



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 4286

(13) U

(51) 7 A61B10/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ВІРУСНИХ ІНФЕКЦІЙ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

1

2

(21) 20040402789

(22) 15.04.2004

(24) 17.01.2005

(46) 17.01.2005, Бюл. № 1, 2005 р.

(72) Матковська Світлана Григорівна

(73) Харківська державна зооветеринарна академія

(57) Спосіб діагностики вірусних інфекцій великої рогатої худоби шляхом постановки реакції непрямой гемаглютинації, реакції непрямой бактеріальної

аглютинації з досліджуваним матеріалом, який відрізняється тим, що як досліджуваний матеріал використовують носовий, піхвовий секрет і сльозу з одноразовим відбором проб на всмоктувальний матеріал, які готують для дослідження шляхом отримання прозорої рідини і використовують в реакціях для виявлення відсутності або наявності антитіл, за титрами яких встановлюють стадії перебігу захворювання або циркуляцію вірусу в господарстві.

Корисна модель відноситься до ветеринарної медицини, зокрема до способів діагностики вірусних інфекцій: інфекційного ринотрахеїту-пустульозного вульвовагініту великої рогатої худоби.

Відомий спосіб діагностики вірусних інфекцій, котрий включає дослідження сечі, яку наносять краплями на предметне скло для проведення реакції флуоресценції (Ас SU 1209171 МКИ А61 В 10/00, 1986).

Однак, для постановки цієї реакції необхідно мати спеціальне обладнання і компоненти, що дорого коштують.

Відомий також спосіб діагностики, який полягає у визначенні концентрації імуноглобулінів в секреті слизових оболонок в реакції імунодифузії (Ас SU 1050668 МКИ А 61 В 10/00, А 61 К 39/395, 1983).

Однак, для проведення цієї реакції необхідні високо очищені компоненти (антисироватки до окремих класів імуноглобулінів, агар фірми "Difco") та спеціальні скляні пластини розміром 9x12, з наступним накресленням графіку, за яким визначають концентрацію імуноглобулінів для діагностування осіб, які хворіють ангіною.

Найбільш близьким технічним рішенням є спосіб діагностики вірусних інфекцій шляхом постановки реакції непрямой гемаглютинації (РНГА), реакції непрямой бактеріальної аглютинації (РНБА) з сироваткою крові (В. Н. Сюрин, Р. В. Белоусова, Н. В. Фомина Ветеринарная вирусология. - М. Агропромиздат, 1984. - с. 323-327, Лабораторные исследования в ветеринарии: Вирусные, риккетсиозные и паразитарные болезни: Справочник / Под ред. Б. И.

Антонова. - М.: Агропромиздат, 1987 - с.65-67.) Инфекционный ринотрахеит-пустулезный вульвовагинит (баланопостит) крупного рогатого скота: диагностика, профилактика, меры борьбы (методические рекомендации). - Харьков, 1990 - с. 14 - 15.

Але дослідний матеріал - сироватка крові - відбиратися повинен висококваліфікованим працівником. Крім того, сироватку можна одержати не раніше ніж через 4-16 годин після взяття проби крові в залежності від пори року та додаткових маніпуляцій.

Постановка реакції з використанням сироватки крові відноситься до ретроспективних методів, недолік яких полягає у тому, що пробу крові відбирають два рази від однієї і тієї ж тварини з інтервалом 14-21 день. За цей час тварина видужує, а діагноз ставлять за наростанням титрів антитіл у другій пробі в порівнянні з першою.

Таким чином, цей спосіб не є експрес-методом, а навпаки, трудомістким, з великою затратою часу і, головне, небезпечний в розповсюдженні лейкозу.

В основу корисної моделі поставлена задача - удосконалити спосіб діагностики вірусних інфекцій великої рогатої худоби шляхом заміни досліджуваного матеріалу зі спрощенням відбору проби та скороченням часу для постановки діагнозу.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі діагностики вірусних інфекцій великої рогатої худоби шляхом постановки реакції непрямой гемаглютинації (РНГА), реакції непрямой бактеріальної гемаглютинації (РНБА) з досліджуваним матеріалом, згідно корисної моделі, в якості останнього використовують носовий, піхвовий секрет

(13) U

(11) 4286

(19) UA

та сльози з одноразовим відбором на усмоктуючий матеріал проб, з яких відділену прозору рідину використовують в реакціях з визначенням відсутності або наявності антитіл, за титрами яких діагностують стадії перебігу захворювання або циркуляцію вірусу в господарстві.

Використовуючи носовий, піхвовий секрети та сльози для проведення реакцій РНГА, РНБА, відбір проби здійснюється більш простіше і не потребує високої кваліфікації виконуючого в порівнянні з відбором крові.

Відбір проби здійснюють одноразово, що не достатньо при діагностуванні дослідженням крові.

