

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202000005** (13) **A1**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

**(43)** Дата публикации заявки  
**2021.03.31**

**(22)** Дата подачи заявки  
**2019.09.27**

**(51)** Int. Cl. *A61K 39/395* (2006.01)  
*A61K 39/108* (2006.01)  
*A61K 39/112* (2006.01)  
*A61K 31/53* (2006.01)  
*A61K 38/21* (2006.01)  
*A61P 31/04* (2006.01)  
*A61P 31/12* (2006.01)

---

**(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ГИПЕРИММУННОЙ СЫВОРОТКИ ПРОТИВ  
ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

---

**(96)** 2019/ЕА/0083 (ВУ) 2019.09.27

**(71)** Заявитель:  
**ПРОКУЛЕВИЧ ВЛАДИМИР  
АНТОНОВИЧ (ВУ)**

**(72)** Изобретатель:  
**Прокулевич Владимир Антонович,  
Зайцева Алеся Владимировна,  
Зайцева Виктория Владимировна,  
Потапович Максим Иосифович (ВУ)**

**(74)** Представитель:  
**Беляева Е.Н., Беляев С.Б., Сапега  
Л.Л. (ВУ)**

**(57)** Изобретение относится к ветеринарной биотехнологии, в частности к производству моно- и поливалентных сывороток для комплексного лечения и профилактики вирусных, бактериальных и смешанных вирусно-бактериальных заболеваний у молодняка крупного рогатого скота. Предложен способ получения гипериммунной сыворотки против инфекционных заболеваний вирусной, бактериальной и вирусно-бактериальной этиологии крупного рогатого скота, включающий иммунизацию волов-продуцентов и/или быков на откорме путём по меньшей мере трёхкратной инъекции перед забором крови в заданном количестве доз и/или антигена в заданной концентрации с последующим получением из забранной крови сыворотки крови. При этом одновременно со второй инъекцией, а также каждый раз за 48-24 ч до забора крови вводят препарат "Биферон-Б" в объёме 10,0-15,0 см<sup>3</sup>, а на третьи сутки после каждого забора крови вводят вакцину в количестве доз, соответствующем третьей инъекции, и/или антиген в концентрации, соответствующей третьей инъекции, при этом полученную сыворотку с добавлением 0,1-0,4% теотропина прогревают при температуре 54-58°C в течение 30-60 мин, отстаивают в течение 24-72 ч и фильтруют последовательно через фильтрыэлементы с рейтингом 50, 5, 0,45 и 0,22 мкм или обрабатывают гамма-излучением.

**A1**

**202000005**

**202000005**

**A1**

**Способ получения гипериммунной сыворотки против инфекционных заболеваний  
крупного рогатого скота**

Изобретение относится к ветеринарной биотехнологии, в частности, к производству моно- и поливалентных сывороток, используемых для комплексного лечения и профилактики вирусных, бактериальных и смешанных вирусно-бактериальных заболеваний у молодняка крупного рогатого скота. Изобретение может быть использовано для получения высокоактивной моно- или поливалентной иммунной сыворотки крови крупного рогатого скота (КРС) для пассивной иммунизации, преимущественно телят, против массовых и наиболее распространённых и опасных вирусных заболеваний – ротавирусная инфекция (РВ), коронавирусная инфекция (КВ), вирусная диарея (ВД), парагрипп-3 (ПГ-3), инфекционный ринотрахеит (ИРТ), нодулярный дерматит (НД) и др., а также сальмонеллёза, пастереллёза, стрептококкозов, эшерихиоза, колибактериоза и других вирусных, бактериальных и смешанных вирусно-бактериальных инфекций.

