dipl.

POPIS OBJAVU
K DIPLOMU Č. 63

Prihlásené: 14 04 86 /PO 20-86/

Právo prednosti od 30 08 55

Zverejnené: Folia Biologica, Vol. I, 4, 207-213 /1955/

Udelené:

Vydané:

MDT 616-097

Autor objavu: STYK BOHUMIL MUDr. DrSc., BRATISLAVA

Názov objavu: Selektívny sérový inhibítor voči vírusu chrípky C

Predmet objavu:

Jav spočívajúci v existencii nového druhu nešpecifického sérového inhibítora nachádzajúceho sa v normálnom sére bielych kryś, ktorý je selektívny voči vírusom chrípky C

Objav sa týka existencie inhibítora C v normálnom sére bielych krýs, ktorý je odlišný od doteraz známych nešpecifických sérových inhibítorov a je selektívny voči vírusom chrípky C.

V r. 1947 izoloval Taylor od dospelých osôb nový chrípkový vírus, ktorý sa líšil od dovtedy známych vírusov svojou antigénnou štruktúrou a inými biologickými vlastnosťami. Bol nazvaný vírusom chrípky C. V rokoch 1952 a 1953 boli v detských jasliach v Bratislave pri štúdiu chrípkových kmeňov v epidemických a medziepidemických obdobiach izolované vírusy chrípky, ktoré boli pôvodcom chrípkovej epidémie. Po ich identifikácii sa zistilo, že ide pravdepodobne o vírusové kmene chrípky C. Novoizolované kmene sa mnohými vlastnosťami podobali Taylorovmu vírusu (B. Styk, čs. Hyg. epidemiol. mikrobiol. 3.13) :137, 1954). Výsledky sérologických testov so sérami detí preukázali, že novoizolované kmene patria k chrípkovým vírusom typu C. Antigénne vlastnosti novoizolovaných kmeňov sa určovali hemaglutinačno-inhibičnými testami s imúnnymi sérami zlatých škrečkov. Pre sérologickú identifikáciu sa použili aj séra bielych krýs. Už pri prvých sériach hemaglutinačno-inhibičných testov, pri ktorých sa použili spolu s inými chrípkovými antigénmi tiež vírusy chrípky C, sa zistilo, že krysie imúnne séra majú vlastnosť brániť aj v značnom zriedení aglutináciu slepačích krviniek vírusmi chrípky typu C. Išlo o zistenie inhibítorov nešpecifickej povahy, lebo sa vyskytovali približne v rovnakom množstve vo všetkých sérach, bez ohľadu na to, ktorým kmeňom boli krysy imunizované (A, A_1, B alebo C); nachádzali sa tiež v sére krýs očkovaných normálnou alantoickou tekutinou i v sére neočkovaných krýs. Objavenie týchto inhibítorov je prvýkrát popísané už v Československá hygiena, epidemiologie, mikrobiologie, imunologie 3 (3); 137 - 145, 1954 a detailnejšie rozpracované v práci B. Styk, Folia Biologica, Vol. I, str. 207 - 212, (1955).

Podstatou objavu je existencia nového druhu nešpecifického sérového inhibítora, ktorý je selektívny voči vírusom chrípky C. C-inhibítory sú látky glykoproteínového charakteru, prítomné výlučne v normálnom sére bielych krýs, ktoré selektívne inhibujú aglutináciu (výlučne) vírusmi chrípky typu C.

