

5355/00

**KÖZZÉTÉTELI
PÉLDÁNY**



NSLO5

A23C 3/08

C12P 1/00

52.330/ZE

KIVONAT:

61162

Eljárás immunkémiai vizsgálat céljára vett colostrum
stabilizálására

DUPHAR INTERNATIONAL RESEARCH B.V., WEESP,
HOLLANDIA

A bejelentés napja: 1990. 09. 10.

Elsőbbsége: 1989. 09. 13. (8902284),
HOLLANDIA

A találmány tárgya eljárás immunokémiai vizsgálatra szánt colostrum vagy tej minták stabilizálására.

A találmány szerint úgy járnak el, hogy a mintához az alábbi komponenseket tartalmazó stabilizáló rendszert adagolják:

- (a) mikrobiológiai stabilizáló szer,
- (b) pufferoldat, amely a minta pH értékét 5-8 előnyösen 5,5-6,5 értékre állítja be, és
- (c) egy vagy több nem-ionos felületaktív anyag,

az (a), (b) és (c) komponenseket úgy választjuk meg, hogy ezek az immunokémiai vizsgálatot ne befolyásolják.

A találmány tárgya továbbá ilyen célra szolgáló stabilizáló készlet előállítása.

A találmány szerinti eljárást állatgyógyászatban és állattenyésztésben alkalmazhatjuk.

L. B. ...

And

5855/90

**KÖZZÉTÉTELI
PÉLDÁNY**

11.10.1990

NSZO 5

"A"

52.330/ZE

S.B.G. & K.
BUDAPESTI NEMZETKÖZI ÜGYVÉDI
ÉS SZABADALMI IRODA
1081 BUDAPEST, DALSZÍNHÁZ U. 10.
TELEFON: 183-3733

A23C 3/08
C12P 1/00

61162 :

ELJÁRÁS IMMUNOKÉMIAI VIZSGÁLAT CÉLJÁRA VETT COLOSTRUM
STABILIZÁLÁSÁRA

DUPHAR INTERNATIONAL RESEARCH B.V., WEESP,

HOLLANDIA

Feltalálók:

SCHOLTEN RUDOLF,

HILGERS Lucas Alfonsus Theodorus,

WESTRTRATE Marinus Wijnand,

WEESP, HOLLANDIA

A bejelentés napja: 1990. 09. 10.

Elsőbbsége: 1989. 09. 13. (8902284),

HOLLANDIA

A találmány tárgya eljárás colostrum vagy tej minta stabilizálására, amelyet immunokémiai vizsgálat alá kívánunk vetni, valamint eljárás colostrum vagy tej minta stabilizálására szolgáló készlet előállítására.

Az állatgyógyászati diagnosztikában a különböző betegségekkel szembeni antitest titrálást a vérszérumban végzik. Erre a célra a vérmintát állatorvos kell, hogy vegye. Számos esetben ugyanezt a meghatározást elvégezhetjük colostrum vagy tej mintákban is. A tej mintavizsgálata különösen marhák esetében nagyszámú állaton végezve előnyös lehet a következő okok miatt:

- (i) nem szükséges, hogy a mintát állatorvos vegye, ennek következtében a mintavétel költsége és így a teljes költség az immunokémiai vizsgálatban jelentősen csökken;
- (ii) a mintavétel nem, vagy csak igen kis stresszt okoz az állatokban, és
- (iii) néhány esetben az analitikai meghatározás érzékenysége colostrum mintában javított a szérumhoz képest; a colostrum az antitestek nagy koncentrációját tartalmazza.

Azonban azt tapasztalták a gyakorlatban, hogy a colostrum (fröccs tej) vagy tej minták analízise csak akkor szolgáltat megbízható eredményeket, hogyha a colostrum vagy tej mintákat, amelyeket a vizsgálatra alkalmazunk, igen gondosan kezeljük. A túl magas hőmérsékleten történő tárolás nem megbízható eredményeket szolgáltat. Ez a hatás időnként már 24 órán belül

is bekövetkezik. Megbízható eredményeket akkor kaphatunk, ha a mintákat -20°C hőmérsékleten tároljuk. A colostrum és a tej érzékenysége miatt a vizsgálandó minták gyűjtését, tárolását és szállítását igen gondosan szabályozott körülmények között kell végezni. Ezeket a szabályozott kezelési körülményeket a nagymennyiségű minta esetében igen nehéz biztosítani, például olyan esetekben, amikor disznókban az Aujeszky betegséget kívánjuk megszüntetni, és olyan területeken vagy országokban, ahol nem megfelelő infrastruktúra található a tárolás és szállítás megoldására. Ennek következtében az antitest titerek meghatározása colostrum és tej mintákban nem lehetséges.

