



Patent tymczasowy dodatkowy
do patentu nr

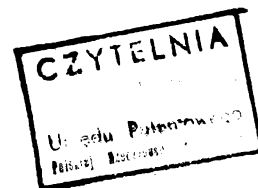
Int. Cl.³ A61K 39/395

Zgłoszono: 21.10.78 (P. 210428)

Pierwszeństwo:

Zgłoszenie ogłoszono: 27.08.79

Opis patentowy opublikowano: 30.09.1982



Twórcy wynalazku: Sław Polak, Zofia Marzec, Kazimierz Ławniczak

Uprawniony z patentu tymczasowego: Wojewódzka Stacja Krwiodawstwa,
Katowice (Polska)

Sposób wytwarzania szczepionki do immunizowania zwierząt globulinami ludzkimi

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania szczepionki do immunizowania zwierząt globulinami ludzkimi celem uzyskania poliwalentnej surowicy antyglobulinowej znajdującej zastosowanie do odczynu antyglobulinowego Coombsa, w wykrywaniu swoistych niekompletnych przeciwciał zaabsorbowanych na krwinkach.

Dotychczasowy sposób immunizowania zwierząt polegał na wstrzykiwaniu królikom, kozom i owcom ludzkich surowic o wysokim mianie alloprzeciwciał anty-A i anty-B, względnie wyizolowanych z surowicy ludzkiej globulin. Sposoby te opisane są w książce pt.: „Przepisy dla Stacji i Punktów Krwiodawstwa dotyczące wytwarzania krwi i preparatów krwiopochodnych” PZWL Warszawa 1974 r.

Stosując dotychczasowe sposoby immunizacji nie udało się uzyskać poliwalentnej surowicy antyglobulinowej konia.

Celem wynalazku jest uzyskanie szczepionki, która w procesie immunizacji koni umożliwi otrzymanie surowicy odpornościowej, zawierającej przeciwciała antyglobulinowe poliwalentne i wysoce aktywne.

W sposobie według wynalazku surowicę odpornościową końską miesza się z równą objętością ludzkiej surowicy i inkubuje się w temp. +37°C przez 2 godziny, następnie w temp. +4°C przez 24 godziny. Po odwirowaniu otrzymany osad (kompleks — antygen — przeciwciała) zawiesza się w roztworze 0,15 M NaCl i ogrzewa w temp. +80°C przez 10 minut. Tak przygotowaną szczepionkę stosuje się do szczepienia koni dotychczas nie immunizowanych.

Otrzymana surowica odpornościowa w wyniku szczepienia koni wyżej opisaną szczepionką, po inaktywacji w +56°C przez 1 godzinę — może być przechowywana w temp. —20°C przez kilka lat.

Przykład. Na kolumnie Sephadexu G 200 wyizolowano z surowicy ludzkiej białko o ciężarze cząsteczkowym większym od 200 000 a na Sephadexie DEAE — A 50 wyizolowano z surowicy ludzkiej immunoglobuliny klasy G. Uzyskanymi — jak wyżej — frakcjami białkowymi szczepiono konie domięśniowo wprowadzając w jednym wstrzyknięciu około 50 mg białka z 10 ml kompletnego adjuwentu Freund'a.

Przeprowadzono 3 cykle szczepień po 5 iniekcji wykonywanych w odstępach tygodniowych na każdy cykl szczepień. Przerwa pomiędzy poszczególnymi cyklami szczepień wynosiła 2 tygodnie. W powyższy sposób otrzymano surowicę odpornościową przeciw globulinom ludzkim. Surowicę tę mieszało się z równą objętością ludzkiej surowicy i inkubowano w temp. +37°C przez 2 godz., następnie w temp. +4°C przez 24 godziny. Po odwirowaniu otrzymany osad zawieszano w roztworze 0,15 M NaCl i ogrzewano w temp. +80°C przez 10 minut.

Przygotowaną powyższym sposobem szczepionkę wstrzykiwano koniom domięśniowo w ilości ok. 20 mg białka na jedną injekcję z 10 ml kompletnego adjuwantu Freund'a. Przeprowadzono 5 cykli szczepień po 4 injekcje na cykl, podawane w odstępach tygodniowych i 10 cykli po 2 injekcje. Przerwa pomiędzy cyklami szczepień wynosiła 2 tygodnie.

Po immunizacji przeprowadzonej powyższym sposobem uzyskano końską swoistą, poliwalentną surowicę antyglobulinową, wysoce aktywną, która w rozcieńczeniu od 1:80 do 1:120 daje wyraźne reakcje serologiczne z krwinkami opłaszczonymi przeciwciałami dla układu Rh, Kell, Cellano, Le, Fy, Jk i s.

Zastrzeżenie patentowe

Sposób wytwarzania szczepionki do immunizowania zwierząt, zwłaszcza koni, **znamienny tym**, że surowicę odpornościową końską miesza się z surowicą ludzką w stosunku 1:1 i inkubuje w temperaturze 4°C przez 24 h, po czym otrzymany precypitat odwirowuje się i zawiesza w roztworze 0,15 M NaCl i ogrzewa w temperaturze 80°C przez 10 minut.