

Передбачуваний винахід відноситься до ветеринарної медицини і може використовуватися для одержання препарату, стимулюючого імунну активність організму.

Відомі імуностимулюючі препарати, до вмісту яких входять бджолині продукти: прополіс, маточне молочко, мед та обніжжя (патент Укр. №23532, 31.08.98 бюл. №4; патент Укр. №23873, 31.08.98 бюл. №4).

Взагалі це багатокомпонентні складові з невеликим терміном зберігання.

Інформації про використання обніжжя бджіл в ветеринарній медицині - зовсім мало. Воно являє собою чоловічі гамети квітів медоносних рослин (пилок квітковий), зібрані медоносними бджолами в конгломерати з додаванням до них меду, прополісоподібної речовини і секрету фarenгіальних залоз. Внаслідок цієї обробки статевої клітини втрачають здатність до запліднення і алергічні властивості (Билаш Г. Д., Кривцов Н. Й. Апитерапія сьогодні. // Рыбное, сб. V, 1997, с.7-14.). Бджолине обніжжя стимулює приріст живої маси, споживання води та органи імунної системи (Волошин О.И., Пишак О.В., Мешишен І.Ф. Пилок квітковий (бджолина обніжка) в клінічній та експериментальній медицині. // Чернівці: Прут, 1998. с.175). Вона містить всі відомі вітаміни, білкові сполуки, незамінні амінокислоти, ліпіди, вуглеводи, фенольні сполуки, макро- та мікроелементи, ферменти, гормони.

Відомий біостимулюючий препарат "Бістим" на основі бджолиного обніжжя та спосіб його виготовлення (Красніков Г. А., Маценко О. В., Клімась Л. В. Тестування активності імуностимулюючих препаратів за морфофункціональним станом імунокомпетентних органів білих мишей. // Збірник наук. праць НДІЕКВМ УААН №80, 2002, с.327-330.). У склад препарату входить обніжжя бджолине (9,5-10,5%), натр їдкий (2,5-3,0%) та вода дистильована (до 100%).

"Бістим" впливає на відновлення природжених та набутих порушень клітинного й гуморального імунітету. Препарат підвищує антибактеріальну та протівірусну резистентність, а також має протизапальну дію.

Поєднане застосування препарату з вакцинами стимулює індукцію специфічних антитіл.

Препарат застосовують для корекції імунодефіцитного стану, підвищення захисно-пристосувальних та компенсаторних можливостей організму молодих тварин, як складова комплексної профілактики й терапії інфекційних пневмоентеритів, а також стимуляції імунної відповіді при щепленнях у тварин.

Технологія виготовлення препарату: до 3% розчину натру гідрокарбонату додають квітковий пилок (обніжжя), кип'ятять у водяній бані 60 хвилин. Отриману суспензію нейтралізують 10% розчином соляної кислоти до рН 7.0-7.5 та піддають центрифугуванню при 300об./хв. 30 хвилин, рідину зливають та автоклавують 30хв. при 1-й атм 120°C.

Основним недоліком цього препарату є те, що при виготовленні препарату використовують хімічні речовини: натр їдкий та соляну кислоту, залишки яких важко видалюються. Крім того, обніжжя піддають тривалій температурній обробці (кип'ятінню), при якій втрачається значна кількість вітамінів та інших біологічно активних речовин, що веде до зниження лікувальної ефективності препарату.

Використання препарату потребує значної кількості ін'єкційного інструментарію, що підвищує трудомісткість застосування з невеликим терміном придатності препарату (не більше 24 місяців).

В основу передбачуваного винаходу поставлено завдання удосконалити імуностимулюючий препарат "Амброфіт", спосіб його виготовлення та застосування, в якому підвищується ефективність лікувального ефекту, шляхом збереження біологічно активних речовин з підвищенням строку зберігання.

Поставлена задача вирішується тим, що в імуностимулюючому препараті "Амброфіт", способі його виготовлення та застосуванні, який включає хімічну обробку бджолиного обніжжя, згідно винаходу обніжжя інкубують в анаеробних умовах з додавання води, меду і воску протягом 18-20 днів при температурі +37°C+/-0,5°C.

Інкубацію складових "Амброфіту" проводять в такому співвідношенні:

бджолине обніжжя	30-35%
вода	10-15%
мед	40-45%
віск	10-15%

Препарат "Амброфіт" застосовують як імуностимулюючий засіб, шляхом згодовування з кормом для кроленят у кількості 0,1+/-0,01г на 1кг маси тіла протягом 10+/-2 дні.

Такий склад природних речовин забезпечує анаеробні умови, в яких цукрові гриби, дріжджі, лактобацили, молочнокислі бактерії і водневі бактерії спричиняють молочнокислу ферментацію цукрів, тобто іде інкубаційний процес.

