

⁽¹²⁾ **DESCRIEREA INVENȚIEI**

(21) Cerere de brevet nr: 80575
(22) Data înregistrării: 22.11.1974
(61) Complementară la invenția
brevet nr:
(45) Data publicării: 28.06.2002

(51) Int.Cl.⁷: A 61 K 39/00

(86) Cerere internațională(PCT)
nr.: data:
(87) Publicarea cererii internaționale
nr.: data:
(89)

(30) Prioritate:
(32) Data:
(33) Țara:
(31) Certificat nr.

(71) Solicitant: CHIȘIU ȘT. NICOLAE, BUCUREȘTI, RO; MAN MARIAN, ȘIMLEU SILVANIEI, JUDEȚUL SĂLAJ, RO; PUȘCAȘ IOAN, ȘIMLEU SILVANIEI, JUDEȚUL SĂLAJ, RO; DUMA ION, ȘIMLEU SILVANIEI, JUDEȚUL SĂLAJ, RO; CHIȘ ȘT. DOMIȚIAN, COMUNA BĂDĂCIN, JUDEȚUL SĂLAJ, RO; CHIȘ ȘT. IOAN, COMUNA BĂDĂCIN, JUDEȚUL SĂLAJ, RO

(73) Titular: ÎNȚEPRINDEREA DE INDUSTRIE LOCALĂ, ȘIMLEU SILVANIEI, JUDEȚUL SĂLAJ, RO

(72) Inventator: CHIȘIU ȘT. NICOLAE, BUCUREȘTI, RO; MAN ȘT. MARIAN, ȘIMLEU SILVANIEI, JUDEȚUL SĂLAJ, RO; PUȘCAȘ IOAN, ȘIMLEU SILVANIEI, JUDEȚUL SĂLAJ, RO; DUMA ION, ȘIMLEU SILVANIEI, JUDEȚUL SĂLAJ, RO; CHIȘ ȘT. DOMIȚIAN, COMUNA BĂDĂCIN, JUDEȚUL SĂLAJ, RO; CHIȘ ȘT. IOAN, ȘIMLEU SILVANIEI, JUDEȚUL SĂLAJ, RO

(54) **PROCEDEU DE OBTINERE A UNUI PRODUS ANALOG
ANTICORPILOR IgG**

(57) **Rezumat:** Invenția se referă la un procedeu de obținere a unui reactiv imunochimic destinat identificării și dozării imunoglobulinelor serice IgG umane și de la alte specii animale. Procedeu conform invenției constă în aceea că folosește ca materie primă sămburi de struguri, care se usucă în

curent de aer cald, se macină, se supun extracției cu o soluție tampon de veronal - veronal sodic, după care extractul obținut se centrifughează, supernatantul se precipită în alcool etilic de 50°, iar precipitatul se resolubilizează în soluție tampon veronal - veronal sodic.

Invenția se față se referă la un procedeu de obținere a unui reactiv imunochimic destinat identificării și dozării imunoglobulinelor serice IgG umane și de la alte specii animale.

În prezent, în scopul identificării și dozării imunoglobulinelor de la om și animale, se folosesc seruri monospecifice. Aceste seruri se obțin prin hiperimunizarea unor animale potrivite pentru acest scop, care sunt hiperimunizate cu antigenul respectiv după o anumită schemă, sângerarea animalelor făcându-se când s-a obținut un titru de anticorpi corespunzător.

Deoarece în diferite afecțiuni virale și bacteriene umane și animale, imunoglobulinele normale - γ globulinele polivalente - suferă modificări mari din punct de vedere cantitativ, determinarea lor oferă un spectru larg de indicații în scopul punerii diagnosticului. Folosirea ca reactivi a serurilor animale monospecifice prezintă dezavantaje, datorită faptului că acești reactivi sunt scumpi, specifici speciei, iar procedeul lor de obținere este lung și laborios.

