

Настоящая общая фармакопейная статья распространяется на метод, используемый для определения подлинности (видоспецифичности) лекарственных препаратов.

Принцип метода иммунодиффузии в геле заключается в том, что в результате реакции антигена с антителом, взятых в эквивалентном соотношении образуется преципитат в виде линий преципитации.

Подлинность (видоспецифичность) подтверждается образованием линии преципитации с антигенами сыворотки, содержащей только видоспецифичные белки (например, при подтверждении видоспецифичности препаратов крови человека с сывороткой, преципитирующей белки крови человека).

## Проведение испытания

Обработанную спиртом стеклянную пластину размером 26×75 мм или 90×120 мм или стеклянную чашку Петри диаметром 100 мм (в соответствии с указаниями нормативной документации) помещают строго горизонтально на предметный столик. Расплавленный агар (температура  $(50 \pm 5)^\circ\text{C}$ ) наносят на стеклянную пластину (или стеклянную чашку Петри) в количестве, достаточном для формирования слоя толщиной 2,4-2,6 мм (например, на стекло размером 26×75 мм необходимо нанести 5,5-6,0 мл). Стеклянную пластину (или стеклянную чашку Петри) на 30-40 мин помещают во влажную камеру эксикатора с небольшим количеством воды для застывания агара.

В застывшем агаровом геле по трафарету готовят лунки для реагентов (рис. 1), используя трубки-пробойники, изготовленные из латуни или нержавеющей стали, с заточенным концом со стороны внутреннего диаметра (2-3 мм) или используют стандартные штампы. Расстояние между внешними краями лунок должно быть равно 5-6 мм. Агаровые пробки из лунок аккуратно удаляют с помощью поперечно-срезанной пастеровской пипетки, не допуская отслаивания геля от стекла.

Лунки заполняют образцами в соответствии со схемой (рис. 1) в объеме, не превышающем объем лунки (объем вносимых образцов указывают в нормативной документации).

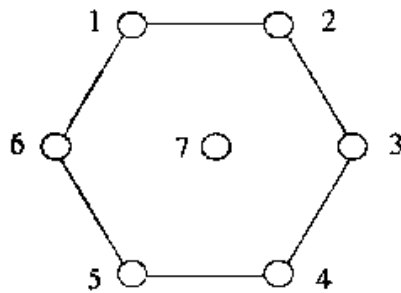


Рисунок 1– Схема нанесения реагентов

1 – сыворотка, преципитирующая видоспецифичные белки (например, белки крови человека при подтверждении видоспецифичности препаратов крови человека);

2 – стандартный реагент (например, контрольная сыворотка крови человека при подтверждении видоспецифичности препаратов крови человека);

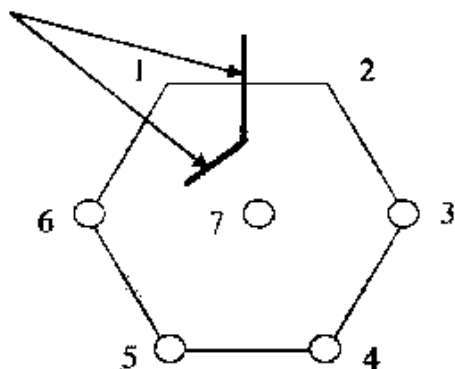
3,4,6 – сыворотки, преципитирующие иные белки (например, белки крови лошади, свиньи, крупного рогатого скота при подтверждении видоспецифичности препаратов крови человека);

5 – отрицательный контроль (0,9 % раствор натрия хлорида);

7 – исследуемый препарат.

Стеклянную пластину (или стеклянную чашку Петри) с агаровым гелем помещают во влажную камеру и выдерживают при комнатной температуре в течение 24 ч или при температуре  $(5 \pm 3)^\circ\text{C}$  в течение 48 ч.

Учет результатов проводят визуально путем выявления линий преципитации. Подтверждением специфичности иммунодиффузии является наличие линии преципитации стандартного реагента и соответствующей сыворотки, преципитирующей видоспецифичные белки. Например, при подтверждении видоспецифичности препаратов крови человека должны выявляться линии преципитации сыворотки, преципитирующей белки крови человека, с исследуемым препаратом и с контрольной сывороткой крови человека (рис. 2).



**Рисунок 2– Учет полученных результатов при подтверждении видоспецифичности препаратов крови человека**

- 1 – сыворотка, преципитирующая белки крови человека;
- 2 – контрольная сыворотка крови человека (стандартный реагент);
- 3 – сыворотка, преципитирующая белки крови лошади;
- 4 – сыворотка, преципитирующая белки крови свиньи;
- 5 – отрицательный контроль (0,9 % раствор натрия хлорида);
- 6 – сыворотка, преципитирующая белки крови крупного рогатого скота;
- 7 – исследуемый препарат.

#### **Примечание**

##### 1. Приготовление агарового геля

В химический стакан вместимостью 1000 мл вносят 12,5 г агара, добавляют 500 мл 0,9% раствора натрия хлорида и оставляют для набухания геля в течение 1 ч при комнатной температуре. Стакан с содержимым помещают в кипящую водяную баню и выдерживают до полного расплавления агара. Объем раствора геля доводят 0,9% раствором натрия хлорида до метки и перемешивают. Раствор агара фильтруют через марлю (2-3 слоя) и разливают во флаконы. Расплавленный агар должен быть прозрачным.

Срок годности охлажденного агарового геля 1 мес при температуре хранения  $(5 \pm 3)^\circ\text{C}$ .

Допустимо применение агарового геля иного состава в соответствии с указаниями в нормативной документации.