

(19) **KG** (11) **493** (13) **C1**

ГОСУДАРСТВЕННОЕ АГЕНТСТВО ПО НАУКЕ И (51)⁷ **C12Q 1/00**
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ ПРИ
ПРАВИТЕЛЬСТВЕ КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ (КЫРГЫЗПАТЕНТ)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

к предварительному патенту Кыргызской Республики

(21) 20010008.1

(22) 28.02.2001

(46) 31.01.2002, Бюл. №1

(76) Касымбеков Ж.Б., Ким В.И. (KG)

(56) Наставление по диагностике бруцеллеза у коров методом кольцевой реакции (КР) с молоком // Нормативные документы по борьбе с бруцеллезом животных. - Фрунзе: Картпредприятие МСХ Киргизской ССР, 1981. - С. 45-47

(54) **Кольцевая проба**

(57) Изобретение относится к ветеринарии для диагностики бруцеллеза у лактирующих животных и исследования молока на рынках, а также может использоваться в медицине при исследовании молока кормящих матерей. Сущностью изобретения является разработка кольцевой пробы для прижизненной диагностики бруцеллеза для всех видов лактирующих животных и исследования молока на рынках на базе имеющегося диагностикума-антигена для кольцевой реакции (КР) с молоком. Изобретена кольцевая проба с солью (КПС), состоящая из следующих компонентов: цельное молоко, раствор поваренной соли в дистиллированной воде, антиген для кольцевой реакции с молоком в следующем соотношении компонентов, масс. %:

цельное молоко	3.3
антиген для кольцевой реакции (КР)	33.3
поваренная соль	6.68
дистиллированная вода	26.72.

Достоинством КПС является простота при постановке и в течение 20-15 мин можно поставить диагноз на бруцеллез даже в полевых условиях. 2 табл.

Изобретение относится к области ветеринарной практики, и предназначено для диагностики бруцеллеза всех видов лактирующих животных, исследования молока на рынках, а также может использоваться в медицине при исследовании молока кормящих матерей на инфицированность микроорганизмами вида *Brucella abortus* и *Brucella melitensis*.

Известна кольцевая реакция с молоком (КР) (Наставление по диагностике бруцеллеза у коров методом кольцевой реакции (КР) с молоком // Нормативные документы по борьбе с бруцеллезом животных. — Фрунзе: Картпредприятие МСХ Киргизской ССР, 1981. - С. 45-47).

КР с молоком рекомендуется для диагностики бруцеллеза коров как вспомогательный тест для эпизоотологического обследования благополучных стад по бруцеллезу и в целях исследования молока на торговых рынках.

Основными недостатками указанной реакции являются:

КР рекомендуется как рекогносцировочный тест при диагностике бруцеллеза; для исследования молока только от одного вида животных — коров; не рекомендуется проводить исследование по КР молока от коров с заболеваниями, сопровождающимися повышением температуры тела; запрещается исследование молока от коров глубокоостельных, находящихся в запуске и в первые 12 дней после отела.

Указанные недостатки ограничивают широкое применение КР при диагностике бруцеллеза коров, что не в полной мере удовлетворяет ветеринарных специалистов.

Признаки, по которым кольцевая реакция совпадает с кольцевой пробой с солью: в обоих случаях используется антиген для КР с молоком; оценку КР и КПС проводят по признаку образования на поверхности молока кольца синего цвета (молоко от больной бруцеллезом коровы).

Задачей настоящего изобретения является разработка пробы для прижизненной диагностики бруцеллеза для всех видов лактирующих животных и исследования молока на рынках на базе уже имеющегося диагностикума - антигена для КР с молоком.

Существенными признаками, отличающими изобретение от ближайшего аналога - КР с молоком, - является то, что в состав КПС вводится 20 %-ный раствор поваренной соли в дистиллированной воде, являющейся катализатором, в связи с чем связывание антигена с антителами ускоряется, и соответственно они всплывают на поверхность лучше, за счет чего проба более чувствительна в сравнении с КР. КПС в отличие от КР проводится при обычной комнатной температуре (18-20°C) в течение 15 минут, а КР - при температуре 60°C в течение 40-60 минут.