Invenția de față elimină dezavantajele arătate mai sus prin aceea că, în scopul detectării și determinării cantitative a imunoglobulinei G (IgG) la om și animale, folosește un reactiv obținut prin extragere din sămburii de struguri izolați, uscați și măcinați, extracția făcându-se cu ajutorul unei soluții tampon de veronal - veronal sodic (ester dietilmalonic al acidului barbituric - sarea sodică a esterului dietil malonic al acidului barbituric), după care extractul obținut se centrifughează, supernatantul se precipită cu alcool etilic de 50°, iar precipitatul se resolubilizează în soluție tampon veronal - veronal sodic.

Se dă, în continuare, un exemplu de realizare a invenției.

Sămburi de struguri, proveniți de la tesuire în procesul de vinificare, se supun izolării pe sită sub curent de apă și

pasaj cu perie aspră. În continuare, sămburii se supun uscării sub curent de aer cald la temperatura de 80°C, apoi, sunt aduși sub formă de făină prin măcinare într-o moară cu ciocănele. În vederea extragerii reactivului, făina de sămburi se încarcă într-un extractor prevăzut cu mijloace de agitare și se toarnă soluție tampon veronal - veronal sodic cu pH=8,6, cu tărnia ionică între 0,05 și 0,025, folosind pentru fiecare gram de făină de la 5 la 20 ml soluție tampon. După extracție, reziduul solubil se sedimentează ușor sau este separat prin centrifugare. Reziduul se supune la încă 2...3 extracții efectuate în aceleași condiții ca extracția anterioară. Supernatantele obținute se amestecă și reprezintă reactivul brut, lichid de culoare galbenă-cărămizie.

Pentru extragerea componentelor chimice active din reactivul brut, se face precipitarea în alcool etilic de 50°C. Fazele sunt separate prin centrifugare ori prin sedimentare liberă, iar depozitul se resolubilizează în tampon veronal - veronal sodic cu pH=8,6, în condițiile de la extracții. Se obține, astfel, reactivul sub formă pură, care se poate aduce la o concentrație anumită, standard.

Reactivul prezintă următoarele caracteristici: migrează electroforetic atât în gel de agar, cât și în gel de agaroză, la pH=8,6, în tampon veronal - veronal sodic, spre anod, precipită selectiv imunoglobulinele G serice, după separarea electroforetică a acestora, ca în imuno-electroforeza cu seruri imune monospecifice, dând reacții specifice de precipitare, de altă natură decât precipitățile prin cuplaj antigen-anticorp, nu precipită imunoglobulinele serice din clasa IgA și IgM și indică unele modificări patologice din molecula de IgG, la bolnavi cu hiperproducție clonală de IgA; reactivul poate fi folosit în oricare din tehnicile imunochimice curente, imuno-electroforeză, imuno-electroprecipitare, dublă difuzie. Pentru analizele cantitative de

imunoglobuline umane și de alte specii, reactivul poate fi inclus la cald în gel de agar ca pentru realizarea plăcilor cu anticorpi. În acest caz, se obțin precipitări electroforetice cu o singură migrare, sub formă de rachetă catodică, sau în dublă migrare.

Reactivul obținut, conform invenției, poate fi folosit pentru identificarea și dozarea unor componente proteinice, extracte din vegetale, semințe de mere și de alte fructe.

Invenția prezintă următoarele avantaje:

- realizează un reactiv nou anti IgG fără limitare de specie de utilizare largă în biologia și clinica umană, în biologia și clinica veterinară, în biologia vegetală și industria alimentară, pentru identificarea,

dozarea și semnalarea modificărilor patologice a imunoglobulinelor G utilă în scopuri diagnostice și de cercetare.