Вирусные, бактериальные и смешанные вирусно-бактериальные заболевания КРС широко распространены в мире и причиняют большой экономический ущерб многим странам, особенно странам с высокопродуктивным скотоводством. Упомянутые выше заболевания причиняют сегодня наибольший экономический ущерб, который обусловлен снижением продуктивности, нарушением репродукции, гибелью животных и необходимостью применения карантинных мер. Гибель телят от упомянутых заболеваний в неблагополучных хозяйствах может достигать 20-30%. Главной особенностью этих заболеваний, затрудняющей специфическую профилактику и проведение мер борьбы, является одновременное инфицирование животных несколькими возбудителями вирусных или/и бактериальных инфекций. Инфекционный процесс усугубляется ещё и тем, что

возбудители вирусов действуют на организм новорожденного телёнка не только в комбинации друг с другом, но и с бактериями, вызывая смешанную инфекцию, приводящую к более тяжёлому заболеванию (часто с летальным исходом).

Специалистам известно, что наиболее распространённым и эффективным способом защиты новорожденных телят от возбудителей, участвующих в патогенезе смешанной инфекции, является повышение специфической резистентности их организма путём спаивания молозива от вакцинированных коров-матерей. Однако некоторые телята после рождения не получают в необходимом количестве эту естественную защиту, и, таким образом, необходимым становится пероральное введение телятам антител, которые предохраняют их от заболевания, обеспечивают полную защиту от развития клинически выраженного заболевания и прекращения экскреции вирусов и бактерий.

С учётом этого, с целью специфической пассивной профилактики и лечения в различных странах практикуется перорально введение гипериммунных сывороток, полученных от гипериммунизированных животных-продуцентов.

Для иммунизации против вирусных и бактериальных заболеваний КРС известны и разрабатываются живые и инактивированные моно- и комбинированные вакцины и схемы их применения, которые могут быть использованы для получения сывороток против соответствующих инфекционных заболеваний. При этом, в зависимости от актуальных потребностей сельскохозяйственных производств для получения сыворотки против определённого набора заболеваний для иммунизации животных-продуцентов применяют соответствующий набор препаратов - вакцин и/или антигенов.

Так, известны, например, разработанная в 1978 году сотрудниками Московской ветеринарной академии и Казанского ветеринарного института иммунная сыворотка для защиты телят от аденовирусной инфекции, ПГ-3, респираторно-синцитиальной инфекции (РС) и ВД, которая не получила практического применения; иммунная поливалентная сыворотка крови против пастереллёза, сальмонеллёза, ПГ-3 и ИРТ КРС производства

Армавирской биофабрики; поливалентная сыворотка «СПВИ-КРС», которую получают путём иммунизации крупного рогатого скота антигенами вирусов инфекционного ринотрахеита (ИРТ), ВД, РВ, КВ, ПГ-3 и РС [1].

Однако, чаще всего такие сыворотки содержат специфические антитела, имеющие недостаточно высокую аффинность, и проявляют невысокую превентивную активность. При этом указанные характеристики во многом зависят не только от используемых вакцин (заболеваний, входящих в комплекс), но и от способов получения сыворотки, которые обычно требуют многократного введения животному-продуценту большого количества доз каждой из вакцин, что снижает эффективность этих способов.

Известные способы получения гипериммунных сывороток, в основном, предусматривают приготовление антигенов, иммунизацию животных-продуцентов и приготовление сыворотки [2-7]. Эти, а также другие известные из уровня техники способы обеспечивают получение различных поливалентных сывороток, которые, как уже было упомянуто выше, не обеспечивают требуемую аффинность содержащихся в них антител и требуемую высокую превентивную активность.

Наиболее близким в технологическом отношении к предлагаемому способу является принятый за прототип способ получения поливалентных сывороток путём гипериммунизации крупного рогатого скота вакцинами против ротавирусной и коронавирусной инфекции, вирусной диареи, парагриппа-3 и инфекционного ринотрахеита [8]. В соответствии с данным способом животному-продуценту, в качестве которого используют вола или быка на откорме, трижды вводят внутрибрюшинно инактивированную вакцину против рота- и коронавирусной инфекции крупного рогатого скота и подкожно с правой и левой стороны туловища – живые сухие вакцины против вирусной диареи, парагриппа-3 и инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота. Первый раз животным вводят по 2 дозы каждой вакцины, во второй раз через 7 суток – по 4 дозы каждой вакцины и в третий раз через следующие 7 суток – по 5 доз каждой

вакцины. При этом перед инъекциями каждую сухую вакцину ресуспензируют в 0,4-1,0 %-ном растворе липополисахаридпептидной фракции О-антигена бактерий рода *Salmonella* или *Escherichia*, а инаktivированную вакцину смешивают в соотношении 9:1 с 2,0-6,0 %-ным раствором липополисахаридпептидной фракции О-антигена бактерий рода *Salmonella* или *Escherichia*.

