

POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA



URZĄD
PATENTOWY
PRL

OPIS PATENTOWY PATENTU TYMCZASOWEGO

76 323

Patent tymczasowy dodatkowy
do patentu _____

Kl. 30h,2/04

Zgłoszono: 08.03.1971 (P. 146761)

Pierwszeństwo: _____

MKP A61k 23/02

Zgłoszenie ogłoszono: 30.05.1973

Opis patentowy opublikowano: 10.03.1975

Twórca wynalazku: Józef Cwik

Uprawniony z patentu tymczasowego: Urząd Wojewódzki Wydział Zdrowia
i Opieki Społecznej, Opole (Polska)

Sposób wytwarzania surowic wzorcowych anti-D

Przedmiotem projektu wynalazczego jest sposób wytwarzania surowic wzorcowych anti-D, które stanowią jedną z surowic grupy Rh.

Dotychczasowy sposób produkcji tej surowicy opierał się na osoczu pochodzącym od dawców posiadających odpowiedni poziom przeciwciał anti-D, wyrażający się mianem nie niższym niż 1 : 32 w środowisku papainowym lub koloidowym. W przypadkach gdy miano przeciwciał anti-D było wyższe, a wynoszące przynajmniej 1 : 64, wówczas po odwłóknieniu osocza i opracowaniu serologicznym surowicę taką rozcieńczano przy pomocy surowicy grupy AB dożądanego miana. Surowica AB jako środowisko serologiczne obojętne nie mogła zawierać żdnych nieregularnych przeciwciał, ani powodować nieswoistych reakcji.

Surowice produkowane dotychczasowym sposobem mają ponadto ograniczony termin ważności, a do przechowywania ich wymagane są urządzenia chłodnicze. Zliofilizowane po rozcieńczeniu za pomocą obojętnej surowicy ludzkiej grupy AB, dosyć szybko tracą swe własności diagnostyczne, stając się równocześnie po pewnym czasie trudno rozpuszczalne.

Celem wynalazku jest opracowanie produkcji surowic wzorcowych anti-D do odczynu papainowego tak, aby:

a) wyeliminować stosowaną do rozcieńczania surowic anti-D surowicę ludzką grupy AB,

b) surowica zliofilizowana szybko się rozpuszczała po dodaniu rozpuszczalnika, była klarowna oraz nie traciła przez długi okres czasu własności diagnostycznych.

Zadaniem wynalazku jest zastosowanie takiej substancji, która pod względem serologicznym będzie zastępować surowicę ludzką grupy AB, nie dając reakcji nieswoistych. W stanie płynnym będzie wykazywać własności co najmniej równe surowicy ludzkiej grupy AB, a w stanie zliofilizowanym nawet przewyższać własnościami tę surowicę.

Cel ten osiągnięto poprzez zastąpienie surowicy ludzkiej grupy AB, jako substancji do rozcieńczania surowicy anti-D o wysokim mianie, roztworem wodnym suchego bulionu zwykłego. Bulion zwykły przygotowuje się ze zmielonego mięsa wołowego lub cielęcego, poprzednio oczyszczonego z tłuszczu, powięzi łącznotkankowej i kości. Po wykonaniu zabiegów ekstrakcji, otrzymany wyciąg mięsny dopełnia się do objętości

1 litra wodą destylowaną, oraz dodaje 1–2% peptonu i 0,5% roztworu NaCl. Wyciąg płynny po gotowaniu zobojętnia się 10% NaOH do $\text{pH} = 7,4 \pm 0,1$, uzyskując tzw. bulion zwykły. Ten, po wyjałowieniu i liofilizacji, jest suchym bulionem zwykłym.

Warunkom tym odpowiadają buliony zwykłe produkowane w stanie zliofilizowanym przez specjalistyczne wytwórnie jak np. Warszawską Wytwórnię Surowic i Szczepionek. Przed przystąpieniem do rozcieńczania bulionem zwykłym surowicy anti-D, surowicę tę mianuje się w celu określenia poziomu przeciwciał w odczynach – papainowym i koloidowym. Następnie określa się optymalną objętość bulionu zwykłego, przypadającego na daną objętość surowicy anti-D w odczynie papainowym, aby otrzymać żądane miano przeciwciał dla danej serii surowicy. Przygotowuje się niezbędną ilość wodnego roztworu bulionu i rozcieńcza odpowiednią objętością do żądanego poziomu przeciwciał.

