



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVEDČENIU

211111

(11) (B1)

(51) Int. Cl.³
A 61 K 37/02

/22/ Prihlášené 13 03 80
/21/ /PV 1719-80/

(40) Zverejnené 30 06 81

(45) Vydané 15 04 84

(75)

Autor vynálezu

DUBAJ JÚLIUS RNDr. PhMr., GREGOR IVAN ing., NITRA,
SLANINA ĽUDOVÍT prof. MVDr. DrSc., KOŠICE, DUBAJOVÁ JUSTÍNA RNDr. PhMr.,
SPIŠÁK MICHAL MVDr., KRAVÁRIK DUŠAN MVDr., NITRA

(54) **Prípravok k stabilizácii vodnej a bielkovinovej homeostázy u teliat
alebo prasiat a spôsob jeho výroby**

Prípravok podľa vynálezu bude zaradený do sortimentu preventívnych a liečebných prípravkov v oblasti veterinárnej medicíny.

Indikáciami prípravku sú: stabilizácia vodného metabolizmu pri hnačkových ochoreniach, hypoproteínémie, disproteinémie a imunodeficiencie, hepatózy, intoxikácie, zápalové procesy so značnou exsudáciou, edémy, acidózy a hemoragické diatézy, rekonvalescencia a nízka životaschopnosť, stresy atď. V injekčnej úprave prípravok obsahuje na 1 liter 0,5 až 0,8 mmol hovädzieho alebo prasačieho albumínu o elektroforetickej čistote 0,85 až 0,95 jednotky, 68,4 až 102,6 mmol chloridu sodného, 4,0 až 6,0 mmol chloridu draselného, 111,0 až 166,5 mmol glukózy a 3,2 až 4,4 mmol kaprylátu sodného. Deklarovaná čistota albumínu sa dosiahne purifikáciou surového albumínu denaturáciou nežiadúcich bielkovín teplom v prítomnosti kaprylátu sodného bez odstránenia síranu amonného z prostredia.

Vynález sa týka zloženia a spôsobu prípravy výrobku, určeného na stabilizáciu vodného a elektrolytového metabolizmu pri hnačkových ochoreniach, na pufráciu krvi a substitúciu a reguláciu bielkovinového spektra pri hypoproteínemiach a disproteínemiach, zvlášť pri hypoalbuminémii u teliat alebo prasiat.

Vysoká incidencia diarhoického syndrómu (64 %) a hepatóz (22 %) (Slanina, Ľ.: koncepcia priemyselného chovu teliat a jej súčasná realizácia, Veterinárství, 29, 2, 1979) a vysoký výskyt hypoproteínémie (46 %), (Vajda, V.: Štúdium chorobnosti a odolnosti teliat v priemyselných podmienkach chovu, Kandidátska disertačná práca, 1979, VŠM Košice) u teliat vyžaduje patogenetický, substitučný zásah, najmä pokiaľ ide o potencovanie vodnej homeostázy. Jej reštitúcia cez samotné rehydratačné prostriedky je len čiastočné potencovanie metabolizmu vody a elektrolytov.

Nerieši vôbec alebo len nedokonale straty hlavných živín (proteinov, glycidov, tukov a i.) a s nimi súvisiace negatívne bilancie, vedúce k prevládnutiu katabolizmu nad anabolizmom, manifestujúce sa porušením základnej vlastnosti živých sústav, t. j. zastavením rastu, úbytkom živej hmotnosti, atď. Závažný je aj metabolický stav, vyskytujúci sa pri hnačkových ochoreniach teliat vo veľkokapacitných teliatníkoch v dôsledku inkompletnej terapie.

V tomto tzv. postacidóznom pohnačkovom stave sa často nachádzajú telatá po "vylicenej hnačke", ktorej dôsledkom býva nielen zníženie prírastkov hmotnosti, ale dokonca i zastavenie rastu teliat. Pre riešenie rozvráteného vodného a elektrolytového metabolizmu je potrebné preto vyrovnať sa nielen s poruchou redukcie objemu telových tekutín (dehydratáciou), ale aj s poruchou tonicity (hypotónie) a s poruchou acidobázického stavu (metabolickou acidózou), (Oplištil, M.: Základy léčebného podávání tekutin telatům ve velkokapacitních telatnících, Veterinárství, 1, 1978).

Uvedené zdravotné poruchy vyžadujú preventívne ako aj terapeutické opatrenia, sledujúce pokles chorobnosti, stratovosti zvierat. Prípravok na báze zvieracieho albumínu, elektrolytov a glukózy ukazuje sa pre uvedenú oblasť ako vhodný a potrebný a je predpoklad, že zaujme v rade používaných terapeutík, event. preventívnych prostriedkov najmä u mláďat hospodárskych zvierat jedno z dôležitých postavení.