Однако данный способ не преодолевает в полной мере упомянутые выше недостатки, присущие известным из уровня техники способам получения поливалентных сывороток. Также не упоминается возможность применения данного способа для получения гипериммунных сывороток против иных комплексов заболеваний, в том числе бактериальных и смешанных вирусно-бактериальных.

Задачей изобретения является разработка способа получения более эффективных гипериммунных сывороток против различных комбинаций инфекционных заболеваний крупного рогатого скота, как вирусной, так и бактериальной и смешанной вирусно-бактериальной этиологии. Техническими результатами, на достижение которых направлено изобретение, являются возможность получения поливалентных сывороток против различных комбинаций инфекционных заболеваний с повышением аффинности и превентивной защиты получаемой заявляемым способом сыворотки, а также её эффективности.

Поставленная задача решается, и технические результаты достигаются заявляемым способом получения гипериммунной сыворотки против инфекционных заболеваний крупного рогатого скота, выбранных из группы, включающей заболевания вирусной, бактериальной и вирусно-бактериальной этиологии, включающий иммунизацию волов-продуцентов и/или быков на откорме путём, по меньшей мере, трёхкратной инъекции перед забором крови через заданные интервалы времени соответствующего набора препаратов, выбранных из группы, включающей вакцину в заданном количестве доз и антиген в заданной концентрации, с последующим получением из забранной крови

сыворотки крови. Поставленная задача решается, и технические результаты достигаются за счёт того, что одновременно со второй инъекцией, а также каждый раз за 48-24 часа до забора крови волу-продуценту и/или быку на откорме вводят препарат «Биферон-Б» в объёме 10,0-15,0 см<sup>3</sup>, а на третьи сутки после каждого забора крови вводят каждый препарат, выбранный из группы, включающей вакцину в количестве доз, соответствующем третьей инъекции, и антиген в концентрации, соответствующей третьей инъекции, при этом полученную сыворотку с добавлением 0,1-0,4 % теотропина прогревают при температуре 54-58°С в течение 30-60 мин, отстаивают в течение 24-72 часов и фильтруют последовательно через фильтрыэлементы с рейтингом 50 мкм, 5 мкм, 0,45 мкм и 0,22 мкм или обрабатывают гамма излучением.

В заявляемом способе волам-продуцентам дополнительно вводят препарат «Биферон-Б», действующими веществами в котором является равнообъёмная смесь бычьих рекомбинантных альфа-2 и гамма- интерферонов с суммарной противовирусной активностью не менее  $1 \times 10^4$  МЕ, находящихся в стабилизирующей лекарственной форме, обеспечивающей пролонгированность действия интерферонов и мощный противовирусный эффект. Исходя из упомянутых выше свойств компонентов препарата, биопрепарат «Биферон-Б» является полифункциональным, обладает противовирусным, противобактериальным, антистрессовым и иммуномодулирующим действием и способен выступать в качестве мощного неспецифического противоинфекционного средства, оказывая терапевтический эффект при введении в организм животного не путём прямого воздействия на факторы патогенеза (вирусы и бактерии), а опосредовано активируя защитные системы макроорганизма.

Исследования и испытания показали, что использование препарата «Биферон-Б» для получения гипериммунной поливалентной сыворотки в совокупности с указанными выше режимом иммунизации волов-продуцентов и особенностями обработки полученной из крови волов-продуцентов сыворотки повышают аффинность полученной сыворотки и

снижают процент гибели телят даже при существенном снижении разовой и общей дозы сыворотки, вводимой телёнку. Исследования и испытания также показали, что заявленным способом могут быть получены как моно-, так и поливалентные сыворотки против различных комбинаций инфекционных заболеваний вирусной, бактериальной и вирусно-бактериальной этиологии.

