



УКРАЇНА

(19) UA (11) 60089 (13) A  
(51) 7 A61K39/085МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА ВИНАХІДВидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ПРЕПАРАТУ ДЛЯ ПРОФІЛАКТИКИ САЛЬМОНЕЛЬОЗУ ТА ІНФЕКЦІЙНОГО РИНОТРАХЕЇТУ У ТЕЛЯТ

1

2

(21) 2003010662

(22) 27 01 2003

(24) 15 09 2003

(46) 15 09 2003, Бюл. № 9, 2003 р.

(72) Ушкалов Валерій Олександрович, Волосянко  
Олена Вікторівна, Кассіч Володимир Юрійович,  
Петренчук Єліна Петрівна, Ребро Кирило Іванович  
(73) ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І  
КЛІНІЧНОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ(57) Спосіб одержання препарату для  
профілактики сальмонельозу та інфекційного ри-  
нотрахеїту у телят, що включає культивування  
виробничих штамів бактерій, виготовлення анти-  
генів, їх інактивацію, який відрізняється тим, що  
як антигени використовують анатоксини та адгези-  
ни сальмонел, інактивовані антигени штаму *Bacil-  
lus alvei* 413 і діоксид алюмінію

Передбачуваний винахід відноситься до вете-  
ринарної біотехнології, а саме - до способів одер-  
жання препаратів, призначених для профілактики  
інфекцій, обумовлених збудниками сальмонельозу  
та інфекційного ринотрахеїту (ІРТ) у телят.

Існують способи одержання "Спосіб виготов-  
лення інактивованої вакцини проти сальмонельозу  
у тварин" (Деклараційний патент, № 33502), спо-  
сіб одержання "Асоційованої вакцини "Бівак" проти  
інфекційного рино трахеїту та пара грипу - 3 ВРХ"  
(А С № 1092778 А, кл. 61К39/00).

Дані способи є близькими за технічним рішен-  
ням до об'єкту, що заявляється. За допомогою  
вказаних способів можна отримати біопрепарати  
для активної профілактики сальмонельозу та ін-  
фекційного ринотрахеїту.

Недоліком існуючих способів є те, що застосу-  
вання одержаних за допомогою вказаних способів  
препаратів не забезпечує попередження захворю-  
вань телят на сальмонельоз та ІРТ.

Прототипом об'єкту, що заявляється, може бу-  
ти спосіб одержання препарату IRS-19 (міжнарод-  
на непатентована назва INN, реєстраційний номер  
П № 012103/01-2000) IRS-19 - комплексний імунो-  
стимулятор. До його складу входять антигени,  
одержані із 18 штамів 10 видів бактерій. Препарат  
призначений для профілактики гострих захворю-  
вань і профілактики загострення хронічних захо-  
рювань респіраторного тракту у людей, профілак-  
тики гострих і хронічних бактеріальних інфекцій, а  
також профілактики ускладнень вірусних інфекцій.

Застосування препарату IRS-19 підвищує при-  
родний специфічний і неспецифічний імунітет

Специфічний захист обумовлений індукцією утво-  
рення Іг А, які попереджують адгезію і подальше  
розмноження патогенних мікроорганізмів на сли-  
зових оболонках. Неспецифічний захист обумов-  
лений стимуляцією функціональної активності ма-  
крофагів і підвищенням вмісту лізоциму в  
організмі.

Цей спосіб включає одержання антигенів бак-  
терій, їх змішування у певній пропорції, їх інакти-  
вацію (мертиолат натрію - 12,5 мг/100 см<sup>3</sup>). Але за  
допомогою даного способу не можливо одержати  
препарат для профілактики сальмонельозу та  
інфекційного ринотрахеїту у телят.

В основу винаходу поставлено задачу розро-  
бити спосіб одержання препарату для профілакти-  
ки сальмонельозу та інфекційного ринотрахеїту у  
телят, що включає культивування виробничих  
штамів бактерій, виготовлення антигенів, їх інакти-  
вацію, шляхом використання як антигенів анаток-  
синів та адгезинів сальмонел, інактивованих анти-  
генів штаму *Bacillus alvei* 413 і діоксиду  
алюмінію, щоб забезпечити одержання препарату  
для профілактики сальмонельозу та інфекційного  
ринотрахеїту у телят.

