



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **107706** (13) **U**  
(51) МПК

**G01N 33/48** (2006.01)

**G01N 33/536** (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

<b>(21)</b> Номер заявки: <b>u 2015 11052</b>	<b>(72)</b> Винахідник(и): <b>Галатюк Олександр Євстафійович (UA), Кривда Марина Іванівна (UA)</b>
<b>(22)</b> Дата подання заявки: <b>12.11.2015</b>	<b>(73)</b> Власник(и): <b>Галатюк Олександр Євстафійович, вул. Домбровського, 58А, кв. 4, м. Житомир, 10000 (UA), Кривда Марина Іванівна, вул. І. Огієнка, 14, кв. 34, м. Житомир, 10009 (UA)</b>
<b>(24)</b> Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>24.06.2016</b>	
<b>(46)</b> Публікація відомостей про видачу патенту: <b>24.06.2016, Бюл.№ 12</b>	

**(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ТИТРІВ АНТИТІЛ В СИРОВАТКАХ КРОВІ КОНЕЙ ДО РЕЗИДЕНТНОЇ МІКРОФЛОРИ СТАТЕВИХ ШЛЯХІВ КОБИЛ В РЕАКЦІЇ МІКРОАГЛЮТИНАЦІЇ**

**(57) Реферат:**

Спосіб постановки реакції мікроаглютинації з бактеріальними корпускулярними антигенами та сироватками крові досліджуваних тварин. Як буферний розчинник використовують 7,5%-й розчин NaCl; зменшують пропорцію діагностикумів, а реакцію проводять в 96-луночних полістиролових мікропланшетах.

UA 107706 U



Корисна модель належить до лабораторно-діагностичної галузі, зокрема до методики постановки реакції аглютинації для діагностичних потреб з метою визначення титру антитіл до резидентної мікрофлори статевих шляхів кобил в сироватці крові коней.

Відомий спосіб постановки реакції аглютинації з бактеріальними корпускулярними антигенами та сироватками крові піддослідних тварин з метою визначення концентрації антитіл до досліджуваного мікроорганізму передбачає роботу за такою методикою. Для початку у першу лунку полістиролового 72-лункового планшету вносять 0,1 см<sup>3</sup> 0,9 %-го фізіологічного розчину натрію хлориду (NaCl), а в інші 5 лунок - по 0,05 см<sup>3</sup> 0,9 %-го розчину NaCl.

Далі в першу лунку додають 0,004 см<sup>3</sup> сироватки крові досліджуваної тварини. Після цього послідовно переносять по 0,05 см<sup>3</sup> до шостої лунки, а з шостої - в дезрозчин - 5 %-й розчин хлораміну. При цьому отримується розведення сироватки крові тварини від 1:25 до 1:800.

Наступним етапом є внесення стандартизованого антигенного матеріалу відповідної оптичної густини. Стандартизація проводиться на фотоелектрокалориметрі, довжина хвилі - 400, кювета λ 10. Для антигенів із культур споротворюючих паличок оптична щільність повинна бути на рівні 0,6 - 0,7; а для бактеріальних неспоротворюючих ізолятів - 0,9. Це обумовлено величиною клітини мікроорганізму: чим більший розмір клітини, тим меншою повинна бути оптична щільність готової суспензії. За стандартною методикою в кожну лунку додають по 0,05 см<sup>3</sup> стандартизованого антигену.

Далі суміш антигенів та сироваток крові тварин витримують впродовж 30 хв. за кімнатної температури (18-20° С), після чого поміщають на 14-16 годин в термостат (t - 35-37° С).

Облік результатів реакції проводять візуально, визначаючи лунку з розведенням, в якій випадає осад у формі парасольки. Титр антитіл до випробуваного антигену відповідає розведенню сироватки крові тварин.

Обов'язковою умовою виконання даного виду дослідження є постановка двох контролів: якості сироватки (до 0,05 см<sup>3</sup> фізрозчину додають 0,05 см<sup>3</sup> сироватки крові, позитивний контроль при відсутності осаду) та виготовлених антигенів (до 0,05 см<sup>3</sup> фізрозчину додають 0,05 см<sup>3</sup> антигенної суспензії, позитивний контроль - осад у вигляді гудзика).

Наявність позитивних контролів свідчить про відсутність перехресних реакцій та про задовільну якість сироватки та антигенної суспензії (Галатюк О. Є. Інфекційна анемія та ринопневмонія коней (теоретичне та експериментальне обґрунтування засобів діагностики і профілактики): дис. ... д-ра вет. наук: 8.130.501 / Олександр Євстафійович Галатюк. - К., 2000. - 485 с.).

Але цей спосіб постановки описаної діагностичної реакції має основний недолік: складність обліку результатів реакції.

В основу корисної моделі поставлено задачу полегшення обліку результатів та оптимізації процесу діагностики.

Поставлена задача вирішується шляхом підбору оптимальної частки натрію хлориду у розчині (концентрації) та зменшених пропорцій діагностикумів для полістиролових 96-лункових мікропланшетів.

З метою оптимізації процесу визначення титру антитіл в сироватках крові було внесено ряд коректив до класичної методики. Експериментальним шляхом визначено оптимальну концентрацію розчину натрію хлориду для утворення більш щільного осаду. Це досягається використанням 7,5 %-го розчину NaCl. За модифікованим способом постановки реакції мікроаглютинації в першу лунку мікропіпеткою додають 0,05 см<sup>3</sup> розчину NaCl, а в наступні п'ять лунок по 0,025 см<sup>3</sup>.

Після цього в першу лунку вносять 0,002 см<sup>3</sup> сироватки крові, отримуючи розведення 1:25, а далі послідовно переносять по 0,025 см<sup>3</sup> до шостої лунки, з якої зливають 0,025 см<sup>3</sup> у дезрозчин (5 %-й розчин хлораміну). В шостій лунці отримується розведення 1:800. Наступним кроком додають по 0,025 см<sup>3</sup> антигенної суспензії в кожну лунку.

Обов'язковим залишається постановка двох контролів: для сироватки крові (0,025 см<sup>3</sup> 7,5 %-го розчину NaCl та 0,025 см<sup>3</sup> сироватки крові); для антигенної суспензії (0,025 см<sup>3</sup> 7,5 %-го розчину NaCl та 0,025 см<sup>3</sup> антигенної суспензії).

Планшети, прикриті кришками, витримують 30 хв. за кімнатної температури (18-20° С) та 14 годин - в термостаті (t - 35-37° С). Облік результатів проводиться класично: шляхом виявлення першої лунки з "парасолькою".

Модифікована схема постановки РА має ряд переваг.

Полегшується облік результатів внаслідок утворення більш чіткого та щільного осаду на дні лунок.

На 96-луночному планшеті є змога дослідити більшу кількість досліджуваних зразків сироваток крові.

Досягається економія як сироваток крові, так і антигенних діагностикумів.  
Внесені модифікації дозволяють полегшити облік результатів реакції та оптимізувати процес дослідження.

5

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб визначення титрів антитіл в сироватках крові коней до резидентної мікрофлори статевих шляхів кобил в реакції мікроаглютинації, який **відрізняється** тим, що як буферний розчинник використовують 7,5 %-й розчин NaCl; зменшують пропорцію діагностикумів, а реакцію проводять в 96-луночних полістиролових мікропланшетах.

10

---

Комп'ютерна верстка О. Гергіль

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601