



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 49299

(13) A

(51) 6 A61K39/085

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

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ СІРОВАТКИ ПРОТИ САЛЬМОНЕЛЬОЗІВ ТА ІНФЕКЦІЙНОГО РИНОТРАХЕЇТУ ТЕЛЯТ

1

(21) 2001107257

(22) 25 10 2001

(24) 16 09 2002

(46) 16 09 2002, Бюл. № 9, 2002 р.

(72) Ушкалов Валерій Олександрович, Головка
Анатолій Миколайович, Кассич Володимир
Юрійович, Волосянню Олена Вікторівна(73) ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І
КЛІНІЧНОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ(57) Спосіб одержання сироватки проти сальмо-
нельозів та інфекційного ринотрахеїту телят, при-
значеної для пасивної імунізації і терапії захворю-
вань, обумовлених збудником сальмонельозу

2

та/або інфекційного ринотрахеїту, що включає виготовлення антигенів та імунізацію одержаним антигеном донорів сироватки крові, який відрізняється тим, що до складу комплексного сальмонельозного антигену входять препарати екзотоксинів та адгезивних антигенів виробничих штамів бактерій, а як противірусний антиген використовують штам *Bacillus alvei* 413, а імунізацію донорів сироватки крові проводять шестиразово, після чого визначають активність сироватки в дослідках на лабораторних тваринах і в серологічних реакціях

Передбачуваний винахід відноситься до ветеринарної мікробіології і біотехнології, зокрема до способів одержання біологічних препаратів, а саме - до способів одержання сироватки для пасивної імунізації і терапії інфекцій, зумовлених збудниками сальмонельозів та/або інфекційного ринотрахеїту (ІРТ) у молодняку великої рогатої худоби

Існують способи одержання "Полівалентної антитоксичної сироватки проти паратифу і колибацильозу 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 заявляемого об'єкту

Вищезазначеними способами отримують такі біопрепарати, за допомогою яких можна проводити специфічну пасивну профілактику і терапію захворювань сальмонельозної та/або ешерихіозної етіології. Недоліком існуючих способів одержання сироваток є те, що застосування одержаних за допомогою вказаних способів препаратів не забезпечує захист чутливих тварин від збудників сальмонельозу, що мають в своїй антигенній структурі фактори патогенності з токсичною функцією та функцією адгезії до епітеліоцитів слизових оболонок, також за допомогою вказаних біопрепаратів неможливо створити пасивний імунітет до вірусу ІРТ

Прототипом об'єкту, що заявляється, може бути "Способ получения антиадгезивной и антиток-

сической сыворотки против ешерихиоза сельскохозяйственных животных" (Россия, - "Бюллетень "Изобретения", - 1996, № 7, С. 19, з. № 93009805) Цей спосіб включає виготовлення антигенів та імунізацію одержаними антигенами донорів сироватки крові. Але за допомогою даного способу не можливо одержати бівалентний лікувально-профілактичний препарат проти сальмонельозу та інфекційного ринотрахеїту ВРХ

В основу винаходу, що передбачається, поставлене завдання одержання ефективного лікувально-профілактичного препарату сироватки проти інфекційних захворювань тварин, зумовлених патогенною дією сальмонел та вірусу ІРТ. Поставлене завдання вирішується завдяки тому, що препарат сироватки містить антитіла проти екзотоксинів та адгезивних антигенів сальмонел та антитіла проти адгезивних антигенів збудників. Спосіб передбачає виготовлення антигенів та імунізацію одержаними антигенами донорів сироватки крові, який відрізняється тим, що до складу комплексного сальмонельозного антигену входять препарати екзотоксинів та адгезивних антигенів виробничих штамів бактерій, а як противірусний антиген використовують штам *Bacillus alvei* 413. Імунізацію донорів сироватки крові проводять шестикратно, після чого визначають активність сироватки в дослідках на лабораторних тваринах і в серологічних реакціях