В частности, в предпочтительных формах реализации заявляемого способа инфекционное заболевание может быть выбрано из группы, включающей, по меньшей мере, ротавирусную инфекцию, коронавирусную инфекцию, вирусную диарею, парагрипп-3, инфекционный ринотрахеит, пастереллёз, сальмонеллёз, стрептококкозы, эшерихиоз и колибактериоз молодняка крупного рогатого скота.

В различных предпочтительных формах реализации заявляемого способа в качестве вакцины используют вакцину, выбранную из группы, включающей живую сухую вакцину, которую предпочтительно вводят подкожно с правой и левой стороны туловища, и инактивированную вакцину, которую предпочтительно вводят внутрибрюшинно, а в качестве антигена используют инактивированный антиген, который предпочтительно вводят внутрибрюшинно.

Препарат «Биферон-Б» может быть введён подкожно, внутримышечно или внутрибрюшинно.

Дополнительное введение препарата «Биферон-Б» позволяет, кроме прочего, без вреда для животного-производителя сократить интервалы между плановыми инъекциями. Так, в предпочтительных формах реализации заявляемого способа первую, вторую и третью инъекцию проводят через интервалы времени, составляющие 6 суток.

Дополнительное введение препарата «Биферон-Б» позволяет также уменьшить количество одновременно вводимых волу-производителю доз каждой вакцины на начальных этапах иммунизации и увеличить на более поздних без вреда для животного-производителя. Так, в предпочтительных формах реализации заявляемого способа вводят препараты в

количестве, выбранном из группы, включающей по 2 дозы каждой вакцины и 25 млрд. микробных клеток каждого антигена, при второй инъекции – в количестве, выбранном из группы, включающей по 3 дозы каждой вакцины и по 40 млрд. микробных клеток каждого антигена, и при третьей инъекции – в количестве, выбранном из группы, включающей по 6 доз каждой вакцины и по 60 млрд. микробных клеток каждого антигена.

Исходя из потребностей (распространённости различных заболеваний на конкретных территориях), в различных формах реализации заявляемого способа получают гипериммунную сыворотку:

- против ротавирусной инфекции, коронавирусной инфекции, вирусной диареи, парагриппа-3 и инфекционного ринотрахеита, при этом волу-продуценту или быку на откорме в качестве препаратов вводят инаktivированные вакцины против ротавирусной инфекции и против коронавирусной инфекции, живые сухие вакцины против вирусной диареи, парагриппа-3 и инфекционного ринотрахеита, а также препарат «Биферон-Б»;

- против вирусной диареи, ротавирусной инфекции, коронавирусной инфекции и эшерихиоза для лечения бактериально-вирусных заболеваний, характеризующихся желудочно-кишечным синдромом, при этом волу-продуценту или быку на откорме в качестве препаратов вводят инаktivированные вакцины против ротавирусной инфекции и против коронавирусной инфекции, живую сухую вакцину против вирусной диареи и инаktivированный антиген эшерихий, а также препарат «Биферон-Б»;

- против сальмонеллёза, при этом волу-продуценту или быку на откорме в качестве препарата вводят инаktivированные микробные клетки сальмонелл и сальмонеллёзный антиген или вакцину, а также препарат «Биферон-Б»;

- против эшерихиоза, при этом волу-продуценту или быку на откорме в качестве препарата вводят инаktivированные микробные клетки эшерихий и эшерихиозный антиген или вакцину, а также препарат «Биферон-Б».



Достоинства и преимущества заявляемого способа получения гипериммунной сыворотки против инфекционных заболеваний крупного рогатого скота будут рассмотрены более подробно на некоторых возможных, но неограничивающих примерах его реализации, в том числе, в сравнении со способом-прототипом.

