



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

202866

(11) (B1)

/22/ Přihlášeno 18 12 78
/21/ /PV 8458-78/

(51) Int. Cl.³
A 61 K 39/395
A 61 K 31/195

(40) Zveřejněno 30 05 80

(45) Vydáno 15 09 82

(75)

Autor vynálezu

SPOHR PAVEL RNDr. PhDr., PRAHA

(54) Prostředek k plošné ochraně mládat před uhynutím, k profylaxi a podpůrné terapii enzootií v chovech živočišné výroby

Vynález se týká prostředku k plošné ochraně mládat před uhynutím, k profylaxi a podpůrné terapii enzootií v chovech živočišné výroby. Řeší problematiku živočišné velkovýroby, chovu hospodářských, domácích a laboratorních zvířat, dále snížení ztrát mládat a dospělých zvířat a tím spojeným zlepšením zdravotního stavu a užitkovosti, ochranu před onemocněním a popřípadě i podpůrnou terapii.

Nová organizace chovů, v souvislosti s přeměnou zemědělství na velkovýrobu, časté přesuny zvířat a vytváření velkých stád aktualizovala některá onemocnění, která se dříve vyskytovala jen sporadicky. Jde převážně o respirační a enterální infekce, zvláště u mládat. Nově narozená mládata nemají ještě dostatečně rozvinutý komplexní imunitní systém, i když jsou již imunokompetentní, a jsou vystavena zvýšenému riziku onemocnění. Celkové oslabení mladého organismu může mít za následek mimo jiné i vznik onemocnění působených jinak neškodnými organismy, u telat například *E. coli*, žijícími v zažívacím traktu.

V současné době je hledána cesta, jak zabránit velkým ztrátám v živočišné výrobě. K tomu účelu se používá v současné době například širokospektrých antibiotik ve vysokých dávkách i jako příměsí krmiv, preventivní aplikace depotních antibiotik nebo chemoterapeutik, vakcinace proti některým onemocněním, dále je snaha o imunizaci mládat ovlivněním tvorby protilátek u fetů, využitím jednak drahých specifických imunoglobulinů, jednak pomocí směsi imunoglobulinů, ochrany fetů a mládat imunizací matek. Některé tyto cesty jsou nebezpečné například vzhledem k nepříznivému působení antibiotik a chemoterapeutik na životní prostředí člověka, nebo jsou velmi nákladné, pracné a časově náročné, jako například výroba specifických imunoglobulinů. Vzhledem k tomu nejsou využívány plošně ve veterinární praxi. Pokud jde o imunoglobuliny samotné, je známo, že krev k přípravě imunoglobulinů odebraná na jatkách a/nebo odebraná v chovech obsahuje, vzhledem k obecné promořenosti, globální směs homologních imunoglobulinů, potřebných k ochraně mládat i dospělých zvířat při moderním odchovu. Jedná se o směs všech imunoglobulinů obsažených ve zvířecí krvi, tj. zejména IgG, IgA a IgM. Homologní imunoglobuli-

ny jsou získávány ze stejného druhu zvířat, například z hovězí jateční krve pro skot, zvláště pro telata, z vepřové krve pro selata apod. Tak například jsou známé preparáty, které obsahují směs imunoglobulinů, které byly izolovány z jateční prasečí a telecí krve, které se kombinují s vitaminy, zvláště A a D, a biogenními prvky, například fosforem a vápníkem ve stopovém množství /Gafervit/. Aplikují se ve formě injekčního roztoku při poruchách výměny látkové, při zaostávání ve vývoji při stavech hypo- a agamaglobulinemie, při anemii selat a chorobách selat spojených s odstavením.

Dále jsou známé preparáty, které obsahují hovězí imunoglobuliny v kombinaci s živými zárodky laktobacilu a nepatogenním kmenem *E. coli* s přidavkem sušeného mléka jako vehicula /Galaco/. Tento preparát se aplikuje při prevenci colidisperzií a při hypo- a agamaglobulinemických stavech.

Podobně prostředek /Gamavit/, který je kombinací sušiny imunoglobulinu, glukosy, chlorotetracyklinu, fosfátových a vápníkových iontů.

