

(19) HU

MAGYAR  
NÉPKÖZTÁRSASÁG



ORSZÁGOS  
TALÁLMÁNYI  
HIVATAL

# SZABADALMI LEÍRÁS

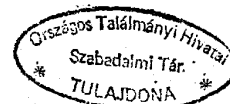
(11)  
**196 263 B**

Nemzetközi  
osztályjelzet:  
(51) NSZO<sub>4</sub>

G O I N 33/53

(22) A bejelentés napja: 85. 09. 05. (21) 3355/85  
A bejelentés elsőbbsége:  
(33) GB  
(32) 84. 09. 06 85. 07. 10  
(31) (8422512), (8517477)

(41) (42) Közzététel napja: 86. 06. 30.  
(45) A leírás megjelent: 89. 07. 26.



Feltaláló(k): (72)

HADFIELD Susan Gay. NORRINGTON Franklin Edward Anthony. Beckenham. Kent. Gb

Szabadalmaz: (73)

The Wellcome Foundation Ltd., London. Gb

(54)

## DIAGNOSZTIKAI ELJÁRÁS ÉS KÉSZÍTMÉNY

### (57) KIVONAT

A találmány tárgya új diagnosztikai eljárás valamely ligandumnak vagy ligandumok ( pl. baktérium- vagy vírus-antigének) egy csoportjának valamely közegben való kimutatására. A közeget olyan reagenssel keverik, amely legalább kétféle különböző színű és szín szerint specifikusan az egyes vizsgálandó ligandumokhoz kötődni képes

oldhatatlan részecskéket tartalmaz vizes folyékony közegben. Az egyes ligandumok jelenlétét az illető ligandumhoz kötődni képes részecskék szelektív agglutinációja jelzi.

A találmány tárgyát képezi az említett reagenst tartalmazó diagnosztikai vizsgáló-készlet is.

A találmány tárgya agglutinációs eljárás és ehhez való diagnosztikai vizsgálati készlet ligandok kimutatására.

Az immunogének és antitestek agglutinációján alapuló diagnosztikai vizsgálati módszerek — amelyekben vagy az immunogént, vagy az antitestet kötik egy szilárd fázishoz — jól ismertek az immunodiagnosztika terén. Így például a 3 088 875 sz. amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás olyan eljárást ismertet, amelyben antigénnel bevont mikrogolyócskákat kevernek össze a vizsgálható mintával: ha a minta az illető antigénre reagáló antitesteket tartalmaz, akkor ezek az antitestek az antigénhez kötődnek és ezáltal a mikrogolyócskák látható agglutinációját vagy aggregációját idézik elő.

Az agglutinációs folyamat vizuális felismerésének elősegítésére színes szilárd fázist vagy szilárd részecskéket alkalmaztak az ilyen vizsgálatoknál. Így például olyan teszt-készletek vannak kereskedelmi forgalomban a béta-hemolitikus *Streptococcus* csoportjának kimutatására, amelyekben a reagensek szilárd előlt, pirosra vagy kékre festett *Staphylococcus aureus* sejtek szuszpenziója. Van továbbá kereskedelmi forgalomban olyan teszt-készlet is amely négy különálló reagenst tartalmaz és ezek mindegyike más-más színű latex-részecskéket tartalmaz a *Streptococcus* A, B, C és G csoportjának kimutatására. Mindegyik teszt-reagens külön színnel való megjelölése kiküszöböli a például helytelen címkézés által előidézett tévedések lehetőségét.

A 4 419 453 sz. amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban oly latex-agglutinációs tesztet ismertettek, amelyben a teszt-reagens egy bizonyos színűre festett és antigénnel vagy antitesttel bevont latex-részecskéket és vízben oldódó, nem-latex jellegű, más színű színezéket abszorbeáló polimer-részecskéket tartalmazott. Agglutinációs bekövetkezése esetén az aggregátum színe és az oldat eltérő háttér-színe közötti eltérés elősegítette a vizuális megállapítást.

Az olyan diagnosztikai módszereket, mint a latex-agglutinációs teszt, általában a valamely betegségben szenvedő páciens által mutatott klinikai tünetekre alapított kezdeti diagnózis megerősítésére alkalmazzák. Oly esetekben, amikor a betegséget igen jól megkülönböztethető tünetek jellemzik, a kórokozó (például baktérium vagy vírus) jelenlétének megerősítésére viszonylag kevés teszt szükséges. Olyan betegségek esetén azonban, amikor a tünetek számos különféle lehetséges kórokozó bármelyikének tulajdoníthatók, nyilván sok időt és fáradságot igényelne tesztek végezténi valamennyi lehetséges kórokozó esetleges jelenlétének vizsgálatára és ehhez jelentős mennyiségű mintát kellene a betegtől venni. Ez különösen olyan esetekben okoz problémát, amikor csak kis mennyiségű biológiai anyagmintát lehet venni a betegtől, mint például újszülöttek cerebro-spinális folyadékával végzendő tesztek esetében.

Ismeretesek oly heterogén specifikus kötési tesztek, amelyekben többféle ligandumot lehet egyidejűleg meghatározni, egyetlen vizsgálatban, ami által az elvégzendő tesztek száma lényegesen csökken. Az ilyen kombinált tesztek (vö.: 2 034 466 A. sz. közzétett nagy-britanniai szaba-

dalmi bejelentés) különösen előnyösnek tartják szkrin-vizsgálatok végzésére, például a kongenitális (velszületett) fejlődési rendellenességeket előidéző vírusok és egyéb antigének, mint Rubella, Cytomegalovírus és Herpes simplex vírus elleni immunitás diagnosztikai vizsgálatok esetén. Kombinált vizsgálattal a páciens két vagy több ilyen antigénnel szembeni immunitása lenne kimutatható egyetlen teszttel, valamennyi antigén elleni antitest jelenlétének kimutatása útján. A 2 034 466 A. sz. közzétett nagy-britanniai szabadalmi bejelentés leírása ismertet egy ilyen vizsgálati módszert, amely szerint a ligandumok megkülönböztetését több differenciálisan elkülöníthető szilárd fázis alkalmazásával teszik lehetővé. Ilyen szilárd fázisok például oly módon képezhetők, hogy egy, az egyik immunológiai aktív anyaggal bevont lemezt egy a másik immunológiai aktív anyaggal bevont falú edényben helyeznek el. Az immunológiai reakciók megfelelő sorozatának lefolytatása utána ligandum-immunokémiai komplexek elkülönítése egyszerűen a lemeznek az edényből való kiemelésével történhet.