Poruchy v minerálnom metabolizme u diarhoického syndrómu vyznačujú sa najmä poklesom hladín sodíka, draslíka, vápnika a horčíka v krvnom sére. Pri ťažkých dehydratáciách spojených s acidózou, hladina draslíka obyčajne stúpa. Sodík a draslík z hľadiska kvalitatívneho zastupujú hlavné elektrolyty krvného séra a bývajú preto takmer pravidelnou súčasťou rehydratačnej terapie.

Rehydratačná terapia vo veterinárnej medicíne nadobudla väčšieho významu až po skúsenostiach v humánnej medicíne. V SSSR rozpracoval komplexne rehydratačnú terapiu Šarabrin so svojou školou. U teliat postihnutých dyspepsiou spočíva táto terapia v prvom rade v i. p. aplikáciách liečebných roztokov v kombinácii s dieto-, termo-, farmako-, vitamíno-, prípadne i hemoterapiou.

Vzhľadom k potrebným diétnym obmedzeniam pri hnačkových ochoreniach je v liečebných roztokoch oprávnená aj prítomnosť glukózy ako rýchle využiteľného energetického zdroja. Glukóza je najbezpečnejším zdrojom parenterálne dodávaných kalórií. Rýchle sa asimiluje, nedáva vznik toxickým produktom, je antiketogenná, šetrí bielkoviny, tuk i vodu, je hepatoprotektívna. Dodáva energiu bunecnému metabolizmu. Je základom glykogénu a tým súčasťou telesných tkanív.

Z experimentov a z klinických pozorovaní v humánnej oblasti je známe, že dostatok glukózy pridaný k parenterálne podaným aminokyselinám alebo bielkovinám zaistí ich optimálnu anabolizáciu (Došková, M., Hainer, V., Rovenská, A.: Prostředky dlouhodobé parenterální výživy, Čas. lékařů českých, 36, 1973). Glukóza je tiež potrebná pre resorpciu solí a vody

z tenkého čreva pri enterotoxemickej hnačke (Rašková, H., Sachser, T., Vaneček, J., Treu, M., Mužík, J., Sklenář, V., Polák, L.: Perorální rehydratace průjemových onemocnění telat, Veterinářství, 1, 1974).

Účinná väzba vody a tým aj metabolizmu elektrolytov a pufrácie krvi cez albumín je pri súčasnej zdravotnej situácii u teliat alebo prasiat perspektívna. Vo veterinárnej medicíne však nie je dosiaľ známe použitie zvieracích albumínov pre uvedené indikácie, zatiaľ čo v humánnej medicíne nadobudol albumín veľmi široké a efektné uplatnenie.

Albumín je vysoko účinný stabilizátor vodnej homeostázy v organizme. Jedna molekula albumínu viaže v organizme 18 molekúl vody. Má dobrý pufrálny účinok v krvi a upravuje narušenú acidobázu. Pri hypoproteinémii a disproteinémii slúži ako substitučný a regulačný prostriedok bielkovinového spektra zvlášť pri hypoalbuminémii. Albumín v organizme je často katabolizovaný najmä pri gastroenteritíde, pneumónii, pleuritíde, enteritíde, hepatitíde, nefritíde a iné, takže hypoalbuminémia je častým patogenetickým javom s negatívnou N-bilanciou v organizme a spadá do syndrómu nízkej životaschopnosti najmä u mláďat.

Značná detoxikačná schopnosť albumínu je vhodne využiteľná pri intoxikáciách endogenného i exogenného charakteru. U hepatóz, kde produkcia albumínu je zredukovaná, substitučný zásah albumínom je efektný a podporuje regeneračné deje v hepatálnej bunke. Imunodeficiencia so sprievodnou hypoproteinémiou sa môže albumínom tiež ovplyvniť.

Albumín alebo albumínu podobné bielkoviny sú známe u všetkých živočíšnych druhov. Molekula albumínu existuje už v prvom mesiaci gestácie. Je sprievodcom prakticky všetkých metabolitov, ionov, aminokyselín, hormónov, liekov a produktov toxického degradácie v organizme.

Albumín je kvantitatívne najsilnejšia plazmatická bielkovina u cicavcov. Vyznačuje sa tromi odlišnými a predsa na seba úzko naväzujúcimi funkciami v plazme. Prvou vlastnosťou - veľkosťou molekuly, nábojom a koncentráciou prispieva k regulácii koloidnej osmotického tlaku v plazme. Za druhé, albumín svojimi väzbami a šírkou spektra metabolitov a metabolických efektorov ako aj prostredníctvom nich slúži transportnej funkcii organizmu. Konečne albumín vystupuje ako výrazná zásobná forma aminokyselín.