Některé nedostatky dosud známých preparátů odstraňuje prostředek podle vynálezu, jehož podstatou je, že obsahuje směs homologních imunoglobulinů v množství 8 až 16 % hmot. a esenciální aminokyselinu lysin v množství 15 až 25 % hmot. a zbytek tvoří fyziologický roztok.

Esenciální aminokyselina lysin se užívá v běžné komerční produkci. Tato látka je stabilizátor a působí nespecifickou stimulací tvorby protilátek a tak zvyšuje účinek základních homologních imunoglobulinů a prodlužuje pasivní ochranu zvířete navozenou přípravkem. Dále příznivě ovlivňuje vnitřní prostředí, zvláště úpravou acidobazické rovnováhy a tím umožňuje správnou funkci retikuloendoteliárního systému.

Ve světové literatuře nejsou údaje o působení lysinu v injekční formě u zvířat. Jedinou zprávou je informace o použití aminutrinu /Informační zprávy SPOFA - Veterinářství - 1978 č. 4 str. 7-8/ na léčení a prevenci metabolických poruch. Zde byl pokusně užíván 20% roztok l-lysinu HCl v dávkách 50-100 ml u telat při indikacích: deficit l-lysinu, infekční otravy, poruchy metabolismu minerálií, rekonvalescence, jaterní nedostatečnost /intoxikace/, při otravách amoniakem, léčba alkaloz, hypomagnesiemie, kanibalismus, úprava acidobazické rovnováhy a hniloba paznehtů.

Navrhovaná dávka lysinu ve směsi s homologními imunoglobuliny, tj. 30 mg/kg ž. h., působí při samostatné aplikaci jen velmi slabou, nebo žádnou, fyziologickou odezvu, a to pouze v souvislosti s mírnou a krátkodobou úpravou acidobazické rovnováhy. Terapeutická dávka je 10x vyšší, tj. 300 mg/kg ž. v. /SPOFA 1978/.

Synergickým působením vysokomolekulární složky imunoglobulinů a lysinu dojde jednak ke zvýšení obsahu imunoglobulinů jejich dodáním a jednak nespecifickou stimulací vlastního imunitního systému /viz graf č. 1/.

Na obrázku 1 je graficky znázorněna hladina sérových imunoglobulinů u telat, kterým byly aplikovány:

- a/ placebo, tj. fyziologický roztok v dávce 10 ml/tele
- b/ 20% roztok lysinu v dávce 30 mg/kg ž. v.
- c/ 20% roztok lysinu v dávce 300 mg/kg ž. v.
- d/ 10% roztok homologních imunoglobulinů v dávce 15 mg/kg ž. v.
- e/ prostředek podle vynálezu, tj. 15 mg homologních imunoglobulinů a 30 mg/lysinu na 1 kg ž.v.
- f/ prostředek podle vynálezu bodu e s jedním opakováním aplikace 21. den po první aplikaci.

Přípravek tvořený směsí homologních imunoglobulinů a lysinu se aplikuje ve formě injekčního roztoku, a to plošně, to znamená každému zvířeti v chovu. Aplikace se provádí parenterálně /injekcí/ do svalů, hluboce podkožně, anebo do žíly v dávce 5 až 25 mg imunoglobulinu a 10 až 100 mg lysinu na kilogram živé váhy bezprostředně po narození, nebo při odstavení, nebo při svodu, nebo při ohrožení infekcí všem zvířatům, anebo nemocným zvířatům. Rozsah dávek byl stanoven farmakologickým pokusem. Byly prověřovány dávky minimální, optimální a maximální účinnosti jak u imunoglobulinů, tak i u lysinu. Nejnižší účinnou dávkou imunoglobulinů, při které byl staticky významný efekt, je 0,5 mg imunoglobulinů. Za nejnižší, účinnou ekonomicky optimální, byla stanovena dávka 15 mg Ig/kg a od dávky 50 a více mg Ig/kg ž. v. nebyl již zjištěn zvýšený účinek. Stejně tak u lysinu byl synergický účinek s imunoglobuliny staticky významný u dávky 5 mg/kg ž. v. ve směsi s 15 mg imunoglobulinů, za ekonomicky optimální byla stanovena dávka 30 mg lysinu ve směsi s 15 mg Ig/kg ž. v. Do 500 mg je statisticky zjistitelný rozdíl účinku, i když ve velmi malém rozsahu. Aplikace se může opakovat 1 až 3x po základní

