

# 350102



## P A T E N T E   D E   I N V E N C I O N

por VEINTE años.

cuyo privilegio se solicita para todo el territorio nacional, a favor del Patronato de Investigación Científica y Técnica - "Juan de la Cierva" del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, con domicilio en calle de Serrano, 150; Madrid. (Inventor: Manuel Gutierrez Rodríguez), por "PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE UN CARDIOANTIGENO DE ATUN. "T.t. (L.)1966" EN EL SERODIAGNOSTICO DE LA SIFILIS", según la siguiente

### MEMORIA DESCRIPTIVA

5           Existiendo en las costas españolas, una gran riqueza debida, entre otras clases de pesca, a la del atún, se iniciaron - unas investigaciones orientadas al aprovechamiento industrial del corazón del atún de las almadrabas de España, ya que el -  
producto que se obtiene, puede tener un margen comercial que -  
merece considerarse.

10           El antígeno B.W. nº 19-67 que ha servido de control es sensible a la dilución 1/800 y 1/1600 para un suero diluído al - 1/64 y 1/1 respectivamente, mientras que el nuestro lo fué al 1/800 y 1/3200 para el mismo suero diluído al 1/16 y 1/1 con - una intensidad de 3<sup>+</sup>, siendo positivo incluso a 1/4.



Los resultados obtenidos con el antígeno B.W. n° 19-67 diluido al 1/200 y el nuestro al 1/400 frente a varios sueros positivos a diferentes diluciones y con una intensidad de 4<sup>+</sup> correspondiéndose respectivamente las siguientes diluciones de los sueros: 1/64 y 1/32, 1/4 y 1/2, 1/32 y 1/8, 1/8 y 1/1, 1/64 y 1/16.

En un estudio comparativo entre el antígeno B.W. n° 19-67 y el nuestro a las diluciones 1/200 y 1/400 respectivamente frente a sueros enteros negativos y positivos como se usan habitualmente para serodiagnóstico de la sífilis, se aprecian idénticos resultados con una intensidad los positivos de 4<sup>+</sup>.

Del análisis de estos resultados iniciales podemos concluir que este cardioantígeno, según el método seguido en su preparación, es un producto de fácil obtención, de gran estabilidad, carente de poder hemolítico y anticomplementario y siendo útil en clínica para el serodiagnóstico de la sífilis.

#### PREPARACION DEL PRODUCTO

Se toma el corazón total con predominio de ventrículo, se limpia cuidadosamente procurando no perder jugo muscular y se quitan los pequeños coágulos sanguíneos, vasos y pericardio. Se corta en trozos muy pequeños y se pesa una cantidad para control de las cantidades de reactivos a usar y colocándola en una vasija con tapón esmerilado, se adiciona alcohol etílico absoluto en la proporción de 1 a 1,2 ml/g de corazón fresco. Se agita con el fin de asegurar la coagulación de las proteínas, conservando la actitud el cardioantígeno, y se deja en la oscuridad y a la temperatura ambiente de 20-28°C, durante 2 a 3 días, procurando agitar una vez cada 24 horas.

Pasado este tiempo, se filtra a través de papel libre de grasa, se escurre bien para eliminar en lo posible el alcohol y se pasa la papilla a una caja de Petri de unos 14 cm. de diámetro, donde se termina de picar finamente y por último se extiende en una capa fina, desecándose en la estufa a 36-37°C durante unas 24 horas, no sufriendo el producto ninguna alteración durante esta operación. Una vez seco,



50 se reduce el peso de 1/4 a 1/5, se coloca en otra vasija, se -  
añade acetona pura en la proporción de 2 ml/g de corazón fres-  
co, se deja en la oscuridad y se agita dos veces cada 24 horas.  
La acetona se renueva pasados 4 días, continuando la agitación  
y haciendo nueva renovación pasados otros 4 días, después de 8  
55 a 15 horas se filtra y la pasta extendida en una caja de Petri  
se deseca en la estufa a 36°C durante unas 2 a 3 horas. Después  
de evaporada la acetona, el residuo se pasa nuevamente a una -  
vasija con tapón esmerilado, se añade etanol absoluto en la -  
proporción de 2 ml/g de corazón fresco, se agita tres veces ca  
60 da 24 horas y se hace la extracción a la temperatura de 20-28°C  
en la oscuridad durante unos 8 a 10 días. Pasado este tiempo,  
se filtra por papel poroso y libre de grasa, obteniéndose un -  
líquido totalmente transparente de color amarillo, al que hay  
que añadir, para completar la preparación del cardioantígeno,  
65 colesterina pura, en la proporción de 6 mg/ml de extracto.

Si fuera necesario para facilitar la disolución de coleste  
rina, se puede calentar en baño maría a 45-50°C. Este cardioan  
tígeno se puede reforzar, adicionándole de 0,5 a 1 mg. de leci  
tina por cada ml. de extracto alcohólico.

#### 70 REIVINDICACIONES

Se reivindica como de nueva y propia invención la propiedad  
y explotación exclusiva de:

1) "Procedimiento para la preparación de un cardioantígeno  
de atún "T.t (L) 1966", en el serodiagnóstico de la sífilis",  
75 que se caracteriza porque se parte para su preparación del co-  
razón del atún, con predominio de ventrículo, limpio de coágu-  
los vasos y pericardio y picado dicho corazón, se trata con al  
cohol etílico absoluto en la proporción 1-1,2 ml/g de corazón  
fresco y se deja durante 2 o 3 días en la oscuridad y agitando  
80 cada 24 horas.

2) "Procedimiento para la preparación de un cardioantígeno  
de atún "T.t (L) 1966", en el serodiagnóstico de la sífilis",  
según reivindicación 1 y caracterizado además porque la papi-  
lla obtenida se filtra y deseca a la temperatura de 36-37°C du  
85 rante 24 horas, extrayéndose con acetona pura en la proporción  
de 2 ml/g de corazón fresco y agitándose dos veces cada 24 ho-  
ras. Al cabo de cuatro días, se sustituye la acetona en la mis



90 ma proporción y se deja pasar otros cuatro días, para sustituir la acetona nuevamente y filtrando y desecando a 36°C a las 8-15 horas.

95 3) "Procedimiento para la preparación de un cardioantígeno de atún "T.t (L) 1966", en el serodiagnóstico de la sífilis", según reivindicaciones 1 y 2 y caracterizado además, porque una vez desecado y triturado el corazón del atún, se coloca en una vasija, se extrae con etanol absoluto, en la proporción de 2 - ml/g. de corazón fresco, se agita tres veces durante 24 horas, manteniéndolo en la oscuridad durante 8-10 días, se filtra y al líquido amarillo obtenido se le añade colesterina pura en la proporción de 6 mg/ml de extracto, quedando preparado por este procedimiento el extracto.

100 4) "Procedimiento para la preparación de un cardioantígeno de atún "T.t (L) 1966", en el serodiagnóstico de la sífilis", según reivindicaciones 1, 2, 3 y caracterizado además porque - si fuera necesario para facilitar la disolución de la colesterina a 40-45°C, así como reforzar el efecto como cardioantígeno, por adición de 0,5 a 1 mg. de lecitina por cada ml. de extracto alcohólico.

110 5) "Procedimiento para la preparación de un cardioantígeno de atún "T.t (L) 1966", en el serodiagnóstico de la sífilis", tal y como se describe en el cuerpo de esta memoria, que consta de cuatro páginas escritas por una sola cara.

Madrid, 3 de Febrero 1968.