Ismeretesek továbbá olyan kombinált vizsgálati módszerek, amelyekben például különböző specifikus kötőanyagokat egymástól eltérő méretű részecskékhez kötnek (1 561 042 sz. nagy-britanniai szabadalmi leírás), vagy amelyben mikroszkópiás úton megkülönböztethető rozettákat képeznek a ligandumból és a kötőanyagból (2 122 345 sz. közzétett nagy-britanniai szabadalmi bejelentés), vagy amelyben mindegyik specifikus kötőanyagot olyan egymástól megkülönböztethető latex-részecskékhez kötnek, amelyek megkülönböztetését különböző radioaktív anyagokkal való megjelölés vagy különböző, például röntgen-fluoreszcencia spektroszkópiai úton azonosítható elemek jelenléte teszi lehetővé (4 436 826 sz. amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás).

A 29 43 648 sz. német szövetségi köztársaságbeli szabadalmi közrebecsátási iratban egy specifikus kötési teszt-módszert és ehhez való eszközöket írtak le több különböző ligandumnak egyetlen folyékony vizsgálati mintában történő szimultán meghatározására. Ebben a módszerben minden egyes különböző meghatározandó ligandumnak megfelelően a) egy például radioaktív izotóppal vagy egy enzimmel jelzett kötőszert, (a jelző ugyanaz mindegyik ilyen kötőszernél) és b) egy egységes szilárd fázisú hordozót, egy hozzá kapcsolódó kötőszerral alkalmaznak, mimellett az említett hordozók úgy vannak elrendezve, hogy elkülöníthetők legyenek egymástól. A vizsgálat lefolytatása során a mintát mind a jelzett kötőszerekkel, mind a szilárd fázisú hordozókkal érintkeztetik, majd a hordozókat elkülönítik egymástól és a reakcióelegytől, és külön-külön mérik mindegyik hordozón a jelzőszer mennyiségét, hogy meghatározzák a megfelelő ligandumnak a mintában való jelenlétét illetőleg annak mennyiségét.

Az egynél több ligandum egymás melletti meghatározására szolgáló fentebb ismertetett módszerek hátránya azonban, hogy vagy bonyolult készülékek alkalmazását, vagy különböző típusú szilárd fázisok mechanikai úton történő szétválasztását igénylik, vagy pedig nem alkalmazhatók általános módszerként immunogének, antitestek

és más specifikusan megköthető anyagok kimutatására. Ezek a módszerek általában hosszabb időt is vesznek igénybe, mint az agglutinációs tesztek. Emellett a radioaktív vagy nehézfém-elemek alkalmazásával járó vizsgálati módszerek további hátránya, hogy különleges biztonsági és hulladék-elhelyezési intézkedéseket is igényelnek. Nyilvánvaló tehát, hogy szükség van olyan gyors, biztonságos és széleskörűen alkalmazható vizsgálati módszerekre, amelyekkel az eddigi módszerekhez képest lényegesen kevesebb vizsgálati idővel lehet a fertőzések vagy betegségek okozóit azonosítani és amelyekhez kisebb térfogatú biológiai anyagot kell venni a vizsgálandó személytől a vizsgálat céljaira. Ezt a szükségletet elégíti ki a jelen találmány szerinti diagnosztikai eljárás és készítmény.

A találmány tárgyát elsősorban olyan agglutinációs eljárás képezi valamely ligandumnak vagy ligandumok egy csoportjának a kimutatására, amelyben a közeget egy két vagy több oldhatatlan színes anyagot tartalmazó reagenssel kerverjük össze, amelyek mindegyike képes megkülönböztethetően színezett agglutinátumokat képezni valamely specifikus ligandum vagy ligandumok egy specifikus csoportja jelenlétében, és így az a körülmény, hogy az illető megkülönböztethetően színezett agglutinátum képződik-e vagy sem, egyértelműen mutatja az illető ligandum jelenlétét vagy hiányát a vizsgált közegben.

A „megkülönböztethetően színezett” kifejezés azt jelenti, hogy a valamely meghatározott ligandum vagy ligandum-csoport jelenlétében képződött agglutinátum színe eltér az egyéb ligandumok vagy ligandum-csoportok jelenlétében képződő bármely agglutinátum színétől és megkülönböztethető a háttér-színtől vagyis a bármiféle agglutinátlan részecskék színétől is. Az agglutinátum megkülönböztethető színe onnan ered, hogy mindegyik oldhatatlan anyag színe eltér a jelenlévő többi oldhatatlan anyagok színétől. Előnyös, ha a szóbanforgó agglutinátum szabad szemmel is látható.

A találmány szerinti agglutinációs teszt kivitelezése valamely olyan alkalmas oldószerben történik, amelyben a színes anyagok nem oldódnak; előnyösen vizes oldószert alkalmazunk erre a célra.

A „ligandum” fogalmának köre — amint ezt a fogalmat a jelen találmány leírásában alkalmazzuk, magában foglalja az antigéneket, hapténeket, monoklonális és poliklonális antitesteket, valamint egyéb olyan anyagokat is, amelyek képesek megkötni valamely specifikus kötőképes anyagon. Ilyen egyéb anyagok körébe például az avidin, a biotin, a lektinek, a lektinekhez specifikusan kötődni képes szénhidrátok, az A-fehérje és az IgG FC fragmentuma tartoznak.

A találmány szerinti eljárásban a közeg valamilyen biológiai minta, például az emberből, állatból vagy egyéb forrásból vett testnedv, vagy bármely más olyan folyadék lehet, amelyben valamilyen ligandum található. Ilyen közegek például kultúrák folyékony tápközegei, valamely szilárd vagy folyékony kultúrából készített szuszpenziók, szövetkultúrák szupernatáns folyadéka, baktériumokból vagy vírusokból kémiai úton vagy enzimmekkel extrahált anyagok (például a sztreptokok-

kuszokból szerológiai célokra készített Lancefield-extraktumok), valamint élelmiszerek vagy környezet-minták (például a közfogyasztásra szolgáló vízvezeték-rendszerből vett vízminták) lehetnek.

5 Az állatoktól (vagy embertől) vehető biológiai minták példáulként a cerebroszpinális folyadék, vér, vizelet, köpet, szövetszivonatok, izzadság, könnyek, váladékok, ürülék, nyál és ízületi nedv említhetők.

10 Ez a felsorolás azonban nem tekinthető kimerítőnek; a szakmabeli számára nyilvánvaló, hogy a jelen találmány szerinti vizsgálati módszer céljaira más típusú biológiai minták is vehetők és vizsgálhatók.