aplikaci podle zoohygienických podmínek. U laboratorních zvířat, na příklad u opic nebo jiných vzácných zvířat, se prostředek s výhodou aplikuje buď v chovech, anebo při karanténě, dále plošně v celém chovu nebo stáji, anebo u ohrožených jedinců.

Podle vynálezu je použití prostředku zaměřeno tak, že aplikované množství homologních imunoglobulinů ve směsi s lysínem pomůže překlenout choulostivé období fyziologické deficiencie imunoglobulinů, tj. do minimálně 12. týdne života od narození, kdy jsou zvířata vystavena zvýšenému riziku onemocnění, a období celkového oslabení organismu, tj. po stresu, svodu, změně výživy, epidemích a podobně, při zachování a zlepšení fyziologických poměrů.

Příprava prostředku spočívá ve výrobě injekčního roztoku směsi 10 % homologních imunoglobulinů, získaných známým způsobem frakcionací krevní plasmy nebo séra síranem amonným, kyselinou kaprylovou, ajatinem, rivanolem nebo jiným způsobem, a 20 % lysinu. Čistota použitých imunoglobulinů musí být minimálně 70 % celkového objemu. Aplikační injekční roztok musí být sterilní. Např.: směs homologních imunoglobulinů se připraví např. frakcionací plasmy nebo séra z jateční krve ajatinem /dimetyllaurylbenzylamoniumbromid/.

pH směsné krevní plasmy nebo séra získaného z jateční krve nebo z odběrů v chovech se upraví na hodnotu $8,00 \pm 0,05$. Za stálého míchání se přidá na každých 1 000 ml plasmy 100 ml 10% roztoku ajatinu /komerční desinfekční roztok/ zředěného 900 ml destilované vody. Směs se za stálého míchání zahřeje na teplotu 38°C , při které se míchá ještě 5 minut. Nato se bez předchozího ochlazení filtruje. /Sraženina zachycená na filtru se promíchá ve vodě - 1/5 objemu srážené směsi - a nechá se eluovat do druhého dne, pak se vylisuje. Získaná kapalina se přidá k hlavnímu podílu filtrátu, nebo až k filtrátu následující šarže plasmy./

Z filtrátu se odstraní případný zbytek ajatinu pomocí aktivního uhlí přidáním 2 % objemových aktivního uhlí. Získaná směs se nechá min. 15 minut stát při laboratorní teplotě a pak se aktivní uhlí odfiltruje.

Nebo pH se upraví při frakcionaci kyselinou kaprylovou.

Získaný roztok směsi imunoglobulinů se zahustí lyofylizací. Do připraveného cca 25% roztoku lysinu ve fyziologickém roztoku se přidají imunoglobuliny do finální koncentrace 10 %, upraví se obsah chloridu sodného, pH a přidá se antiseptikum. Takto upravený injekční roztok se sterilizuje filtrací.

Přednost uvedeného postupu spočívá v tom, že při malé pracnosti, jednoduché manipulaci a nízkých nákladech se docílí účinné ochrany mláďat před úhynem, zajistí se profylaxe před některými virovými a bakteriálními nemocemi a vyrovná se, při plošném použití, imunobiologicky populace. Ověřovací zkoušky /na 10 000 kusů telat a 5 000 selat/ prokázaly zejména: nevyčerpatelný, laciný zdroj suroviny, která je jinak odpadem, jednoduchost a levná výroba, snížení ztrát až o více než 50 % původních ztrát podle zoohygienických podmínek, úrovně ošetřování, ustájení apod., snížení počtu nutných porážek, snížení morbidity, snížení ztrát dospělých kusů, snížení spotřeby lidské práce a tím zlepšení podmínek ošetřování, snížení spotřeby antibiotik a léčiv, snížení potřeby veterinárních úkonů.

