



(12) **Описание изобретения**
К ПАТЕНТУ

1

2

(21) 01000661

(22) 17.05.01

(46) 01.07.2002, Бюл.№2 (26)

(76) Махмадов Ф.И. (TJ), Муминов А.М. (TJ)

(56) Муминов А.М. Инструкция по изготовлению эхиноаллергена для диагностики эхинококкоза овец, коз и крупного рогатого скота. - г.Душанбе, 1999г.

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ЭХИНОАЛЛЕРГЕНА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ЭХИНОКОККОЗА

(57) Изобретение относится к области медицины и касается способа получения эхиноаллергена для диагностики эхинококкоза человека.

Целью изобретения является упрощение способа приготовления полностью очищенного от бластных веществ видоспецифичного аллергена для диагностики эхинококкоза человека. Указанная цель достигается тем, что эхинококковые цисты вида *E. haminis* полученные при оперировании людей, больных эхинококкозом в эхинококковой

жидкости подвергаются механическому измельчению на размельчителях тканей и фильтруют через ватно-марлевый тампон. Полученный фильтрат ставят в холодильник на 10-12 часов для осаждения крупных частиц белка, для полного осаждения добавляют 4-кратный объем 96° спирта-ректификата, полученный осадок растворяют в воде, промывают эфиром для удаления бластных веществ. Затем белок, полностью очищенный от бластных веществ осаждают 4-кратным объемом спирта-ректификата. Осадок после высушивания при температуре 37-39°C, размельчают в электромельнице или фарфоровой ступке. Готовый аллерген расфасовывают в ампулах по 0,01 г, запаивают и автоклавируют при 0,5 атмосферах в течение 20 минут при температуре 110°C. Аллерген используют в виде 0,1%-го раствора в физиологическом растворе или дистиллированной воде.

Изобретение относится к области медицины и касается способа получения эхиноаллергена для диагностики эхинококкоза человека.

Прототипом заявляемого изобретения является способ получения эхиноаллергена из сколексов, собранных их эхинококковых цист (1). Согласно этому способу сколексы собирают из эхинококковых цист, полученных от больных эхинококкозом животных. После промывания 96°-ным спиртом ректификатом, высушивания на воздухе, сколексы подвергают ферментативному расщеплению 0,1% раствором пепсина медицинского при pH-5,0 в течение 42 часов при температуре 30-39°C. Затем гидролизат центрифугируют при 2 тыс. оборотов в течение 3 минут, фильтруют через ватно-марлевый тампон, непереваренный осадок выбрасывают. Из профильтрованного гидролизата аллерген осаждают путем добавления 4 объемов 96°-го этилового спирта. Затем pH доводят до 7-7,7 добавлением 20%-го раствора двууглекислой соды с целью лучшего осаждения аллергена. Выпавший осадок (аллерген) собирают центрифугированием при 4 тыс. оборотов в течение 5 мин. Надосадочный спирт сливают, осадок (аллерген) промывают дистиллированной водой и снова пересаждают 96°-ным спиртом-ректификатом при температуре 4°C. Аллерген после второго осаждения отделяют центрифугированием при 6 тыс. оборотов в течение 5 минут. Полученный аллерген сушат при температуре 37-38°C в течение 16-10 часов, растирают в электромельнице или ступке в мелко-дисперсный порошок. Готовый аллерген расфасовывают в ампулах по 0,1-0,2 г, запаивают, автоклавируют при 0,5 атмосферах в течение 20 минут при температуре 110°C [1].

Недостатками данного способа являются сложность процесса приготовления аллергена и использование ферментативного гидролиза, для которого необходим дорогостоящий пепсин. А также в состав аллергена полученного только из сколексов не входят все белки обладающие аллергенной активностью и данный аллерген приготовленный из сколексов цист, полученных от больных овец является мало специфичным для человека.

