



РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

(19) KZ (13) U (11) 8685
(51) A61K 39/10 (2006.01)

МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

ОПИСАНИЕ ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ К ПАТЕНТУ

(21) 2023/0963.2

(22) 28.09.2023

(45) 08.12.2023, бюл. №49

(72) Хусаинов Дамир Микдатович; Ахметсадыков Нурлан Нуролдинович; Ибрагимов Примкул Шолпанкулович; Сансызбай Абылай Рысбайұлы; Батанова Жанат Мухаметкалиевна; Нусупова Салтанат Тлектесовна; Сырым Назым Сырымқызы; Кенжебекова Жулдызай Жакабаевна; Джанабекова Гульмира Кумискалиевна; Омарбекова Уржан Жакатаевна; Сабырбекова Шынар Касеновна; Нұрғазы Бану Өміртайқызы; Акимжан Назым Алтынбекқызы; Бредихина Елена Константиновна; Турганбаева Гульнар Елдесбаевна; Утебаева Гульмира Нурлановна; Орынханов Канат Аманжолович; Алиев Абай Канатович; Сарманов Абдумурат Мамырбекович; Мусоев Асилбек Маилибоиевич; Мусаева Гульжан Каленовна; Махмутов Абзал Касенович; Ахметжанова Молдир Нурлановна; Крыкбаев Еркин Алийбекович; Турсынбаев Нұртас Сәбитжанұлы; Таев Арман Багдатович; Кыстаубаева Айгерим Еркиновна; Шылымова Рысхан Бердіқызы; Кулатаев Бейбит Турганбекович; Айдарбекова Арай Беркимбековна; Алимов Айтбай Айткенович; Усманғалиева Сымбат Суттибаевна

(73) Хусаинов Дамир Микдатович

(56) Улугмуратов А.Д. Единый бруцеллезный антиген для РА, РСК и РДСК и способ его получения // Central asian journal of medical and natural sciences / Volume: 02 Issue: 05 | Sep-Oct 2021 ISSN: 2660-

4159. <https://www.cajmns.centralasianstudies.org/index.php/CAJMNS/article/download/312/293>

(54) СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ
ИНФЕКЦИОННОГО ЭПИДИДИМИТА
БАРАНОВ

(57) Изобретение относится к области ветеринарии и предназначено для лабораторной серологической диагностики инфекционного эпидидимита баранов.

Способ диагностики инфекционного эпидидимита баранов, включающий исследование сыворотки крови этих животных, при этом исследование осуществляют постановкой реакции непрямой иммунофлуоресценции, в качестве антигена используют стабилизированный эритроцитарный диагностикум сенсibilизированный бруцеллооисным 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 баранов (испытываемые и контрольные) в разведении 1:2 и 1:5, а также по 1 капле комплемента лошади (сыворотки) в рабочем разведении, 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 комплементу лошади 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 инфекционного эпидидимита баранов имеет следующие преимущества: сокращается трудоемкость диагностики инфекционного эпидидимита баранов, повышается достоверность исследования.

(19) KZ (13) U (11) 8685

Полезная модель относится к области ветеринарии и предназначено для лабораторной серологической диагностики инфекционного эпидидимита баранов.

Известен, принятый за прототип, способ диагностики инфекционного эпидидимита баранов, включающий исследование сыворотки крови этих животных путем постановки реакции длительного связывания комплемента (РДСК). В основе реакции лежит способность комплемента специфически связываться с комплексами антиген + антитело. Для выявления этой связи в виде лизиса эритроцитов требуется внесение в определенной последовательности дополнительных компонентов (инактивированной гемолитической сыворотки и эритроцитов барана). В реакции участвуют: структурный белок микробной клетки в качестве антигена, сыворотка крови животного с возможными антителами, комплемент, эритроциты барана, гемолитическая сыворотка [Улугмуратов А.Д. Единый бруцеллезный антиген для РА, РСК и РДСК и способ его получения // Central asian journal of medical and natural sciences / Volume: 02 Issue: 05 | Sep-Oct 2021 ISSN: 2660-4159. <https://www.cajmns.centralasianstudies.org/index.php/CAJMN/article/download/312/293>].