A találmány tárgya olyan eljárás, amely lehetővé teszi colostrum vagy tej minták immunokémiai vizsgálatát, anélkül, hogy a kapott eredmények megbízhatósága kárt szenvedne.

A találmány tárgya eljárás colostrum vagy tej minták stabilizálására, amelyeket immunokémiai vizsgálatnak kívánunk alávetni, amely stabilizálásban hatásos mennyiségű stabilizáló rendszert alkalmazunk, amely az alábbi alkotóelemekből áll.

- (a) mikrobiológiai tartósító anyag,
- (b) pufferoldat, amely a minta pH értékét 5-8, előnyösen 5,5-6,5 közötti értékre állítja be, és
- (c) egy vagy több nem-ionos felületaktív anyag.

Az alkotóelemeket úgy kell megválasztani, hogy ezek ne lépjenek kölcsönhatásba a végrehajtandó immunokémiai vizsgálattal. Ez azt jelenti, hogy nem megengedhető sem egyes, sem több kombinált alkotóelem alkalmazása, amelyek befolyásolják a tesztvizsgálati folyamatot, vagy a tesztvizsgálati folyamat eredményét. A kereskedelemben kapható mosószerek széles köre alkalmazható nem-ionos felületaktív anyagként a stabilizáló készítményben.

Azt találtuk, hogy amennyiben ilyen stabilizáló rendszert adunk a colostrum vagy tej mintákhoz, ezekben az antitest titer értéke, azaz az antitestek koncentrációja nem változik, még hosszabb ideig történő, magasabb hőmérsékleten való tárolás során sem (37°C), így az immunokémiai vizsgálatot megbízható eredménnyel végrehajthatjuk. A találmány szerinti eljárás értékelése során figyelembe kell vennünk továbbá, hogy a tej egy igen speciális testfolyadék, amely igen magas követelményeket támaszt az adagolható adalékanyagokkal szemben, illetve az alkalmazható stabilizáló rendszerrel szemben.

Az optimális stabilizálás elérésére legalább két nem ionos felületaktív anyagot kell alkalmazni, amelyek közül legalább az egyik 11-16 HLB értékkel rendelkezik.

Mikrobiológiai tartósítóanyagként előnyösen bikromátot alkalmazhatunk, például nátriumbikromátot, káliumbikromátot vagy ammóniumbikromátot, vagy szerves higanyvegyületet alkal-

mazhatunk, mint például etil-higany-tioszalicilátot. A stabilizáló rendszert és ennél fogva a pufferoldatot előnyösen koncentrált körülmények között adagoljuk a mintához, azaz a mintát a lehető legkisebb mértékben hígítjuk. A hígítás csökkenti a végrehajtandó tesztvizsgálat vagy tesztvizsgálatok érzékenységét. Azt találtuk, hogy koncentrált pufferoldatot képezhetünk gyenge szervesetlen sav és ennek sója keverékéből készített puffer segítségével.

A stabilizáló rendszer utolsó komponense lehet legalább két nem-ionos felületaktív anyag keverékének vizes oldata, amely felületaktív anyag lehet például polioxi-etilén-szorbitán zsírsavészter, egy blokk polimer, amelyet polioxi-etilén és polioxi-propilén egységekből (amelyek viszonylag magas polioxi-etilén tartalmúak) és kívánt esetben alkil-fenol-polioxi-etilén vegyületből építünk fel. A polioxi-etilén-szorbitán zsírsavészterek kereskedelemben kapható termékek, és például a Tween, mint például a Tween 80 és Tween 85 márkánév alatt kaphatók. A polioxi-etilén-polioxi-propilén blokk kopolimerek Pluronic márkánév alatt kaphatók, és a találmány szerinti példákban alkalmazott magas polioxi-propilén tartalmú kopolimer (kb. 90%) Pluronic PE 3100 termék. A Nonidet P-40 például egy alkil-fenol-polioxi-etilén vegyület, amelyben az alkilcsoport 8 szénatomot tartalmaz, és amelyben molekulánként átlagosan 9 etilénoxid molekula található.

