



ГОСУДАРСТВЕННОЕ ПАТЕНТНОЕ
ВЕДОМСТВО

(12) **Описание изобретения** К МАЛОМУ ПАТЕНТУ

1

(21) 2502142

(22) 18.07.2025

(46) Бюл. 229, 2026

(71) Институт ветеринарной медицины Академии

сельскохозяйственных наук Таджикистана (TJ)

(72) Расулов С.А. (TJ); Мукимзода Х.Г. (TJ); Разоков

Ш.И. (TJ); Одинаев К.А. (TJ); Косимов С.М. (TJ);

Раджабов Х.И. (TJ); Манижаи А. (TJ); Давлатов Б.Д.

(TJ)

(73) Институт ветеринарной медицины Академии

сельскохозяйственных наук Таджикистана (TJ)

(54) **СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ БРУЦЕЛЛЁЗА В
МЯСЕ КРУПНОГО И МЕЛКОГО РОГАТОГО
СКОТА**

(56)

1. Бекетов Б.И. Способ выделения возбудителя бруцеллеза вида *brucella melitensis* из патологического материала. Авторское свидетельство SU 1521762 A1, 1989.

2. Веселовский С.Ю. Способ диагностики бруцеллеза с использованием роз-бенгал пробы с мышечной тканью животных, положительно реагирующих на бруцеллез. Патент RU 2792090 C1, 2023.

3. Серегина И.Г., Тищенко П.Я. и др., "Экспресс-диагностика бруцеллёза в мясной продукции методом РБП", Ветеринария, 2014.

4. World Organisation for Animal Health (WOAH/OIE). Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 2023.

(57) Изобретение относится к ветеринарной микробиологии и направлено на достоверное выявление возбудителей бруцеллёза (*Brucella* spp.) в мясе и паренхиматозных органах крупного и мелкого рогатого скота.

2

Целью изобретения является диагностика бруцеллёза, обеспечивающая экспресс-контроль и достоверное выявление *Brucella* spp. в мясе и паренхиматозных органах крупного и мелкого рогатого скота.

Поставленная цель направлена на повышение универсальности, точности и простоты диагностики в лаборатории на рынках, бойнях и пищевых лабораториях, для выделения возбудителя и ДНК заболеваний, бактериологических исследований и ПЦР-анализа.

Сущность изобретения заключается в подготовке биоматериалов путём измельчения мяса из разных частей туша и паренхиматозных органов крупного и мелкого рогатого скота в [гомогенизаторе](#) или блендере с физиологическим раствором размером менее 0,5 мм, с последующей диагностикой, методом РБП (на эмалированной или стеклянной пластинке, чувствительность 96,7%, специфичность 95,2%), бактериологического исследования (рост колоний 88–95%) и при необходимости ПЦР. В лабораториях на рынках и бойнях Таджикистана первичная микроскопия (Грам, Козловский, Шуляк, Шин) не всегда позволяет выявить *Brucella* spp., тогда как РБП служит экспресс-методом, как дополнительный способ к методу микроскопии, и обеспечивает изъятие подозрительного мяса и паренхиматозных органов для дальнейшего анализа в лабораториях с улучшенными условиями (бактериология, ПЦР), что позволяет надёжно выявить и подтвердить инфицированные биоматериалы.

Изобретение относится к ветеринарной микробиологии и направлено на достоверное выявление возбудителей бруцеллёза (*Brucella* spp.) в мясе и паренхиматозных органах крупного и мелкого рогатого скота.

Предложенный способ оптимизирован для исследований, мониторинга зоонозов и экспресс-диагностики в лабораториях на рынках, бойнях, пищевых и мобильных ветеринарных лабораториях Таджикистана.

Известен Способ выделения возбудителя бруцеллеза вида *brucella melitensis* из патологического материала [1]. Данный способ раскрывает выделения *Brucella melitensis* из патологического материала с использованием селективной питательной среды (печёночно-глицериновый или эритроцит-агар) с добавлением оксациллина (0,025–0,1 г/л), полимиксина М сульфата (25000–100000 ед/л) и невидграмона (0,0125–0,05 г/л). Преимущества: селективность, рост колоний 70–85%. Однако недостатками являются длительность процесса 7–12 дней, сложная рецептура среды, отсутствие серологических тестов, а также неуказанные чувствительность и специфичность.

Известен способ диагностики бруцеллеза с использованием роз-бенгал пробы с мышечной тканью животных, положительно реагирующих на бруцеллез [2], описывающий экспресс-метод диагностики бруцеллёза в мышечной ткани коров с использованием РБП в трихинеллёзном компрессориуме. Срезы мышц обрабатываются антигеном РБП, агглютинация оценивается через 2,5–10 минут. Недостатки способа являются зависимость от роз-бенгала пробы (РБП), влияние красного цвета мышечной жидкости на визуальную оценку (даже при увеличении 72–80×), а также снижение интенсивности реакции при хранении мяса и отсутствие бактериологического подтверждения.

