



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
 ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2001127005/12, 04.10.2001

(24) Дата начала действия патента: 04.10.2001

(43) Дата публикации заявки: 27.07.2003

(45) Опубликовано: 20.06.2005 Бюл. № 17

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: SU 1281234 A1, 07.01.1987. SU 1486929 A1, 15.06.1989.

Адрес для переписки:

414056, г.Астрахань, ул. Савушкина, 1, ФГУП,
 "КаспНИРХ"

(72) Автор(ы):

Переварюха Ю.Н. (RU)

(73) Патентообладатель(ли):

Федеральное государственное унитарное
 предприятие "Каспийский научно-
 исследовательский институт рыбного
 хозяйства" (RU)

(54) СПОСОБ ОЦЕНКИ ОБЩЕГО ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ОСЕТРОВЫХ РЫБ

(57) Реферат:

Изобретение относится к ихтиологии и рыбоводству, может быть использовано для оценки общего физиологического состояния осетровых рыб. Используют наличие в крови исследуемых рыб естественного фактора ингибиции активности антител класса М, являющихся основными у осетровых рыб, с последующей регистрацией снижения титров. Реакцию не прямой

гемагглютинации проводят с эритроцитарным сальмонелезным О диагностикумом, а исследуемую сыворотку крови разводят изотоническим раствором хлористого натрия в соотношении 1:20, смешивают с равным количеством тест-сыворотки в разведении 1:20 и инкубируют при 37°С в течение 4-х часов. Способ позволяет оценить общее физиологическое состояние осетровых рыб.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: **2001127005/12, 04.10.2001**

(24) Effective date for property rights: **04.10.2001**

(43) Application published: **27.07.2003**

(45) Date of publication: **20.06.2005 Bull. 17**

Mail address:

**414056, g.Astrakhan', ul. Savushkina, 1,
FGUP, "KaspNIRKh"**

(72) Inventor(s):

Perevarjukha Ju.N. (RU)

(73) Proprietor(s):

**Federal'noe gosudarstvennoe unitarnoe
predpriyatie "Kaspijskij nauchno-
issledovatel'skij institut rybnogo khozjajstva" (RU)**

(54) **METHOD FOR EVALUATING TOTAL PHYSIOLOGICAL STATE IN STURGEON FISH**

(57) Abstract:

FIELD: ichthyology, pisciculture.

SUBSTANCE: one should apply the presence of natural inhibition factor of antibodies M activity in fish blood being the essential in sturgeon fishes followed by registering the decrease in titers. Reaction of indirect hemagglutination should be carried out with an erythrocytic salmonellosis O diagnostic kit, and

one should dilute blood serum with isotonic sodium chloride solution at the ratio of 1:20, mix with equal quantity of test serum at 1:20 dilution to be incubated at 37 C for 4 h. The method enables to evaluate physiological state in sturgeon fishes.

EFFECT: higher efficiency of evaluation.

2 ex

Изобретение относится к ихтиологии и рыбоводству, а именно к способам оценки физиологического состояния осетровых рыб.

Известен способ отбора физиологически полноценных самок севрюги при заводском воспроизводстве путем определения физиолого-биохимических тестов (Металлов Г.Ф., Гераскин П.П., Аксенов В.П. Физиолого-биохимические аспекты оценки рыбоводного качества самок севрюги *Asipenser stellatus* Pall. В кн.: Информационный пакет. Рыбное хозяйство. Серия аквакультура. Аквакультура: проблемы и достижения. М, 1997, вып.7, с.4-14). Применяют тесты, характеризующие красную кровь (концентрация гемоглобина, скорость оседания эритроцитов - СОЭ), белковый обмен (концентрация сывороточного белка и бета-липопротеидов) и жировой обмен (концентрация сывороточных липидов и холестерина). Объективно оценить физиологическое состояние рыб можно, лишь определив все эти показатели. Однако определение нескольких показателей трудоемко и требует достаточно много времени.

Известен способ определения естественного фактора ингибции активности антител (ЕИФ) класса М для выявления вторичного иммунодефицита у людей и наземных животных и, таким образом, оценки состояния их здоровья (Авт. св-во СССР №1486929, МКИ 4 G 01 N 33/53; опуб. в БИН №22, 15.06.89 г.).

Целью изобретения является объективная экспресс оценка физиологического состояния осетровых рыб.

Поставленная цель достигается тем, что в качестве показателя оценки общего физиологического состояния осетровых рыб используют наличие в крови естественного фактора ингибции активности антител класса М, которые являются основными у осетровых рыб. При этом сыворотку крови разводят раствором хлористого натрия в соотношении 1:20 и выдерживают при 37°C в течение 4-х часов.

