



РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

(19) KZ (13) U (11) 10658
(51) G01N 31/00 (2006.01)

МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

ОПИСАНИЕ ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ К ПАТЕНТУ

(21) 2025/0546.2

(22) 08.04.2025

(45) 30.05.2025, бюл. №22

(72) Ахметсадыков Нурлан Нуролдинович (KZ); Батанова Жанат Мухаметкалиевна (KZ); Еспанов Жанарбек Узакович (KZ); Турганбаева Гульнар Елдесбаевна (KZ); Кенжебекова Жулдызай Жакабаевна (KZ); Алимов Айтбай Айткенович (KZ); Акимжан Назым Алтынбеккызы (KZ); Жылкышыбаева Меруерт Мэликовна (KZ); Сансызбай Абылай Рысбайұлы (KZ); Кудайбергенова Жадра Нурсапаевна (KZ); Салханова Сауле Насибеденовна (KZ); Несипбаева Айгуль Кадировна (KZ); Ниязбекова Жаннур Нурдилдаевна (KZ); Алиев Абай Канатович (KZ); Антанайтис Рамунас (LT); Мухитдинова Гульнара Ергалиевна (KZ); Амиргалиева Светлана Садуахасовна (KZ); Бредихина Елена Константиновна (KZ); Кулатаев Бейбит Турганбекович (KZ)

(73) Хусаинов Дамир Микдатович (KZ)

(56) Г.А. Бояхчан. Методика прижизненной диагностики легочных гельминтозов лошадей и коз в экспедиционных условиях Российский паразитологический журнал, 2007, №2. <https://cyberleninka.ru/article/n/metodika-prizhiznennoy-diagnostiki-legochnyh-gelmintozovets-i-koz-v-ekspeditsionnyh-usloviyah>

(54) СПОСОБ СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ
ДИАГНОСТИКИ ДИКТИОКАУЛЕЗА
ЛОШАДЕЙ

(57) Полезная модель относится к области ветеринарии, в частности к серологической диагностике паразитарных заболеваний, и может быть использована для диагностики диктиокаулеза лошадей.

Цель полезной модели - разработка и внедрение в ветеринарную практику более эффективного способа диагностики диктиокаулеза лошадей.

Техническая сущность полезной модели состоит в разработке более эффективного способа диагностики диктиокаулеза лошадей.

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 диктиокаулезным антигеном, а в качестве индикаторной системы - антитела к иммуноглобулинам лошадей, меченные флюорохромом.

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

(19) KZ (13) U (11) 10658

Полезная модель относится к области ветеринарии, в частности к серологической диагностике паразитарных заболеваний, и может быть использована для диагностики диктиокаулеза лошадей.

Известен способ диагностики диктиокаулеза лошадей, включающий копрологические исследования фекалий методом последовательного промывания (метод Бермана). Сущность метода в том, что фекалии, завернутые в марлю или в сито, помещают в закрытую воронку и выдерживают около суток. Личинки осаждаются в конце воронки. Спустя время воронку открывают, скопившаяся жидкость переливается в пробирку и центрифугируется. [Диагностика диктиокаулеза в 2020 г. 25 Сентябрь 2020. <http://vetlab13.ru/novosti/diagnostika-diktiokauleza-v-2020-g/>].

Недостатком этого способ диагностики диктиокаулеза лошадей по сравнению с заявленным является высокая трудоемкость, низкая чувствительность и специфичность.

Известен способ диагностики диктиокаулеза лошадей, включающий копрологические исследования фекалий методом последовательного промывания (метод Бояхчана). Сущность метода в том, что после взятия фекалий индивидуально от каждого животного, пробы (по 3-4 катышка) кладутся в небольшие (объемом в 20-30 см³) стеклянные или пластиковые флаконы, которые заливаются водой доверху и закрываются крышками. В таком виде флаконы выдерживаются в течение 3 часов. За это время личинки легочных нематод из фекалий переходят в воду. Далее, с целью консервации выделенных личинок, жидкость из флакона переливается в другой такой же, содержащий 5-10 мл 10%-ного раствора формалина, а фекалии выбрасываются. Флаконы плотно закрываются крышками (лучше винтовыми) и хранятся до доставки в лабораторию, где жидкость из флакона выливается на часовое стекло и микроскопируется. [Г.А. Бояхчан. Методика прижизненной диагностики легочных гельминтозов лошадей и коз в экспедиционных условиях Российский паразитологический журнал, 2007, № 2. <https://cyberleninka.ru/article/n/metodika-prizhiznennoy-diagnostiki-legochnyh-gelmintozov-ovets-i-koz-v-ekspeditsionnyh-usloviyah>].

Недостатком этого способ диагностики диктиокаулеза лошадей по сравнению с заявленным является высокая трудоемкость и долговременность (в течение 3 часов), низкая чувствительность и специфичность.

Цель полезной модели - разработка и внедрение в ветеринарную практику более эффективного способа диагностики диктиокаулеза лошадей.

Техническая сущность полезной модели состоит в разработке более эффективного способа диагностики диктиокаулеза лошадей.

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 диктиокаулезным антигеном, а в качестве индикаторной системы - антитела к иммуноглобулинам лошадей, меченные флюорохромом.

Пример осуществления способа серологической диагностики диктиокаулеза лошадей.

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

Для постановки реакции на предметном стекле готовят тонкие мазки из сенсibilизированных диктиокаулезным 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 (испытываемые и контрольные) в разведении 1:2 и 1:5, а также по 1 капле комплемента 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 иммуноглобулину лошадей меченной сыворотки кролика 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+» - неярко выраженная периферическая люминесценция эритроцитов желтого цвета;

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

«-» - отсутствие специфической люминесценции.

Контролем служит заведомо отрицательная и положительная противодиктиокаулезная сыворотка лошадей.

Для изготовления сенсibilизированных эритроцитов барана используется дезинтеграт диктиокаул. Диктиокаулы извлекали из легких павших или вынужденно забитых телят, подвергали

гомогенизации в течение 15 минут при 15000 об/мин. После этого полученную суспензию подвергли обработке ультразвуком при 15-20 КГц в течение 25-30 минут. Затем ультразвуковой лизат центрифугировали при 8-10 тыс. оборотов 5-10 минут, надосадочная жидкость собирается, а осадок ресуспендируется в 200 мл 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.

Сенсibilизация формализированных эритроцитов после обработки додецилсульфатом натрия проводится оптимальной дозой сенситана, которая определяется путем титрации его с использованием стандартного образца противодиктиокаулезной сыворотки. Специфичность и активность готового эритроцитарного антигена проверяются путем исследования в РНИФ с отрицательной сывороткой и стандартного образца противодиктиокаулезной сыворотки (Таблица 1).

Таблица-1.

Сравнительные данные по диагностической эффективности копрологического метода и РНИФ

Вид животных	Благополучие хозяйств по диктиокаулезу	Количество исследованных проб	Результаты исследования по	
			РНИФ	Копрология
Жеребята	Неблагополучное	28	9	7
Жеребят	Благополучное	28	-	-

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

ФОРМУЛА ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ

Способ серологической диагностики диктиокаулеза лошадей, включающий исследование патологического материала, *отличающийся* тем, что исследуют сыворотку лошадей путем постановки реакции непрямой иммунофлуоресценции, при этом в качестве антигена используют стабилизированный эритроцитарный диагностикум сенсibilизированный диктиокаулезным антигеном, в качестве индикаторной системы используют 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 -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 телят - 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 кролика 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.