C-inhibítory sú odlišné od iných nešpecifických inhibítorov

chrípky. Alfa-inhibítor (Francisov) opísaný v r. 1974 je považovaný za mukopolysacharid, je termostabilny a odoláva 30 minút teplote 100 °C. Beta inhibítor (Chuov) opísaný v r. 1946 je aktívny voči neadaptovaným kmeňom chrípky A, termolabilný, inaktivuje sa zohrievaním na 50 °C po 30 minút. Popísali sa aj ďalšie inhibítory, ale sa zistilo, že sú identické s Francisovým a Chuovým inhibítorom. (B. Styk, Čs. biologie, 4, 263 - 268, 1955). Gamma inhibítory voči vírusom tzv. ázijskej chrípky v tom čase neboli známe. Okrem prioritných sérologických dôkazov, ktoré sú uvedené v predchádzajúcej časti a v prioritnom doklade sa ďalšími experimentálnymi prácami dokázalo, že objavený C-inhibítor je látka glykoproteínovej povahy. Pri elektroforéze na papieri pri pH 9,0 maximum aktivity C-inhibítora odpovedá alfa globulínovej frakcii krysieho séra. Pri pH 4,6 sa C-inhibítor pohybuje k anóde rýchlejšie ako albumíny a globulíny. Mobilita C-inhibítora v kyslom roztoku a distribúcia inhibičnej aktivity z elektroforetogramov ukazuje, že C-inhibítor je glykoproteínového charakteru. Aj ďalšie stanovenie individuálnych proteínových frakcií (s určením na hexozamíny, hexózy a neuramínovú kyselinu) preukázali, že C-inhibítor je glykoproteínovej povahy.

C-inhibítor na rozdiel od známych nešpecifických inhibítorov je rezistentný na pôsobenie enzýmu rozrušujúceho receptory - RDE, jodistanu draselného alebo kysličníku uhličitého (metódy používané na odstránenie nešpecifických inhibítorov), citlivý je len na pôsobenie trypsínu. C-inhibítor je značne termostabilný. Aktívny je až do zahriatia na 65 °C počas 30 minút. Po 1 hodinovom vare poklesne jeho aktivita asi o 50 %. Pôsobením delipidizujúcich látok (chloroform, éter) na krysie sérum sa hemaglutinačno-inhibičná (C-inhibítorová) aktivita séra zvýši.

Selektívny účinok normálneho krysieho séra (s C-inhibítorovou aktivitou) sa experimentálne vyskúšal skríženými pokusmi - hemaglutinačno-inhibičnými testami za použitia vírusu chrípky C (prototypový kmeň Taylor získaný v r. 1954), vírusov chrípky C/Bratislava (kmeňe izolované vo Virologickom ústave SAV v rokoch 1952 - 1954), vírusov chrípky A a B (kontrola) a 6 rôznych normálnych krysích sér (antiséra voči všetkým uvedeným vírusom). Skrížené hemaglutinačno-inhibičné testy s uvedenými antisérami

(ako aj normálne krysie séra ako zdroj C-inhibítora) a s uvedenými vírusmi ukázali imunologickú rovnocennosť antisér a normálnych krysích sér s obsahom C-inhibítora. Použité kontroly s vírusmi chrípky A a B a s príslušnými antisérami to potvrdili negatívnymi výsledkami hemaglutinačnoinhibičných testov.

Existencia C-inhibítora bola prvýkrát popísaná autorom objavu v r. 1955 vo Folia Biologica, B. Styk, Vol. I., 207-213 (1955). Priorita objavu bola potvrdená západonemeckými (tiež japonskými) výskumníkmi, ktorí sa zaoberajú ďalším štúdiom tejto oblasti (Virus Research, G. Herrler, R. Geyer, M.-P. Müller, S. Stirm and H.-D. Klenk, 2, 183 - 192, 1985).

Význam objavu spočíva v rozšírení základných vedeckých poznatkov v oblasti výskumu vírusov chrípky a chrípkových ochorení, predovšetkým však v jeho použití pri diagnostike na rýchle a presné stanovenie uskutočnené napríklad pri epidémii chrípky a zaradenie novoizolovaného chrípkového kmeňa do skupiny chrípky C pre diagnostické a typizačné pracoviská . Normálne krysie sérum možno totiž s výhodou použiť bez náročnej imunizácie prípravy a purifikácie antigénu na diagnostiku a identifikáciu ochorenia na chrípku C, ako aj identifikáciu tohto vírusu pri jeho izolácii.

SLOVENSKÁ AKADÉMIA VIED
Ústredie pre vynálezy a objavy
INFORMAČNÉ CENTRUM
842 53 BRATISLAVA, Dúbravská cesta 9