15 Az oldhatatlan színes anyagot abból a célból alkalmazzuk, hogy az megkülönböztethetően színezett agglutinátumot képezzen valamely specifikus ligandum vagy ligandumok valamely csoportja jelenlétében, azáltal, hogy valamely olyan specifikus megkötőanyagot vagy ilyen anyagok csoportját tartalmazza vagy olyan specifikus megkötőanyaghoz legyen kötve, amely képes a kimutatandó ligandum vagy ligandum-csoport megkötésére. Ez a specifikus megkötőanyag lehet a ligandum immunológiai megfelelője; így ha a ligandum antitest, akkor a specifikus megkötőanyag ennek az antitestnek az antigénje lehet és fordítva lehet azonban olyan anyag is, mint az avidin, biotin, valamely lektin, valamely lektinhez specifikusan kötődni képes szénhidrát, A-protein vagy az IgG FC-fragmentuma.

20 Az oldhatatlan színes anyag előnyösen mikroszkopikus méretű részecskékből áll. Az eljárás céljaira alkalmas, színes vagy színező részecskékből álló anyagok példáulként nem életképes baktériumsejtek, alginát-részecskék, szefaróz-gyöngyök, szilícium-dioxid, alumínium-oxid, eritrociták, polimer latexek, mint polisztirol-latex, sztiroilglicidil-latexek és egyéb polimer latexek, mint például a 4 419 453 sz. amerikai egyesült államokbeli leírásban leírt ilyen termékek említhetők. A színes részecskék előállítására vagy színezésére ismert módszerekkel, például a 4 419 453 sz. amerikai egyesült államokbeli vagy a 3 000 483 sz. NSZK-beli közrebocsátási iratban leírt módszerekkel történhet, de ilyen anyagok készen is beszerezhetők. A színek közül a vörös, sárga, kék, zöld, fekete, cián-kék, bíborvörös és fehér a legalkalmasabbak.

50 A specifikus megkötőanyag adszorpció, kémiai kapcsolat, a részecskébe való bekebelezés útján vagy bármely más, a szakmában ismeretes módon jöthet a részecskéhez.

55 A megkötőanyagnak a részecske felületén való adszorpciója vagy a részecske megkötőanyaggal történő bevonása célszerűen a részecskének megkötőanyag megfelelően pufferezett oldatában való inkubálása útján történhet. Kémiai kapcsolat például a 4 436 826 sz. amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban ismertett módszerrel történhet, amely szerint egy karbodiimidet alkalmaznak kapcsolószerként. Hasonló kapcsolási módszert ismertet a 4 140 662 sz. amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás is.

65 A jelen találmány különösen jól alkalmazható baktériumos, vírusos vagy parazitás fertőzések kimutatására és antigéneknek vagy antitesteknek

a biológiai nedvekben való azonosítására. Igen előnyösen alkalmazható a találmány szerinti eljárás a spinális folyadékknak (például az újszülöttek gerinc-agyburki folyadékának) a vizsgálatára Haemophilus influenzae, Neisseria meningitidis és Streptococcus pneumoniae jelenlétének kimutatására. A találmány fontos előnye, hogy kisebb térfogatú spinális folyadék szükséges a vizsgálat-hoz, mint az eddig szokásos agglutinációs teszt-módszerekénél.

Előnyösen alkalmazható a találmány bizonyos szerológiaiilag meghatározott mikroorganizmus-törzsek, például a Streptococcus, A, B, C, D, F és G zero-csoportok, Salmonella O és H antigének, valamint Meningococcus A, B, C, Y, 29E és Z zero-csoportok azonosítására.

Belátható, hogy mindegyik oldhatatlan színes anyag adaptálható arra, hogy valamely ligandum jelenlétében agglutinátumot képezzen, ha tartalmaz egy specifikus megkötőanyagot vagy kötődik egy specifikus megkötőanyaghoz. Az így adaptált oldhatatlan anyagok ilyen felhasználási módja és az ehhez való reagens a találmány előnyös kiviteli módjának alapját képezi.

A találmány egyik előnyös megvalósítási módja esetében a reagens antitesttel bevont háromféle színű latex-részecskék szuszpenzióját tartalmazza, ahol az egyes részecskék színe jelzi, hogy milyen specifikus antitesttel van az illető részecske bevonva. Az egész reagens felhasználás előtt tompa szürkés színt mutat. Ha azután ezt a reagenst olyan közeggel keverjük össze, amely az említett specifikus antitestek valamelyikéhez kötődni képes antigént tartalmaz, akkor ez az antigén reagálni fog a megfelelő antitesttel és agglutinátumot képez. A képződő agglutinátum színe megmutatja, hogy melyik antitest vett részt a reakcióban és ennek alapján a jelenlevő antigén azonosítható. A képződött agglutinátum szemmel való felismerését megkönnyíti a nem agglutinált részecskék háttér-színével szembeni ellentétes színe. Így például, ha a reagens vörös, kék és zöld részecskéket tartalmaz és a vörös színű részecskék agglutinálódtak, a háttér a kontrasztos türkisz-színben jelenik meg. Ha a kék részecskék agglutinálódtak, ezek narancs vagy sárga színű háttérben mutatkoznak, és ha a zöld részecskék agglutinálódtak, akkor bíborszínű lesz a háttér.

Nem specifikus reakciók, például azok, amelyeket zavaró anyagok, mint reumatoid faktor (RF) vagy A-protein (a legtöbb S. aureus baktériumban fordul elő) vagy A-proteinszerű anyagok (néhány streptokokuszban) okoznak, általában sötét csomókként mutatkoznak, hasonló színárnyalatú világosabb háttér előtt.

A találmány fentebb leírt előnyös kiviteli módját a fentiekben egyetlen antigén kimutatása esetében szemléltetjük, a találmány alkalmazható egynél több antigén egyidejű kimutatására is. Így például a fent leírt háromszínű rendszerben két antigén egyidejű jelenléte például agglutinátumnak a kék és zöld részecskéken, vörös háttér előtt, vagy zöld és vörös részecskéken, kék háttér előtt való képződése alapján mutatható ki. Könnyen belátható, hogy ilyen esetekben a háttér színe különösen hasznos az immunokémiai reakció eredményének megítélése szempontjából.

Az egyes különböző színű oldhatatlan anyagok tehát adaptálhatók arra, hogy agglutinátumokat képezzenek ligandumok valamely specifikus csoportjának jelenlétében. Így például mindegyik színes oldhatatlan anyag tartalmazhatja két- vagy többféle baktérium- vagy vírus-antigén antitestjét vagy ilyen antitestekhez lehet kötve.

