



УКРАЇНА

(19) UA (11) 32341 (13) A

(51) 6 A61K39/085

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ АНТИАДГЕЗИВНОЇ ТА АНТИТОКСИЧНОЇ СИРОВАТКИ ПРОТИ САЛЬМОНЕЛЬОЗІВ ТА ЕШЕРИХІОЗІВ ТВАРИН

(21) 99042052

(22) 13.04.1999

(24) 15.12.2000

(33) UA

(46) 15.12.2000, Бюл. № 7, 2000 р.

(72) Ушкалов Валерій Олександрович, Головка
Анатолій Миколайович, Дідок Юлія Валентинівна(73) ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ТА КЛІ-
НІЧНОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ(57) Спосіб одержання антиадгезивної та антиток-
сичної сироватки проти сальмонельозів та ешері-
хіозів тварин, призначеної для пасивної імунізації і

терапії захворювань тварин сальмонельозної та/або ешерихіозної етіології, що включає виготовлення комплексного антигену та імунізацію одержаним антигеном донорів сироватки крові, який **відрізняється** тим, що до складу комплексних сальмонельозних і ешерихіозних антигенів входять препарати екзотоксинів та адгезивних антигенів виробничих штамів бактерій, а імунізацію донорів сироватки крові проводять семикратно, після чого визначають превентивні властивості сироватки в дослідках на лабораторних тваринах.

Передбачуваний винахід відноситься до ветеринарної мікробіології і біотехнології, зокрема до способів виготовлення біологічних препаратів, а саме - до способів виготовлення сироватки для пасивної імунізації і терапії інфекцій, зумовлених збудниками сальмонельозів та/або ешерихіозів у молодняка сільськогосподарських тварин.

Існують способи одержання "Полівалентної антитоксичної сироватки проти паратифу і колібацильоза телят, ягнят, овець, птахів" та "Полівалентної антитоксичної сироватки проти паратифу телят, поросят, ягнят, овець, птахів" (Ветеринарные препараты. Справочник. Под ред. Д.Ф. Осидзе - М., 1981 г.) Дані препарати є близькими за технічним рішенням до пропонованого об'єкта.

За допомогою вказаних біопрепаратів можна проводити специфічну пасивну профілактику і терапію захворювань сальмонельозної та/або ешерихіозної етіології. Недоліком існуючих препаратів є те, що їх застосування не забезпечує захист чутливих тварин від збудників, що мають в своїй антигенній структурі фактори патогенності з функцією адгезії до епітеліоцитів слизових оболонок.

Прототипом об'єкта, що пропонується, може бути "Способ получения антиадгезивной и антитоксической сыворотки против ешерихиоза сельскохозяйственных животных" (Россия, "Бюллетень "Изобретения", 1996, № 7, с. 19, з. № 93009805). Але за допомогою даного способу не можливо одержати бівалентний лікувально-профілактичний препарат проти сальмонельозу і ешерихіозу тварин.

В основу винаходу, що передбачається, поставлене завдання одержання ефективного лікувально-профілактичного препарату сироватки проти інфекційних захворювань тварин, зумовлених дією ентеропатогенних ешерихій і сальмонел. Це досягається завдяки тому, що препарат сироватки містить антитіла проти екзотоксинів сальмонел і ешерихій та антитіла проти адгезивних антигенів збудників.

Приклад 1

Виробничі штами бактерій

З метою виготовлення антигену для імунізації донорів сироватки використовують штами *Escherichia coli*, що утворюють термолабільний і термостабільний ентеротоксини та адгезивні антигени типів K 99, F 41, Att 25, K88 ab, K88 ac, K88 ad, 987 P та штами *Salmonella typhimurium*, *Salmonella dublin*, *Salmonella enteritidis*, що утворюють екзотоксини і адгезивні антигени.

Приклад 2

Виготовлення антигенів для імунізації донорів сироватки крові.