Недостатком этого способа, по сравнению с заявленным, является многокомпонентность, высокая трудоемкость и долговременность (процесс связывания комплемента должен проводиться в течение 16-18 часов), низкая чувствительность и специфичность.

Цель полезной модели - разработка и внедрение в ветеринарную практику более эффективного способа диагностики инфекционного эпидидимита баранов.

Техническая сущность полезной модели состоит в разработке более эффективного способа диагностики инфекционного эпидидимита баранов.

Это достигается тем, что диагностику осуществляют постановкой реакции непрямой иммунофлуоресценции (РНИФ), при этом в качестве антигена используют стабилизированный эритроцитарный диагностиком, сенсibilизированный бруцеллоовисным антигеном, в качестве контрольных - позитивную бруцеллоовисную и негативную сыворотку баранов, в качестве испытуемых - сыворотки исследуемых баранов, в качестве индикаторной системы - комплемент лошади и антивидовую к комплементу лошади меченную флуорохромом сыворотку.

Пример осуществления этого способа.

Реакцию ставят на обезжиренном предметном стекле. Для реакции необходимы следующие компоненты: формализированные эритроциты барана, сенсibilизированные бруцеллоовисным антигеном; исследуемые сыворотки крови баранов; положительные и отрицательные контрольные сыворотки барана; физиологический забуференный раствор, комплемент лошади (сыворотка лошади), антивидовая к комплементу лошади люминесцирующая сыворотка и люминесцентный микроскоп.

Для постановки реакции на предметном стекле готовят тонкие мазки из сенсibilизированных бруцеллоовисным 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 (испытуемые и контрольные) в разведении 1:2 и 1:5, а также по 1 капле сыворотки лошади (комплемент) в рабочем разведении. 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 комплементу лошади 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 противобруцеллоовисная сыворотка барана.

Для изготовления сенсibilизированных эритроцитов барана используется дезинтеграт бруцелл (*Brucella ovis* 424/2). Бруцеллы в количестве 10 см³ с концентрацией 40-50 млрд микробных клеток, убивают в автоклаве при 120°C в течение 30 минут. Далее бруцеллы ресуспендируются в 200 см³ дистиллированной воды и подвергаются обработке ультразвуком при 15-20 КГц в течение 25-30 минут. Затем ультразвуковой лизат центрифугируется при 8-10 тыс. оборотов 5-10 минут, надосадочная жидкость собирается, а осадок ресуспендируется в 200 см³ дистиллированной воды, и повторно подвергается обработке ультразвуком до получения гомогенной суспензии (при 15-20 КГц в течение 25-30 минут). Далее ультразвуковой лизат центрифугируется при 8-10 тыс. оборотов 5-10 минут, надосадочная жидкость собирается, а осадок суспендируется в 200 см³ дистиллированной воды, и третий раз подвергается обработке ультразвуком до получения гомогенной суспензии (при 15-20 КГц в течение 25-30 минут), с последующим сбором надосадочной

жидкости. Такая процедура повторяется четвертый и пятый раз. Собранную надосадочную жидкость объединяют.

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 противобруцеллозисной сыворотки.

Способ диагностики инфекционного эпидидимита баранов имеет следующие преимущества: сокращается трудоемкость диагностики инфекционного эпидидимита баранов, повышается достоверность исследования.

ФОРМУЛА ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ

Способ диагностики инфекционного эпидидимита баранов, включающий исследование сыворотки крови этих животных, *отличающийся* тем, что исследование осуществляют постановкой реакции

непрямой иммунофлуоресценции с использованием в качестве антигена стабилизированного эритроцитарного диагностикума сенсibilизированного бруцеллозисным антигеном, для постановки реакции на предметном стекле готовят тонкие мазки из сенсibilизированных антигеном эритроцитов, мазки высушивают на воздухе и фиксируют охлажденным ацетоном при -5-80°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 баранов - испытуемые и контрольные, в разведении 1:2 и 1:5, а также по 1 капле комплемента лошади — сыворотки, 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 комплементу лошади 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.