Igy a találmány egy további előnyös megvalósítási módját olyan agglutinációs eljárás képezi, amely lényegileg egyezik a fent leírtakkal, de amelyben a reagens legalább két, előnyösen legalább három különböző színű oldhatatlan anyagot tartalmaz és ezek közül legalább az egyik, de előnyösen legalább kettő, legalább kétféle specifikus megkötőanyagot tartalmaz, illetőleg legalább kétféle specifikus megkötőanyaghoz van kötve.

Az egyes specifikus megkötőanyagok mindegyike más és más oldhatatlan színes anyaghoz lehet kötve, de lehetséges az is, hogy ugyanaz a specifikus megkötőanyag kötődik két vagy több különböző színű oldhatatlan színes anyaghoz.

Az első esetben nyilvánvaló, hogy az ilyen agglutinációs módszer lényegében „leszűkíthető” módszer különböző lehetséges fertőző ágensek körének egy kisebb csoportra történő leszűkítésére, amikor is azután további tesztekre van szükség az egyes fertőző ágensek pontos azonosítására. Az ilyen módszerek különösen célszerűek lehetnek olyan esetekben, amikor különböző, például bakteriális vagy vírusos megbetegedések diagnózisát kell megállapítani, de a betegség tünetei sokféle különböző kórokozó esetében hasonlóak és így ezek alapján nem lehet a kórokozót azonosítani.

Egy ilyen esetben például olyan reagenst alkalmazhatunk, amely például vörös, kék és zöld latex-részecskéket tartalmaz, a vörös részecskék az A és B antigénnel reagáló antitestekkel, a kék részecskék a B és C antigénnel reagáló antitestekkel, a zöld részecskék pedig az A és C antigénnel reagáló antitestekkel van bevonva. Ha most a reagenshez adott teszt-minta olyan antigént tartalmaz, amelyre a reagens szenzitiválva volt, akkor két különböző színű részecske fog egyidejűleg agglutinálódni és így a fennmaradó háttér-szín alapján a jelenlevő antigén egyértelműen azonosítható. Ha tehát például a teszt-minta A antigént tartalmazott, akkor a vörös és zöld részecskék agglutinálódnak és könnyen felismerhető kék háttér-szín marad vissza.

A szakmában járatos vizsgáló számára könnyen belátható, hogy ha egy vagy több specifikus megkötőanyag egynél több különböző színű oldhatatlan színes anyaghoz van kötve ugyanabban a reagensben, akkor az oldhatatlan színes anyagok és a specifikus megkötőanyagok megfelelő permutálása útján n számú különböző színes anyag alkalmazása esetén  $2^n - 2$  ligandum specifikus kimutatása lehetséges. Így három különböző színű oldhatatlan szemcséket tartalmazó reagens alkalmazásával hat különböző ligandum mutatható ki és azonosítható. Az ilyen reagens például vörös, kék és zöld szemcséket tartalmazhat és a vörös szemcsék az A, C és D, a zöld szemcsék a B, E és D, a kék szemcsék pedig a C, F és E ligandumok iránt lehetnek érzékenyítve. Ebben az esetben az A-F ligandumok egyenkénti hozzáadása a következő eredményt mutatja:

Ligandum	Azagglutinátum színe (agglutinált szemcsék)	Háttér-szín (nem agglutinált szemcsék)
A	vörös	kék+zöld
B	zöld	kék+vörös
C	vörös+kék	zöld
D	vörös+zöld	kék
E	vörös+zöld	vörös
F	kék	vörös+zöld

A fenti eredmények alapján az agglutinátum színe különösen az A, B és F ligandumok kialakulására és azonosítására alkalmas, míg a háttér-szín különösen a C, D és E ligandumok kimutatására és azonosítására szolgálhat.

A találmány szerinti eljárás fentebb ismertetett kiviteli módjai esetében bizonyos esetekben kívánatos lehet a közegnek a vizsgálat lefolytatása előtti előkezelése; az ilyen előkezelés lehet savakkal vagy enzim-kivonatokkal történő kezelés, továbbá szűrés, centrifugálás, hígítás, betöményítés és/vagy melegítés. Melegítés útján például lehetséges a már említett zavaró anyagok dezaktiválása vagy a vizsgálat során mutakozó aktivitásuk számottevő csökkentése.

A szokásos agglutinációs módszernél gyakran alkalmaznak egy kontroll-latexet, amely egy, a vizsgált antigénnel be nem oltott állatból vett immunoglobulin-frakcióval (a továbbiakban: kontroll-antiszérum) bevont latexrészecskék szuszpenziója, vagy pedig a teszt-latex-szel azonos osztályba tartozó, de eltérő specifikusságú monoklonális antitesttel bevont latex-részecskék. A kontroll-latexnek a teszt-minta jelenlétében bekövetkező agglutinációja zavaró nem-specifikus reakciót jelez.

Az ilyen kontroll-latex reagens alkalmazásának hátránya, hogy a vizsgálandó biológiai teszt-folyadék legalább egy további alikvot-részére van szükség minden egyes vizsgálatához vagy vizsgálat sorozathoz, mivellet ez a további alikvot-rész azután nem nyújt semmilyen hasznos információt a fertőző ágens azonosítására.

A jelen találmány olyan új módszert nyújt az ilyen diagnosztikai vizsgálatok végzésére, amely feleslegessé teszi a külön kontroll-latex alkalmazását és így kiküszöböli az ezzel járó hátrányokat. Emellett a találmány olyan közvetlen agglutinációs módszert biztosít a ligandumok valamely közegben való jelenlétének kimutatására, amely abból áll, hogy a közegot olyan reagenssel elegyítjük, amely

1) bizonyos színű oldhatatlan részecskékhez való kötődés útján oldhatatlanná tett és a keresett ligandumhoz kötődni képes antitestet, és

2) kontroll-szérummal bevont oldhatatlan, de az előbbbitől eltérő színű részecskéket tartalmaz, majd megfigyeljük, hogy történik-e agglutináció és meghatározzuk az agglutinált részecskék színét.

Igy a találmány szerinti vizsgálati eljárás egy jellemző példája esetében a vizsgálandó közegot olyan reagenssel elegyítjük, amely a kimutatandó antigén antitestjével bevont kék latex-részecskéket és egy kontroll-szérummal bevont vörös latex-részecskéket tartalmaz. Ha a gyanított antigén

jelen van a közegben és zavaró nem-specifikus reakció nem lép fel, akkor kék agglutinátum képződik, vörös háttér mellett. Ha viszont fellép nem-specifikus zavaró reakció, akkor mind a vörös, mind a kék részecskék agglutinálódnak és így bíborszerű színű csomók képződnek. Nyilvánvaló, hogy a fenti példában említett kék és vörös részecskék helyett bármilyen más kontrasztot mutató színpar is alkalmazható.