Surowicę anti-D do odczynu papainowego rozcieńczoną bulionem po przesączeniu przez filtr SKS i dodaniu środka konserwującego rozlewa się do ampułek w ilości 1 ml. Całość zamraża się w odpowiednich blokach i następnie liofilizuje się przez okres 24 godzin. Po zakończeniu procesu liofilizacji ampułki zatapia się w jałowym boksie operacyjnym. Jako rozpuszczalnik do surowicy zliofilizowanej stosuje się wodę destylowaną w objętości równej objętości wlanej surowicy anti-D, przypadającej na 1 ampułkę.

Sposób według wynalazku pozwala na liofilizację surowic, które w tym stanie praktycznie mają długi termin ważności, do przechowywania nie wymagają urządzeń chłodniczych, rozpuszczane w wodzie destylowanej są dobrze rozpuszczalnymi i klarownymi. W stanie płynnym wykazują mniejszą wrażliwość na zmiany temperatury, aniżeli surowice produkowane dotychczasowym sposobem.

Przykład I. Surowica grupy AB zawierała przeciwciała anti-D w odczynie papainowym o mianie 1 : 8, a w odczynie koloidowym + albumina 1 : 4, oraz przeciwciała anti-D w odczynie papainowym o mianie 1 : 1024, a w odczynie koloidowym + albumina miano przeciwciał anti-D również 1 : 1024. Surowicę tę rozcieńczono w stosunku 1/20 uprzednio przygotowanym roztworem wodnym suchego bulionu zwykłego, opisanego wyżej. Do 1 ml surowicy anti-D o mianie 1 : 1024 dodawano 20 ml roztworu bulionu zwykłego. Roztwór wodny z bulionu suchego przygotowano zgodnie z recepturą. Tym sposobem otrzymano odpowiednią objętość surowicy przydatnej diagnostycznie jako surowicę anti-D w odczynie koloidowym + albumina o mianie 1 : 32, oraz w odczynie papainowym o mianie 1 : 64, jak również w odczynie antyglobulinowym. Część surowicy tak przygotowanej po dodaniu środka konserwującego merthiolatu przesączono przez krążek SKS, rozlano w jałowym boksie operacyjnym do ampułek w ilości 1 ml na ampułkę i poddano procesowi liofilizacji przez okres 24 godzin. Surowicę po procesie liofilizacji skontrolowano, czy zachowała w stanie niezmiennym wszystkie cechy diagnostyczne, właściwe dla surowic wzorcowych. Jako rozpuszczalnik dla surowicy zliofilizowanej służyła woda destylowana. W powyższym przykładzie zawartość 1 ampułki rozpuszczano w 1 ml wody destylowanej.

Przykład II. Surowica grupy A – Rh minus zawierała przeciwciała anti-D w odczynie papainowym o mianie 1 : 64. W celu pozbycia się izoaglutynin surowicę poddano absorpcji krwinkami grupy B – Rh minus w temperaturze $+4^{\circ}\text{C}$ przez okres 2 godzin. W ten sposób otrzymano surowicę bezgrupową, posiadającą przeciwciała anti-D w odczynie papainowym 1 : 64. Surowicę tą rozcieńczono w stosunku 1/1 roztworem wodnym suchego bulionu zwykłego, opisanego wyżej, dodając do 1 ml surowicy anti-D o mianie przeciwciał 1 : 64 1 ml roztworu bulionu zwykłego, otrzymując tym sposobem surowicę o mianie przeciwciał anti-D w odczynie papainowym 1 : 32, diagnostycznie przydatną w odczynach – papainowym i antyglobulinowym. Surowicę tak przygotowaną po dodaniu środka konserwującego i przesączeniu przez krążek SKS rozlano po 1 ml do ampułek i liofilizowano przez okres 24 godzin. Surowicę po liofilizacji skontrolowano pod względem własności diagnostycznych dla surowic wzorcowych. Zawartość ampułki przed użyciem rozpuszczano w 1 ml wody destylowanej.

Zastrzeżenie patentowe

Sposób wytwarzania surowic wzorcowych anti-D, znamienny tym, że do rozcieńczania surowic anti-D o wysokim mianie stosuje się bulion zwykły, będący wyciągiem mięsnym z mięsa wołowego lub cielęcego o $\text{pH} = 7,4 \pm 0,1$, stosowany w bakteriologii jako pożywka płynna do hodowli drobnoustrojów.