A felhasználó szempontjából igen nagy előny, amely fel-

használó lehet például a marhatenyésztő, hogy megállapíthassa, hogy vajon a mintához hozzáadták-e a stabilizálórendszert, másképpen a colostrum vagy tej minta stabilizálva van-e. Ez még nagyobb jelentőségű hatóság szempontjából, amely az immunokémiai vizsgálatot végrehajtja. Amennyiben könnyen megállapítható, hogy a minta stabilizált, a vizsgáló biztos lehet abban, hogy a vizsgálat eredményei megbízhatók, és ezeket nem befolyásolja a colostrum vagy tej minta korábbi kezelése és tárolása.

Ebből a szempontból a találmány tárgya olyan stabilizáló rendszer előállítás, amelyben indikátoranyag található, amely a colostrum vagy tej mintát elszínezi. A bikromát tartósítószer alkalmazásának előnye, hogy ez sárga színű és a colostrum vagy tej mintát sárga színűvé változtatja. Ennélfogva különösen előnyös találmány szerinti stabilizáló formált rendszer, amelyet a találmány szerinti eljárásnak megfelelően colostrum vagy tej mintákhoz adhatunk, valamely bikromát koncentrált pufferoldatban oldva. Kívánt pH értéke és nagy vízzoldhatósága miatt a $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$ puffer igen előnyös, amelynek pH értéke körülbelül 6,4. A stabilizáló rendszer harmadik komponensét, azaz felületaktív anyagot vagy anyagokat ezután előnyösen külön adagoljuk koncentrált vizes oldat formájában az elegyhez. Amennyiben ezt a komponenst a bikromát pufferoldatban oldva alkalmazzuk, több víz oldószer alkalmazása szükséges ahhoz, hogy a komponensek szétválását elkerüljük. Ez a minta nagyobb mértékű hígítását okozná, és így a colostrum vagy tej minta immuno-

kémiai vizsgálatbani érzékenysége csökkenne.

A találmány szerinti eljárás további előnye, hogy a mosószer oldathoz (C komponens) indikátort adagolhatunk, amely a colostrum vagy tej minta és a tartósítóanyag valamint puffer tartalmú oldat színét megváltoztatja. Alkalmazható indikátor például a metilénkék, amely a narancsszínű bikromát oldattal együttesen a colostrum vagy tej mintának zöld színt kölcsönöz. Amennyiben a stabilizálás során elfeledkeznek a mosószer oldat beadagolásáról, a minta színe sárga, amennyiben a tartósítóanyag és a pufferoldat beadagolását felejtik el, a minta színe kék lesz. Csak a zöld színű colostrum vagy tej minták elfogadhatók, mert ez a szín jelzi, hogy a stabilizálás megtörtént teljes mértékben.

A stabilizáló rendszer aktivitása széles határértékeken belül létrejön. Mint a példákából kitűnik, a colostrum vagy tej minták kiváló stabilizálását lehet elérni már egy térfogat% stabilizáló rendszer adagolásával, de ugyanilyen eredményt érhetünk el, amennyiben 2-10 térfogat% stabilizáló rendszert alkalmazunk.

A találmány tárgya továbbá eljárás stabilizáló készlet előállítására, amely az immunokémiai vizsgálati készlettel együtt szállítható, amely utóbbi az immunokémiai vizsgálatokhoz szükséges anyagokat és egyéb segédeszközöket tartalmazza. Az ilyen stabilizáló készlet általában használati utasítást

tartalmaz, amelyben leírjuk azokat a kikötéseket, amelyeket a colostrum vagy tej minták immunokémiai vizsgálatra való felhasználásához a stabilizálás vonatkozásában meghatározunk, azaz azt, hogy a mintákat a stabilizáló rendszer hozzáadagolásával a fentiek szerint a mintavétel után a lehető leghamarabb stabilizálni kell. Disznókban Aujeszky betegség vírus antitestjeinek meghatározására szolgáló tesztvizsgálati készletet írtak le a szerzők az előzetesen nem közzétett 8901891 számú Hollandiai szabadalmi bejelentésben. A marha leucose vírus antitestjeinek meghatározására szolgáló tesztvizsgálati készlet ugyancsak ismert. Ezeket a tesztvizsgálati készleteket előnyösen alkalmazhatjuk disznók illetve marhák colostrum vagy tej mintáinak immunokémiai vizsgálatában, azzal a feltétellel, hogy a mintákat korábban a fent leírt stabilizáló rendszerrel stabilizáltuk.

A találmány szerinti eljárást az alábbi példákban részletesen bemutatjuk.