A fentebb leírt vizsgálati módszer mellett a találmány további tárgyát a ligandumoknak a fenti eljárással való kimutatására alkalmas diagnosztikai vizsgálati készlet képezi, amelynek lényeges alkotórésze a két vagy több különböző színű oldhatatlan színes anyagot tartalmazó reagens, amelyben mindegyik meghatározott színű oldhatatlan anyag más és más specifikus ligandum megkötésére van adaptálva.

Ennek a valamely ligandum kimutatására alkalmas diagnosztikai vizsgálati készletnek egyik előnyös kiviteli alakja esetében a reagens

1) bizonyos színű oldhatatlan részecskékhez való kötődés útján oldhatatlanná tett és a keresett ligandumhoz kötődni képes antitestet, és

2) kontroll-szérummal bevont oldhatatlan, de az előbbbitől eltérő színű részecskéket tartalmaz.

Egy további előnyös kiviteli alak esetében a vizsgálati készletben a reagens két vagy több különböző színű oldhatatlan anyagot tartalmaz, amelyek közül legalább az egyik előnyösen, kettő legalább kétféle specifikus megkötőanyagot tartalmaz, illetőleg legalább egy előnyösen legalább kétféle specifikus megkötőanyaghoz van kötve.

A találmány szerinti vizsgálati készlet további alkotórészekként önmagukban ismert és ilyenfajta készletekben szokásos elemeket, mint cseppreakció-lapokat, keverőpálcákat, pozitív kontroll-antigént mindegyik vizsgálandó antigénhez, negatív kontroll-„antigént” (pl. sóoldatot) és a vizsgálati készlet használatára vonatkozó utasításokat tartalmazhat.

A találmány közelebbi részleteit a következő példák szemléltetik; megjegyzendő azonban, hogy a találmány köre semmilyen szempontból sincs e konkrét példák tartalmára korlátozva.

### 1. példa

#### Szenitizált latex előállítás

a) Az antitest elkészítése

Részlegesen tisztított G-immunoglobulint immun nyúlserumból állítunk elő, oktánsavval (BDH Chemicals Ltd.) való kezelés útján, Steinbuch és Audran [Arch. Biochem. and Biophys, 134, 279-284 (1969)] módszere szerint.

b) Az antitest kötése a színes latexhez

5,0 mg színes latexhez (Estapor, K58, 0,2 µ, polisztirol, fekete, vörös, kék, sárga vagy zöld; Rhone Poulenc, 82 00 485 sz. közzétett francia szabadalmi bejelentés, 85 016 sz. közzétett európai szabadalmi bejelentés) 600 µn antitestet adunk 1 ml glicines sóoldatban (pH = 8,2 0,1 mól glicin 0,85%-os nátrium-klorid-oldatban, pH nátrium-hidroxiddal beállítva). A latex és az antitest elegyét 30 percig melegítjük 56°C hőmérsékleten. Szobahőmérsékletre való lehűlés után marha-

bumint (Miles Laboratories Ltd.) adunk hozzá 1 t/ft% koncentrációig.

c) Polivalens latex előállítása

Három különböző színű latex mindegyikét egy-egy különböző specifikitással érzékenyítjük; például a vörös színű latexet Salmonella A-szérumsoport antitesttel, a kék latexet B szérumsoport antitesttel és a zöld latexet C-szérumsoport antitesttel vonjuk be, majd az így adaptált háromféle színű latexet egyenlő arányban összekeverjük egymással. A kapott latex-keverék színe barna.

2. példa

A polivalens latex alkalmazása a vizsgálathoz

A latex-agglutinációs tesztet fehér kártyákon (Syfacard-R, Wellcome Diagnostics Ltd.) folytatjuk le. A vizsgálati minta és a polivalens latex egyenlő térfogatú (rendszerint 20 µ) adagjait egy 2 cm átmérőjű körön keverjük össze a fehér lapon. A lapot azután 3 percig lengetjük, majd megvizsgáljuk a mintát, hogy bekövetkezett-e agglutináció. Az agglutinátum színét (például vörös, kék vagy zöld) megállapítjuk és ugyanakkor látjuk, hogy az agglutinálatlan latex színe barnáról a nem agglutinált szuszpenzióban maradó kétféle részecske színének kombinációjára változik.

A) Baktérium-kolónia azonosítása

Egy szilárd táptalajon kifejlődött baktérium-kolóniák közül egyetlen kolóniát kiemelünk és ezt 200 µl 0,85%-os nátrium-klorid-oldatban emulgeáljuk. Az így kapott baktérium-szuszenziót összekeverjük a fentebb leírt polivalens latex-szel.

Antigén	Eredmény
1. Csak sóoldat	Barna színű homogén oldat
2. A-szérumsoportbeli Salmonella, pl. S. paratyphi A	Vörös agglutinátum, türkizkék oldatban
3. B-szérumsoportbeli Salmonella, pl. S. tiphimurium	Kék agglutinátum narancsszínű oldatban
4. C-szérumsoportbeli Salmonella, pl. S. newport	Zöld agglutinátum, bíborszínű oldatban

B) Antigén kimutatása biológiai folyadékokban

Agyhártagyulladásban szenvedő betegtől vett spinális folyadékot vizsgálunk a fentebb leírt módszerrel, a Salmonella polivalens latex alkalmazásával. A vörös részecskék bekövetkező agglutinációja a B szérumsoportbeli Salmonella mikroorganizmusokból származó antigén jelenlétét mutatja a vizsgált spinális folyadékban. A fertőzetlen személytől vett és kontrollként vizsgált spinális folyadék nem okozott agglutinációt a latexben.

3. példa

Készlet és eljárás Salmonella kimutatására

1) Vizsgáló készlet

A vizsgálat céljaira szolgáló készlet az alábbiakból áll:

a) Latex-reagens: Csepegtetőpalack, amely polisztirol-latex részecskék tartósítószerrel tartalmazó pufferoldattal készített szürkésbarna szuszpenziót tartalmazza; a szuszpenzió nyúl-antitestekkel bevont egyedi vörös, kék és zöld latex keverékből áll, a különböző színű latexek az alábbi specifikitások:

vörös latex: Salmonella B szerocsoport,  
kék latex: Salmonella C szerocsoport,  
zöld latex: Salmonella D<sub>1</sub> szerocsoport.

b) pozitív kontroll-antigének,

c) egyszeri felhasználásra való szuszpenzió-kémcsövek,

d) egyszeri felhasználásra való mintavevő pálcák,

e) egyszeri felhasználásra való minta-adagolók,

f) egyszeri felhasználásra való reakció-lapok;

szükség van még az alábbi szokásos kellékekre is:

g) steril sóoldat,

h) lapos-ágyas rotátor (pálya-átmérő 32 mm, forgási sebesség: percenként 150 fordulat).

