



РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

(19) KZ (13) U (11) 10434
(51) A61K 39/002 (2006.01)
A61B 10/00 (2006.01)

МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

ОПИСАНИЕ ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ К ПАТЕНТУ

(21) 2025/0285.2

(22) 25.02.2025

(45) 18.04.2025, бюл. №16

(72) Ахметсадыков Нурлан Нуролдинович; Батанова Жанат Мухаметкалиевна; Еспанов Жанарбек Узакович; Турганбаева Гульнар Елдесбаевна; Мыктыбаева Рая Жаксыгуловна; Кудайбергенова Жадра Нурсапаевна; Омарбекова Уржан Жакаатаевна; Кенжебекова Жулдызай Жакабаевна; Орынханов Канат Аманжолович; Бредихина Елена Константиновна; Сансызбай Абылай Рысбайұлы; Отарбаев Бауыржан Камалович; Базарбаев Рыскелди Кантореевич; Мусоев Асилбек Маилибоевич; Алиев Абай Канатович; Кулатаев Бейбит Турганбекович

(73) Хусаинов Дамир Микдатович

(56) Гаврилова Надежда Алексеевна. Нутталлиоз. Заболевания животных// 23.11.2023.

<https://bigenc.ru/a/na-gavrilova-68b5d3>

(54) СПОСОБ СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ НУТТАЛИОЗА ЛОШАДЕЙ

(57) Полезная модель относится к области ветеринарии и предназначена для серологической диагностики нутталлиоза лошадей.

Задачей полезной модели является разработка и внедрение в ветеринарную практику эффективного способа прижизненной диагностики нутталлиоза лошадей на основе метода непрямой иммунофлуоресценции, с использованием sensibilizированных эритроцитов барана.

Техническая сущность полезной модели состоит в разработке эффективного экспресс-метода диагностики нутталлиоза лошадей.

Техническим результатом полезной модели является повышение специфичности и активности диагностики нутталлиоза лошадей.

Это достигается тем, что в способе постановки реакции непрямой иммунофлуоресценции используют в качестве антигена стабилизированный эритроцитарный диагностикум, sensibilizированный нутталлиозным антигеном, а в качестве индикаторной системы антивидовую к иммуноглобулину лошадей меченную флуорохромом сыворотку.

Способ диагностики нутталлиоза лошадей имеет следующие преимущества: повышается активность и специфичность исследования.

(19) KZ (13) U (11) 10434

Полезная модель относится к области ветеринарии и предназначена для серологической диагностики нутталлиоза лошадей.

Известен способ диагностики нутталлиоза лошадей, путем патологоанатомического обследования [Құлбарақова Жансая, Бредихина Е.К. Нутталлиоз: патоморфология. Реферат//<https://stud.kz/ru/referat/show/110574>].

Недостатком способа является высокая трудоемкость и недостаточная чувствительность способа из-за низкого качества визуальной оценки нутталлиоза лошадей.

Известен, принятый за прототип, способ диагностики нутталлиоза лошадей, путем исследования мазков крови на наличие *Nuttallia egui* в мазках периферической крови. [Гаврилова Надежда Алексеевна. Нутталлиоз. Заболевания животных/Опубликовано 23 ноября 2023 г. в 15:34 // <https://bigenc.ru/a/na-gavrilova-68b5d3>].

Недостатком этого способа, по сравнению с заявленным, является недостаточная чувствительность способа из-за низкого качества визуальной оценки *Nuttallia egui* в мазках периферической крови.

Задачей полезной модели является разработка и внедрение в ветеринарную практику эффективного способа прижизненной диагностики нутталлиоза лошадей на основе метода непрямой иммунофлуоресценции, с использованием сенсibilизированных эритроцитов барана.

Техническая сущность полезной модели состоит в разработке эффективного экспресс-метода диагностики нутталлиоза лошадей.

Техническим результатом полезной модели является повышение специфичности и активности диагностики нутталлиоза лошадей.

Это достигается тем, что в способе постановки реакции непрямой иммунофлуоресценции используют в качестве антигена стабилизированный эритроцитарный диагностикум, сенсibilизированный нутталлиозным антигеном, а в качестве индикаторной системы антивидовую к иммуноглобулину лошадей меченную флуорохромом сыворотку.

Пример осуществления этого способа.

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

Получение антигена. Для изготовления сенсibilизированных эритроцитов барана используется дезинтеграт нутталлий (*Nuttallia egui*). Отмытые нутталлии в количестве 10 см³ 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 мл 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.

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 (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 люминисцентным 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 противонутталлиозная сыворотка лошадей.

Были проведены производственные испытания различных диагностических методов. Для

сравнения, наряду с предлагаемым, кровь лошадей исследовали в микроскопией мазков. Исследования проводили на лошадях неблагополучных по нутталиозу хозяйств, а также в благополучных хозяйствах. Всего было подвергнуто исследованию 76 лошадей. Полученные при этом данные приведены в табл.1.

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

Таблица 1. Сравнительные данные по диагностической эффективности микроскопии мазков и РНИФ

Вид животных	Благополучие хозяйств по нутталиозу	Количество исследованных проб	Результаты исследования по	
			РНИФ	Микроскопия мазков
Лошади	Неблагополучное	38	3	1
Лошади	Благополучное	38	-	-

Способ диагностики нутталиоза лошадей имеет следующие преимущества: повышается активность и специфичность исследования.

ФОРМУЛА ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ

Способ серологической диагностики нутталиоза лошадей, включающий взятие крови и её исследование, *отличающийся* тем, что из крови исследуемых лошадей отделяют сыворотку и осуществляют постановку реакции непрямой иммунофлуоресценции, при этом в качестве антигена используют стабилизированный эритроцитарный диагностический сенсibilизированный нутталиозным антигеном, в качестве индикаторной системы антивидовые к иммуноглобулину лошадей меченные флуорохромом сыворотки, для постановки реакции на предметном стекле готовят тонкие мазки из

сенсibilизированных антигеном эритроцитов, мазки высушивают на воздухе и фиксируют охлажденным ацетоном при $-5-8^{\circ}\text{C}$ 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 $37-38^{\circ}\text{C}$, затем промывают их забуференным физиологическим раствором, мазки высушивают на воздухе и наносят по 1-2 капли антивидовой к иммуноглобулину лошади меченной сыворотки в рабочем разведении, снова их помещают в термостат для инкубирования, по истечении 30-40 минут мазки промывают забуференным физиологическим раствором, высушивают и просматривают под люминесцентным микроскопом под иммерсией.