1. példa

Disznó colostrum stabilizálása immunokémiai vizsgálat céljából

Az alábbi stabilizáló rendszert alkalmazzuk:

A oldat: 10 tömeg% $K_2Cr_2O_7$;

2,5 m $H_2PO_4^-/HPO_4^{2-}$ puffer, pH = 6,4; amelyet 2,5 m

NaH_2PO_4 oldat 2,5 m nátriumhidroxiddal történő titrá-

lásával nyerünk a kívánt pH értékig.

B oldat: 1 tömeg% Tween 80;

1 tömeg% Nonidet P-40;

1 tömeg% Pluronic PE 3100;

0,05 tömeg% metilénkék.

Négy anyadisznótól közvetlenül malacozás után colostrumot veszünk. A colostrumot azonnal mélyhűtjük, és a kísértlet megkezdéséig -20°C -on tároljuk. A vizsgálat megkezdése előtt minden mintát több részre osztunk. Az egyik részhez 2% mennyiségű stabilizáló rendszert adunk, a másik részt nem kezeljük. A stabilizált és a nem-kezelt colostrum mintákat 28°C és 37°C hőmérsékleten inkubáljuk. A minták Aujeszky gI antitest titerét meghatározzuk 0, 7 és 35 nap múlva Suvaxyn gI ELISA készlet segítségével.

A kapott eredményeket az A Táblázatban közöljük optikai sűrűség százalék értékben. A negatív kontrollt a tesztvizsgálati készlet előírásainak megfelelően 100%-nak vesszük.

A TÁBLÁZAT

Különböző hőmérsékleteken tárolt stabilizált vagy nem stabilizált disznó colostrum antitest titerének meghatározása glikoprotein I Aujeszky betegség vírussal szemben

tárolási körülmények	minta 1		minta 2		minta 3		minta 4	
hő- mérséklet/idő	o	s	o	s	o	s	o	s
0 nap	80,4	83,4	105,1	99,8	45,2	50,1	8,9	9,1
28 ⁰ C/7 nap	16,4	76,4	20,8	91,0	18,4	48,0	5,7	6,5
28 ⁰ C/35 nap	3,6	68,4	3,5	*	4,6	49,7	3,2	5,0
37 ⁰ C/7 nap	*	89,2	*	98,6	*	53,2	*	9,3
37 ⁰ C/35 nap	*	78,2	*	87,6	*	*	*	4,2

különbféle disznók colostrum mintái

o = nem kezelt

s = stabilizált

* = nem mért

Az eredményekből kitűnik, hogy a stabilizált mintákat még 37⁰C hőmérsékleten is 35 napig tárolhatjuk anélkül, hogy minőségük romlana, azaz felhasználhatóságuk az immunokémiai vizsgálatban csökkenne. Az eredményekből ugyancsak kitűnik, hogy a mintához adott stabilizáló rendszer nem befolyásolja a tesztvizsgálat eredményeit. Ezzel szemben a nem kezelt colostrum minta 28⁰C-os hőmérsékleten tárolva már egy héten belül sem használható immunokémiai vizsgálatra, mivel a minták (1, 2 és 3 minta) pozitív irányban rosszul értékelhetők

($\leq$ 35% optikai sűrűség).

2. példa

Disznó colostrum stabilizálása immunokémiai vizsgálat
céljára: stabilizáló rendszerek összehasonlítása

Az 1. példa eljárásában leírt stabilizáló rendszert (S1) összehasonlítjuk az (S2) stabilizáló rendszerrel, amelyből a Nonidet P-40 anyagot elhagytuk. A colostrum mintákban a mosószerek végkoncentrációja 0,05%; a $K_2Cr_2O_7$ végkoncentrációja 0,2%; a $H_2PO_4^-/HPO_4^{2-}$ puffer végkoncentrációja 0,05 m.

A B Táblázatban közölt eredményeket (optikai sűrűség %) a minták 48 óráig 37°C-on történő tárolásával kaptuk.

B TÁBLÁZAT

Disznó colostrum antitest titerének meghatározása
Aujeszky gI vírussal szemben

Stabilizáló rendszer	M i n t a			
	1	2	3	4
S1	105,5	94,7	116,3	100,0
S2	103,3	99,7	112,8	99,8

Az eredmények alapján megállapítható, hogy a stabilizáló rendszerek nem különböznek egymástól nagy mértékben. A három-

komponensű rendszer, azaz a Nonidet P-40 anyagot tartalmazó rendszer mégis előnyösebb, mivel azt találtuk, hogy ennek alkalmazásával egységesebb eredményt kapunk.