2. Vizsgáló módszer telepek azonosítására.

a) 200 µl sóoldatot adagolunk a szuszpenzió-kémcsöbe.

b) Egy mintavevő pálcával alkalmazásával egy vagy két átlagos méretű feltétlezett Salmonella telepet veszünk a kultúra-lemezről és a baktériumokat gondosan emulgeáljuk a sóoldatban.

c) A latex-reagenst néhány másodperces rázásal újra szuszpendáljuk és 30 µl-t adagolunk a reakció-lap egyik körébe.

d) Egy minta-adagolóval a baktérium-szuszenzió egy szabadon lehulló cseppjét visszük a körben levő baktérium-szuszenzióra.

e) Egy mintavevő pálcával a körben levő anyagot összekeverjük és szétterítjük a kör egész területére.

f) A lapot 2 percnyi időtartamra egy percenként 150 fordulatra beállított lapos-ágyas rotátorra helyezzük. A rotátort azután leállítjuk és a lapot a rotátorról való levevés nélkül megvizsgáljuk, hogy mutatkozik-e agglutináció. A lapot a normális olvasási távolságról kell szemlélteni, nagyítólenyce használata nélkül.

3) Az eredmények értékelése

Az agglutinált latex-részecske csomók színes, a háttér bekövetkező kontrasztáló színváltozásával együtt mutatja Salmonella organizmusoknak a mintában való jelenlétét, és ugyanakkor módot ad ezek szerocsoportjának az azonosítására, az alábbiak szerint:

A csomók színe	A háttér színe	Szerocsoport
vörös	türkizkék	B
kék	narancs	C
zöld	bíbor	D

A csomók színe	A háttér	Szerocsoport
türkizkék	vörös	C és D
narancs	kék	B és D
bíbor	zöld	B és C
nincs	szürkésbarna	negatív
szürkésbarna	kitisztult	nem értékelhető

#### 4. példa

Készlet és eljárás rotavírus és adenovírus kimutatására

##### 1) Vizsgáló készlet

A vizsgáló készlet célszerűen az alábbiakat tartalmazza:

a) Latex-reagens: Csepegtető palack, amely polisztirol-latex részecskék tartósítószerrel tartalmazó pufferoldattal készített bíborszínű szuszpenzióját tartalmazza; a szuszpenzió nyúl-antitestekkel bevont egyedi vörös és kék latex keverékből áll, a különböző színű latexek az alábbi specifikitásúak:

vörös latex: rotavírus

kék latex: adenovírus

b) Pozitív kontroll-antigének

A többi anyagok egyeznek a 3. példa szerintiekkel.

##### 2) Vizsgáló módszer fekália-minták vizsgálatára

a) A vizsgálandó fekália-mintából extraktumot készítünk a szokásos eljárással.

b) A latex-reagens néhány másodperces rázással újra szuszpendáljuk és 30 µl-t adagolunk a reakció-lapon levő egyik körbe.

c) Egy minta-adagolóval az extraktum (szuszpermatáns) egy szabadon lehulló cseppjét visszük a körre.

d) Egy mintavevő pálcával összekeverjük a körben levő anyagot és szétterítjük a kör egész területére.

e) A lapot gyengéden lengetjük és 2 percig figyeljük, hogy mutatkozik-e agglutináció; a lapot normális olvasási távolságból szemléljük és nem használunk nagyítólencsét.

##### 3) Az eredmények értékelése

Az adott esetben agglutinált latex-részecske csomók színe, a háttér bekövetkező kontrasztáló színváltozásával együtt mutatja a megfelelő vírusnak a mintából való jelenlétét, az alábbiak szerint:

A csomók színe	A háttér	Következtetés
vörös	kék	rotavírus
kék	vörös	adenovírus
nincs	bíbor	negatív
bíbor	kitisztult	nem értékelhető

#### 5. példa

Készlet és eljárás A-szerocsoportú Streptococcusok kimutatására

##### 1) Vizsgáló készlet

A vizsgáló készlet célszerűen az alábbi anyagokat tartalmazza:

a) Latex-reagens: Csepegtető palack, amely polisztirol-latex részecskék tartósítószerrel tartalmazó pufferoldattal készített bíborszínű szuszpenzióját tartalmazza; a kék részecskék A-szerocsoportú Streptococcus elleni nyúl-antitestekkel, a vörös részecskék nem-immun nyúl-globulinnal vannak bevonva.

b) Pozitív kontroll-antigén

A többi anyagok egyeznek a 3. példa szerintiekkel.

##### 2) Vizsgáló módszer torok-tampon vizsgálatára

a) Torok-tamponot veszünk és azt a szokásos módon extraháljuk.

b) A latex-reagenst néhány másodperces rázással újra szuszpendáljuk, majd 30 µl-t a reakció-lap egyik körébe adagolunk.

c) Egy minta-adagolóval a tampon-extrakt egy szabadon lehulló cseppjét visszük a körre.

d) Egy mintavevő pálcával összekeverjük a körben levő anyagot és szétterítjük a kör felületén.

e) A lapot gyengéden lengetjük és 3 percig figyeljük, hogy mutatkozik-e agglutináció; a lapot normális olvasási távolságról szemléljük, nagyítólencse használata nélkül.

##### 3) Az eredmények értékelése

Az adott esetben agglutinált latex-részecske csomók színe, a háttér bekövetkező kontrasztáló színváltozásával együtt az alábbi módon értékelendő:

A csomók színe	A háttér	Következtetés
kék	vörös	pozitív
nincs	bíborvörös	negatív
bíborvörös	kitisztult	nem értékelhető

#### 6. példa

Készlet és eljárás rotavírus kimutatására

##### 1) Vizsgáló készlet

A vizsgáló készlet célszerűen az alábbiakat tartalmazza:

a) Latex-reagens: Csepegtető palack, amely polisztirol-latex részecskék tartósítószerrel tartalmazó pufferoldattal készített bíborszínű szuszpenzióját tartalmazza; a szuszpenzió vörös és kék latex-részecskék keverékét tartalmazza, a vörös részecskék rotavírus-ellenes nyúl-globulinnal vannak bevonva.

b) Pozitív kontroll-antigének  
A többi anyagok egyeznek a 3. példa szerintiekkel.