Спосіб виконують таким чином. Для виготов-  
лення комплексного антигену використовують  
штами *Salmonella typhimurium*, *Salmonella dublin*,  
*Salmonella enteritidis*, що утворюють екзотоксини і  
адгезивні антигени та штам *Bacillus alvei* 413. Вве-  
дження в організм тварин антигенів *Bacillus alvei*  
413 індукують утворення антитіл до вірусу ІРТ (Фукс  
П. П. Бактерії як своєрідні біотопи вірусів у природі

(13) A  
(11) 60089  
(19) UA

Біологія тварин (науково-теоретичний журнал) — Львів — 1999 — Т 1(2) — с 105 - 117)

Виготовлення сальмонельозних антигенів

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 бактеріальну масу відокремлюють за допомогою центрифугування або сепарацією, в супернатанти вносять 0,3 - 0,5% формаліну і витримують в термостаті при 37°C 10 - 15 діб.

Виробничі штами бактерій з адгезивними антигенами вирощують на агарі Хоттінгера при 37°C протягом 24 годин, після чого урожай бакмаси суспендують в 10М фосфатно-сечовинному буфері (рН - 7,0 - 7,2), концентрацію бакмаси доводять до 80 - 80 млрд. мк.кл. в 1см<sup>3</sup> і 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 10 - 15 діб.

Препарати анатоксинів і адгезинів сальмонел об'єднують, у співвідношенні 1:1.

Виготовлення антигену з *Bacillus alvei* 413

Штам *Bacillus alvei* 413 вирощують на МПБ з 1% глюкози та 5 - 10% сироватки коня протягом 2-х діб при 37°C. Концентрацію мікробних клітин доводять до 7 - 8 млрд. мк.кл. в 1см<sup>3</sup>. В одержану суспензію вносять формалін (0,5%).

Виготовлення комплексного антигену

Одержані антигени об'єднують у співвідношенні 1:1. У одержану таким чином суміш антигенів вносять 30% за об'ємом стерильного гідроксиду алюмінію.

Приклад 1. Визначення стерильності та нешкідливості. Стерильність антигенів визначали

за ГОСТ 28085-89, Нешкідливість - за ГСТУ 46 024-2002.

Приклад 2. Визначення активності препарату. Визначення активності по відношенню до сальмонел.

20-ти білим мишам масою 18 - 20г підшкірно вводили препарат дворазово з інтервалом між ін'єкціями 10 - 14 діб в об'ємі 0,5см<sup>3</sup>. Через 14 діб після останнього введення препарату дослідних тварин заражали інтраперитонеально раніше визначеною летальною дозою штаму *Salmonella dublin*. Спостереження за зараженими тваринами вели 10 діб. Препарат вважали активним в тому разі, коли за термін спостереження загинуть серед заражених тварин не перевищувала 30%.

Приклад 3. Визначення активності по відношенню до вірусу ІРТ.

10-ти морським свинкам масою 300 - 400г або 5-ти кролям масою 3 - 4кг препарат вводили внутрішньом'язово двічі з інтервалом 10 - 14 діб в дозах 1,0см<sup>3</sup> (морським свинкам) і 1,5см<sup>3</sup> (кролям). Через 14 діб після повторного введення препарату - у тварин відбирали проби крові, одержували сироватку і визначали рівень антитіл проти вірусу ІРТ в РНГА і РНБА. Рівень антитіл у тварин, яким вводили досліджуваний препарат повинен знаходитись в межах 6 - 12log<sub>2</sub>.

Спосіб одержання препарату для профілактики сальмонельозу та інфекційного ринотрахеїту телят знайде застосування в біологічній промисловості при виготовленні препарату для профілактики захворювань телят, обумовлених збудниками сальмонельозу та інфекційного ринотрахеїту, та знайде застосування в тваринницьких господарствах різних форм власності, які спеціалізуються на молочному та м'ясному скотарстві, неблагополучних щодо сальмонельозу та інфекційного ринотрахеїту телят.