Під час інкубації розвиваються молочнокислі бактерії, дріжджі, деякі анаероби, анаеробно-молочнокислі бактерії: стрептококи, які використовують для свого розвитку фактори, що синтезуються попередніми мікробами. В результаті - підвищується рН і вміст вітамінів групи В.

Далі відбувається зникнення стрептококів і розвиток лактобацил, що продукують велику кількість молочної кислоти.

Пізніше зникають молочнокислі бактерії і дріжджі деяких видів, оскільки висока концентрація молочної кислоти пригнічує їх розвиток. Кислотність досягає 4,0-4,2рН. Від цього бувши, спочатку пилок, потім обніжжя стає стерильним з наявністю в ньому лише деяких видів дріжджів.

Такий склад та спосіб виготовлення препарату "Амброфіт" дозволяє підвищити його біологічну активність обніжжя в два рази, що дозволяє економно використовувати цей засіб, при якому оптимальна доза бджолиного обніжжя для кроленят не перевищує 0,25г/кг на добу.

Запропонований спосіб виготовлення "Амброфіту" зберігає активність всіх складових до 3-5 років, в той час обніжжя при збереженні протягом 3 місяців втрачає 50% своєї поживності (без запропонованої обробки).

Методика виготовлення препарату "Амброфіт".

Парафінується скляний посуд (пеніцилінові флакони) ємкістю в 20мл. До половини заповнюється свіжою обніжжю (45-50%), або висушеною (30-35%) з добавкою води (10-15%). Поверх обніжжя заливають медом (40-45%) і зверху заливають воском (10-15%). Далі протягом 20+/-2 дні проводять інкубацію в термостаті при температурі +37°C+7-0,5°C.

Склад амброфіту: суха речовина 76,4+/-15%, сирий протеїн - 26,9 %, відновні цукри - 21,7+/-1,8%, сира зола - 1,3+/-0,08%, кислотність загальна - 4,1+/-0,5%, молочна кислота - 3,8% на абсолютно суху вагу.

Контроль якості препарату „Амброфіт“.

Для порівняння в амброфіті і в сухому обніжжі (з урахуванням вологості) флюориметрують водний екстракт, спиртовий, лужний, кислотний для визначення біологічно активних речовин. Крім того визначають вміст каротину, вітаміну В₂, білок екстрактів (рефрактометричне), поляризаційні властивості (поляриметром) і стимулюючу активність (за активністю інфузорій) і проводять інші дослідження, включаючи вивчення лікувально-стимулюючих властивостей при хворобах тварин.

Приклад 1.

Стерильний пеніциліновий флакон парафінують. Поміщають 20г свіжого бджолиного обніжжя у флакон. Поверх обніжжя заливають медом. Зверху запечатують воском. Флакон розміщують в термостаті при температурі +37°C на 20 днів. Через 20 днів флакон розкривають.

Приклад 2.

Стерильний пеніциліновий флакон парафінують. Поміщають у флакон сухе бджолине обніжжя, попередньо додавши 10% води (18г обніжжя+2г води). Поверх обніжжя заливають медом. Зверху запечатують воском. Флакон розміщують в термостаті при температурі +37°C на 20 днів. Через 20 днів флакон розкривають.

Таблиця 1

Порівняльний аналіз впливу амброфіту на кроветворення у кроленят

Номер групи	Еритроцити	Гемоглобін, г%	Лейкоцити
1. Контрольна	4820000	8,0	5916,7
2. Дослідна (0,25г/кг) (обніжжя)	5000000	9,0	6550
3. Дослідна (0,1г/кг) (амброфіту)	5690000	9,8	10050

Таблиця 1 свідчить, що "Амброфіт" сприяє збільшенню в крові кількості еритроцитів, гемоглобіну і лейкоцитів.

Таблиця 2

Порівняльний аналіз впливу амброфіту на стимуляцію органів імунітету та кроветворення у кроленят

Номер групи	Індекс тимусу	Індекс селезінки
1. Контрольна	1320	1840
2. Дослідна (0,25г/кг) (обніжжя)	1711,6	2620
3. Дослідна (0,1г/кг) (амброфіту)	1793,4	4150

Таблиця 2 свідчить про безперечну перевагу амброфіту при стимулюючій дії на органи кроветворення та імунітету.

Приготовлений за нашою методикою препарат "Амброфіт" перевищує біологічну активність обніжжя бджіл в два рази. Оптимальною дозою амброфіту для кроленят слід вважати 0,1г на кг маси тіла (оптимальна доза бджолиного обніжжя 0,25г/кг) на добу при умові його задавання протягом десяти днів. Крім того пилок при збереженні протягом 3 місяців втрачає 50% його поживності, а „Амброфіт“ зберігає свої властивості щонайменше три роки.