2) vizsgálati módszer fekália-minták vizsgálata

a) A vizsgálandó fekália-mintából extraktumot készítettünk a szokásos eljárással.

b) A latex-reagenst néhány másodperces rázásal újra szuszpendáljuk és 30 µl-t adagolunk a reakció-lapon levő egyik körbe.

c) Egy minta-adagolóval az extraktúra (szuszpermatáns) egy szabadon lezuhló cseppjét visszük a körre.

d) Egy mintavevő pálcával összekeverjük a körben levő anyagot és szétterítjük a kör egész területére.

e) A lapot gyengéden lengetjük és 2 percig figyeljük, hogy mutatkozik-e agglutináció; a lapot normális olvasási távolságból szemléljük és nem használunk nagyítólencsét.

### 3) Az eredmények értékelése

Az adott esetben agglutinált latex-részecskékből álló csomók színe, a háttér bekövetkező kontrasztáló színváltozásával együtt az alábbi módon értékelendő:

A csomók színe	A háttér színe	Következtetés
vörös	kék	pozitív
nincs	bíborvörös	pozitív
bíborvörös	kitisztult	nem értékelhető

### Szabadalmi igénypontok

1. Eljárás valamely biológiai mintában levő ligandum jelenlétének kimutatására vizes folyékony közegben, *azzal jellemezve*, hogy

1) az említett közeg mintáját egy olyan reagenssel keverjük össze, amely

a) meghatározott első színű részecskéket tartalmaz, amelyekben egy, az említett ligandumhoz kötődni képes poliklonális antitest van kötve, továbbá tartalmaz második, az előbbtől eltérő színű részecskéket, mely utóbbiakhoz egy az említett poliklonális antitestet szolgáltató állattal azonos fajtájú, de be nem oltott állatból nyert immunoglobulin van kötve; vagy

b) meghatározott első színű részecskéket tartalmaz, amelyekhez egy az említett ligandumhoz kötődni képes első monoklonális antitest van kötve, valamint ehhez keverve tartalmaz második, az előbbtől eltérő színű részecskéket, amelyekhez egy második, az említett első monoklonális antitestet szolgáltató sejtvonal állatfajtájával azonos fajtájú, de be nem oltott állatból vett sejtvonalból kinyert monoklonális antitest van kötve; *mimellett az említett minta és az említett reagens közötti nem-specifikus reakciót az említett első színű részecskék és említett második színű részecskék egyaránt bekövetkező agglutinációja jelzi, és a keresett ligandumnak az említett nem-specifikus reakciótól mentes mintában való jelenlétét a csupán az első színű részecskékre kiterjedő agglutináció jelzi; majd*

2) az 1. lépésben kapott keveréket addig hagyjuk állni, amíg a színes részek agglutinációja bekövetkezik; és

3) a keverék szín szerinti külső megjelenése alapján értékeljük a vizsgálat eredményét. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)

2. Az 1. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a mintát az 1) lépésben olyan reagenssel keverjük össze, amely meghatározott első színű részecskéket tartalmaz, amelyekhez egy az említett ligandumhoz kötődni képes poliklonális antitest van kötve, továbbá ezzel összekeverve tartalmaz második, az előbbtől eltérő színű részecskéket, mely utóbbiakhoz egy az említett poliklonális antitestet szolgáltató állattal azonos fajtájú, de be nem oltott állatból nyert immunoglobulin van kötve. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)

3. A 2. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy nyúlból nyert poliklonális antitestet alkalmazunk. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)

4. Az 1. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a mintát az 1) lépésben olyan reagenssel keverjük össze, amely meghatározott első színre színezett részecskéket tartalmaz, amelyekhez egy első, az említett ligandumhoz kötődni képes első monoklonális antitest van kötve, és ezzel összekeverve tartalmaz második színre színezett részecskéket, amelyekhez egy második, az említett első monoklonális antitestet szolgáltató sejtvonal állatfajtájával azonos fajtájú, de be nem oltott állatból nyert sejtvonalból kapott monoklonális antitest van kötve. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)

5. Az 1. – 4. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy mind első színű részecskékként, mind második színű részecskékként polisztirol-latex részecskéket alkalmazunk. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)

6. Az 1. – 5. igénypontok bármelyike szerinti eljárás bakteriális antigén vagy vírus-antigén ligandum kimutatására, *azzal jellemezve*, hogy a mintát a tárgyi kör szerinti ligandumhoz kötődni képes antitestet tartalmazó reagenssel kezeljük. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)

7. A 6. igénypont szerinti eljárás Haemophilus, Neisseria vagy Streptococcus organizmusokra jellemző antigén ligandum kimutatására, *azzal jellemezve*, hogy a tárgyi kör szerinti ligandumhoz kötődni képes antitestet tartalmazó reagenssel kezeljük. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)

8. A 6. igénypont szerinti eljárás A-serocoptú Streptococcus organizmusokra jellemezve, hogy a mintát a tárgyi kör szerinti ligandumhoz kötődni képes antitestet tartalmazó reagenssel kezeljük. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)

9. A 6. igénypont szerinti eljárás Salmonella organizmusokra jellemző antigén ligandum kimutatására, *azzal jellemezve*, hogy a mintát a tárgyi kör szerinti ligandumhoz kötődni képes antitestet tartalmazó reagenssel kezeljük. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)