Zlepšení odolnosti se projevilo výrazným zvýšením užitkovosti, například u telat došlo ke zvýšení prodejní váhy po 180 dnech o více než 11 kg proti kontrole, došlo ke zvýšení denních váhových přírůstků, zvýšení produkce mléka, zvýšení tučnosti mléka a zvýšení produkce masa. Omezení spotřeby antibiotik se příznivě projeví na zlepšení životního prostředí člověka, snížením nebezpečí vzniku rezistencí a podobně. Účelné zpracování krve, kdy po oddělení plazmy je možno erytromasu dále zpracovat jako bohatý zdroj bílkovin.

V chovech laboratorních zvířat se účinek projeví vyšší produkcí, snížením ztrát a zlepšením zdravotního stavu a standardnosti experimentálního materiálu.

V chovech koní je společenský prospěch vyjádřen zvýšeným počtem odchovaných koní, jejich kondicí a nakonec aukční cenou, která je úměrná i zdravotnímu stavu a kondici.

U preparátu byla před aplikací úředně zkoušena podle ČSN 38 3001 a ČSL 3:

a/ sterilita na krevním agaru - vyhovuje

thioglykolátové půdě - vyhovuje

saburaudově půdě - vyhovuje

b/ neškodnost na myších - bez patologického nálezu

morčatech - bez patologického nálezu

c/ elektroforetická čistota /norma 70 %/ - 91,5 % vyhovuje

d/ obsah antiseptika /norma 0,01 %/ - 0,009 % vyhovuje

e/ pH /norma 6,2 - 7,2/ - 7,08 vyhovuje
f/ obsah NaCl /norma 0,7 ± 0,2/ - 0,708.

Vynález je objasněn dále na příkladech použití, kterými však není jeho obsah ani omezen či vyčerpán:

P ř í k l a d 1

Z krve odebrané na porážce hovězího dobytka na jatkách se známým postupem připraví homologní imunoglobuliny. Injekční roztok obsahuje 10 % homologních imunoglobulinů, 20 % lysinu a 0,7 % chloridu sodného, stopové množství antiseptika například merthiolátu a zbytek tvoří voda. Takto připravený roztok se sterilizuje s výhodou filtrací. Aplikace se provádí parenterálně /subcutálně nebo intra musculárně/, s výhodou automaticky, v množství 10 ml každému telati ihned po narození; po 20 dnech může být dávka opakována v dávce 15 ml na kus.

P ř í k l a d 2

Injekční roztok připravený podle příkladu 1 se aplikuje plošně v množství 15 ml/tele při odstavu, s výhodou automaticky. Opakování se provádí 1 - 3x vždy v rozmezí cca 20 dnů.

P ř í k l a d 3

Z hovězí krve odebrané na jatkách se připraví injekční roztok homologních imunoglobulinů a lysinu jako v příkladu 1. Tento roztok je aplikován, s výhodou automaticky, do svalu nebo podkožně v dávce minimálně 15 ml všem telatům při svodu, tj. plošně ihned při veterinární prohlídce před zařazením do velkokapacitního teletníku, anebo jiné formy chovu a ustájení. Aplikace se opakuje v prvních 6 týdnech po první injekci dvakrát. Mimoto aplikaci je možno opakovat podle zjištění veterinárního lékaře při zvýšeném nebezpečí jakékoliv infekce plošně, nebo i jednotlivě při oslabení zvířete, a to v minimální dávce 15 mg homologních imunoglobulinů s 30 mg lysinu na 1 kg hmotnosti.

P ř í k l a d 4

Při výměně zástavu velkokapacitních stájí, ve kterých proběhla výrazná masová infekce, se z vyřazovaných kusů odebere podle stáří a váhy až 5 000 ml krve. Ze směsi se připraví homologní imunoglobuliny ve formě injekčního roztoku s obsahem minimálně 10 % hmot. a s 20 % hmot. lysinu. Tento přípravek se aplikuje parenterálně nově zastaveným kusům před příchodem do stáje. Do 14 dnů až 3 týdnů se opakuje aplikace buď stájovými homologními imunoglobuliny, anebo roztokem připraveným podle příkladu 1.

