



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

207943 ✓

(11)

B1

(61)

(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 12 11 79
(21) PV 7700-79

(51) Int. Cl.³ G 01 N 31/02
A 61 K 39/395

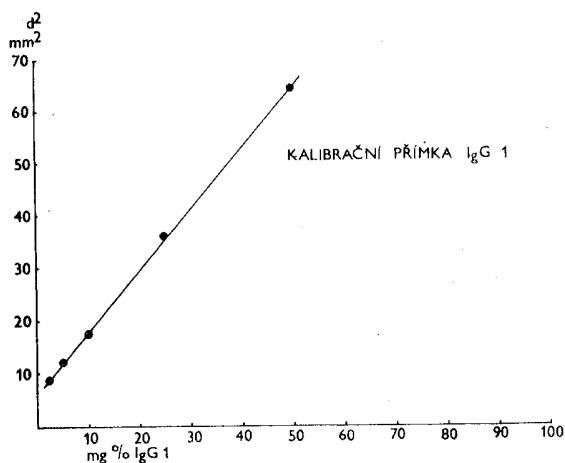
(40) Zveřejněno 28 11 80
(45) Vydáno 02 08 83

(75)

Autor vynálezu RODÁK LADISLAV MVDr. CSc., BRNO

(54) Způsob kontroly kvality bovinních fetálních sér

Bovinní fetální séra jsou používána při přípravě buněčných kultur ve virologii, onkologii aj. K rychlému stanovení vhodnosti sér pro tyto účely se provede určení koncentrace imunoglobulinů tříd IgG1 a IgM metodou radiální imunodifuze. Včas se tak dají odhalit séra se zvýšeným obsahem imunoglobulinů, která jsou pro zmíněné účely méně vhodná. Způsob kontroly umožňuje získání a výraznější ocenění fetálních sér s nejvyšší kvalitou.



Předmětem vynálezu je způsob kontroly kvality bovinních fetálních sér.

Bovinní fetální séra jsou nezbytnou složkou většiny médií, používaných k pomnožování buněčných kultur ve virologii, onkologii a jiných oborech. Jsou připravována z krevních sér telecích fétů, získaných hysterektomií březích krav.

Fetální séra pro potřeby virologie a onkologie nesmí obsahovat virus a dále nesmí inhibovat množení buněk nebo virů v buněčných kulturách. Obdobně je tomu i při přípravě virových antigenů potřebných pro radioimunoanalytická vyšetření. Opožděné zjištění, že některá fetální séra nejsou či nebyla z tohoto hlediska vhodná, je finančně i časově velmi nepříznivé. Velmi častou příčinou nevhodnosti fetálních sér pro zmíněné potřeby bývá vysoká koncentrace imunoglobulinů s protilátkovou aktivitou v těchto sérech. Cílem vynálezu je tento nedostatek odstranit.

Z literatury je známo, že bovinní fétus je schopen vytvářet imunoglobuliny již během intrauterinního života. Za normálních okolností je však spontánní tvorba imunoglobulinů zcela nepatrná, imunoglobuliny nevykazují zjištěitelnou protilátkovou aktivitu proti známým antigenům a narozené tele je prakticky agamaglobulinemické. Teprve po intrauterinní antigenní stimulaci, zejména následkem virové infekce, je koncentrace imunoglobulinů v krevním séru včetně imunoglobulinů s protilátkovou aktivitou zvýšená. Z imunoglobulinů vytvářených bovinním fétusem jsou podle literárních údajů i našich výsledků zastoupeny výhradně třídy IgM a IgG1, zatímco imunoglobuliny tříd IgG2 a IgA chybí.

Na těchto poznatcích je založen způsob kontroly kvality bovinních fetálních sér podle vynálezu, jehož podstata spočívá v tom, že se v kontrolovaném séru stanoví obsah imunoglobulinů třídy IgG1 a IgM metodou radiální imunodifuze. Při této metodě vytváří vyšetřované bovinní fetální sérum, nanesené do jamek vyhloubených ve směsi agaru s antisérem, precipitační prstence. Koncentrace imunoglobulinů ve fetálních sérech je přímo úměrná velikosti prstenců. Srovnáním s velikostí precipitačních prstenců, které vytváří standardní roztoky o známé koncentraci imunoglobulinů, se velmi přesně určí koncentrace imunoglobulinů v testovaných sérech.

Statistické porovnání výsledků jednotlivých měření prokázalo, že zatímco některá séra obsahovala poměrně značné množství 50 a 100 mg% imunoglobulinů třídy IgG1, v jiných sérech tyto imunoglobuliny chyběly nebo jejich koncentrace byla nižší než 5 mg%.

Předností způsobu kontroly kvality bovinních fetálních sér podle vynálezu je, že na základě zjištěného obsahu imunoglobulinů lze sérum přímo hodnotit. Je totiž možno předpokládat, že zvýšené hladiny imunoglobulinů tříd IgM a IgG1 jsou známkou protilátkové odpovědi fétu na antigenní stimulus, včetně virové infekce. A takováto séra nejsou pro shora zmíněné účely vhodná.