3. példa

Disznó colostrum stabilizálása immunokémiai vizsgálat céljára: a stabilizáló rendszer különböző koncentrációi

Az. 1. példa eljárása szerint a stabilizáló rendszert különböző koncentrációkban adagoljuk a mintához: 10%, 2% és 1%.

A C. Táblázatban megadott eredményeket (optikai sűrűség %) 7 napon át történő 37°C hőmérsékleten végzett tárolás után nyertük.

C TÁBLÁZAT

Különféle koncentrációjú stabilizáló rendszer hatása a disznó colostrumban az Aujeszky gI antitest titer meghatározására

tárolási idő (nap)	minta: 1			minta: 2			minta: 3		
	stabilizálószer			stabilizálószer			stabilizálószer		
	koncentráció %			koncentráció %			koncentráció %		
	10	2	1	10	2	1	10	2	1
0	19,2	17,9	22,4	37,3	38,3	43,1	59,8	60,7	65,2
7	18,4	21,3	22,3	39,7	38,6	*	60,6	58,2	59,2

* = nem meghatározott

Megállapítható, hogy a stabilizáló rendszer jó stabilizálást eredményez valamennyi alkalmazott koncentráció érték mellett, azaz 10%, 2% és 1% mellett.

4. példaGyakorlati körülmények között gyűjtött disznó colostrumban az Aujeszky gI állapot meghatározása

A normál gyakorlat szerint két disznófarmon colostrumot gyűjtöttek ellés után anyakocáktól. A mintákat két részre osztották. Az egyik részüket -20°C -on tárolták, és a laboratóriumba fagyasztott állapotban szállították. A másik részt az 1. példa szerinti eljárással stabilizálták. A stabilizáló rendszer mintához való adagolása után (körülbelül 2%) a colostrum mintát körülbelül 4°C -on tárolták. Ebben az esetben semmilyen speciális elővigyázatossági rendszabályokat nem tartottak be, a szállítási idő és tárolási hőmérséklet vonatkozásában. A nem kezelt fagyasztott minták és a stabilizált minták Aujeszky gI antitest titerét a laboratóriumban Suvaxyn gI ELISA berendezéssel meghatározták. Az összehasonlító tesztvizsgálatok eredményeit a D. Táblázatban adjuk meg.

D TÁBLÁZAT

Gyakorlati körülmények között gyűjtött stabilizált disznó colostrum és fagyasztott nem kezelt disznó colostrum Aujeszky gI titerének meghatározása.

minták tárolási idő (nap)		Minták kezelése	
		fagyasz- tott	stabilizált
Tárolás az A farmon			
1	3	66,5	68,8
2	5	8,7	8,7
3	14	9,1	9,6
4	18	67,2	65,6
5	19	57,5	49,9
6	25	3,3	2,8
7	25	3,0	2,9
8	26	2,8	2,5
9	28	5,4	5,1
10	30	20,6	20,6
12	34	2,8	3,1
Tárolás a B farmon			
13	2	8,9	9,1
14	3	66,7	64,5
15	5	45,2	50,1
16	6	105,1	99,8
17	6	80,4	83,8
19	11	3,9	5,0
20	12	57,2	51,8
21	12	84,4	88,3
22	13	98,7	88,3
23	19	3,3	3,0
24	19	2,8	3,0

D TÁBLÁZAT (folytatás)

25	31	3,1	3,0
26	33	58,4	57,9
27	35	60,4	51,8

Az eredményekből kitűnik, hogy a minták stabilizálása lehetővé teszi, hogy ezeket normál gyakorlati körülmények között tároljuk és szállítsuk. Az ilyen stabilizált minták immunkémiai vizsgálatban alkalmazhatók maradnak ugyanolyan mértékben, mint a gondosan -20°C hőmérsékleten tárolt minták. Ez azt jelenti, hogy a stabilizált mintákkal kapott eredmények oly mértékben megbízhatóak, hogy az egyes állatok Aujeszky gI státusának meghatározásában végzett hiba kizárható.