P ř í k l a d 5

Injekční roztok podle příkladu 1 se aplikuje do žíly v množství minimálně 15 mg imunoglobulinů s 30 mg lysinu na 1 kg hmotnosti všem kravám před porodem /jako prevence mastitid a endometritid/. Nebo je stejná aplikace u kusů nemocných užitá jako podpůrná terapie.

P ř í k l a d 6

Z prasečí krve získané na porážce jatek se připraví sterilní injekční roztok s minimálně 10 % hmot. homologních imunoglobulinů a 20 % hmot. lysinu. Tento se aplikuje všem právě narozeným selatům v dávce 5 až 7 ml cestou parenterální. Aplikace je opakována ještě jednou do 3 týdnů v minimální dávce 7 ml/sele. Podle zoohygienické situace, zdravotního stavu je možno aplikaci opakovat v dávce minimálně 15 mg/kg hmotnosti.

P ř í k l a d 7

Z krve koní získané na jatkách nebo odběry v chovech a stájích se izolují homologní

imunoglobulíny známým způsobem. Poté se připraví sterilní injekční roztok s obsahem 10 % hmot. homologních imunoglobulinů, 20 % hmot. lysinu. První aplikace se provádí u všech koní po narození, opakování se provádí 1 až 2x v rozmezí 14 až 21 dnů po předchozí aplikaci. Aplikaci je možno opakovat vždy před zvýšeným nebezpečím - převozy, stresem, novým ustájením apod. Minimální dávka aplikace je vždy 15 mg/kg hmotnosti.

P ř í k l a d 8

Z krve opic, získané při jejich totální exsanguinaci, například po provedeném testování, se připraví pro každý druh vždy homologní injekční roztok obsahující 10 % hmot. imunoglobulinů a 20 % hmot. lysinu, které jsou aplikovány všem kusům v den příchodu do karantény v množství minimálně 15 mg/kg hmot. S výhodou lze tento roztok kombinovat se stejnou dávkou lidského gammaglobulinu.

Obdobně je možné využít homologních imunoglobulinů i v chovech jiných hospodářských zvířat, zvířat domácích /psů a koček/ a dále laboratorních zvířat, exotů a kožešinových zvířat.

Zvláštní význam má plošné použití prostředku podle vynálezu v chovech gnotobiontů, homozygotů a jedinců odchovaných po transplantaci vajíček či miniembryí například skotu, prasat a podobně.

Použití prostředku podle vynálezu s obsahem homologních imunoglobulinů získaných ve stájích nebo chovech a speciálních zařízeních má význam profylaxe nebo slouží k podpoře jiné terapie.

Injekční roztok byl po přípravě zkoušen podle ČsL 3 a ČSN 38 3001, zkoušení biologických přípravků. Provedené zkoušky vyhovují uvedeným normám:

Zkoušky sterility: bez nálezu

Zkoušky neškodnosti: vyhovuje ČSL 3 a ČSN

Chemická analýza: čistota 92 %

obsah NaCl: 0,81 %

Následující tabulka 1 ukazuje srovnání výsledků úhynu telat před a po aplikaci prostředku podle vynálezu a dále synergický účinek oproti účinkům samotných homologních imunoglobulinů.

