



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVEDČENIU

(61)

(23) Výstavná priorita
(22) Prihlášené 16 10 81
(21) PV 7595-81

(40) Zverejnené 29 10 82
(45) Vydané 01 03 84

222 921

(11) (B1)

(51) Int. Cl. ³ C 12 P 1/00

(75)

Autor vynálezu SCHRAMEK ŠTEFAN ing.CSc.

KAZÁR JÁN MUDr. CSc., Bratislava

(54) Spôsob prípravy chemovakcíny proti Q horúčke so zníženou toxicitou

Vynález rieši spôsob prípravy chemovakcíny so zníženou toxicitou vhodnej na preventívne očkovanie ľudí proti onemocneniu Q-horúčkou.

Podstata vynálezu spočíva v tom, že sa purifikované korpuskule *Coxiella burnetii* vo fáze I opakovane extrahujú zmesou chlóroformu a metylalkoholu a z takto opracovaných partikul sa extrahuje protektívny antigén.

Vynález má využitie ako chemovakcína na očkovanie ľudí proti Q-horúčke.

Vynález rieši spôsob prípravy chemovakcíny so zníženou toxicitou vhodnej na preventívne očkovanie ľudí proti onemocneniu Q horúčkou.

Q horúčka, ktorej pôvodcom je *rickettsia Coxiella burnetii*, je infekčné onemocnenie vyskytujúce sa u ľudí a domácich zvierat a je rozšírené po celom svete. Preventívna ochrana proti tomuto onemocneniu sa robí očkovaním vakcínami, ktoré sa pripravujú z purifikovaných suspenzií pôvodcu. Používajú sa malovirulentné kmene ako živné vakcíny [Genig, W. A. a spol. Vopr. Virusol 10 ; 319, (1965)], korpuskulárne inaktivované vakcíny [Lackman, D. B. a spol. Amer. J. Publ. Health 52 : 87, (1962)] alebo chemovakcíny [Brezina, R. a spol. Acta Virol. 18 : 269, 1964/, Cracea, E. a spol. Arch. Roum. Path. Exp. Microbiol. 32 : 45, (1973)]. V prírode sa *Coxiella burnetii* vyskytuje vždy vo virulentnej, antigénne kompletnej forme označovanej ako fáza I. Udržovanie *Coxiella burnetii* v laboratórnych podmienkach sa robí pasážovaním v žltkových vakoch kuracích zárodkov. Pritom *Coxiella burnetii* stráca svoj povrchový antigén, stáva sa menej virulentnou a takto pozmenená sa označuje ako fáza II [Brezina, R. Antigény a imunita pri Q horúčke, Veda, Bratislava (1977)]. Pri štúdiu antigénnej štruktúry pôvodcu Q horúčky *Coxiella burnetii* sa ukázalo, že omnoho imunogénnejšie sú vakcíny pripravené v prirodzených podmienkach vyskytujúcej sa fázy I, ako tie pripravené z fázy II, adaptovanej na žltkové vaky kuracích zárodkov [Ormsbee, R. A. a spol. J. Immunol. 92 : 404, (1964)]. Nevýhodou inaktivovaných korpuskulárnych vakcín fázy I je ich veľká reaktogenosť prejavujúca sa miestnymi i celkovými reakciami a preto sa širšie neuplatnili v prevencii Q horúčky [Marmion, B. P. Med. J. Austr. 54 : 1074, (1967)]. Používanie živných vakcín, ktorými sú vlastne malovirulentné kmene fázy II *Coxiella burnetii* nie je podľa súčasných poznatkov vhodné z hľadiska nedostatočnej imunogenicity i nožnej perzistencie zárodku v organizme [Johnson, J. W. a spol. J. Infect. Dis. 133 : 334, (1976)]. Doposiaľ používaná chemovakcína pripravovaná z korpuskúl *Coxiella burnetii* vo fáze I je najvýhodnejšia [Brezina, R. a spol. Čs. Epidem. 30 : 1, (1981)], má však tiež určité vedľajšie účinky /miestne

reakcie po očkovaní ľudím vyvolanie splenomegálie a zcitlivenie k účinku endotoxínu u myší/.

Podstatou vynálezu je spôsob opracovania partikul *Coxiella burnetii* vo fáze I vedúci k odstráneniu toxických zložiek. Takto opracované korpuskuly sú vhodné na extrakciu protektívneho antigénu slúžiaceho ako chemovakcína so zníženou toxicitou na preventívne očkovanie ľudí proti Q horúčke.

Predmetom vynálezu je spôsob vedúci k odstráneniu toxických zložiek z povrchov buniek *Coxiella burnetii* vyznačujúci sa tým, že sa purifikované korpuskule *Coxiella burnetii* vo fáze I opakovane /dva razy/ extrahujú 1 až 2 hodiny pri laboratórnej teplote so zmesou 1 až 2 objemových dielov chloroformu a 1 objemového dielu metylalkoholu a z takto opracovaných partikul sa extrahuje protektívny antigén.

Chemovakcína pripravená podľa vynálezu si plne zachováva protektívne vlastnosti chemovakcíny proti Q horúčke pripravenej extrakciou z purifikovaných suspenzií *Coxiella burnetii* vo fáze I kyselinou trichloroctovou, podstatne je však znížená jej toxicita. Takáto chemovakcína nesenzibilizuje myšky k účinku endotoxínu a nevyvoláva u nich zväčšenie slezín a pečeni. U ľudí senzibilizovaných predchádzajúcou infekciou *Coxiella burnetii* spôsobujú menšie lokálne reakcie po vnútrokožnom podaní a je tiež menej reaktogénna po podkožnej aplikácii ako pôvodná vakcína získaná z neopracovaných korpuskúl *Coxiella burnetii*.

Využitie vynálezu je možné v zdravotníckych a veterinárnych zariadeniach zaoberajúcich sa výrobou vakcín proti Q horúčke a antigénov na jej diagnostiku.

Príklad

Usmrtené, purifikované korpuskule *Coxiella burnetii* vo fáze I sa suspendujú v zmesi pozostávajúcej z 2 objemových dielov chloroformu a 1 objemového dielu metylalkoholu do koncentrácie najviac 10 mg/ml a miešajú sa pri laboratórnej teplote 1,5 hodiny. Korpuskule sa od reakčnej zmesi oddelia filtráciou cez papierový filter jemnej porozity. Korpuskule sa z papiera spláchnu rovnakým objemom reakčnej zmesi ako

prvý krát a extrakcia sa opakuje za rovnakých podmienok. Korpuskule sa opäť oddelia filtráciou. Po ich vysušení za laboratórnej teploty sa tieto suspendujú v 0,15 M roztoku chloridu sodného a z nich sa extrakciou 1 až 2 hodiny pri 4 °C 10 % roztokom kyseliny trichloroctovej získava produkt, ktorý je po úprave vhodný na použitie ako chemovakcína na očkovanie ľudí proti Q horúčke.

P R E D M E T V Y N Á L E Z U

222 921

Spôsob prípravy chemovakcíny proti Q horúčke so zníženou toxicitou vyznačujúci sa tým, že sa purifikované korpuskule *Coxiella burnetii* vo fáze I opakovane extrahujú 1 až 2 hodiny pri laboratórnej teplote so zmesou 1 a 2 objemových dielov chloroformu a 1 objemového dielu metylalkoholu a z takto opracovaných partikul sa extrahuje protektívny antigén.