Revendicare

Procedeu de obținere a unui reactiv imunochimic destinat identificării și dozării imunoglobulinelor serice IgG umane și de la alte specii animale, **caracterizat prin aceea că** folosește ca materie primă sămburi de struguri care se usucă în curent de aer cald, se macină, se supun extracției cu o soluție tampon de veronal - veronal sodic, după care extractul obținut se centrifughează, supernatantul se precipită în alcool etilic de 50°C, iar precipitatul se resolubilizează în soluție tampon veronal - veronal sodic.

(56) Referințe bibliografice:

CBI FR 2093840; 2158810;

V. Gheție și V. Micușan, *Analiza imunochimică*, București, 1966.

V. Kondi ș.a., *Derivatele de sânge utilizate în terapeutică*, București, 1970.

Președintele comisiei de invenții: **chim. Tenea Georgeta**

Examinator: **farm. Corici Aurica**

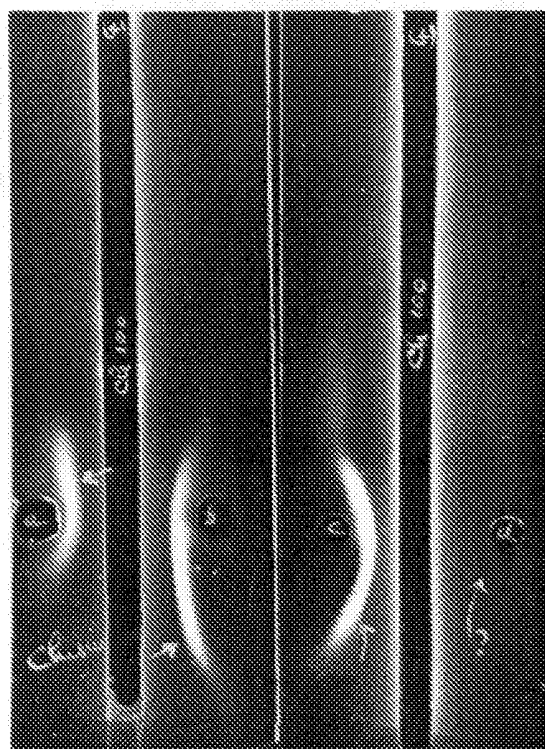


Fig. 1

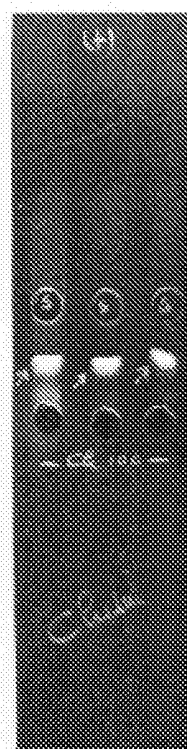


Fig. 2

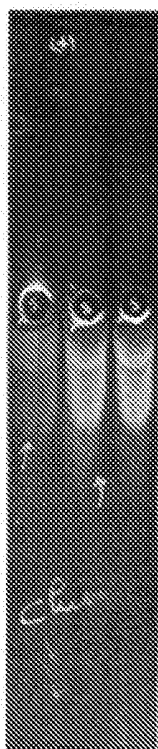


Fig. 3

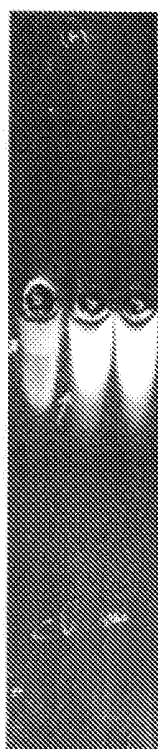


Fig. 4

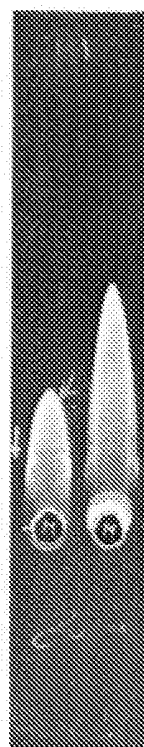


Fig. 5