Кольцевая проба с солью представляет собой индикаторную пробу, где участвуют три компонента: исследуемое молоко; 20 %-ный раствор поваренной соли в дистиллированной воде; антиген для кольцевой реакции с молоком (изготовленный Щелковским биокOMBинатом, г. Москва: "Антиген бруцеллезный для кольцевой реакции (КР) с молоком", от 31.10.1997).

Пробу ставят в пробирках, составленных в штативы. Для постановки кольцевой пробы с солью берут цельное молоко от исследуемых, лактирующих животных (или консервированное формалином из расчета: 0.1 мл 10 % раствора формалина на 10 мл молока) и вносят в пробирку в количестве 1 мл, затем - 1 мл. 20 %-ного раствора поваренной соли и к ним добавляют 0.03 мл (капля) антигена. Встряхивают и оставляют на 10-15 мин при комнатной температуре.

Читку КПС проводят через 10-15 мин после постановки пробы: при наличии в молоке антител на поверхности образуется синее кольцо, а остальная часть молока осветляется - пробу оценивают как положительную (молоко от больного бруцеллезом животного); если синее кольцо на поверхности молока слабо выражено и весь столбик молока приобретает синий цвет, пробу оценивают как сомнительную (при сомнительной КПС молоко исследуется повторно через 10-15 дней); в случае, если на поверхности молока не образуется синее кольцо и первоначальный синий цвет молока остается без изменения, проба оценивается как отрицательная (молоко от здорового по бруцеллезу животного).

Кольцевую пробу с солью применяли для исследования молока от коров и от овцематок для проверки благополучия по бруцеллезу, а также при продаже его на рынках.

Исследование молока на бруцеллез по КПС проводили непосредственно на

фермах, в ветеринарных лабораториях, на мясомолочных и пищевых контрольных станциях.

Исследование молока при диагностике бруцеллеза проводилось на группах коров с различной степенью благополучия по бруцеллезу.

Результаты этих исследований приведены в таблице 1.

Таблица 1

Хозяйство и группы животных	Количество животных	Результаты исследований	
		КПС положительно	КР положительно
Животные благополучной по бруцеллезу фермы "Кок-Жар" Кочкорского района	80	-	7 (маститные)
Животные, признанные больными бруцеллезом	70	62	54

Материалы таблицы показывают, что при исследовании группы животных благополучной по бруцеллезу получены отрицательные результаты. По КР получено 7 положительных проб молока, при исследовании которых было подтверждено, что указанные коровы болеют маститом.

Из животных второй группы было выделено наибольшее количество положительно реагирующих по КПС 62 (88.5 %), по КР- 54(77.1 %).

Аналогичные исследования провели с цельным молоком и сыворотками крови от лактирующих овцематок. Результаты приведены в таблице 2.

Таблица 2

Хозяйство и группы животных	Количество животных	Результаты исследований	
		КПС положительно	КР положительно
Животные благополучной по бруцеллезу фермы "Кок-Жар" Кочкорского района	162	-	21 (маститные)
Животные, признанные больными бруцеллезом	67	62	58

Из приведенных данных видно, что наиболее чувствительной является кольцевая проба с солью. Так, в группе больных бруцеллезом животных по КПС реагировало из 67 голов 62 (92.5 %), тогда как по КР всего 58 (86.5 %).

Таким образом, проведенный анализ результатов исследований цельного молока по КПС в сравнении с КР показывает, что кольцевая проба с солью - высокочувствительный метод диагностики бруцеллеза сельскохозяйственных животных.

Кроме того, в ходе испытания установлено, что наряду со специфичностью и высокой чувствительностью кольцевая проба с солью позволяет исследовать на бруцеллез все виды лактирующих животных, своевременно выявлять больных бруцеллезом животных, может проводиться во внелабораторных условиях: на фермах, выпасах.

Формула изобретения

Кольцевая проба для диагностики бруцеллеза, состоящая из цельного молока и антигена для кольцевой реакции (КР), отличающаяся тем, что дополнительно содержит раствор поваренной соли в дистиллированной воде при следующем соотношении компонентов, мас %:

цельное молоко	3.3
антиген для кольцевой реакции (КР)	33.3
поваренная соль	6.68
дистиллированная вода	26.72.

Составитель описания	Кожомкулова Г.А.
Ответственный за выпуск	Арипов С.К.

Кыргызпатент, 720021, г. Бишкек, ул. Московская, 62, тел.: (312) 68 08 19, 68 16 41, факс: (312) 68 17 03