



УКРАЇНА

(19) UA (11) 59914 (13) A

(51) 7 A61K39/085

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДВИДАЄТЬСЯ ПІД
ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ
ВЛАСНИКА
ПАТЕНТУ

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ІМУННОЇ СИРОВАТКИ ПРОТИ НАБРЯКОВОЇ ХВОРОБИ (КОЛІЕНТЕРОТОКСЕМІЇ) ПОРОСЯТ

1

(21) 2002129655
(22) 03 12 2002
(24) 15 09 2003
(46) 15 09 2003, Бюл. № 9, 2003 р.
(72) Ушкалов Валерій Олександрович, Головко
Анатолій Миколайович, Горбенко Олександр Віта-
лійович
(73) ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І КЛІНІЧ-
НОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ
(57) Спосіб одержання імунної сироватки проти
набрякової хвороби (колієнтеротоксемії) поросят,
призначеної для пасивної імунізації і імунотерапії

2

набрякової хвороби у поросят, шляхом введення
до складу антигенів для імунізації донорів сироват-
ки крові полівалентного комплексу протективних
антигенів збудників (гемолізину, екзотоксинів, ад-
гезивних антигенів), який **відрізняється** тим, що
адгезивні антигени відокремлюють із суспензії бак-
маси виробничих штамів за допомогою 10 М фо-
сфатно-сечовинного буфера (pH 7,0-7,2) при 60°C
протягом 20хв, ізольовані антигени інактивують
формаліном, а як ад'ювант використовують 6%
суспензію аеросилу на 0,9% розчині натрію хлори-
ду

Передбачуваний винахід відноситься до вете-
ринарної мікробіології і біотехнології, зокрема до
способів виготовлення біологічних препаратів, а
саме - до способів виготовлення сироватки для
пасивної імунізації та імунотерапії набрякової хво-
роби у поросят

Існують способи одержання „Полівалентної
антитоксичної сироватки проти паратифу і колиба-
цильозу телят, ягнят, овець, птахів" (Ветеринар-
ные препараты. Справочник. Под ред. Д.Ф. Осидзе
- М., 1981г) та „Антиадгезивної та антитоксичної
сироватки проти ешерихіозів молодняка" (ТУУ
46 15 178-96). Дані способи є близькими за техніч-
ним рішенням до об'єкту, що заявляється, але за
допомогою біопрепаратів, що одержані вказаними
способами, проводити ефективну пасивну імуно-
профілактику та імунотерапію набрякової хвороби
у поросят не представляється можливим

Прототипом об'єкту, що заявляється, може бу-
ти "Способ получения антиадгезивной и антиток-
сической сыворотки против ешерихиоза сельско-
хозяйственных животных" Россия, "Бюллетень
"Изобретения", 1996, №7, с 19, з №93009805).
Але за допомогою вказаного способу неможливо
одержати імунотропний лікувально-
профілактичний препарат проти набрякової хво-
роби (колієнтеротоксемії) поросят

В основу винаходу, що передбачається, по-
ставлено завдання розробити спосіб одержання
імунної сироватки проти набрякової хвороби (колі-

єнтеротоксемії) поросят шляхом введення до
складу антигенів для імунізації донорів сироватки
крові полівалентного комплексу протективних ан-
тигенів збудників (гемолізину, екзотоксинів, адге-
зивних антигенів), причому адгезивні антигени
відокремлюють із суспензії бакмаси виробничих
штамів за допомогою 10 М фосфатно-сечовинного
буфера (pH 7.0 - 7.2) при 60°C на протязі 20 хв,
ізольовані антигени інактивують формаліном, а як
ад'ювант використовують 6 % суспензію аеросилу
на 0,9% розчині натрію хлориду, щоб забезпечити
ефективне проведення імунізації та імунотерапії
в сільськогосподарських господарствах
при набряковій хворобі (колієнтеротоксемії) поро-
сят, при використанні способу одержання імунної
сироватки проти набрякової хвороби поросят

Спосіб виконують таким чином

До складу комплексних антигенів для імунізації
донорів вводять екзотоксини і гемолізину вироб-
ничих штамів ешерихій та відокремлені від бакте-
ріальних клітин адгезивні антигени, причому адге-
зивні антигени відокремлюють шляхом
прогрівання суспензії бакмаси в фосфатно-
сечовинному буфері при 60°C-20 хвилин, ізольо-
вані антигени інактивують формаліном, а як ад'ю-
вант використовують 6% суспензію аеросилу на
0,9% розчині натрію хлориду

Приклад 1 Відбір виробничих штамів ешері-
хій

Для виготовлення вакцини відбирали штам

(13) A

(11) 59914

(19) UA

ешерихій, збудників колієнтеростоксемії поросят, яким властиво утворювати β - гемолізину, екзотоксини та адгезивні антигени

Приклад 2 Культивування виробничих штамів ешерихій

Штами висівали в пробірки з бульйоном Хоттінгера і культивували при 37°C впродовж 16-18 годин. Отриманою матричною культурою засівали ємності з бульйоном Хоттінгера. Окремо проводять культивування штамів, що утворюють β - гемолізину, штамів, що утворюють екзотоксини та штамів, що експресують адгезивні антигени. Культивування виробничих об'ємів культур вакцинних штамів проводили при 37-38,5°C - 16-18 годин.

Приклад 3 Виготовлення комплексних антигенів для імунізації донорів

Культуру виробничих штамів - продуцентів β - гемолізинів та екзотоксинів об'єднували і до них вносили 0,5% формаліну (40%). Інактивацію одержаної культури проводили при 37-38°C протягом 10-15 діб.

В бактеріальну суспензію виробничих штамів-продуцентів адгезивних антигенів, вносили фосфатно-сечовинний буфер (рН 7,0-7,2) виходячи з розрахунку 1л буфера на 10л бактеріальної суспензії. Отриману суміш витримували 20 хвилин при 60°C. В одержану суміш вносили 0,5% формаліну і інактивували при 37-38°C впродовж 10-15 діб.

Отримані інактивовані культури виробничих штамів об'єднували у співвідношенні 1:1, в одержану суміш вносили 20% завіси аеросилу (6%) в розчині 0,9% натрію хлориду.

Приклад 4 Визначення стерильності та нешкідливості

Стерильність комплексного антигену визнача-

ли за діючим ГОСТ 28085-89. Нешкідливість визначали загальноприйнятим методом на лабораторних тваринах.

Приклад 5 Імунізація донорів сироватки крові

Імунізацію донорів сироватки крові комплексним антигеном 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.

Приклад 4 Визначення превентивної активності сироватки

На сьомий день після останнього введення антигену від донорів, імунізованих комплексним антигеном, відбирають проби крові, одержують сироватку і визначають її превентивну активність. Для цього 20 білим мишам масою 18-20г внутрішньочеревне вводять по 0,4 см³ сироватки. Через добу пасивно імунізованих тварин заражають летальною дозою бульйонної культури гемолітичного штаму *E. coli* - збудника набрякової хвороби поросят. Сироватку вважають активною в тому разі, коли із заражених (і імунізованих сироваткою) тварин виживають не менше 60%, а в групі контролю (не імунізовані тварини) загинуть становить не менше 90% заражених тварин.

Спосіб одержання імунної сироватки проти набрякової хвороби поросят. Препарат сироватки знайде застосування для пасивної специфічної профілактики та імунотерапії набрякової хвороби (колієнтеростоксемії) поросят в тваринницьких господарствах громадського і приватного сектора власності, які спеціалізуються на свинарстві.