



РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

(19) KZ (13) U (11) 10353
(51) G01N 31/00 (2006.01)

МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

ОПИСАНИЕ ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ К ПАТЕНТУ

(21) 2025/0203.2

(22) 11.02.2025

(45) 04.04.2025, бюл. №14

(72) Шахатова Адель Мергеновна (KZ);
Ахметсадыков Нурлан Нуролдинович (KZ);
Батанова Жанат Мухаметкалиевна (KZ); Микниене
Зоя (LT); Мухитдинова Гульнара Ергалиевна (KZ);
Мусоев Асилбек Маилибоиевич (KZ); Сансызбай
Абылай Рысбайұлы (KZ); Омарбекова Уржан
Жакатаевна (KZ); Амиргалиева Светлана
Садуахасовна (KZ); Орынханов Канат Аманжолович
(KZ); Омарбекова Гульжан Кабылжановна (KZ);
Сабырбекова Шынар Касеновна (KZ); Алиев Абай
Канатович (KZ); Хусаинов Дамир Микдатович (KZ);
Мухпулова Гузалай Алимжановна (KZ); Даниял
Аяулым Құрметқызы (KZ); Зиябек Дана Бектасқызы
(KZ)

(73) Хусаинов Дамир Микдатович (KZ)

(56) Методические указания по лабораторной
диагностике хламидийных инфекций у
животных//Департамент ветеринарии
Минсельхозпрода России, № 13-7-2/643 30.06.1999.

(54) СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ ХЛАМИДИОЗА
У КОШЕК

(57) Полезная модель относится к области
ветеринарии, в частности диагностике
инфекционных болезней кошек, и предназначена
для диагностики хламидиоза кошек.

Задачей полезной модели является разработка и
внедрение в ветеринарную практику эффективного
способа диагностики хламидиоза кошек.

Техническая сущность полезной модели состоит в
разработке более эффективного способа
диагностики хламидиоза кошек.

Технический результат, обеспечиваемый полезной
моделью, достигается тем, что диагностику
осуществляют постановкой реакции непрямой
иммунофлуоресценции (РНИФ), при этом в
качестве антигена используют стабилизированный
эритроцитарный диагностикум,
сенсibilизированный антигеном, изготовленным из
Chlamydomphila felis, в качестве индикаторной
системы

Способ диагностики хламидиоза кошек имеет
следующие преимущества: сокращается
трудоемкость диагностики хламидиоза, повышается
достоверность исследования.

(19) KZ (13) U (11) 10353

Полезная модель относится к области ветеринарии, в частности диагностике инфекционных болезней кошек, и предназначена для диагностики хламидиоза кошек.

Известен, принятый за прототип, способ диагностики хламидиоза кошек, включающий исследование сыворотки крови этих животных путем постановки реакции связывания комплемента (РСК). В основе реакции лежит способность 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 [Методические указания по лабораторной диагностике хламидийных инфекций у животных // Утверждены Департаментом ветеринарии Минсельхозпрода России, 30.06.99. № 13-7-2/643.].

Недостатком этой реакции по сравнению с заявленной, является многокомпонентность, высокая трудоемкость и долговременность (процесс связывания комплемента должен проводится в течение 16-18 часов), низкая чувствительность и специфичность.

Задачей полезной модели является разработка и внедрение в ветеринарную практику эффективного способа диагностики хламидиоза кошек.

Техническая сущность полезной модели состоит в разработке более эффективного способа диагностики хламидиоза кошек.

Технический результат, обеспечиваемый полезной моделью, достигается тем, что диагностику осуществляют постановкой реакции непрямой иммунофлуоресценции (РНИФ), при этом в качестве антигена используют стабилизированный эритроцитарный диагностиком, сенсibilизированный антигеном, изготовленным из *Chlamydomphila felis*, в качестве индикаторной системы антивидовую к иммуноглобулину кошек меченную флуорохромом сыворотку.

Пример осуществления способа диагностики хламидиоза кошек.

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

Для постановки реакции на предметном стекле готовят тонкие мазки из эритроцитов, сенсibilизированных антигеном, изготовленным из *Chlamydomphila felis*. 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. 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 кошек 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 к *Chlamydomphila felis* сыворотка кошек.

Для изготовления сенсibilизированных эритроцитов барана используется дезинтеграт из *Chlamydomphila felis*. Штамм *Chlamydomphila felis* культивируют в желточном мешке 6-7-суточных развивающихся куриных эмбрионов до биологической активности не менее 6,0 Ig ЭЛД_{50/0,2см³}, биоматериал суспендируют забуференным физиологическим раствором (ЗБФР) с pH 7,2, гомогенизируют в аппарате Уорринга при 5000 об/мин. в течение 35 мин., проводят ультразвуковую обработку хламидиесодержащей суспензии при частоте 22 КГц и мощности 70-90 Вт/см² в течение 5-7 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) *Chlamydomphila felis* 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 позитивной сыворотки к *Chlamydomphila felis*. Данные исследования по 35 подозрительным по заболеванию кошкам приведены в таблице 1.

Таблица 1.

Сравнительные данные по эффективности метода РСК и РНИФ при диагностике хламидиоза кошек.

Метод исследования	Количество исследованных проб	Реагировали	
		Положительно	Отрицательно
РСК	35	4	31
РНИФ	35	6	29

Как видно из данных табл. 1, в результате проведенных испытаний установлена высокая активность и специфичность исследования в РНИФ.

Способ диагностики хламидиоза кошек имеет следующие преимущества: сокращается трудоемкость диагностики хламидиоза кошек, повышается достоверность исследования.

ФОРМУЛА ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ

Способ диагностики хламидиоза у кошек, включающий исследование сыворотки крови этих животных, *отличающийся* тем, что исследование осуществляют постановкой реакции непрямой иммунофлуоресценции с использованием в качестве антигена эритроцитартов барана, сенсibilизированных антигеном, приготовленным из *Chlamydomphila felis*, для постановки реакции на предметном стекле готовят тонкие мазки из

эритроцитов, сенсibilизированных антигеном из *Chlamydomphila felis*, мазки высушивают на воздухе и фиксируют охлажденным ацетоном при -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 кошек-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 кошек 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.