Целью изобретения является упрощение способа приготовления полностью очищенного от бластных веществ видоспецифичного аллергена для диагностики эхинококкоза человека. Указанная цель достигается тем, что эхинококковые цисты вида *E. haminis* полученные при оперировании людей, больных эхинококкозом в эхинококковой жидкости подвергаются механическому измельчению на размельчителей тканей и фильтруют через ватно-марлевый тампон. Полученный фильтрат ставят в холодильник на 10-12 часов для осаждения крупных частиц белка, для полного осаждения добавляют 4-кратный объем 96° спирта-ректификата, полученный осадок растворяют в воде, промывают эфиром для удаления бластных веществ. Затем белок, полностью очищенный от бластных веществ осаждают 4-кратным объемом

спирта-ректификата. Осадок после высушивания при температуре 37-39°C, размельчают в электромельнице или фарфоровой ступке. Готовый аллерген расфасовывают в ампулах по 0,01 г, запаивают и автоклавируют при 0,5 атмосферах в течение 20 минут при температуре 110°C. Аллерген используют в виде 0,1%-го раствора в физиологическом растворе или дистиллированной воде.

Применение предлагаемого способа позволяет:

1. Снизить себестоимость аллергена за счет исключения использования дорогостоящего пепсина при расщеплении тканей.
2. Полностью очистить аллерген от бластных веществ.
3. Получить видоспецифичный аллерген для диагностики эхинококкоза человека.
4. При использовании полностью очищенного аллергена от бластных веществ аллергических реакций на организм не отмечается.

Пример

Эхинококковые цисты вида *E. hominis*, получают от оперированных людей с эхинококковой болезнью. Крупные цисты, изолированные от тканей человека, вскрывают над кюветой. Через разрез пузыря внутреннюю (герминативную) оболочку вместе со сколексами и эхинококковой жидкостью помещают в специальный стакан и подвергают механическому расщеплению на размельчителей тканей в течение 5 мин. Полученную суспензию фильтруют через ватно-марлевый тампон. Остатки неизмельченной ткани выбрасывают. Фильтрат ставят на 10-12 часов в холодильник для осаждения крупных частиц белка, затем фильтруют через ватно-марлевый тампон. К фильтрату добавляют 4-кратный объем 96°-го спирта ректификата и оставляют в холодильнике при температуре 4°C на 24 часа. Осадок (аллерген) отделяют центрифугированием при 6 тыс. оборотов в течение 5 мин. Надосадочный спирт сливают. Осадок растворяют в воде и промывают эфиром для удаления бластных веществ. К водному слою добавляют 4-кратный объем 96°-го спирта ректификата и ставят в холодильник при температуре 4°C на 24 часа. Осадок (аллерген) отделяют центрифугированием при 6 тыс. оборотов в течение 10 минут. Надосадочный спирт сливают, осадок (аллерген) помещают в чашки Петри и сушат в термостате при 37-38°C в течение 16-18 часов. Сухой аллерген измельчают в электромельнице или фарфоровой ступке в мелкодисперсный порошок. Готовый аллерген фасуют в стеклянные ампулы по 0,01 г, запаивают, автоклавируют при 0,5 атмосферах в течение 20 мин. при температуре 110°C. Эхиноаллерген применяют в виде 0,1%-го раствора в физиологическом растворе или дистиллированной воде. Готовый аллерген проверяют на стерильность, безвредность и активность.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Способ получения эхиноаллергена для диагностики эхинококкоза, включающий осаждение спиртом аллергенного белка, полученного из сколексов, его фильтрование, повторное осаждение спиртом, высушивание с последующим измельчением, *отличающийся* тем, что в качестве исходного материала используют сколексы, герментативную оболочку и эхинококковую жидкость, полученные при оперировании больных эхинококкозом людей, которые измельчают, фильтруют через ватно-марелвый тампон, полученный фильтрат охлаждают

в холодильнике в течение 10-12 часов, затем для полного осаждения крупных частиц белка добавляют 4-кратный объем 96° спирта-ректификата, полученный осадок растворяют в воде, промывают для очищения бластных веществ эфиром, полученный белок осаждают 4-кратным объемом 96° спирта-ректификата, после чего сушат при температуре 37-38°C, измельчают и расфасовывают в ампулы по 0,01 гр.