Приклад 1. Виробничі штами бактерій

З метою виготовлення антигену для імунізації

(13) A

(11) 49299

(19) UA

донорів сироватки використовують штами *Salmonella typhimurium*, *Salmonella dublin*, *Salmonella enteritidis*, що утворюють екзотоксини і адгезивні антигени та штам *Bacillus alvei* 413 – штам трансфікований вірусом IPT, в геномі цієї бактерії зареєстрована наявність генетичного матеріалу вірусу IPT, який має делецію за геном ТК (Фукс П.П. Бактерії як своєрідні біотопи вірусів у природі. Біологія тварин (науково-теоретичний журнал) – Львів – 1999 – Т. 1(2) – С. 105-117) і який використовують при виготовленні діагностичного набору для ретроспективної діагностики IPT ВРХ (ТУУ 48 15 228-97).

Приклад 2 Виготовлення антигенів для імунізації донорів сироватки крові

2.1 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 бакмасу відокремлюють за допомогою центрифугування або сепарацією, в супернатанти вносять 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 змивають фосфатним-сечовинним буфером (рН 7,0-7,2), концентрацію бакмаси доводять до 60-80 млрд мккл/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.

Препарати анатоксинів і адгезинів сальмонел об'єднують, також, у співвідношенні 1:1, вносять 30% гідроксала і фасують.

2.2 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. Концентрація мікробних клітин не повинна бути меншою за 5 млрд мк в 1 см³. Антиген інактивують за допомогою фенолу та мертиоляту і концентрують алюмокалієвим галуном.

Приклад 3 Визначення стерильності та нешкідливості

Стерильність антигенів визначають за ГОСТ 28085-89. Нешкідливість – загальноприйнятим методом на лабораторних тваринах.

Приклад 4 Імунізація донорів сироватки крові

Імунізацію донорів сироватки крові (волів або бичків) комплексним сальмонельозним антигеном і антигеном із *Bacillus alvei* 413 (кожним антигеном окремо) проводять за схемою, що наведена в таблиці.

Приклад 5 Визначення активності сироватки

На сьомий день після останнього введення антигену від донорів відбирають проби крові, одержують сироватку і визначають її превентивну активність. Для цього 10-20 білим мишам масою 18-20 г внутрішньочеревно вводять по 0,4 см³ сироватки. Через добу пасивно імунізованих тварин заражають петальною дозою бульйонної культури токсигенного штаму ешерихій і сальмонел. Сироватку вважають активною в тому разі, коли із заражених (і імунізованих сироваткою) тварин виживають не менше 80%.

Визначають титри антитіл до вірусу IPT, які не повинні бути нижчими за 8log₂.

Спосіб одержання сироватки проти сальмонельозу та інфекційного ринотрахеїту знайде застосування в біологічній промисловості при виготовленні сироватки, що призначена для пасивної специфічної профілактики та імунотерапії захворювань телят, обумовлених збудником сальмонельозу та/або інфекційного ринотрахеїту в тваринницьких господарствах громадського і приватного сектора власності, які спеціалізуються на скотарстві.

Таблиця

№ ін'єкції	Інтервал між ін'єкціями, доба	Доза сальмонельозного антигену, см ³	Доза інактивованого антигену <i>Bacillus alvei</i> 413, см ³
Грундування			
1	14	3,0 см ³	5,0 см ³
2	14	5,0 см ³	5,0 см ³
Імунізація			
1	7	5,0 см ³	5,0 см ³
2	7	10,0 см ³	10,0 см ³
3	7	10,0 см ³	10,0 см ³
4	7	15,0 см ³	15,0 см ³
5	7	20,0 см ³	20,0 см ³
6	7	20,0 см ³	20,0 см ³

ДП «Український інститут промислової власності» (Укрпатент)
вул. Сим'ї Хохлових, 15, м. Київ, 04119, Україна
(044) 456 – 20 – 90

ТОВ «Міжнародний науковий комітет»
вул. Артема, 77, м. Київ, 04050, Україна
(044) 216 – 32 – 71