



ÚRAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVEDČENIU

230883
(11) (B1)

(51) Int. Cl.⁵
A 61 K 39/20

(22) Prihlásené 15 12 82
(21) (PV 9153-82)

(40) Zverejnené 30 12 83

(45) Vydané 15 11 86

(75)

Autor vynálezu

HRBKA AUGUSTÍN MUDr. CSc., PREŠOV

(54) Spôsob prípravy diagnostického antigénu z vírusu rubeola pre jednoduchú radiálnu hemolýzu

1

Vynález rieši spôsob prípravy diagnostického antigénu z vírusu rubeola pre jednoduchú radiálnu hemolýzu, ktorým sa majú diagnostikovať protilátky proti rubeole v sérach.

Jednoduchá radiálna hemolýza je screeningový test pre zisťovanie protilátok v sérach. Ak sa má uplatniť u rubeoly, musí sa použiť prípravok, ktorý je vhodný pre túto reakciu. Základnou vlastnosťou takéhoto prípravku musí byť veľmi vysoká koncentrácia antigénneho materiálu [CLARKE M. a spol.: The use of single-radial-haemolysis for rubella antibody studies. J. Hyg. Camb., 79(3) 355—364, 1977. RUSSEL S. M. a spol.: Evaluation of single radial haemolysis (SHR) technique for rubella antibody measurement. J. Clin. Pathol. 31, 521 až 526, 1978. SKAUG K., a spol.: Application of the passive haemolysis test for the determination of rubella virus antibodies. Acta Path. Mikrobiol. Scand. Sech. B, 83, 367—372, 1975].

Na prípravu antigénu pre hemaglutinačno-inhibičný test bolo odskúšané niekoľko metód. Pri kultivácii vírusu sa do média pre bunkové kultúry pridávalo fetálne sérum, ktoré bolo opracované kaolínom, aby médium neobsahovalo antihemaglutiníny. Takto získaný vírusový antigén mal nízky titer

2

(STEWART, G. I., PARKMAN, P. D., HOPPS, H. E. DOUGLAS, R. D., HAMILTON, J. P., MEYER, H. M., Jr.: Rubella-virus Hemagglutination-inhibition Test. New. Engl. J. Med. 276: 544—557, 1967). Hemaglutinačný antigén je možné extrahovať z tekutín, obsahujúcich sérum, pomocou esteru sorbitanu s vyššími masnými kyselinami a étericky viazaným polyetylén glykolom a pomocou éteru [NORRBY, E.: Hemagglutination by Measles Virus. 4. A. Simple Procedure for Production of High Potency Antigen for Hemagglutination-Inhibition (HI) Tests. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 111: 814 — 818, 1962]. Touto metódou sa pomnožený antigén tiež nekoncentruje, takže jeho titer nedosahuje potrebnej hodnoty. Antigén sa extrahoval z buniek alkalickým ústrojným roztokom, zloženým z glycínu a hydroxidu sodného. Týmto spôsobom obdržaný antigén mal veľmi malý objem [HALONEN, P. E., RYAN, J. M., STEWART, J. A.: Rubella Hemagglutinin Prepared with Alkaline Extraction of Virus Grown in Suspension Culture of BHK-21 Cells, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 125: 162 — 167, 1967]. Antigén je možné koncentrovať ultracentrifúgou [CUSUMANO, C. L.: Density Gradient Centrifugation Studies of Rubella Virus. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 122: 451 až 456, 1966. FURUKAWA, T., PLOTKIN, S.

A., SEDWICK, W. D., PROFETA, M. L.: Hemagglutinin of Rubella Virus. Nature 215: : 172 až 173, 1067]. Takto sa získa koncentrácia antigénu podľa potreby. Táto metóda má nevýhody v tom, že kapacita ultracentrifúg je pomerne malá. Navyše ultracentrifúgy sú drahé a hodne poruchové.

Vyššie uvedené nedostatky sú odstránené postupom prípravy podľa vynálezu, ktorého podstatou je, že k suspenzií vírusu rubeoly, vyrastenému na bunkových kultúrach, sa pridá etylalkohol do koncentrácie 10 až 80 % (V/V). Po zhluknutí vírusu resp. vírusového antigénu suspenzia sa scentrifuguje a sediment sa resuspenduje do takého množstva glycinového ústrojného roztoku o pH 9,0, aby sa rubeolový antigén 10krát koncentroval oproti pôvodnej suspenzii. Suspenzia antigénu v glycinovom ústrojnom roztoku sa nechá v termostate pri 37 °C po dobu 6 hodín a potom sa ozvučí ultrazvukom pri 10 000 KH po dobu 2 minút.

Táto metóda je veľmi rentabilná z hľadiska

ka produkcie, pretože pri jej použití sa získa z vírusovej suspenzie všetok antigén pomocou veľkokapacitných ľahko dostupných centrifúg. Všetok vírus, uložený v bunkách, sa uvoľní. Takto sa môže rýchle pripravíť relatívne veľké množstvo hodnotného antigénu, vhodného pre jednoduchú radiálnu hemolýzu.

Príklad:

K vírusovej suspenzii z bunkových kultúr sa pridá etylalkohol do koncentrácie od 10 do 80 % (V/V). Táto zmes sa nechá stáť pokiaľ sa antigénne častice nezhluknú a scentrifuguje sa. Supernatant sa odstráni a sediment sa resuspenduje v glycinovom ústrojnom roztoku o pH 9,0 v množstve 1/10 pôvodnej vírusovej suspenzie. Suspenzia antigénu v glycinovom ústrojnom roztoku sa uloží do termostatu na 37 °C po dobu 6 hodín a potom sa ozvučí ultrazvukom pri 10 000 KH po dobu 2 minút.

PREDMET VYNÁLEZU

Spôsob prípravy diagnostického antigénu pre jednoduchú radiálnu hemolýzu z vírusu rubeola vyznačujúci sa tým, že k vírusovej suspenzii sa pridá etylalkohol do kon-

centrácie 10 až 80 % (V/V), suspenzia sa po zhluknutí antigénu scentrifuguje a sediment sa resuspenduje v glycinovom ústrojnom roztoku o pH 8,0 až 10.