Способ осуществляется следующим образом.

Постановка производится в полистироловых пластинках системы Такачи или планшетах для проведения иммунологических микрореакций. Исследуемую сыворотку крови осетровых рыб разводят изотоническим раствором хлористого натрия (рН 7,4) в соотношении 1:20. Смесь инкубируют в термостате при 37°C в условиях водяной бани в течение 4-х часов.

После инкубирования из опытной и контрольной смесей готовят двукратные серийные разведения в объеме 50 мкл в изотоническом растворе хлористого натрия, начиная с 1:40 до 1:10240.

В контроле вместо исследуемого материала добавляют изотонический раствор хлористого натрия. Затем осуществляют постановку реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) с эритроцитарным сальмонеллезным О диагностиком по наставлению МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского.

Оценку реакции проводят через 2 часа после инкубации в термостате при 37°C.

Определяют титры агглютининов в опыте и контроле по четырехплюсовой системе во всех разведениях. Подсчитывают суммарный титр реакции опытного и контрольного рядов - общее количество плюсов во всех лунках ряда. Вычисляют индекс ингибирования (ИИ) - отношение суммарного титра контрольного ряда к таковому в опыте. Способ апробирован на опытном материале (сыворотка крови), полученном от 1176 экземпляров осетровых рыб (русского осетра, севрюги, персидского осетра, белуги и стерляди), отловленных в реке Волге, Каспийском море, а также взятых на рыбоводных заводах в период с 1993 по 2000 год.

Пример 1. Задачей эксперимента являлось выяснение возможного влияния реагентов исследуемого материала на результаты РНГА. В качестве исследуемого материала использовали сыворотку крови 100 (50 самок и 50 самцов) практически здоровых особей русского осетра.

Проведенное исследование показало, что сыворотка крови русского осетра в разведении, используемом при постановке реакции, не оказывает ингибирующего действия на антитела тест сыворотки в РНГА. Это заключение сделано на основании того, что

суммарные реакции с сывороткой крови рыб не отличались достоверно от таковых в контроле ($P>0,05$), а ИИ практически во всех случаях были равны 1,00.

5 Основные физиолого-биохимические показатели у подопытных рыб были в пределах нормы, то есть исследуемые рыбы были практически здоровы. Содержание суммарного сывороточного белка находилось в пределах 33,0-34,1 г/л. Концентрация гемоглобина варьировала от 56,0 до 67,0 г/л. Среднее содержание бета-липопротеидов находилось в пределах 241-317 мг. %. Концентрация холестерина варьировала в пределах 71,0-75,0 мг. %. Эти показатели подтверждают правильность вывода, сделанного на основании результатов определения естественного ингибирующего фактора.

10 Пример 2. Диагностика общего физиологического состояния путем определения уровня вторичного иммунодефицита у производителей севрюги при получении зрелой икры в условиях рыбоводного завода. При нарушениях в развитии и созревании оплодотворенной икры, низком проценте оплодотворения и выклева личинок развиваются иммунодефицитные состояния, связанные с функционированием ЕИФ.

15 У рыб недозревших (процент оплодотворения - 60,0; процент выклева личинок - 17,0) и у рыб перезревших (процент оплодотворения не превышал 40,0; процент выклева составил в среднем 14,6) отмечено появление ЕИФ в сыворотке крови по снижению титров агглютинирующей сыворотки. ИИ статистически достоверно были выше ($P<0,001$) таковых у нормально созревших рыб (процент оплодотворения превысил 80,0; процент выклева составил в среднем 54,0).

20 Таким образом, показано, что уровень ЕИФ в сыворотке крови осетровых рыб может быть с успехом использован для отбора производителей при заводском воспроизводстве.

25 Определение ЕИФ в сыворотке крови осетровых рыб с помощью предлагаемого способа позволяет достаточно объективно оценить общее физиологическое состояние рыб за счет чувствительности и объективности диагностики вторичного иммунодефицита, связанного с ингибцией активности антител класса М, на основе выявления ЕИФ в сыворотке крови осетровых рыб.

Формула изобретения

30 Способ оценки общего физиологического состояния осетровых рыб путем определения естественного фактора ингибции активности антител класса М с последующей регистрацией снижения титров антител, в котором реакцию непрямо́й гемагглютинации проводят с эритроцитарным сальмонеллезным О диагностикумом, а исследуемую сыворотку крови разводят изотоническим раствором хлористого натрия, смешивают с равным количеством тест-сыворотки в разведении 1:20 и инкубируют при 37°C, отличающийся тем, что смесь исследуемой сыворотки крови с изотоническим раствором хлористого натрия готовят в соотношении 1:20 и инкубируют в течение 4-х ч.

40

45

50