

ROMÂNIA
OFICIUL DE STAT
PENTRU
INVENȚII ȘI MĂRCI

BREVET DE INVENȚIE ⁽¹⁰⁾ RO ⁽¹¹⁾ 59686

⁽¹²⁾ DESCRIEREA INVENȚIEI

(21) Cerere de brevet nr. 81305
(22) Data înregistrării: 31.01.1975
(61) Complementară la invenția
brevet nr.:
(45) Data publicării: 28.06.2002

(51) Int.Cl.⁷: A 61 K 39/00

(86) Cerere internațională(PCT)
nr.: data:
(87) Publicarea cererii internaționale
nr.: data:
(89)

(30) Prioritate:
(32) Data:
(33) Țara:
(31) Certificat nr.

(71) Solicitant: CHIȘIU ȘT. NICOLAE, BUCUREȘTI, RO; VIȘINESCU RODICA,
BUCUREȘTI, RO; CHIȘ ȘT. DOMIȚIAN, COMUNA BĂDĂCIN,
JUDEȚUL SĂLAJ, RO
(73) Titular: ÎNTREPRINDEREA DE INDUSTRIE LOCALĂ, ȘIMLEU SILVANIEI,
JUDEȚUL SĂLAJ, RO
(72) Inventator: CHIȘIU ȘT. NICOLAE, BUCUREȘTI, RO; VIȘINESCU RODICA,
BUCUREȘTI, RO; CHIȘ ȘT. DOMIȚIAN, COMUNA BĂDĂCIN,
JUDEȚUL SĂLAJ, RO

**(54) PROCEDEU DE OBTINERE A UNUI PRODUS ANALOG
ANTICORPILOR IgG**

(57) Rezumat: Invenția se referă la un procedeu de obținere a unui reactiv imunochimic destinat identificării și dozării imunoglobulinelor serice IgG umane și de la alte specii animale. Procedeul conform invenției constă în aceea că folosește ca materie primă coaja sâmburilor de piersică sau

caisă, care se usucă în curent de aer cald, se macină, se supun extracției cu o soluție apoasă tamponată la pH=8, după care extractul obținut se centrifughează, supernatantul se precipită cu alcool etilic la 50°C, iar precipitatul se resolubilizează în soluție tampon.

Invenția de față se referă la un reactiv imunochimic destinat identificării și dozării imunoglobulinelor serice IgG umane și de la alte specii animale.

În prezent, în scopul identificării și dozării imunoglobulinelor de la om și animale, se folosesc seruri monospecifice. Aceste seruri se obțin prin hiperimunizarea unor animale potrivite pentru acest scop, care sunt hiperimunizate cu antigenul respectiv după o anumită schemă, sângerarea animalului făcându-se când s-a obținut un titru de anticorpi corespunzător.

Deoarece în diferite afecțiuni virale și bacteriene umane și animale, imunoglobulinele normale - γ globulinele polivalente - suferă modificări mari din punct de vedere cantitativ, determinarea lor oferă un spectru larg de indicații în scopul punerii diagnosticului. Folosirea ca reactivi a serurilor animale monospecifice prezintă dezavantaje, datorită faptului că acești reactivi sunt scumpi, specifici de specie, iar procedeul lor de obținere este lung și laborios.

Invenția de față elimină dezavantajele arătate, prin aceea că, în scopul detectării și determinării cantitative a imunoglobulinei G (IgG) la om și animale, folosește un reactiv obținut prin extragere din cojile sămburilor de piersică, izolate, uscate și măcinate, extracția făcându-se cu ajutorul unei soluții apoase aduse la pH alcalin, între 8 și 9, cu veronal sodic (ester dietilmalonic al acidului barbituric - sarea sodică a esterului dietil malonic al acidului barbituric), după care extractul obținut se centrifughează, supernatantul se precipită în alcool etilic la 50°, iar precipitatul se resolubilizează în soluție tampon la pH= circa 8.

