

(19) **KG** (11) **747** (13) **C1** (46) **31.01.2005**

ГОСУДАРСТВЕННОЕ АГЕНСТВО ПО НАУКЕ И
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
ПРИ ПРАВИТЕЛЬСТВЕ КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ (КЫРГЫЗПАТЕНТ)

(51)⁷ C12Q 1/00

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

к патенту Кыргызской Республики под ответственность заявителя (владельца)

(21) 20030114.1

(22) 25.08.2003

(46) 31.01.2005, Бюл. №1

(76) Касымбеков Ж.Б., Ким В.И., Нургазиев Р.З., Садыков А.Н. (KG)

(56) Нормативные документы по борьбе с бруцеллезом животных. - Фрунз, 1981. - С. 41-45

(54) Сывороточная проба

(57) Изобретение относится к ветеринарии, а именно для диагностики бруцеллеза всех видов сельскохозяйственных животных. Задачей изобретения является разработка высокочувствительной серологической диагностики бруцеллеза животных. Поставленная задача решается разработкой сывороточной пробы, включающей сыворотку крови, антигена для кольцевой пробы, и дополнительно содержит раствор хлористого натрия в дистиллированной воде. Высокий технический результат изобретения обеспечивается за счет ускорения хода реакции, повышения чувствительности, и возможность исследования на бруцеллез в полевых условиях любого возраста и вида животных. 1 п. ф-лы, 2 табл.

Изобретение относится к ветеринарии, а именно для диагностики бруцеллеза всех видов сельскохозяйственных животных. В настоящее время известна пластинчатая, реакция агглютинации с розбенгал-антигеном (розбенгал-проба или РБП) при диагностике бруцеллеза у животных (Нормативные документы по борьбе с бруцеллезом животных. -Фрунзе, 1981.-С. 41-45).

Указанная диагностическая реакция имеет ряд существенных недостатков, а именно:

- для постановки реакции необходимо стационарное условие труда лабораторных работников, электроэнергия, транспорт для доставки сыворотки крови, оборудование заводского изготовления (металлические эмалированные пластинки с лунками, шприцы-полуавтоматы для разлива сыворотки крови антигена, автоматический прибор для смешивания сыворотки крови с антигеном, кассета для дезинфекции и мойки эмалированных пластинок, штативы-сушилki для эмалированных пластинок, фильтровальная бумага, физиологический раствор, холодная и горячая вода и др.);
- постановку пробы проводят только при температуре окружающей среды не ниже

18°C;

- сыворотки давшие положительные результаты подлежат обязательному повторному исследованию по реакции агглютинации (РА) и в реакции связывания комплемента (РСК).

Указанные недостатки делают использование розбенгал-пробы трудоемкой, дорогостоящей и непрактичной.

Задачей изобретения является разработка высокочувствительной серологической диагностики бруцеллеза животных.

Поставленная задача решается разработкой сывороточной пробы, включающей сыворотку крови, антигена для кольцевой пробы, и дополнительно содержит раствор хлористого натрия в дистиллированной воде.

Высокий технический результат изобретения обеспечивается за счет ускорения хода реакций, повышения чувствительности, и возможность исследования на бруцеллез в полевых условиях любого возраста и вида животных.

Сывороточная проба используется следующим образом.

На предметное стекло наносят испытуемую сыворотку - 0.05 мл, затем добавляют 0.05 мл антигена для КР и 0.1 физиологического раствора. Тщательно смешивают стеклянной палочкой и слегка подогревают над пламенем спиртовки. В случае положительной реакции в первые же минуты появляются синие хлопья (крупинки). Наблюдают за пробой до 3 минут.

Учет и оценку результатов пробы проводят визуально по следующей схеме:

- # креста - полное просветление жидкости с синими зернистыми хлопьями, (100 % агглютинации) - положительно;
- ## креста - почти полное просветление жидкости с ясно заметными синими хлопьями (50-75 % агглютинации) - положительно;
- + креста - незначительное просветление жидкости с заметными мелкими хлопьями (30-40 % агглютинации) - сомнительно;
- + крест - синяя жидкость с едва заметной зернистостью (10-20 % агглютинации) - отрицательно;
- - равномерно синяя жидкость - отрицательно.

Для диагностики бруцеллеза имеет значение только положительный результат пробы. При наличии сомнительного результата проводят повторную пробу через 20-30 дней.

