



УКРАЇНА

(19) UA (11) 60443 (13) U  
(51) МПК (2011.01)  
G01N 33/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ ПОСТАНОВКИ РЕАКЦІЇ ДИФУЗНОЇ ПРЕЦИПІТАЦІЇ

1

2

(21) u201012070

(22) 12.10.2010

(24) 25.06.2011

(46) 25.06.2011, Бюл.№ 12, 2011 р.

(72) КРИВОШИЯ ПАВЛО ЮРІЙОВИЧ

(73) ІНСТИТУТ ЕПІЗООТОЛОГІЇ УААН

(57) Спосіб постановки реакції дифузної преципітації, що включає заливку розтопленого агару в чашки Петрі та його застигання, який відрізняється тим, що в лунки, які виконані в одному шарі агару, вноситься по одній-дві краплі розтопленого агару пастерівською піпеткою.

Корисна модель належить до ветеринарної вірусології, зокрема до способів техніки постановки реакції дифузної преципітації (РДП) при визначенні антитіла чи збудника при інфекційних захворюваннях тварин.

Реакція преципітації в агарі використовується для вивчення складових антигенних сумішей, встановлення загальних антигенів у мікроорганізмах та контролю рівня очистки біологічних препаратів. Суть методу полягає в тому, що в силу різної дисперсності антиген та антитіло за деякий проміжок часу проходять в агарі різну відстань створюючи при цьому поступове зменшення концентрації. При зустрічі відповідного антигена та антитіла в зоні оптимальних концентрацій утворюється видима простим оком біла лінія преципітата.

Загальноприйнятою технікою постановки РДП є використання чашок Петрі, в які наливають розтоплений агар. Після застигання агару та встановлення матриксів в чашку наливають ще один шар агару та при застиганні другого шару агару матрикси обережно виймають, щоб не пошкодити поверхню агару. Утворені в агарі лунки заповнюють досліджуваним антигеном, сироваткою чи плазмою крові (Лабинская. А.С. Микробиология с техникой микробиологических исследований. Изд. 4-е, перераб.и доп. - М.: «Медицина», 1978. - 394с). Автор підкреслює, що недопустимо, щоб дном лунки була скляна поверхня дна чашки Петрі, так як антиген розтікається між склом та шаром агару.

Інші автори пропонують також для постановки реакції дифузної преципітації використання чашок Петрі з агаром. Відмінністю є те, що для створення лунок використовують лише один шар агару та розташовують лунки таким чином: одну в центрі, інші навколо неї на деякій відстані. У центральну лунку вносять вірус, а в інші різні видоспецифічні сироватки або ж ту саму сироватку в різній концен-

трації. На межі специфічного антигену та антитіла утворюється одна або декілька ліній преципітації (Коляков Я.Е., Козловский Е.В., Гительсон С.С. Практикум по вирусологии. - М.: изд-во «Колос», 1967. - 103 с), Руководство по лабораторной диагностике вирусных и риккетсиозных болезней. Под ред. П.Ф. Здродовского та М.И. Соколова - М.: изд. «Медицина», 1965. - 591 с).

Недоліком цих способів по техніці постановки РДП є те, що необхідно в першому варіанті, який пропонують автори, додатковий шар агару з встановленням пробійників, а в другому варіанті лунку роблять в агарі, де дном є скло без агару, що дає можливість підтіканню досліджуваної рідини під агар. Ці способи є трудоемкими та витратними.

В основу корисної моделі, що передбачається, поставлено задачу розробити спосіб техніки постановки реакції дифузної преципітації, що включає заливку розтопленого агару в чашки Петрі та його застигання. Для створення лунок немає потреби в пробійниках та в додатковому шарі агарі, а лунки, які виконані в одному шарі агару вносяться по одній - дві краплі розтопленого агару пастерівською піпеткою.

Спосіб виконується таким чином: в чашки Петрі діаметром 100 мм вносять шар (15мл охолодженого до 60°C 1%-ного розчину агару), виготовленого на боратному буфері. Після застигання агару спеціальним штампом вирізають лунки - одну в центрі і 6 навкруги. Відстань між лунками повинна становити 3 мм, діаметр кожної лунки - 7 мм. На дно лунок додають по каплі розтопленого агару пастерівською піпеткою, який рівномірно розтікається по дну лунки і поступово застигає створюючи додатковий шар агару, що перешкоджає підтіканню рідини під агар. Реакцію проводять при кімнатній температурі у вологій камері. Результати реакції читають на темному фоні під

(13) U  
(11) 60443  
(19) UA

освітленням через 24, 48, 72 години після постановки і реєструють у спеціальному журналі.

Принцип заповнення лунок в агарі при визначенні активності та специфічності серій антигену і можливі варіанти результатів реакції показані на схемі (креслення).

Запропонований спосіб виконання реакції дифузної приципітації дозволяє скоротити витрати агару для створення додаткового шару та спрощує трудомісткість процесу і може використовуватися при постановці РДП в серологічних дослідженнях з діагностики інфекційних захворювань тварин.

