

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 ешеріхіозів у молодняка сільськогосподарських тварин.

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

За допомогою вказаних біопрепаратів можна проводити специфічну пасивну профілактику і терапію захворювань сальмонельозної та/або ешеріхіозної 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'єкту, що заявляється, може бути "Способ получения антиадгезивной и антитоксической сыворотки против ешерихиоза сельскохозяйственных животных"(Россия, "Бюллетень "Изобретения", 1996, №7, с.19, А/93009805).

В основу винаходу, що передбачається, поставлене завдання одержання ефективного лікувально-профілактичного препарату сироватки проти інфекційних захворювань тварин, зумовлених дією ентеропатогенних ешеріхій і сальмонел. Це досягається завдяки тому, що препарат сироватки містить антитіла проти екзотоксинів сальмонел і ешеріхій 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 K99, F41, Att25, K88ab, K88ac, K88ad, 987P 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 ємкості 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% формаліна і витримують в термостаті при 37°C 10-15 діб.

2.2. Виготовлення препаратів адгезивних антигенів.

Виробничі штами бактерій з адгезивними антигенами вирощують на шарі Хоттінгера при 37°C протягом 24 годин, після чого урожай бакмаси змивають фосфатним-сечовинним буфером (pH 7.0-7.2), концентрацію бакмаси доводять до 60-80 млрд. мкл.мл, витримують на водяній бані (62-65°C) 20-30 хвилин, після чого бакмасу відокремлюють, в супернатанти вносять 0.5% формаліна і витримують при 37°C 5-7 діб.

2.3. Виготовлення антигенів для імунізації

Препарати анатоксинів і адгезивних антигенів ешеріхій об'єднують у співвідношенні 1:1, вносять 30% гідроксала і фасують. Препарати анатоксинів і адгезивних 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 ешеріхіозними 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 ешеріхіозним антигеном, а другу - сальмонельозним.

Приклад 5. Визначення превентивної активності сироватки

На сьомий день після останнього введення антигену від донорів першої групи, імунізованих ешеріхіозним 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 18-20г), 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 ешеріхій (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 ешеріхіозної 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.