Albumín vystupuje ako primárny regulátor osmotického tlaku, zatiaľ čo plazmatické globulíny sa na jeho regulácii zúčastňujú len v menšej miere. Keďže molekulová hmotnosť albumínu je omnoho menšia (69 000) ako molekulová hmotnosť globulínu (156 000), obsahuje dané váhové množstvo albumínu viac osmoticky aktívnych častíc ako rovnaké množstvo globulínu; pri koncentrácii 1 g/100 ml odpovedá osmotický efekt albumínu 799,93 Pa a osmotický efekt globulínu len 199,98 Pa.

Plazmatické bielkoviny majú vzhľadom na svoj osmotický efekt tendenciu zadržiavať vodu v krvných kapilárach a tak udržiavať objem plazmy. Okrem rôznych metabolitov je voda objemove najvýraznejším faktorom, ktorý ovplyvňuje objem plazmy v prípadoch väčšieho prívodu z čreva, alebo straty z organizmu. Okrem toho sa voda neustále vytvára vo všetkých tkanivách ako konečný produkt oxidácie živín. Tento presun vody vo vnútri organizmu je omnoho väčšieho rozsahu ako výmena vody medzi organizmom a vonkajším prostredím. Z udržiavania osmotického rovnováhy vyplýva nezastupiteľnosť a dôležitosť kryštaloïdov a makromolekúl - plazmatických bielkovín.

Celulárny transport albumínu podobne ako aj jeho syntéza v pečenej bunke je podobný tvorbe a sekrécii ostatných bielkovín. Dôležitú úlohu v transporte albumínu v pečeni má hladina draslíka v pečenej bunke. Albumín je privádzaný nielen do plazmy a intersticiálnej tekutiny, ale nachádza sa vo všetkých telových sekrétoch a exkrétoch. Približne 40 % vymeniteľných albumínových zásob je lokalizované mimo plazmatického priestoru.

Koža a svaly predstavujú najväčšiu zásobareň extravaskulárneho albumínu. Kvantitatívne rozloženie albumínu môže sa čiastočne meniť regulačnými zásahmi vody a elektrolytov, ktoré podľa potreby zaberajú miesto medzi jednotlivými orgánmi. V stresových situáciách ako sú popáleniny, traumy a infekcia, extravaskulárny albumín rýchlo dopĺňa plazmatické zásoby, pričom sa zreteľne menia extraplazmatické zásoby. Poznanie zmien v extravaskulárnych zásobách albumínu je preto rýchlym ukazovateľom potreby zo strany plazmy.

Medzi faktory, ktoré priamo ovplyvňujú syntézu albumínu patria: výživa, hormonálna rovnováha, prostredie, veľkosť proteínových zásob a ich distribúcia, ako aj niektoré chorobné stavy.

Pokles sérového albumínu je klinickým sprievodným symptómom mnohých chorôb, pričom chorobný syndróm býva spojený s poklesom produkcie albumínu. Podľa poznatkov z humánnej medicíny medzi chorobné syndrómy, u ktorých sa zisťuje pravidelný pokles produkcie albumínu, patrí: malnutricia (hladovanie), deficit aminokyselín, (bielkovinovo kalorické imbalance), malabsorpcia, cirhóza, stress (operačný, rany, popáleniny, infekcia), nádory, hypergamaglobulinémia, hypertyreoidizmus, prostredie (aklimatizácia na zmenu tepla), analbuminémia, alkoholizmus, chlorid uhličitý a iné pečeňové toxíny.

Osobitné miesto v škále ochorení pečene zaberá jej toxické poškodenie najmä alkoholom u ľudí a organofosfátmi u zvierat, ako aj ostatné hepatodistrofické stavy najmä u dojníc. Vo všetkých prípadoch dochádza postupne k hypoalbuminémii s častým výskytom prestupu plazmy cez abnormálnu sliznicu GIT a zvyšuje sa signifikantne žalúdočný obsah albumínu s výnimkou tých prípadov, kedy vzniká gastritída (André, C., Descos, F., Descos, L., Lambert, R., Bory, R.: Gastric Clearance of Serum albumin in Patients with Alcoholic Liver Cirrhosis, Digestion 14, 1976). Pri gastrointestinálnych chorobách môže dochádzať ku strate plazmatických bielkovín cestou poškodenej slizničnej membrány alebo nadmernou lymfatickou stratou.

Hoci je mnoho známe o syntéze a distribúcii albumínu, jeho degradácia je len veľmi málo objasnená. Izotopické štúdiá ukázali, že miesto degradácie albumínu je v tesnej blízkosti plazmy a extravaskulárneho priestoru, ale v skutočnosti nie je častou ani jedného. Žiaden orgán nebolo možné doteraz označiť aspoň čiastočne zodpovedný za degradáciu albumínu. Malá časť degradovaného množstva albumínu za deň sa stráca cez črevo, vylučuje sa a degraduje obličkami a metabolizuje pečeňou.