Se dă, mai departe, un exemplu de realizare a invenției.

Sămburi de piersici (*Piersica vulgaris Mill*) se recoltează prin procedee mecanice, apoi se sparg, se aduc sub

formă de făină, prin măcinare într-o moară cu ciocănele. În vederea extragerii reactivului, făina din coji de sămburi se încarcă într-un extractor prevăzut cu mijloace de agitare și se toarnă soluție tampon veronal - veronal sodic cu pH=8,6, cu tăria ionică între 0,05 și 0,025, folosind pentru fiecare gram de făină de la 5 la 20 ml soluție tampon. După extracție, reziduul insolubil se sedimentează ușor sau este separat prin centrifugare. Reziduul se supune la circa 2...3 extracții efectuate în aceleași condiții ca extracția anterioară. Supernatantele obținute se unifică și reprezintă reactivul brut.

Pentru extragerea componentelor active din reactivul brut, se face precipitarea în gradient de alcool etilic, separarea precipitatului prin centrifugare, apoi, depozitul se resolubilizează în soluție tampon de veronal - veronal sodic cu pH=8, la volum calculat în funcție de standardizarea fixată. Extractul final se clarifică prin centrifugare timp de 15 min, la 3000 ture, apoi este verificat electroforetic.

În același fel se lucrează și în cazul când în locul sămburilor de piersică se folosesc sămburii de caisă.

Modul de folosire al reactivului este următorul:

0,3 ml extract se încorporează în 3 ml gel de agar la 50°C și se toarnă la aceeași temperatură pe o lamă de microscop. În stratul de gel, după răcire, se practică 4...5 godeuri cu diametrul de 2 mm și se încarcă cu ser sangvin uman și de la alte specii, câte o specie într-un godeu.

Lama, astfel preparată, se introduce în aparatul de electroforeză ca la imunodozările de tip rachetă anodică și se stabilește circuitul electric; imunoglobulinele G, de la toate speciile, migrează spre catod, în condițiile date, ele precipitând, selectiv, cu componentele corespunzătoare din reactiv, care migrează spre anod. Reacția formează câte o rachetă cu

mai multe trepte pentru fiecare probă de ser, rachetă realizată prin precipitarea unor subfuncțiuni de imunoglobuline G cu reacianții corespunzători din reactivul conform invenției.

Reactivul se standardizează în funcție de întinderea dorită a rachetei, pentru o cotă dată din proba de ser sangvin analizată și în funcție de separarea cea mai potrivită a subfracțiunilor care realizează treptele rachetei.

Reactivul obținut, conform invenției, poate fi folosit și pentru identificarea și dozarea unor componente proteice extrase din vegetale, semințe de mere și din alte fructe.

Invenția prezintă următoarele avantaje:

- realizează un reactiv nou, de utilizare largă în biologia și clinica umană, în

biologia și clinica veterinară, în biologia vegetală și în industria alimentară, pentru identificarea unor componente proteice.

Revendicare

Procedeu de obținere a unui reactiv imunochimic destinat identificării și dozării imunoglobulinelor serice G umane și animale, **caracterizat prin aceea că** se folosește ca materie primă coaja sămburilor de piersică sau caisă, care se usucă în curent de aer cald, se macină, se supune extracției cu o soluție apoasă tamponată la pH=8, după care extractul obținut se centrifughează, supernatantul se precipită cu alcoolul etilic la 50°C, iar precipitatul se resolubilizează în soluție tampon.

(56) Referințe bibliografice:

CBI FR 2093840, 2158810.

V. Gheție și V. Micușan, *Analiza imunochimică*, București, 1966;

V. Kondi ș. a., *Derivatele de sânge utilizate în terapeutică*, București, 1970.

Președintele comisiei de invenții: **ing. Tenea Georgeta**

Examinator: **ing. Corăci Aurica**