10. Vizsgálati reagens valamely biológiai mintá-

- ban levő ligandum jelenlétének kimutatására vizes folyékony közegben, *azzal jellemezve*, hogy az
- a) meghatározott első színű részecskéket tartalmaz, amelyekhez egy az említett ligandumhoz kötődni képes poliklonális antitest van kötve, továbbá tartalmaz második, az előbbtől eltérő színű részecskéket, mely utóbbiakhoz egy, az említett poliklonális antitestet szolgáltató állattal azonos fajtájú, de be nem oltott állatból nyert immunoglobulin van kötve; vagy
- b) meghatározott első színű részecskéket tartalmaz, amelyekhez egy az említett ligandumhoz kötődni képes első monoklonális antitest van kötve, valamint ehhez keverve tartalmaz második, az előbbtől eltérő színű részecskéket, amelyekhez egy második, az említett első monoklonális antitestet szolgáltató sejtvonal állatfajtájával azonos fajtájú, de be nem oltott állatból vett sejtvonalból kinyert monoklonális antitest van kötve. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)
11. A 10. igénypont szerinti reagens, *azzal jellemezve*, hogy a meghatározott első színű részecskéket tartalmaz, amelyekhez egy, az említett ligandumhoz kötődni képes poliklonális antitest van kötve, továbbá ezzel összekeverve tartalmaz második, az előbbtől eltérő színű részecskéket, mely utóbbiakhoz egy, az említett poliklonális antitestet szolgáltató állattal azonos fajtájú, de be nem oltott állatból nyert immunoglobulin van kötve. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)
12. A 11. igénypont szerinti reagens, *azzal jellemezve*, hogy nyúlból származó poliklonális antitestet tartalmaz. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)
13. A 10. igénypont szerinti reagens, *azzal jellemezve*, hogy a meghatározott első színre színezett részecskéket tartalmaz, amelyekhez egy első, az említett ligandumhoz kötődni képes első monoklonális antitest van kötve, és ezzel összekeverve tartalmaz második színre színezett részecskéket, amelyekhez egy második, az említett első monoklonális antitestet szolgáltató sejtvonal állatfajtájával azonos fajtájú, de be nem oltott állatból nyert sejtvonalból kapott monoklonális antitest van kötve. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)
14. A 10. — 13. igénypontok bármelyike szerinti reagens, *azzal jellemezve*, hogy abban mind az első színű részecskék, mint a második színű részecskék polisztirol-latex-részecskék. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)
15. A 10. — 14. igénypontok bármelyike szerinti reagens bakteriális antigén vagy vírus-antigén ligandum kimutatására, *azzal jellemezve*, hogy a tárgyi kör szerinti ligandumhoz kötődni képes antitestet tartalmaz. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)
16. A 15. igénypont szerinti reagens Haemophilus, Neisseria vagy Streptococcus organizmusokra jellemző antigén ligandum kimutatására, *azzal jellemezve*, hogy a tárgyi kör szerinti ligandumhoz kötődni képes antitestet tartalmaz. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)
17. A 15. igénypont szerinti reagens A-szerocsoportú Streptococcus organizmusokra jellemző antigén ligandum kimutatására, *azzal jellemezve*, hogy a tárgyi kör szerinti ligandumhoz kötődni képes antitestet tartalmaz. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)
18. A 15. igénypont szerinti reagens Salmonella organizmusokra jellemző antigén ligandum kimutatására, *azzal jellemezve*, hogy a tárgyi kör szerinti ligandumhoz kötődni képes antitestet tartalmaz. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)
19. eljárás többféle ligandum jelenlétének kimutatására vizes folyékony közegben, *azzal jellemezve*, hogy
- 1) az említett közeg mintáját egy olyan reagenssel keverjük össze, amely legalább kétféle színű részecskéket tartalmaz, és mindegyik színű részecskék egy-egy féle, az említett ligandumok egyikéhez kötődni képes antitesthez vannak kötve, mimellett az egyes ligandumok jelenlétét az illető ligandumhoz kötődni képes részecskék szelektív agglutinációja jelzi;
- 2) az 1. lépésben kapott keveréket addig hagyjuk állni, amíg a színes részek agglutinációja bekövetkezik, és
- 3) a keverék szín szerinti külső megjelenése alapján értékeljük a vizsgálat eredményét. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)
20. A 19. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy az 1) lépésben a reagensben az említett antitestek legalább egyikeként poliklonális antitestet alkalmazunk. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)
21. A 20. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy nyúlból származó poliklonális antitestet alkalmazunk. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)
22. A 19. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy az 1) lépésben a reagensben az említett antitestek legalább egyikeként monoklonális antitestet alkalmazunk. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)
23. A 19. — 22. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a reagensben polisztirol-latex részecskéket alkalmazunk. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)
24. A 19. — 23. igénypontok bármelyike szerinti eljárás bakteriális antigén vagy vírus-antigén ligandum kimutatására, *azzal jellemezve*, hogy a mintát a tárgyi kör szerinti ligandumhoz kötődni képes antitestet tartalmazó reagenssel kezeljük. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)
25. A 24. igénypont szerinti eljárás Haemophilus, Neisseria vagy Streptococcus organizmusokra jellemző antigén ligandum kimutatására, *azzal jellemezve*, hogy a mintát a tárgyi ligandumhoz kötődni képes antitestet tartalmazó reagenssel kezeljük. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)
26. A 24. igénypont szerinti eljárás A-szerocsoportú Streptococcus organizmusokra jellemző antigén ligandum kimutatására, *azzal jellemezve*, hogy a mintát a tárgyi kör szerinti ligandumhoz kötődni képes antitestet tartalmazó reagenssel kezeljük. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)
27. A 24. igénypont szerinti eljárás Salmonella organizmusokra jellemző antigén ligandum kimutatására, *azzal jellemezve*, hogy a mintát a tárgyi kör szerinti ligandumhoz kötődni képes antitestet tartalmazó reagenssel kezeljük. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)
28. Vizsgálati reagens többféle ligandum jelenlétének valamely vizes folyékony közegben való kimutatására, *azzal jellemezve*, hogy az legalább kétféle színű részecskéket tartalmaz, és mindegyik színű részecskék egy-egy féle, az említett ligandu-

mok egyikéhez kötődni képes antitesthez van kötve. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)

29. A 28. igénypont szerint reagens, *azzal jellemezve*, hogy abban az antitestek legalább egyike poliklonális antitest. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)

30. A 29. igénypont szerinti reagens, *azzal jellemezve*, hogy abban a poliklonális antitest nyúlból származik. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)

31. A 28. igénypont szerinti reagens, *azzal jellemezve*, hogy abban az antitestek legalább egyike monoklonális antitest. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)

32. A 28. – 31. igénypontok bármelyike szerinti reagens, *azzal jellemezve*, hogy abban valamely részecske polisztrirol-latex részecske. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)

33. A 28. – 32. igénypontok bármelyike szerinti reagens bakteriális antigén vagy vírus-antigén ligandum kimutatására, *azzal jellemezve*, hogy a tárgyi kör szerinti ligandumhoz kötődni képes antitestet tartalmaz. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)

34. A 33. igénypont szerinti reagens Haemophilus, Neisseria vagy Streptococcus organizmusokra

jellemző antigén ligandum kimutatására, *azzal jellemezve*, hogy a tárgyi kör szerinti ligandumhoz kötődni képes antitestet tartalmaz. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)

35. A 33. igénypont szerinti reagens A-szerocsoportú Streptococcus organizmusokra jellemző antigén ligandum kimutatására, *azzal jellemezve*, hogy a tárgyi kör szerinti ligandumhoz kötődni képes antitestet tartalmaz. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)

36. A 33. igénypont szerinti reagens Salmonella organizmusokra jellemző antigén ligandum kimutatására, *azzal jellemezve*, hogy a tárgyi kör szerinti ligandumhoz kötődni képes antitestet tartalmaz. (Elsőbbség: 1984. 09. 06.)

37. A 19. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy legalább háromféle színű részecskéket tartalmazó reagenst alkalmazunk, amelyek közül legalább kétféle színű részecskék legalább kétféle specifikus ligandum-megkötő anyaghoz vannak kötve. (Elsőbbség: 1985. 07. 10.)

---

ábra nélkül

---