Aj niektoré iné telové tekutiny napr. žľazy, sú zapojené do procesu vylučovania albumínu do organizmu. V prípadoch renálnych porúch sa vylučuje zvýšené množstvo bielkovín močom, alebo sa degraduje v tubulárnej mase a podobne je tomu aj v prípadoch zvýšených strát cestou GIT. Obyčajne pri chorobách kože, masívnych popáleninách alebo pri poranení sa môže sérový albumín strácať alebo degradovať v oblastiach exsudátu.

Ľudský albumín sa začal používať ako náhradka plazmy od roku 1942, keď skupina vedená Evin. J. Cohnom vypracovala metódy etanolovej frakcionácie plazmy. Metódu etanolovej frakcionácie modifikovali viacerí pracovníci v zahraničí aj u nás a použili aj prvé infúzie albumínu. V ďalšom vývoji izolácie albumínu sa používali neutrálne soli, kovy, rôzne imunoprecipitačné metódy.

Technika horúceho etanolu (Schneider, W., Wolter, D., McCarty, L. J.: Technical Improvements in Heat-Ethanol Isolation of serum albumin. Blut 33, 1976), je menej náročná a ekonomickejšia ako Cohnova etanolová frakcionácia. Novšie sa používajú k izolácii albumínu aj chromatografické metódy pomocou Sephadexu, DEAE-celulózy, sepharózy a rôznych látok viažucích na seba molekulu albumínu a dosahujúcich v niektorých prípadoch až 98 % výťažnosť (Travis, J., Bowen, J., Tewksbury, D., Johnson, D., Pannel, R.; Isolation of albumin from whole human plasma and fractionation of albumin depleted plasma. Biochem. J., 157, 1976).

Niektoré vlastnosti albumínu vo vzťahu k jeho použitiu vo veterinárnej medicíne:

Prijaté bielkoviny z krmiva sa v hornej časti tráviaceho traktu štiepia fermentatívnym systémom až na aminokyseliny. Tie sa resorbujú v tenkom čreve a už v jeho stene dochádza k proteosyntéze. Ukázalo sa, že táto proteosyntéza sa uskutočňuje len pre tvorbu lokálnych fermentov, ktoré spolupôsobia pri resorpcii aminokyselín. Vlastná proteosyntéza prebieha v pečeni. Vytvára sa určitý druh zásobnej bielkoviny (protein pool), ktorú pečeň odovzdáva do obehu a do tkanív podľa potreby.

Ukázalo sa, že medzi touto rezervnou bielkovinou a albumínom krvnej plazmy nie je vlastne rozdiel. Albumín plazmy sa môže stať bielkovinou tkanív a naopak, bielkoviny tkanív sa môžu podieľať na udržiavaní bielkovín krvnej plazmy, menovite albumínu. Potvrdili to aj pokusy so značkovacím albumínom (Dorling, P. R., Quinn, P. S., Judah, J. D.: Evidence for the Coupling of Biosynthesis and secretion of Serum Albumin in the Rat. Biochem. J., 152, 1975), v ktorých sa ukázalo, že albumín za určitých podmienok je jeden z najúčinnějších prostriedkov pri prekonávaní katabolických procesov, zvlášť pri ochoreniach GIT.

Podávanie hydrolyzátov bielkovín má za následok signifikantné zvýšenie odpadu aminokyselín v moči a zvýšenie zvyškového dusíka. Tieto faktory svedčia o metabolizácii transfundovaného prostriedku v organizme. Pre organizmus nie je tento proces bezvýznamný, pretože okrem iného dochádza ku spotrebe energie a vyčerpávajú sa fermentatívne procesy. Tento proces na jednej strane degradačný a na druhej resyntetický je pre vyčerpaný organizmus veľkou záťažou a teda z metabolického hľadiska neadekvátnou cestou náhrady.

Na druhej strane po transfúzii albumínu dochádza k vbudovaniu celej molekuly do tých štruktúr, kde v hypoproteínemii vznikol najväčší deficit a kde tento vyvoláva najväčšie poruchy funkcie. Úspech terapeutického zásahu je aj v rýchlom nahradení energetických strát bielkovinou.

Albumín sa vyznačuje absolútnou utilizáciou, neantigennosťou a neškodnosťou bielkoviny, ktorá je organizmu vlastná. Po intravenóznom podaní preniká do buniek za tri až desať minút. Pri infúzii malého množstva opúšťa 50 % z podanej dávky albumínu krvné riečište už v prvý deň. Potvrdili to pokusy so značkovacím albumínom. Albumín z krvného riečišťa smeruje do tkanív, kde je potreba bielkovín najnaliehavejšia. Má teda hodnotu výživného a reproteinizačného prostriedku.