5. példaMarhatej stabilizálása immunokémiai vizsgálat céljára

A vizsgálatban alkalmazott kevert marhatej mintákat a tesztvizsgálat megkezdéséig -20°C -on tároltuk. Ekkor a tesztvizsgálati mintákat megosztottuk. Az egyik tejrészhez stabilizáló rendszert adunk (2%), a másik részt nem kezeljük. Az 1. példában alkalmazott stabilizáló rendszert alkalmazzuk. A stabilizált és a nem kezelt tejet 4°C -on illetve 37°C -on inkubáljuk. A táblázatban megadott napokon BLV-tej ELISA berendezéssel a marhaszérium leucose vírus (BLV) antitest titert meghatározzuk.

Az eredményeket az E Táblázatban adjuk meg (optikai sűrűség %).

E TÁBLÁZAT

Antitest titerek meghatározása p24 BLV-vel szemben stabilizált és nem stabilizált marhatejben, amelyet különböző hőmérsékleten tároltunk.

tárolási körülmények	kevert minta: 1		kevert minta: 2		kevert minta: 3	
hőmérséklet/idő	o	s	o	s	o	s
0 nap	34,1	37,1	24,8	20,9	8,0	10,2
4 ⁰ C/7 nap	33,0	34,5	26,7	21,4	9,9	9,9
4 ⁰ C/35 nap	60,6	34,5	30,7	24,3	38,7	12,0
37 ⁰ C/7 nap	bomlik	34,4	bomlik	22,5	bomlik	11,3

o = nem kezelt

s = stabilizált

bomlik = a tej tönkrement, és ezért tovább nem alkalmazható.

Az eredményekből kitűnik, hogy a nem stabilizált tejjel szemben a stabilizált marhatej hosszabb tárolási idő után is alkalmas immunokémiai vizsgálat végrehajtására. Mivel a vizsgálat eredményei a 0. napon végrehajtott vizsgálathoz képest nem változtak.

6. példa

Colostrum stabilizálása immunokémiai vizsgálat céljából:
területi próbák.

I. Próba: Aujeszky negatív gombából közvetlenül ellés után valamennyi anyakocától colostrum mintát veszünk. A 181 anyakocá-

tól vett colostrum mintákat (S1) 1. példában leírt stabilizáló rendszerrel stabilizáljuk és Suvaxyn gI tesztvizsgálatban gI antitestekre vizsgáljuk. Egy minta sem pozitív, öt minta kétséges és 176 minta negatív. A kétséges mintákat a colostrum zsírmentesítése után újravizsgáltuk, és a colostrum szérum negatív értéket mutatott. Az eredményeket az alább közölt ábrán vázlat-szerűen bemutatjuk.

II. Próba: Számos disznótenyésztő farmon ellés után anyakocáktól colostrum mintákat veszünk. A mintákat (S1) 1. példában leírt stabilizáló rendszerrel stabilizáljuk, majd Suvaxyn gI tesztvizsgálatban vizsgáljuk. A 261 mintából 90 pozitív, 146 negatív és 17 kétséges. A pozitív és kétséges minták esetében az anti-gI antitest titert zsírmentes colostrumban és szérumban is meghatározzuk. Szérumban a 98 colostrum pozitív minták közül 75 pozitív, és 23 negatív. Az utóbbiak alacsony titert mutatnak zsírmentes colostrumban ($>1/16$). Valamennyi kétes eredményt szolgáltató állat mintája szérum formában negatív, és zsírmentes colostrumban a 17 mintából 8 ad kétséges eredményt. Az eredményeket vázlatosan az alább bemutatott ábrán közöljük.

Következtetések: A két próba eredményeiből kitűnik, hogy az alkalmazott stabilizáló rendszer kiküszöböli a colostrum hibás pozitív reakcióját. A kétes eredményt szolgáltató mintákat tovább kell vizsgálni a colostrum zsírmentesítése után. A colostrum gI antitestjeinek meghatározása legalább olyan érzékeny, mint a szérumbani meghatározás.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Eljárás immunokémiai vizsgálatra szánt colostrum vagy tej minta stabilizálására, azzal jellemezve, hogy a mintához stabilizálásban hatásos mennyiségű stabilizáló rendszert adagolunk, amely az alábbi alkotóelemeket tartalmazza:

- (a) mikrobiológiai tartósítószer,
- (b) pufferoldat, amely a mintát 5-8 előnyösen 5,5-6,5 pH értékre pufferolja, és
- (c) egy vagy több nem-ionos felületaktív anyag, ahol az (a), (b) és (c) komponenseket úgy választjuk meg, hogy ezek az immunokémiai vizsgálattal nem lépnek kölcsönhatásba.

2. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az alkalmazott stabilizáló rendszerben a (c) komponens legalább két nem-ionos felületaktív anyag keveréke, amelyek közül legalább egy 12-16 HLB értékkel rendelkezik.

