



РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

(19) **KZ** (13) **U** (11) **3947**
(51) **G01N 33/49** (2006.01)
G01N 33/487 (2006.01)

МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

ОПИСАНИЕ ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ К ПАТЕНТУ

(21) 2019/0067.2

(22) 24.01.2019

(45) 03.05.2019, бюл. №18

(76) Шабдарбаева Гульнар Сабыровна; Хусаинов Дамир Микдатович; Батанова Жанат Мухаметкалиевна; Ахметсадыков Нурлан Нуролдинович; Ибажанова Асем Сериковна; Кенжебекова Жулдызай Жакабаевна; Балгимбаева Айжан Ильясовна; Шманов Габдолла Сагинтаевич; Орынханов Канат Аманжолович; Алиев Абай Канатович; Имангалиев Аскар Кибатович

(56) ГОСТ 25380-91. Животные сельскохозяйственные. Методы лабораторной диагностики лептоспироза. - Взамен ГОСТ 325386-82; введ. 1993-01-01. - М.: Изд-во стандартов, 1992. - 30 с.

(54) **СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ ЛЕПТОСПИРОЗА У ОВЕЦ**

(57) Полезная модель относится к ветеринарии, в частности к способам диагностики лептоспироза у овец.

Способ диагностики лептоспироза у овец, включающий исследование сыворотки крови этих животных, при этом исследование осуществляют постановкой реакции непрямой иммунофлуоресценции с использованием в качестве антигена стабилизированного эритроцитарного

диагностикума сенсibilизированного лептоспирозным 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 овец (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 овец меченой 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 лептоспироза у овец позволяет повысить чувствительность, специфичность и достоверность исследования, сократить время исследования, повысить безопасность.

(19) KZ (13) U (11) 3947

Полезная модель относится к ветеринарии, в частности к способам диагностики лептоспироза у овец.

Известен способ диагностики лептоспироза, основанный на использовании реакции микроагглютинации - РМА, который осуществляется путем добавления лептоспирозной культуры к исследуемой сыворотке крови животного с последующим определением титров лептоспирозных антител. В качестве антигенов для обнаружения специфических антител в сыворотке крови животных в РМА используют живые культуры лептоспир. (ГОСТ 25380-91. Животные сельскохозяйственные. Методы лабораторной диагностики лептоспироза. - Взамен ГОСТ 325386-82; введ. 1993-01-01. - М.: Изд-во стандартов, 1992. - 30 с.),

Недостатки способа: большая трудоемкость, необходимость учета реакции только под микроскопом, требует постоянного живых лептоспир, угроза здоровью персонала ветеринарных лабораторий.

Задачей полезной модели является разработка способа диагностики лептоспироза у овец, обеспечивающего в короткие сроки с максимальной точностью и объективностью получение результатов, свидетельствующих о наличии в исследуемых сыворотках крови сельскохозяйственных животных антител к патогенным лептоспирам, а также безопасные условия труда для персонала диагностических лабораторий.

Техническим результатом полезной модели является разработка способа диагностики лептоспироза у овец, позволяющего повысить чувствительность, специфичность и достоверность исследования, сократить время исследования, повысить безопасность.

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

Пример осуществления способа диагностики лептоспироза у овец.

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

Для постановки реакции на предметном стекле готовят тонкие мазки из сенсibilизированных

лептоспирозным 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 овец (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 овец 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 противолептоспирозная сыворотка овец.

Для изготовления сенсibilизированных эритроцитов барана используется дезинтеграт лептоспирозного антигена. Лептоспиры серогрупп Помона, Тарассови, Гриппотифоза, Иктерогеморрагия, Каникола, Гебдомадис и Сейро выращивают в водно-сывороточной питательной среде, каждую культуру в отдельности и смесь культур в равных соотношениях центрифугируют при 15 тыс. в течение 15 мин. Надосадочную жидкость удаляют, а полученный осадок ресуспендируют в физиологическом растворе и микробные клетки лептоспир 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 противолептоспирозной сыворотки.

Способ диагностики лептоспироза у овец имеет следующие преимущества: сокращается трудоемкость диагностики лептоспироза овец, повышается достоверность и безопасность исследования.

ФОРМУЛА ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ

Способ диагностики лептоспироза у овец, включающий исследование сыворотки крови этих животных, *отличающийся* тем, что исследование осуществляют постановкой реакции непрямой иммунофлуоресценции с использованием в качестве антигена стабилизированного эритроцитарного диагностикума сенсibilизированного лептоспирозным 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 овец (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 овец меченой 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.