Nepatrný vplyv albumínu na celkové bielkoviny a metabolizmus dusíka (zvýšenie) je možné vysvetliť tak, že podaný albumín zväčšuje svojim koloidne osmotickým tlakom objem cirkulujúcej krvi, preto nie je možné dokázať jeho zvýšenú koncentráciu.

Jeden gram albumínu viaže 15 až 17 ml (až 23 ml) tekutiny. Táto tekutina prúdi hlavne z tkanív do krvného riečišťa a zrieduje bielkoviny. Hladina albumínu sa nezvyšuje ani neskôr, čo svedčí o tom, že albumín sa použil ako celá bielkovina. Tento náhľad potvrdzujú aj hodnoty hladín aminokyselín v krvi a v moči.

Zvýšenie ionov Na, K a Ca v krvi a v moči po albumíne nastáva zvýšeným odsávaním intercelulárnej tekutiny a zvýšenou filtráciou v kanálikoch obličiek.

Zväčšenie objemu cirkulujúcej krvi môže mať rôzny stupeň. Záleží hlavne od stavu krvných rezervoárov a množstva mobilizovateľnej intracelulárnej tekutiny. Menšie dávky albumínu v prípade rozsiahlych edémov vyvolávajú značný vzostup objemu cirkulujúcej krvi. Touto skutočnosťou je motivovaná jedna z predpokladaných indikácií prípravku v prípadoch pred alebo popôrodných edémov u kráv.

Prípravok na báze albumínu, elektrolytov a glukózy je pripravovaný ako izotonický roztok s krvnou tekutinou (328 mOsm/l). V tomto zložení dáva predpoklad k jeho použitiu najmä pri hnačkových ochoreniach teliat alebo prasiat s rôznym stupňom dehydratácie,

u hypoproteinémii a disproteinémii, u imunodeficiencií, pri stavoch so zvýšenou katabolizáciou albumínu (exsudatívne stavy v čreve, v telových výstelkách, v obličkách, ťažké septikémie), u hepatóz, intoxikácii rôznej etiológie, v rekonvalescencii a nízkej životaschopnosti teliat alebo prasiat a pri edémoch mliečnej žľazy.

Prípravok podľa vynálezu obsahuje v 1 litri 0,5 až 0,8 mmol hovädzieho albumínu, 68,4 až 102,6 mmol chloridu sodného, 4,0 až 6,0 mmol chloridu draselného, 111,0 až 166,5 mmol glukózy a 3,2 až 4,4 mmol kaprylátu sodného. V tomto zložení je prípravok určený pre použitie u hovädzieho dobytku, najmä u teliat. Prípravok s určením pre ošípané - prasatá obsahuje namiesto hovädzieho albumínu albumín prasačí.

Prípravok sa aplikuje iatram v injekčnej úprave intraperitoneálne, intramuskulárne, subkutánne, vzácné intravenózne v dávke 1 až 2 ml na kg živej hmotnosti. Vhodná je kombinovaná aplikácia intraperitoneálna a vnútro svalová alebo podkožná. Opakovanie za 24 resp. 48 hodín je zriedka potrebné, len u najťažších stavov. Tolerancia je dobrá. Používa sa preventívne alebo liečebne k indikáciám prv uvedeným.

Príklady provedenia:

P r í k l a d 1

V roztoku surovej frakcie hovädzieho alebo prasačieho albumínu, získanej po frakcionácii hovädzieho alebo prasačieho krvného séra vysolením síranom amonným sa nežiadúce bielkoviny denaturujú pri teplote 58 °C až 60 °C a úprave aktuálnej acidít roztoku na pH 5,4 až 5,6 (2,7 mol/l roztokom kyseliny chlór vodíkovej) po dobu jednej hodiny. Denaturácia sa prevádza v roztoku s obsahom 25 až 35 g/l bielkovín, 0,98 až 1,36 mol/l síranu amonného a 0,01 mol/l kaprylátu sodného. Denaturácia nežiadúcich bielkovín teplom (v prostredí kaprylátu sodného) sa prevádza v roztoku surovej frakcie albumínu bez úprav hodnôt bielkovín a síranu amonného, teda bez odstránenia síranu amonného z roztoku.

Po ochladení roztoku na 40 °C sa denaturované, vyzrážané bielkoviny oddelia z roztoku centrifugáciou alebo filtráciou.

Purifikovaný zriedený roztok albumínu sa zahustí na koncentráciu bielkovín 70 až 90 g/l v roztoku ultrafiltráciou, odparovaním za odstreďovanie (Centri-therm) pri teplote do 50 °C, alebo vysolením bielkovín síranom amonným 3,1 až 3,8 mol/l a znovu rozpustením pasty v destilovanej vode na koncentráciu 60 až 80 g/l bielkovín v roztoku. Roztok albumínu sa zbaví dialýzou, gelovou filtráciou alebo iontomeničmi síranu amonného do koncentrácie pod 15 mmol/l a kaprylátu sodného pod 4,5 mmol/l.