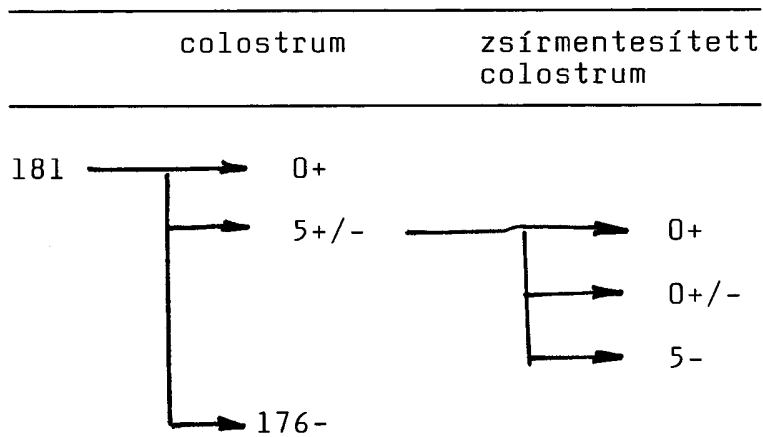
3. A 2. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az alkalmazott stabilizáló rendszer az alábbi alkotóelemeket tartalmazza:

- (a) mikrobiológiai stabilizáló szer, amely valamely bikromát vagy szerves higanyvegyület
- (b) gyenge szervesetlen sav és sója koncentrált pufferoldata, és
- (c) legalább két nem-ionos felületaktív anyag keveréke, amelyek közül legalább az egyik 12-16 közötti HLB értékkel rendelkezik.

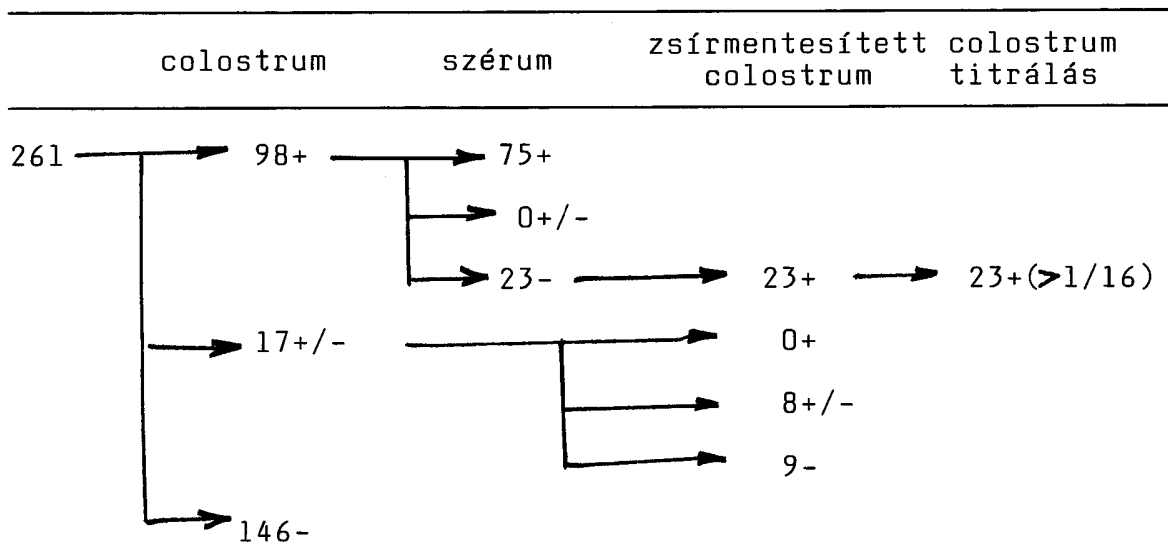
Ábra

A két területi próba sematikus ábrázolása

I. Próba



II. Próba



4. Az 1-3. igénypontok bármelyike szerinti eljárás a z z a l j e l l e m e z v e , hogy a stabilizáló rendszerben a (c) komponens legalább két nem-ionos felületaktív anyag vizes oldatát tartalmazza, amely anyagok lehetnek polioxi-etilén-szorbitán zsírsavészter, blokk kopolimer, amely polioxi-etilénből és polioxi-propilénből készül, és viszonylag magas polioxi-propilén tartalmú és kívánt esetben alkil-fenol-polioxi-etilén vegyület.