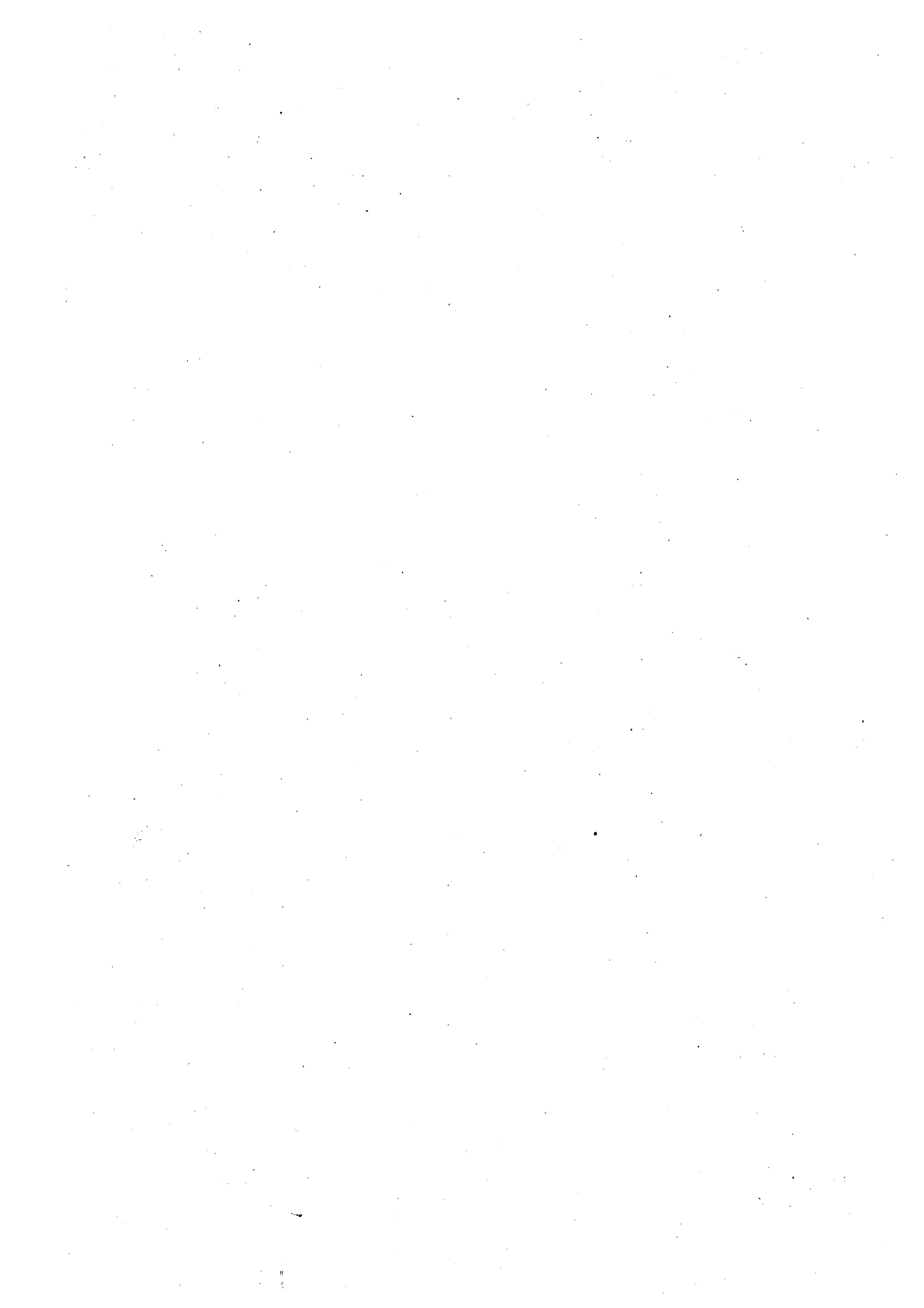
T a b u l k a 1

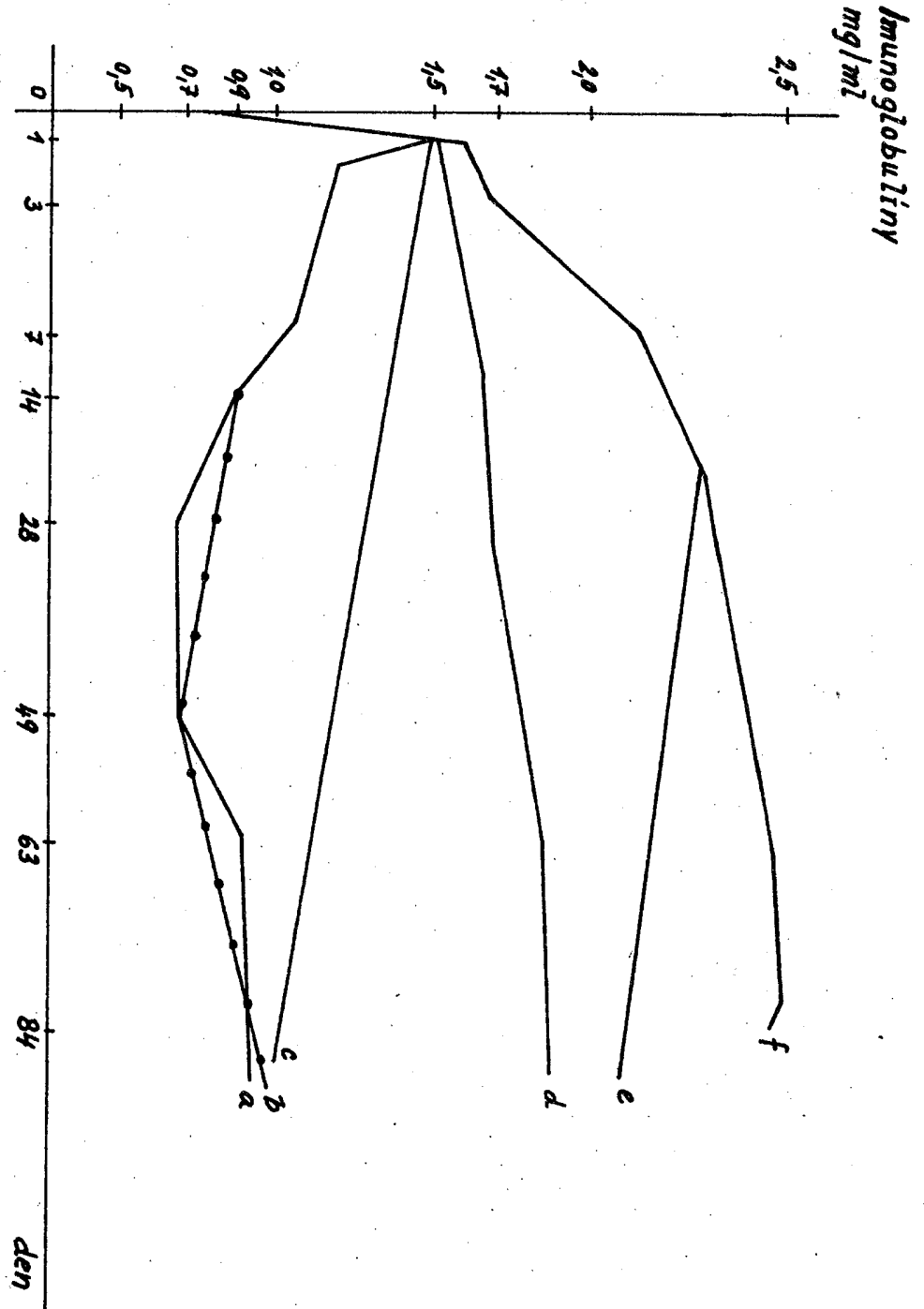
	kusů telat	úhyn		nucené poráž.		celkové ztráty		nemocnost		snížení ztrát	
		ks	%	ks	%	ks	%	ks	%	%	ks/1 000 ks
Kontrolní pokus bez aplikace prostředku	200	26	13	15	7,5	41	20,5	126	63	-	-
Homologní imunoglobulíny	231	7	3,03	11	4,73	19	7,76	42	21	62	120
Přípravek podle vynálezu apli- kace 1x	100	3	3,0	-	-	3,0	3,0	19	19	76	170
Přípravek podle vynálezu apli- kace 2x	200	3	1,5	1	0,5	4,0	2,0	34	17	84	180

P Ř E D M Ě T V Y N Á L E Z U

Prostředek k plošné ochraně mláďat před uhynutím, k profylaxi a podpůrné terapii enzootií v chovech živočišné výroby na bázi imunoglobulinů, vyznačený tím, že obsahuje směs homologních imunoglobulinů v množství 8 až 16 % hmot. a esenciální aminokyselinu lysin v množství 15 až 25 % hmot. a zbytek tvoří fyziologický roztok.

1 list výkresů





Obz. 1