



РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

(19) KZ (13) U (11) 10765
(51) G01N 33/53 (2006.01)
G01N 33/569 (2006.01)

МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

ОПИСАНИЕ ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ К ПАТЕНТУ

(21) 2025/0568.2

(22) 11.04.2025

(45) 20.06.2025, бюл. №25

(72) Ахметсадықов Нурлан Нуролдинович (KZ); Батанова Жанат Мухаметкалиевна (KZ); Ниязбекова Жаннур Нурдилдаевна (KZ); Шакиров Умбетали Нуралиевич (UZ); Алимов Айтбай Айткенович (KZ); Жылкышыбаева Меруерт Мэликовна (KZ); Салханова Сауле Насибеденовна (KZ); Турганбаева Гульнар Елдесбаевна (KZ); Кенжебекова Жұлдызай Жакабаевна (KZ); Несипбаева Айгуль Кадировна (KZ); Бредихина Елена Константиновна (KZ); Усмангалиева Сымбат Суттибаевна (KZ); Махмутов Абзал Касенович (KZ); Микниене Зоя (LT); Мухитдинова Гульнара Ергалиевна (KZ); Ахметова Молдир Сейдакбаровна (KZ); Сансызбай Абылай Рысбайұлы (KZ); Нусупова Салтанат Тлектесовна (KZ); Сырым Назым Сырымкызы (KZ); Мусоев Асилбек Маилибоевич (KZ); Мухпулова Гузалай Алимжановна (KZ); Даниял Аяулым Құрметқызы (KZ); Зиябек Дана Бектасқызы (KZ)

(73) Хусаинов Дамир Микдатович (KZ)

(56) Гаврилова Надежда Алексеевна. Нутталлиоз. Заболевания животных/Опубликовано 23 ноября 2023 г. в 15:34//<https://bigenc.ru/a/na-gavrilova-68b5d3>

(54) СПОСОБ СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ НУТТАЛИОЗА ОСЛОВ

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

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

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

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

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 ослов меченную флуорохромом сыворотку.

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

(19) KZ (13) U (11) 10765

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

Известен способ диагностики нутталлиоза ослов, путем патологоанатомического обследования [Кулбаракова 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 ослов.

Известен, принятый за прототип, способ диагностики нутталлиоза ослов, 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 ослов на основе метода непрямой иммунофлуоресценции, с использованием сенсibilизированных эритроцитов барана.

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

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

Это достигается тем, что в способе постановки реакции непрямой иммунофлуоресценции используют в качестве антигена стабилизированный эритроцитарный диагностиком, сенсibilизированный нутталлиозным антигеном, а в качестве индикаторной системы антивидовую к иммуноглобулину ослов 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 ослов, положительные и отрицательные контрольные сыворотки ослов, физиологический забуференный раствор, антивидовая к иммуноглобулину ослов 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 ослов 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 люминисценция эритроцитов;

«3+» - отчетливо выраженная достаточно яркая желто-зеленая периферическая люминисценция эритроцитов;

«2+» - неяркая периферическая люминисценция эритроцитов желтого цвета;

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

«-» - отсутствие специфической люминисценции.

Контролем служит заведомо отрицательная и положительная противонутталлиозная сыворотка ослов.

Были проведены производственные испытания различных диагностических методов. Для

сравнения, наряду с предлагаемым, кровь ослов исследовали в микроскопией мазков. Исследования проводили на ослах неблагополучных по нутталиозу хозяйств, а также в благополучных хозяйствах. Всего было подвергнуто исследованию 48 ослов. 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
Ослы	Неблагополучное	24	7	5
Ослы	Благополучное	24	-	-

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

ФОРМУЛА ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ

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

сенсibilизированных антигеном эритроцитов, мазки высушивают на воздухе и фиксируют охлажденным ацетоном $-5-8^{\circ}\text{C}$ 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 ослов - 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 ослов 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.