V roztoku albumínu po vyčistení filtráciou sa upraví koncentrácia albumínu apyrogennou vodou na 0,5 až 0,8 mmol/l, obsah chloridu sodného sa doplní na 68,4 až 102,6 mmol/l roztoku, obsah kaprylátu sodného na 3,2 až 4,4 mmol/l roztoku. V roztoku sa ďalej rozpustí chlorid draselný na 4,0 až 6,0 mmol/l roztoku a glukóza na 111,0 až 166,5 mmol/l roztoku. Použité suroviny musia zodpovedať požiadavkám ČSL 3 pre injekčné prípravky. Aktuálna acidita roztoku sa upraví na pH 7,2 až 7,4 roztokom hydroxidu sodného o koncentrácii 2,5 mol/l. Roztok prípravku sa filtráciou vyčistí a vysterilizuje. Sterilný injekčný roztok prípravku sa rozplní do vyhovujúcich obalov.

Použitý technologický postup zaistuje výťažnosť 12 až 15 g bielkovín z jedného litra krvného séra hovädzieho alebo prasačieho s obsahom 85 až 95 % albumínu. Výhodou uvedeného postupu je, že purifikácia albumínu zo surovej frakcie albumínu sa prevedie denaturáciou teplom bez odstránenia síranu amonného z prostredia.

Z roztoku surovej frakcie hovädzieho alebo prasačieho albumínu, získanej po frakcionácii hovädzieho alebo prasačieho krvného séra vysolením síranom amonným, sa kvantitatívne vyzrážajú bielkoviny pevným síranom amonným po jeho doplnení na konečnú koncentráciu v roztoku 2,6 až 3,0 mol/l. Separovaná pasta surového albumínu odstredením alebo filtráciou sa rozpustí v destilovanej vode na roztok o koncentrácii 40 až 50 g na liter bielkovín v roztoku a 0,11 až 0,19 mol/l síranu amonného v roztoku.

Purifikácia roztoku surovej frakcie albumínu sa prevedie denaturáciou nežiadúcich bielkovín v tomto roztoku bez odstránenia síranu amonného pri teplote 58 až 60 °C a úprave aktuálnej acidity roztoku na pH 5,4 až 5,6 (2,7 mol/l roztokom kyseliny chlorovodíkovej) po dobu jednej hodiny. Denaturácia nežiadúcich bielkovín sa prevádza v roztoku s obsahom 0,02 až 0,03 mol/l kyseliny kaprylovej.

Po ochladení roztoku na 40 °C sa denaturované vyzrážané bielkoviny oddelia z roztoku centrifugáciou alebo filtráciou.

V ďalšom pracovnom postupe, zahustenie purifikovaného zriedeného roztoku albumínu, úprava aktuálnej acidity, vyčistenie, sterilizácia a rozplnenie sa postupuje podľa príkladu 1.

Účinnosť prípravku je dokumentovaná nasledovným hodnotením a tabuľkami. Prípravok bol použitý u teliat rôzneho veku a pri rôznych technológiách odchovu. Prevahu indikácií pre overovanie prípravku tvoril diarhoický syndróm, celkové hypotrófie, prípady rekonvalescencií po hnačkovom ochorení alebo po bronchopneumóniach. Klinický efekt po ošetrovaní prípravkom závisel na stupni ochorenia, včasnosti zákroku, odolnosti organizmu a na chovateľskej úrovni.

Výsledky prieskumu z overenia prípravku boli hodnotené jednak z hľadiska klinického efektu pri jednotlivých skúšaných indikáciách, ale aj z hľadiska laboratorného nálezu pri jednotlivých metabolických profiloch. Opakovanú aplikáciu prípravku resp. iné ošetrovanie si vyžadovali predovšetkým ťažké prípady hnačkového ochorenia s výraznou dehydratáciou a zníženým apetítom. Klinické zlepšenie zdravotného stavu nastalo na tretí - piaty deň po ošetrovaní. Celkové straty úhynom a nutnou porážkou (od 3,9 až 5,5 %) sú nižšie ako priemerné straty u neošetrených, resp. inak ošetrovaných teliat v príslušnom období. Zlepšenie chuti na druhý resp. tretí deň u ošetrovaných teliat treba už z hľadiska celkovej obranyschopnosti organizmu hodnotiť pozitívne, pretože okrem iného umožňuje urýchliť proces rehydratácie perorálnou cestou.