В качестве наиболее близкого аналога выбран экспресс-диагностика бруцеллёза в мясной продукции методом РБП [3], раскрывающий выявления бруцеллёза в мышечной ткани (говядина, баранина, свинина, кроличье мясо) основанный на использовании реакции роз-бенгал (РБП) в трихинеллёзном компрессориуме с временем проведения 3–7 минут. Преимущества включают быстроту анализа и возможность применения в полевых условиях.

Однако метод имеет следующие недостатки: роз-бенгал пробы (РБП) может дать ложноположительные результаты при тестировании на вакцинном штамме *Brucella abortus* 82, использование трихинеллёзного компрессориума, предназначенного для выделения личинок трихинелл из срезов мяса, может усложнять диагностику из-за влияния красного цвета мышечной жидкости на визуальную оценку агглютинации, а также метод не обеспечивает бактериологического подтверждения, что снижает его специфичности.

Целью изобретения является диагностика бруцеллёза, обеспечивающая экспресс-контроль и

достоверное выявление *Brucella* spp. в мясе и паренхиматозных органах крупного и мелкого рогатого скота.

Поставленная цель направлена на повышение универсальности, точности и простоты диагностики в лабораториях на рынках, бойнях и пищевых лабораториях, для выделения возбудителя и ДНК заболеваний, бактериологических исследований и ПЦР-анализа.

Сущность изобретения заключается в подготовке биоматериалов путём измельчения мяса из разных частей туша и паренхиматозных органов крупного и мелкого рогатого скота в гомогенизаторе или блендере с физиологическим раствором размером менее 0,5 мм, с последующей диагностикой, методом РБП (на эмалированной или стеклянной пластинке, чувствительность 96,7%, специфичность 95,2%), бактериологического исследования (рост колоний 88–95%) и при необходимости ПЦР. В лабораториях на рынках и бойнях Таджикистана первичная микроскопия (Грам, Козловский, Шуляк, Шин) не всегда позволяет выявить *Brucella* spp., тогда как РБП служит экспресс-методом, как дополнительный способ к методу микроскопии, и обеспечивает изъятие подозрительного мяса и паренхиматозных органов для дальнейшего анализа в лабораториях с улучшенными условиями (бактериология, ПЦР), что позволяет надёжно выявить и подтвердить инфицированные биоматериалы.

Предложенное техническое решение направлено на интеграции РБП (чувствительность 96,7%, специфичность 94,2%) с последующим подтверждением бактериологическими исследованиями (88–95%) и ПЦР (98%) на основе подготовленных образцов (измельчение с физраствором).

Способ осуществляют следующим образом:

Для диагностики биоматериалов, таких как мясо из разных частей туша или паренхиматозные органы (печень, селезёнка, лимфатические узлы и почки) крупного (коровы, быки) и мелкого (овцы, козы) рогатого скота, используют образцы массой 50–100 г. Их помещают в лабораторный гомогенизатор или в блендер мощностью 400–1000 Вт для измельчения размером менее 0,5 мм. К образцам добавляют физиологический раствор (0,9% NaCl) в соотношении 1:1,5–1:3 (ткань: раствор). Обработку проводят в течение 1–2 минут на скорости 8000–20000 об/мин до получения гомогенной суспензии, что обеспечивает доступность антигенов и антител для дальнейшего анализа. Данный способ диагностики подходит для стационарных, пищевых и мобильных ветеринарных лабораторий, а также базовых лабораторий на рынках и бойнях, где первичная микроскопия часто не позволяет выявить возбудителя.

Диагностику начинают с экспресс-теста реакции роз-бенгал (РБП), проводимого на эмалированной или стеклянной пластинке с белой подложкой. На эмалированной пластинке вносят 40 мкл суспензии и 40 мкл окрашенного антигена РБП, выполняя пять повторов одновременно, а на

стеклянной — 100 мкл суспензии и 100 мкл антигена, соответствующего стандартам ОIE.

Для бактериологического анализа 0,5–1 мл суспензии вносят на мясопептонный агар (МПА) с добавлением 5% дефибринированной бараньей крови (рН 7,0–7,6) или на селективные среды, например среду Farrell's. Из каждой суспензии выполняют 2–3 посева. Инкубацию проводят при 37°C в течение 48–72 часов в атмосфере с содержанием CO₂ 4–12% или без CO₂. Вероятность роста колоний составляет 88–95%. При необходимости суспензию и подозрительный материал направляют в лабораторию, оснащённую оборудованием для ПЦР-анализа, где используют праймеры для генов *omp2*, *bcs31* или *IS711* (чувствительность 98%, специфичность 99%).