Z uvedeného je zřejmé, že rozšířením hodnocení kvality o kontrolu bovinních fetálních sér podle vynálezu lze dosáhnout finančně i časově příznivých efektů. Používají se antiséra proti hovězím imunoglobulinům IgG1 a IgM. V nouzi je možné použít i kvalitní antisérum proti hovězímu IgG.

I při zvýšené výrobě C_4 alkoholů na stávajícím zařízení lze dobře udržovat reakční teplotu, zamezit přehřátí katalyzátoru podél celé jeho vrstvy a tím jeho deaktivaci a současně zachovat kvalitu vyráběného n- a isobutanolu.

Při hydrogenaci se postupuje tak, že na vstup do hydrogenačního reaktoru se udržuje teplota nástřiku v rozmezí 70 až 130 °C, a to podle aktivity katalyzátoru a na výstupu z reaktoru je teplota hydrogenátu obvykle v rozmezí 160 až 180 °C.

Část získaného hydrogenátu se recirkuluje a mísí s čerstvým n-butyraldehydem, isobutyraldehydem nebo jejich směsí tak, aby výsledná nastříkovaná směs obsahovala max. 20 % hm. vstupního C_4 aldehydu. Důležité je přitom, aby se teplota nástřiku udržovala na takové hodnotě, aby k hydrogenaci byla využita celá náplň hydrogenačního katalyzátoru, a to v závislosti na jeho aktivitě. Při hydrogenaci reakční směsí s čerstvým katalyzátorem je např. vhodná teplota vstupujícího nástřiku 80 až 100 °C a po odpracování cca 5 000 hodin teplota 95 až 115 °C. Pro intenzifikovaný způsob hydrogenace C_4 aldehydů jsou vhodné tyto katalyzátory: nikl na křemelině, popř. aktivovaný kyselíčníky chromu, nikl na silikagelu, Raney-nikl, směsný hydrogenační katalyzátor obsahující jako aktivní složky Ni, Co, Cu, Mn a příp. i H_3PO_4 a jiné.

Výhody nového postupu hydrogenace jsou zřejmé z následujícího příkladu; pro srovnání je uveden i dosavadní způsob hydrogenace C_4 aldehydů z hydroformylace propylenu.

Příklad 1

Z produktu hydroformylace propylenu vydestilovaný n-butyraldehyd je přiváděn do hydrogenačního zařízení vyrábějícího hydrogenát obsahující jako hlavní složku n-butanol. Instalovaný axiální reaktor je vybaven pro hydrogenaci při tlaku kolem 10 MPa a je charakterizován údaji v tabulce I.

Tabulka 1

vnitřní průměr reaktoru mm	890	
objem náplně katalyzátoru m ³	7,3	
reakční podmínky:	starý způsob	nový způsob
pracovní tlak MPa	9,5	9,5
reakční teplota °C	90 - 160	110 - 170
nástřik aldehydu m ³ /h	1,68	2,45 2,45
nástřik ředidla m ³ /h	5,46	14,80 12,55
nástřik celkem m ³ /h	7,14	17,25 15,00
vodík čerstvý Nm ³ /h	400	600 600
vodík recirkulovaný Nm ³ /h	4 000	- 2 000
vstupní koncentrace aldehydů % hm.	23,5	14,2 16,33
postupová rychlost nástřiku m ³ /m ² h	11,67	27,73 24,11
objemové prosažení h ⁻¹	0,98	2,36 2,05

Sérum č.	Koncentrace IgG1 v mg%	Sérum č.	Koncentrace IgG1 v mg%
1	nezjištěn	13	< 2,5
2	31,0	14	2,5
3	7,0	15	10,0
4	2,5	16	nezjištěn
5	nezjištěn	17	nezjištěn
6	16,0	18	16,0
7	nezjištěn	19	50,0
8	nezjištěn	20	2,5
9	2,5	21	22,0
10	25,0	22	4,0
11	nezjištěn	23	2,5
12	nezjištěn	24	23,0

Jako nejkvalitnější bovinní fetální séra vhodná pro nejnáročnější metody jsou proto hodnocena séra č. 1, 5, 7, 8, 9, 11, 12, 16, 17. Jako méně kvalitní jsou hodnocena séra č. 2, 3, 6, 10, 14, 15, 18 a 19 až 24.

Na základě kalibrační přímky se koncentrace IgG1 v krevním séru dospělého zvířete stanovila na 700 mg%, což je v souladu s literárními údaji.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Způsob kontroly kvality bovinních fetálních sér stanovením koncentrace imunoglobulinů třídy IgG1 a IgM, vyznačující se tím, že se metodou radiální imunodifuze zjišťuje koncentrace imunoglobulinů porovnáním velikosti kruhového precipitačního prstence, vytvořeného po nanesení koncentrovaného bovinního fetálního séra do otvorů vytvořených ve vrstvě agaru smíšeného s antisérem, s velikostí precipitačních prstenců standardních roztoků antigenů nebo standardních roztoků zředěného séra.
2. Způsob kontroly podle bodu 1, vyznačující se tím, že koncentrace imunoglobulinů v bovinních fetálních sérech se zjistí z kalibrační přímky závislosti druhé mocniny průměru precipitačních prstenců sestavené podle známých koncentrací imunoglobulinů standardních roztoků.

1 výkres