Laboratorné vyšetrenia a hodnotenia metabolických profilov v širokom terennom sledovaní poukázali na úpravu elektrolytového a vodného metabolizmu u teliat, ako aj optimalizáciu imunodeficientných stavov, niektorých enzymatických ukazovateľov, hepatálneho profilu a úpravu disproteinémie.

Prípravok sa ukázal ako vysoko účinný terapeutický prostriedok pri diarhoickom syndróme u teliat, pričom pri ľahkom a strednom stupni dehydratácie vykazoval terapeutickú efektívnosť samotný, pri ťažšom stupni mal podporný efekt v kombinácii s rehydratačnými prostriedkami alebo bežne používanou kauzálnou liečbou. Ako veľmi vhodný prostriedok sa ukázal v prípadoch rekonvalescencie a nízkej životaschopnosti teliat, ako aj pri preventívnom ošetrovaní po narodení slabých teliat a pri predchádzaní stressových situácií v období presunu do telatníka.

U dojnic mal veľmi dobrý terapeutický efekt v prípadoch výskytu popôrodných edémov mliečnej žľazy, kde v porovnaní s doteraz používanými prostriedkami podstatne skrátil priebeh ochorenia.

T a b u l k a 1

Liečebné použitie plazmatického roztoku u teliat s diarhoickým syndrómom v oblasti jedného okresu

Objekt	n	D I A R R H O E			Opak. aplik. plazmatického roztoku	+ iná liečba	vyliečených	P o č e t		Celkové straty v %
		ľahká	stredná	ťažká				NP	Úhyn	
Pôrodnica	236	86	108	42	24	48	223	9	4	5,5
Profylaktorium	132	14	96	22	12	14	125	6	1	5,3
CT	155	49	76	30	8	11	149	4	2	3,9
Súhrn	523	149	280	94	44	73	497	19	7	4,97

T a b u l k a 2

Minerálny profil teliat pred (I.) a po (II.) ošetrení plazmatickým roztokom

	Ca		P		Mg		Fe		Cu	
	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.
	mmol/l						μmol/l			
n	141		141		141		139		139	
$\bar{x}$	2,42	2,49	2,32	2,32	0,61	0,63	10,21	10,39	5,51	6,77
min.	1,92	1,95	1,61	1,65	0,39	0,46	3,58	3,58	2,36	3,15
max.	2,96	2,99	3,1	3,33	0,83	0,87	18,27	21,13	8,66	10,23
+z	8	4	2	0	0	1	0	0	0	0
x_a	83	93	19	37	10	11	0	0	0	0
-y	50	44	120	104	131	130	139	139	139	139
% {	+z	5,6	2,8	1,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	x_a	58,9	66,0	13,5	26,2	7,1	7,8	0,0	0,0	0,0
	-y	35,5	31,2	85,1	73,8	92,9	92,9	100,0	100,0	100,0

T a b u l k a 3

Hepatický profil u teliat pred a po ošetrení plazmatickým roztokom

Celkový bilirubín:	GGT	GOT	GPT	AP
$\bar{x}$ 15,05/8,55	163/85	63/52	16/44	16/13
μmol/l	U/l	U/l	U/l	U/l
zvýšenie % fyziologických prípadov				
72/91,2	10,7/24,0	84/96,5	91,7/94,9	48,4/57
(+19,2 %)	(+13,3 %)	(+11 %)		

T a b u l' k a 4

Bielkovinový profil krvného séra teliat pred a po ošetrovaní plazmatickým roztokom

Celkové bielkoviny:	Fibrinogén:	Albumín
g/l	g/l	umol/l
$\bar{x}$ 51,3/54,8	1,66/1,02	364,93/349,3
zvýšenie % fyziologických prípadov		
89/93	11/11	57/70
(+4,7 %)	(+5 %)	(+13 %)

T a b u l' k a 5

Elektrolytový profil u teliat (v mmol/l) pred (I.) a po (II.) ošetrovaní plazmatickým roztokom

	K		Na		Chloridy	
	I.	II.	I.	II.	I.	II.
n	82	54	139	135	96	82
$\bar{x}$	6,14	5,57	148,38	145,29	92,3	90,07
min.	4,35	4,50	108,75	122,24	70,07	76,98
max.	7,52	7,34	161,17	157,25	98,68	95,12

T a b u l' k a 6

Sumárny prehľad o použití plazmatického roztoku u hovädzieho dobytká

Kategória	Počet	Vek	D i a g n ó z a	Počet	
				vyliečených	Úhyn + NP
telatá	391	1 až 60 dní	Diarhoidický syndróm	372 (95,14 %)	19
telatá	523	1 až 60 dní	Diarhoidický syndróm	497 (95,03 %)	26
telatá	10	8 až 13 týždne	Respiračný syndróm	9 (90 %)	1
telatá	57	1 až 7 dní	Rekonvalescencia a nízka životaschop.	53 (92,9 %)	4
dojnice	5	3 ročné	Edém mliečnej žlázy	5 (100 %)	-