2.1. Виготовлення препаратів анатоксинів

Токсигенні штами бактерій культивують в пробірках з рідким живильним середовищем Хоттінгера при 37°C протягом 48-72 годин. Отриманими матричними культурами засівають ємності з бульйоном Хоттінгера і культивують при 37°C протягом 72-86 годин. Після чого бакмасу відокремлюють за допомогою центрифугування або сепарацією, в супернатанти вносять 0,5% формаліну і витримують в термостаті при 37°C 10-15 діб.

(13) A

(11) 32341

(19) UA

2.2. Виготовлення препаратів адгезивних антигенів

Виробничі штами бактерій з адгезивними антигенами вирощують на агарі Хоттінгера при 37°C протягом 24 годин, після чого урожай бакмаси змивають фосфатним-сечовинним буфером (рН 7,0-7,2), концентрацію бакмаси доводять до 60-80 млрд.мк.кл./мл, витримують на водяній бані (62-65°C) 20-30 хвилин, після чого бакмасу відокремлюють, в супернатанти вносять 0,5% формаліну і витримують при 37°C 5-7 діб.

2.3. Виготовлення антигенів для імунізації

Препарати анатоксинів і адгезивних антигенів ешерихій об'єднують у співвідношенні 1:1, вносять 30% гідроксала і фасують. Препарати анатоксинів і адгезивів сальмонел об'єднують, також, у співвідношенні 1:1, вносять 30% гідроксала і фасують.

Приклад 3

Визначення стерильності та нешкідливості

Стерильність комплексного антигену визначають за ГОСТ 28085-89. Нешкідливість - загальноприйнятим методом на лабораторних тваринах.

Приклад 4

Імунізація донорів сироватки крові

Імунізацію донорів сироватки крові комплексними ешерихіозними і сальмонельозними антигенами проводять семикратно внутрішньом'язово з інтервалами між ін'єкціями 5-7 днів в таких дозах:

- 1-ша ін'єкція – 0,01-0,02 см³/кг ваги;
- 2-га ін'єкція – 0,03-0,04 см³/кг ваги;
- 3-тя ін'єкція – 0,05-0,06 см³/кг ваги;
- 4-та ін'єкція – 0,07-0,08 см³/кг ваги;
- 5-та ін'єкція – 0,09-0,1 см³/кг ваги;

6-та ін'єкція – 0,11-0,12 см³/кг ваги;

7-ма ін'єкція – 0,11-0,12 см³/кг ваги.

Причому, тварин-донорів ділять на дві групи, із яких першу імунізують ешерихіозним антигеном, а другу - сальмонельозним.

Приклад 5

Визначення превентивної активності сироватки

На сьомий день після останнього введення антигену від донорів першої групи, імунізованих ешерихіозним антигеном, і другої групи, імунізованих сальмонельозним антигеном, відбирають проби крові, одержують сироватку і визначають її превентивну активність. Для цього формують дві групи білих мишей (10-20 мишей масою 18-20 г), котрим внутрішньочеревно вводять по 0,3-0,4 см³ сироватки, одержаної від донорів першої і другої групи відповідно. Через добу пасивно імунізованих тварин заражають летальною дозою бульйонної культури токсигенного штаму ешерихій (перша група) і сальмонел (друга група). Сироватку вважають активною в тому разі, коли із заражених тварин (і імунізованих сироваткою, отриманою від донорів першої і другої групи відповідно) кожної групи виживають не менше 80%.

Препарат сироватки знайде застосування для пасивної специфічної профілактики та імунотерапії захворювань тварин сальмонельозної та/або ешерихіозної етіології в тваринницьких господарствах громадського і приватного сектора власності, які спеціалізуються на скотарстві, свинарстві, вівчарстві, козівництві, конярстві, кролівництві, хутровому звіроводстві та в розплідниках собак і кішок.

ДП "Український інститут промислової власності" (Укрпатент)
Україна, 01133, Київ-133, бульв. Лесі Українки, 26
(044) 295-81-42, 295-61-97

Підписано до друку _____ 2002 р. Формат 60х84 1/8.
Обсяг _____ обл.-вид. арк. Тираж 50 прим. Зам. _____

УкрІНТЕІ, 03680, Київ-39 МСП, вул. Горького, 180.
(044) 268-25-22