Преимущество этого метода заключается в простоте постановки пробы, в быстром (до 3 мин) получении результатов и в чувствительности реакции.

Отличительным признаком от аналога - РБП - является то, что для улучшения процесса агглютинации антигена с антителом вводится дополнительно 1 %-ный раствор хлорида натрия в дистиллированной воде (электролит), который является средой повышенного прохождения электрического заряда. В связи с чем, ускоряется, а затем увеличивается число агглютинатов, которые выпадают на дно лунки предметного стекла в виде крупинок.

Для проверки диагностической ценности сывороточной пробы на стекле с применением цветного антигена для кольцевой реакции с молоком провели исследование сывороток крови коров и телят из благополучных, неблагополучных по бруцеллезу ферм и изоляторов. Итоги исследований приведены в таблице 1.

Как видно из таблицы 1, число положительно реагирующих по сывороточной пробе на стекле с применением цветного антигена для кольцевой реакции с молоком, подогретым на спиртовке, больше на 12 % в сравнении с РБП, РА и РСК.

Таким образом, из четырех проверенных методов серологической диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота по количеству выявленных положительных сывороток на первом месте стоит СП с применением антигена для КР (84.3 %), тогда как по РСК - только 75, РБП - 71.8 и РА - 71.8 %.

Аналогичные результаты по сывороточной пробе получены при исследовании мелкого рогатого скота. Результаты этих исследований приведены в таблице 2.

Из данных таблицы 2 видно, что СП имеет значительное преимущество по сравнению с другими реакциями. Так, СП выявляет большее количество положительно реагирующих на бруцеллез животных, в сравнении с РБП, РА и РСК (овцематки из неблагополучных ферм: СП - 6.5 %, РБП - 4.6, РА - 5.6, РСК - 3.7; ярки из неблагополучных ферм: СП - 5.4 %, РБП - 2.4, РА - 3.0, РСК - 4.2; овцематки, больные бруцеллезом: СП - 85.7 %, РБП - 76.0, РА - 64.2 и РСК - 73.8).

При исследовании овец из благополучных по бруцеллезу ферм во всех случаях и по всем реакциям получены отрицательные результаты.

Таблица 1

Данные по исследованию сывороток крови крупного рогатого скота на бруцеллез по СП в сравнении с РБП, РА и РСК

Группа животных	Исследовано сывороток крови	Реагировало по							
		СП		РБП		РА		РСК	
		положит ельно	%	положите льно	%	положите льно	%	положите льно	%
Благополучные по бруцеллезу коровы	1960	—	—	—	—	—	—	—	—
Благополучные по бруцеллезу телята	875	—	—	—	—	—	—	—	—
Неблагополучные по бруцеллезу коровы	178	13	7.3	9	5.0	9	5.0	11	6.1
Неблагополучные по бруцеллезу телята	140	4'	2.8	4	2,8	2	1.4	3	2.1
Коровы, больные бруцеллезом	32	27	84.3	23	71.8	19	59.3	24	75.0

Таблица 2

Данные по исследованию на бруцеллез овец по СП в сравнении с РБП, РА и РСК

Группа животных	Исследовано сывороток крови	Реагировало по							
		СП		РБП		РА		РСК	
		положит ельно	%	положите льно	%	положите льно	%	положите льно	%
Благополучные по бруцеллезу овцематки	127	—	—	—	—	—	—	—	—
Неблагополучные по бруцеллезу ярки	140	—	—	—	—	—	—	—	—
Неблагополучные по бруцеллезу овцематки	107	7	6.5	5	4.6	6	5.6	4	3.7

Неблагополучные по бруцеллезу ярки	165	9	5.4	4	2.4	5	3.0	7	4.2
Овцематки, больные бруцеллезом	42	36	85.7	32	76.0	27	64.2	31	73.8

Формула изобретения

Сывороточная проба для экспресс-диагностики бруцеллеза животных, состоящая из сыворотки крови и антигена бруцеллезного для кольцевой реакции с молоком, отличающаяся тем, что дополнительно содержит раствор хлорида натрия в дистиллированной воде при следующем соотношении компонентов (мас. %):

сыворотка крови	33.3
антиген для кольцевой реакции с молоком	33.3
хлорид натрия	0.3
дистиллированная вода	33.1.

Составитель описания	Усубакунова З.К.
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