T a b u l k a 7

Acidobázický profil u teliat pred (I.) a po (II.) ošetrení plazmatickým roztokom

	pH log/molc		p CO ₂ k Pa		BE mmol/l		BB mmol/l		SB mmol/l		Akt.B mmol/l		tCO ₂ mmol/l	
	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.
$\bar{x}$	7,37	7,38	5,6	5,3	-1,0	-1,3	47,3	46,4	23,6	23,3	24,2	23,4	25,5	24,6
min.	7,30	7,30	4,6	4,1	-4,7	-5,5	44,0	40,2	20,6	19,8	21,4	18,0	22,5	18,9
max.	7,40	7,42	6,0	6	+4,0	+5,0	51,0	55,0	27,8	28,8	26,5	31,0	31,0	32,5

T a b u l k a 8

Diferenciálny krvný obraz leukocytov u teliat pred (I.) a po (II.) ošetrení plazmatickým roztokom

	Eo		Ba		Seg		Ty		Ly		Mo	
	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.
n	140	140	140	140	140	140	140	140	140	140	140	140
$\bar{x}$	3	2,3	0,6	0,4	42	39	2,6	2,4	47	55	0,4	0,3
min.	1,8	1,6	0,0	0,0	36	30	1,6	1,4	38	38	0,3	0,3
max.	7,8	7,6	1,2	1,0	52	50	3,8	4,2	60	68	1,0	0,8

T a b u l k a 9

Základný hematologický profil u teliat pred (I.) a po (II.) ošetrení plazmatickým roztokom

	Hb		Er		Le		HKT	
	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.
	g/dl		T/1		G/1		1/1	
n	140	140	140	140	140	140	140	140
$\bar{x}$	9,3	9,8	5,588	5,748	7,652	7,807	0,40	0,385
min.	6,65	6,81	3,748	4,054	4,254	4,868	0,30	0,270
max.	12,30	12,78	7,884	7,948	10,182	9,817	0,52	0,480
% {	+z	0	0	0	0	0	34,3	25,7
	x _a	52,8	67,1	44,3	61,4	100	42,9	51,4
	-y	47,1	32,9	55,7	38,6	0,0	22,9	22,9

P R E D M E T V Y N Á L E Z U

1. Přípravok k stabilizácii vodnej a bielkovinovej homeostázy u teliat alebo prasiat vyznačujúci sa tým, že 1 liter injekčného roztoku obsahuje 0,5 až 0,8 mmol hovädzieho alebo prasačieho albumínu, 68,4 až 102,6 mmol chloridu sodného, 4,0 až 6,0 mmol chloridu draselného, 111,0 až 166,5 mmol glukózy a 3,2 až 4,4 mmol kaprylátu sodného.

2. Přípravok podľa bodu 1, vyznačujúci sa tým, že hovädzí alebo prasačí albumín je deklarovaný elektroforetickou čistotou 0,85 až 0,95 jednotky hovädzieho alebo prasačieho albumínu.

3. Spôsob výroby prípravku podľa bodu 1, vyznačujúci sa tým, že hovädzí alebo prasačí albumín sa získa zo surovej frakcie albumínu po frakcionácii hovädzieho alebo prasačieho krvného séra vysolením síranom amonným, oddelením nežiadúcich bielkovín po ich denaturácii pri teplote 58 až 60 °C a úprave acidity roztoku na pH 5,4 až 5,6 v prostredí kaprylátu sodného a síranu amonného, následne sa odstráni síran amonný, s výhodou dialýzou, roztok albumínu sa po vyčírení zahustí na koncentráciu bielkovín 0,5 až 0,8 mmol/l a upraví sa obsah chloridu sodného na 68,4 až 102,6 mmol/l, obsah kaprylátu sodného na 3,2 až 4,4 mmol/l, v roztoku sa rozpustí chlorid draselný v množstve 4,0 až 6,0 mmol/l a glukóza v množstve 111,0 až 116,5 mmol/l a získaný roztok sa upraví na injekčný roztok.

4. Spôsob výroby prípravku podľa bodu 3, vyznačujúci sa tým, že denaturácia nežiadúcich bielkovín sa prevedie v roztoku s obsahom 25 až 35 g/l bielkovín, 0,01 mol/l kaprylátu sodného a 0,98 až 1,36 mol/l síranu amonného.

5. Spôsob výroby podľa bodu 3, vyznačujúci sa tým, že denaturácia nežiadúcich bielkovín sa prevedie v roztoku s obsahom 40 až 50 g/l bielkovín, 0,02 až 0,03 mol/l kyseliny kaprylovej a 0,11 až 0,19 mol/l síranu amonného.