



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY  
A OBJEVY

# POPIS VYNÁLEZU

## K AUTORSKÉMU OSVEDČENÍU

196 961

(11) (B1)

(61)

(23) Výstavná priorita

(22) Prihlášené

20 01 78

(21) PV 392-78

(51) Int. Cl. A 61 K 35/66

(40) Zverejnené

31 07 79

(45) Vydané

01 3 82

(75)

Autor vynálezu

HRBKA AUGUSTÍN MUDR., CSc., PREŠOV

(54)

spôsob prípravy diagnostického antigénu pre reakciu väzby komplementu  
z mycoplazmami

1

vynález rieši spôsob prípravy diagnostického antigénu z mycoplazmami pre reakciu väzby komplementu, ktorým sa má diagnostikovať ochorenie mycoplazmami.

Na prípravu antigénu sa použilo značné množstvo metód. Card /1959/ pripravil antigén tak, že mycoplazmu vyrastenú v tekutom médiu scentrifugoval ultracentrifúgou a sediment resuspendoval. Nie každé sérum však reagovalo s týmto antigénom. Chanock a spol./1962/ pripravili antigén pridaním fenolu do mycoplazmami v tekutom médiu. Fenol znížil antikomplementaritu a zvýšil špecificitu. Antigén bol však málo účinný. Taylor - Robinson a spol. /1963/ a Lemcke /1964/ sa snažili pripraviť účinnejší antigén tak, že mycoplazmy koncentrovali 40 násobne. Aby sa zvýšila špecificita a účinnosť, Kenny a Grayton /1965/ vypracovali metódu na podklade chloroform - metanolovej extrakcie. Je to metóda hodne náročná na prácu i chemikálie. Ďalšia použitá metodika /Somerson a spol. 1967/ spočíva v tom, že mycoplazmy, ktoré sa uchytili na skle v Roux fľaši, sa prepláchnu fyziologickým roztokom, a potom zoškrabú alebo uvoľnia trypsínom zo skla a resuspendujú. Podľa literárnych údajov tento typ antigénu, opracovaný ešte metódou chloroform - metanolovou, má byť najkvalitnejší. Všetky tieto postupy sú buď veľmi pracné, málo ekonomické alebo dávajú málo potentný antigén.

Vyššie uvedené nedostatky sú odstránené postupom prípravy podľa vynálezu, ktorého podstatou je, že k suspenzii mycoplazmami, vyrasteným v tekutej pôde sa pridá alkohol a éter. Po zhluknutí mycoplazmami a vyextrahovaní antikomplementárnej lipidovej zložky mycoplazmami sa zmes scentrifuguje, sediment vysuší a resuspenduje. Keď sa z tejto suspenzie odstráni

196 981

väčšie korpuskulárne častice centrifugáciou alebo filtráciou, získa sa antigén.

Táto metóda je veľmi rentabilná z hľadiska produkcie, pretože takto sa obdrží kvalitný antigén, ktorého množstvo predstavuje minimálne 1/3 množstva tekutej kultúry. Definitívne riedenie mycoplazmiem sa robí podľa titra antigénu. V porovnaní s metódami popísanými v literatúre, ktorými sa obdrží 1/20 až 1/100 množstva tekutej kultúry je to metodika veľmi ekonomická.

#### Príklad:

K vyrastenej suspenzii mycoplazmiem sa pridá alkohol do koncentrácie 30 %. Zmes alkoholu a média s mycoplazmami sa nechá pri +4°C cez noc a ráno sa pridá k tejto suspenzii éter do koncentrácie 15 %. Keď sa tato suspenzia centrifuguje pri 2 000 g po dobu 1 hodiny, obdrží sa sediment, ktorý obsahuje celý mycoplazmový antigén. V supernatante ostáva nežiadúci balast. Zbytky alkoholu a éteru sa odstránia zo sedimentu sušením do vákuu. Resuspenziou sedimentu sa získa antigén. Aby sa odstránili z tohoto antigénu korpuskulárne častice, ktoré zvyšujú antikomplementaritu antigénu, scentrifuguje sa táto suspenzia pri 2 000 g po dobu 1 hodiny. Obdržaný supernatant obsahuje antigén pre väzbu komplementu.

#### P R E D M E T V Y N Á L E Z U

Spôsob prípravy diagnostického antigénu pre reakciu väzby komplementu z mycoplazmiem, vyznačujúci sa tým, že k suspenzii mycoplazmiem sa pridá alkohol a éter, mycoplazmy sa scentrifugujú a po resuspendovaní sa z nich odstránia korpuskulárne častice centrifugáciou alebo filtráciou.