5. A 4. igénypont szerinti eljárás, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy az alkalmazott stabilizáló rendszer az alábbi alkotóelemeket tartalmazza:

- (a) bikromát tartósító anyag
- (b) $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$ puffer, amelynek pH értéke körülbelül 6,4 koncentrált vizes oldatában, és
- (c) legalább két nem-ionos felületaktív anyag vizes oldata, amely anyag lehet polioxi-etilén-szorbitán zsírsavészter, blokk kopolimer, amely polioxi-etilénből és polioxi-propilénből készül, és viszonylag magas polioxi-propilén tartalmú, és kívánt esetben alkil-fenol-polioxi-etilén vegyület.

6. Az 5. igénypont szerinti eljárás, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy az 5. igénypontban leírt stabilizáló rendszer komponenseit alkalmazzuk, ahol a (c) felületaktív anyagok oldata, továbbá indikátort tartalmaz, amely az (a) és (b) komponensek oldatait tartalmazó mintát elszínezi.

7. Eljárás immunokémiai vizsgálatra szánt colostrum vagy tej minta stabilizálására alkalmas készlet előállítására, azzal jellemezve, hogy a készletben stabilizáló rendszert alkalmazunk, amely az alábbi komponenseket tartalmazza:

- (a) mikrobiológiai tartósító anyag,
- (b) pufferoldat, amely a mintát körülbelül 5-8 előnyösen 5,5-6,5 pH értékre pufferolja, és
- (c) egy vagy több nem-ionos felületaktív anyag, továbbá a készlet használati utasítást tartalmaz, amely előírja, hogy az immunokémiai vizsgálatra szánt colostrum vagy tej mintát a mintavétel után a lehető legrövidebb időn belül a stabilizáló rendszer hozzáadásával stabilizálni kell.

8. A 7. igénypont szerinti készlet, azzal jellemezve, hogy a készlet stabilizáló rendszert tartalmaz, amelyben a (c) komponens legalább két nem-ionos felületaktív anyag keveréke, amelyek közül legalább az egyik 12-16 közötti HLB értékű.

9. A 8. igénypont szerinti készlet, azzal jellemezve, hogy a készletben az alábbi komponenseket tartalmazó stabilizáló rendszert alkalmazzuk:

- (a) mikrobiológiai tartósítóanyag, amely valamely bikromát vagy szerves higanyvegyület,
- (b) koncentrált pufferoldat, amely gyenge szervesetlen sav és sója elegyből készül, és
- (c) legalább két nem-ionos felületaktív anyag keveréke, ame-

lyek közül legalább az egyik 12-16 HLB értékkel rendelkezik.

10. A 7-9. igénypontok szerinti készlet, azzal jellemezve, hogy stabilizáló rendszert tartalmaz, amelyben a (c) komponens legalább két nem-ionos felületaktív anyag keverékének vizes oldata, amely anyag lehet polioxi-etilén-szorbitán zsírsavészter, blokk kopolimer, amely polioxi-etilénből és polioxi-propilénből készül és amely viszonylag magas polioxi-propilén tartalmú, és kívánt esetben alkil-fenol-polioxi-etilén vegyület.

11. A 10. igénypont szerinti készlet, azzal jellemezve, hogy stabilizáló rendszert tartalmaz, amely az alábbi alkotóelemeket tartalmazza:

(a) bikromát tartósítóanyag (b) koncentrált vizes $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$ 6,4 pH értékű pufferoldatban, és

(c) legalább két nem-ionos felületaktív anyag vizes oldata, amely anyag lehet polioxi-etilén-szorbitán zsírsavészter, blokk kopolimer, amely polioxi-etilénből és polioxi-propilénből készül, és viszonylag magas polioxi-propilén tartalmú, és kívánt esetben alkil-fenol-polioxi-etilén vegyület.

12. A 11. igénypont szerinti készlet, azzal jellemezve, hogy a 11. igénypontban leírt stabilizáló rendszert tartalmazza, amelyben a (c) felület-

aktív anyag ^{vizes}oldata , továbbá indikátort tartalmaz, amely
(a) és (b) komponenseket tartalmazó oldattal elegyített minta
színét megváltoztatja.

13 oldal
reláció és kártya
Jed

A meghatalmazott

IRG. & K.
BUDAPESTI KEMZETKÖZI ÜGYVÉD
ÉS SZABADALMI IRODA
1061 BUDAPEST, DALSZÍNHÁZ U. 10.
TELEFON: 153-3733