Контроль качества включает подтверждение стерильности питательных сред путём инкубации при 37°C в течение 72 часов без роста посторонней микрофлоры. Корреляция результатов РБП и бактериологических методов достигает 95%, а ПЦР подтверждает результаты в 98% случаев. Качество измельчения образцов проверяют микроскопически, обеспечивая размер частиц менее 0,5 мм. Блендер стерилизуют 70%-ным этанолом перед использованием. Образцы хранят при 4°C не более 24 часов или с добавлением консерванта (0,01% тиомерсала) для сохранения чувствительности РБП. Этот подход обеспечивает высокую точность диагностики *Brucella spp.* в ветеринарных и пищевых лабораториях, включая базовые условия рынков и боен Таджикистана, минимизируя риск пропуска возбудителя и способствуя своевременному изъятию заражённых материалов.

Способ обеспечивает экспресс-диагностику за 4 минуты с помощью РБП в лабораториях на рынках и бойнях Таджикистана, где первичная микроскопия (Грам, Козловский, Шуляк, Шин) не всегда выявляет *Brucella spp.*, с последующим подтверждением бактериологией и ПЦР в отличие от SU 1521762, где отсутствует экспресс-компонент, и RU 2792090/прототипа. РБП заменяет ненадёжную микроскопию, а бактериология и ПЦР гарантируют

достоверное выявление и подтверждение инфицированного мяса и паренхиматозных органов.

Высокая точность достигается благодаря чувствительности РБП 96,7%, специфичности 95,2%, росту колоний в 90–98% для бактериологии и чувствительности ПЦР 98% со специфичностью 99%. Скорость анализа составляет 4 минуты для РБП и 48–72 часа для полного цикла. Гибкость проявляется в возможности использования РБП в базовых лабораториях на рынках или бойнях Таджикистана, где микроскопия ненадёжна, с последующей отправкой суспензии и материала в лаборатории с улучшенными условиями для бактериологического анализа или ПЦР, что повышает достоверность диагностики.

Способ оптимизирован для крупного и мелкого рогатого скота, но его эффективность для других видов, таких как свиньи или верблюды, требует дополнительной проверки. Результаты зависят от качества измельчения и стерильности, а длительное хранение образцов (более 24 часов) может снизить чувствительность РБП. Для минимизации этих ограничений используют гомогенизатор или блендеры мощностью 400–1000 Вт и скоростью 8,000–20,000 об/мин, стерилизация оборудования 70% этанолом, тестирование на других видах животных, а также хранение образцов при 4°C не более 24 часов или с консервантом (0,01% тиомерсал) для сохранения качества.

Таким образом, предложенный способ обеспечивает более быстрое получение результатов (48–72 часа для полного анализа, экспресс-диагностика с РБП — 4 минуты против 7–12 дней). Подготовка образцов (измельчение до частиц менее 0,5 мм с физразтвором) упрощает процесс за счёт использования блендера вместо сложных сред, а РБП позволяет быстро выявлять подозрительные образцы. Точность выше (РБП: 96,7% чувствительность, 94,2% специфичность; бактериология: 90–98% против 70–85%).

Формула изобретения

Способ диагностики бруцеллёза в мясе крупного и мелкого рогатого скота, включающий проведение роз-бенгал пробы (РБП) с использованием антигена, приготовленного из бруцелл, **отличающийся тем, что,** проводят измельчение биоматериалов (мясо, печень, селезёнка, лимфатические узлы, почки) в количестве 50–100 г в гомогенизаторе или в блендере мощностью 400–1000 Вт до размера частиц менее 0,5 мм, затем в полученную измельченную массу добавляют (0,9% NaCl) в соотношении 1:1,5–1:3 (биоматериал:раствор) перемешивают в течение 1–2

минут до получения гомогенной суспензии, полученную суспензию вносят 40 мкл на тестовую пластинку, затем добавляют 40 мкл антигена РБП, после чего смесь перемешивают в течение 2–3 минут, покачивая пластинку вращательными движениями, параллельно проводят контрольные пробы с позитивной и негативной сыворотками, полученный результат оценивают визуально через 4 минуты - положительная реакция проявляется в виде розовых хлопьев на белом фоне, отрицательная - однородной, равномерно окрашенной смесью.

Компьютерный набор: Газиев М.

Заказ	Тираж	Подписное
Национальный патентно-информационный центр РТ 734042, г. Душанбе, ул. Айни, 14а		