В якості всмоктуючого матеріалу використовують поролон, який має більшу сорбційну ємність в порівнянні з марлею та ватою, а з його пор краще видаляється проба секретів. Виділення прозорої рідини із носового, піхвового секретів і сльози здійснюють відразу після відбору, в той час, як для одержання сироватки крові шляхом відстою необхідний термін від 4-х до 18-ти годин.

Відсутність маніпуляцій з кров'ю, особливо в господарствах, які неблагополучні по лейкозу великої рогатої худоби, не призводить до перезараження тварин, але при цьому дає змогу вивчити епізоотичну ситуацію в цих господарствах щодо інфекційного ринотрахеїту (ІРТ). Діагностування проводять за результатами реакцій, представлених в таблиці 1.

Таблиця 1

Результати реакцій РНГА і РНБА

Реакція	Виявлення антитіл в титрах	Діагноз
РНГА	1:16 - 1:64	Гострий перебіг ІРТ, присутність на слизових оболонках мопозивних антитіл
	1:2 - 1:8	Циркуляція вірусу в господарстві
РНБА	1:32 - 1:256	Гостра інфекція
	1:2 - 1:16	Перебіг хвороби тварин і циркуляція вірусу в господарстві

Приклад конкретного використання.

Спосіб здійснюють наступним чином.

Носовий секрет відбирають з допомогою поролонового тампону, який вводять тварині в один із носових ходів на 4+1,5 хвилин для пропитки - всмоктування. Вийнятий тампон вміщують в стерильну пробірку зі стерильним середовищем № 199 (для культивування культур тканин), з додаванням антибіотиків із розрахунку: пеніцилін - 1000 ОД/см<sup>3</sup>, стрептоміцин 100 мкг/см<sup>3</sup> або антибіотик широкого спектру дії - гентаміцин - 100 мкг/см<sup>3</sup>.

Піхвовий секрет відбирають так само.

Сльози відбирають за допомогою смужок стерильного фільтрованого паперу, прикладаючи їх до роговиці ока або під кон'юнктиву третьої повіки. Промочений сльозою папір також вміщують в стерильні пробірки зі стерильним середовищем і антибіотиками.

Поролоні тампони і папір віджимають за допомогою пінцету і, рідину використовують як матеріал для дослідження.

Мутні секрети центрифугують, щоб одержати прозору рідину, з якою ставлять реакцію непрямой геммаглютинації (РНГА).

Постановку РНГА здійснюють згідно методичних рекомендацій (Вірусные, риккетсиозные и паразитарные болезни: Справочник / Под ред. Б.И. Антонова. - М.: Агропромиздаг, 1987 - с.65-67.) з використанням еритроцитарного діагностикуму для серологічної діагностики інфекційного ринотрахеїту великої рогатої худоби, виготовленого за ТУ 10-19-372-87 Приволзьською біофабрикою.

Облік результатів проводять після отримання чітко виявлених змін в контролях: при осіданні у вигляді чіткого кільця еритроцитарного антигену з негативною сироваткою та розчинником. Попередній облік проводять через 3-4 години, остаточний - через 24 години.

Результати оцінюють в залежності від інтенсивності аглютинації.

Позитивною вважають реакцію, якщо при аглютинації еритроцитів осадок має вигляд добре вираженої із загнутими або рівними краями "парасольки".

Сумнівна реакція - відбулася аглютинація еритроцитів, а осадок має вигляд "парасольки" із слабо вираженим кільцем або чіткого кільця із слабо вираженою "парасолькою".

Реакцію непрямой бактеріальної аглютинації (РНБА) також ставлять для визначення антитіл до вірусу ІРТ в сльозі, носовому та піхвовому секретах. Підготовку їх здійснюють так само, як і для РНГА, і в якості носія вірусу ІРТ у діагностичному препараті використовують стабілізовану культуру бактерій *Staph. albus*. Діагностикум виготовлений за ТУ-46.15.229.97.

Постановку РНБА здійснюють за методикою ІЕКВМ.

Інфекційний ринотрахеїт-пустулезний вульвовагініт (баланопостит) крупного рогатого скота. діагностика, профілактика, мери боротьби (методические рекомендации). - Харьков, 1990 - с. 14-15.)

Облік результатів проводять як і при постановці РНГА і при осадках у вигляді добре виражених "парасольок" з рівними краями реакцію вважають позитивною. Діагностують по таблиці 1.

Таким чином запропонований спосіб діагностики інфекційного ринотрахеїту-пустулезного вульвовагініту за допомогою РНГА та РНБА з використанням носового, піхвового секретів та сльози, як дослідного матеріалу, дозволяє ліквідувати розповсюдження інфекцій через забір крові, зменшити трудомісткість і затрати часу на встановлення діагнозу.