исследования, сократить время исследования.

(19) KZ (13) U (11) 3921

Полезная модель относится к ветеринарии, в частности к способам диагностики сапа лошадей.

Известен способ диагностики сапа, основанный на использовании реакции связывания комплемента - РСК, с использованием антиген, исследуемой сыворотки и компонентов гемолитической системы. (Наставление по диагностике сапа. Утверждено Заместителем начальника Департамента ветеринарии. В.В. Селиверстов. - 26 февраля 1996 года.).

Недостатки способа: большая трудоемкость, недостаточная активность и специфичность.

Задачей изобретения является разработка способа диагностики сапа лошадей, обеспечивающего в короткие сроки с максимальной точностью и объективностью получение результатов, свидетельствующих о наличии в исследуемых сыворотках крови однокопытных антител к сапу.

Поставленная задача в способе диагностики сапа лошадей, включающем серологические исследования сывороток крови, достигается тем, что диагностику осуществляют постановкой реакции непрямой иммунофлуоресценции (РНИФ), при этом в качестве антигена используют стабилизированный эритроцитарный диагностикум, сенсibilизированный сапным антигеном, а в качестве индикаторной системы антивидовую к иммуноглобулину лошадей меченную флуорохромом сыворотку.

Пример осуществления способа диагностики сапа лошадей.

Реакцию ставят на обезжиренном предметном стекле. Для реакции необходимы следующие компоненты: формализированные эритроциты барана, сенсibilизированные сапным антигеном; исследуемые сыворотки крови лошадей; положительные и отрицательные контрольные сыворотки лошадей; физиологический забуференный раствор, антивидовая к иммуноглобулину лошадей люминесцирующая сыворотка и люминесцентный микроскоп.

Для постановки реакции на предметном стекле готовят тонкие мазки из сенсibilизированных сапным антигеном эритроцитов. Мазки высушивают на воздухе и фиксируют охлажденным ацетоном (-5-8°C) в течении 10 секунд. Каждый мазок делят восковым карандашом на 6-8 зон, в которые наносят по 1-2 капли в разные зоны из сывороток (испытуемые и контрольные) в разведении 1:2 и 1:5. Далее, мазки с сыворотками инкубируют во влажной камере 30-40 минут при 37-38°C, затем промывают их забуференным физиологическим раствором. Мазки высушивают на воздухе и наносят по 1-2 капли антивидовой к иммуноглобулину лошадей меченной сыворотки в рабочем разведении и снова их помещают в термостат для инкубирования. По истечении 30-40 минут мазки снова промывают забуференным физиологическим раствором, высушивают и просматривают под люминесцентным микроскопом под иммерсией.

Обычно наблюдают следующую картину: при отрицательном результате эритроциты светятся

тусклым сероватым цветом, или светящихся эритроцитов нет. В препаратах, с положительной реакцией, наблюдается желто-зеленое периферическое свечение эритроцитов. Интенсивность свечения оценивают в крестах:

«4+» - яркая, светящаяся желто-зеленая периферическая люминесценция эритроцитов;

«3+» - отчетливо выраженная достаточно яркая желто-зеленая периферическая люминесценция эритроцитов;

«2+» - неяркая периферическая люминесценция эритроцитов желтого цвета;

«1+» - слабая периферическая люминесценция эритроцитов желто-серого цвета;

«-» - отсутствие специфической люминесценции.

Контролем служит заведомо отрицательная и положительная противосапная сыворотка лошадей.

Для изготовления сенсibilизированных эритроцитов барана используется дезинтеграт сапного антигена. Сапную культуру выращивают на среде Сотона в течение 15-30 дней, Выращенную культуру стерилизуют при температуре 100-105°C в течение 2 ч. Далее культуру центрифугируют при 15 тыс. в течение 15 мин. Надосадочную жидкость удаляют, а полученный осадок ресуспендируют в физиологическом растворе и микробные клетки подвергают обработке ультразвуком при 15-20 КГц в течение 25-30 минут. Полученный лизат (сенситан) используют для сенсibilизации формализированных эритроцитов. Предварительно до сенсibilизации формализированные эритроциты обрабатываются детергентом - додецилсульфатом натрия в 1%-ной концентрации при температуре 50-60°C в течение 30 мин.

Специфичность и активность готового эритроцитарного антигена проверяются путем исследования в РНИФ с отрицательной сывороткой и стандартного образца противосапной сыворотки.

Способ диагностики сапа лошадей имеет следующие преимущества: сокращается трудоемкость диагностики сапа лошадей, повышается достоверность исследования.

ФОРМУЛА ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ

Способ диагностики сапа лошадей, включающий исследование сыворотки крови этих животных, **отличающийся** тем, что исследование осуществляют постановкой реакции непрямой иммунофлуоресценции с использованием в качестве антигена стабилизированного эритроцитарного диагностикума сенсibilизированного сапным антигеном, для постановки реакции на предметном стекле готовят тонкие мазки из сенсibilизированных антигеном эритроцитов, мазки высушивают на воздухе и фиксируют охлажденным ацетоном (-5-8°C) в течение 10 секунд, каждый мазок делят восковым карандашом на 6-8 зон, в которые наносят по 1-2 капли в разные зоны из сывороток лошадей (испытуемые и контрольные) в разведении 1:2 и 1:5, далее, мазки с сыворотками инкубируют во влажной камере 30-40

минут при 37-38°C, затем промывают их забуференным физиологическим раствором, мазки высушивают на воздухе и наносят по 1-2 капли антивидовой к иммуноглобулину лошадей меченной сыворотки в рабочем разведении, затем помещают их в термостат для инкубирования, по истечении 30-

40 минут мазки промывают забуференным физиологическим раствором, высушивают и просматривают под люминесцентным микроскопом под иммерсией.