### **Примеры.**

#### **Пример 1 (прототип)**

Волов-продуцентов иммунизировали инаktivированной вакциной против ротавирусной и коронавирусной инфекции крупного рогатого скота, смешанной с 2,0 %ным раствором липополисахаридпептидной фракции О-антигена бактерий рода *Salmonella* (ЛПС-Ф) в соотношении 9 : 1 и живыми сухими вакцинами против вирусной диареи крупного рогатого скота, парагриппа-3 и инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота, которые перед инъекцией ресуспендировали в 0,4 %-ном растворе ЛПС-Ф О-антигена бактерий рода *Salmonella*.

Животных гипериммунизировали трёхкратно с интервалом 7 суток по следующей схеме:

1-я инъекция: внутривбрюшинно 2 дозы вакцины против ротавирусной и коронавирусной инфекции крупного рогатого скота; подкожно 2 дозы вакцины против вирусной диареи крупного рогатого скота; подкожно с противоположной стороны туловища 2 дозы вакцины против парагриппа-3 и инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота.

2-я инъекция: внутривбрюшинно 4 дозы вакцины против ротавирусной и коронавирусной инфекции крупного рогатого скота; подкожно 4 дозы вакцины против вирусной диареи крупного рогатого скота; подкожно с противоположной стороны туловища 4 дозы вакцины против парагриппа-3 и инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота.

3-я инъекция: внутривбрюшинно 5 доз вакцины против ротавирусной и коронавирусной инфекции крупного рогатого скота; подкожно 5 доз вакцины против вирусной диареи крупного рогатого скота; подкожно с противоположной стороны туловища 5 доз вакцины против парагриппа-3 и инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота.

В последующем, в процессе эксплуатации животных через 15 дней после третьей инъекции вакцинами производили забор крови. Далее кровь сепарировали для отделения эритроцитов, полученную плазму дефибринировали, а сыворотку консервировали 0,5 % фенолом и отстаивали в течение 60 суток. Отстоявшуюся сыворотку декантировали от осадка белков, фильтровали через фильтрыэлементы с рейтингом 5 мкм, 1 мкм и 0,22 мкм.

Полученная сыворотка при трёхкратном введении больным телятам в дозе 50,0 см<sup>3</sup> защищала от гибели 90 % больных животных.

В последующем на 3 сутки после забора крови производили введение волам-продуцентам вакцин в дозах, указанных для третьей инъекции. Последующий постоянный забор крови производили через каждые 15 суток.

**Пример 2. Получение сыворотки против ротавирусной и коронавирусной инфекции, вирусной диареи парагриппа-3 и инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота (по изобретению)**

Волов-продуцентов иммунизировали с интервалом 6 суток по следующей схеме:

1-я инъекция: внутривбрюшинно 2 дозы вакцины против ротавирусной и коронавирусной инфекции крупного рогатого скота; подкожно 2 дозы вакцины против вирусной диареи крупного рогатого скота; подкожно с противоположной стороны туловища 2 дозы вакцины против парагриппа-3 и инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота.

2-я инъекция: внутривбрюшинно 3 дозы вакцины против ротавирусной и коронавирусной инфекции крупного рогатого скота; подкожно 3 дозы вакцины против

вирусной диареи крупного рогатого скота; подкожно с противоположной стороны туловища 3 дозы вакцины против парагриппа-3 и инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота.

Подкожно или внутримышечно животным также вводили препарат «Биферон-Б» в объёме 10,0 см<sup>3</sup> на голову.

3-я инъекция: внутривбрюшинно 6 доз вакцины против ротавирусной и коронавирусной инфекции крупного рогатого скота; подкожно 6 доз вакцины против вирусной диареи крупного рогатого скота; подкожно с противоположной стороны туловища 6 доз вакцины против парагриппа-3 и инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота.

За 48-24 часа до забора крови подкожно или внутримышечно животным вводили препарат «Биферон-Б» в объёме 10,0 см<sup>3</sup> на голову.

В последующем на третьи сутки после забора крови производили введение вакцин в дозах, указанных для третьей инъекции (по 6 доз каждой вакцины). Постоянный забор крови производили через каждые 15 суток.

В последующие разы за 48-24 часа до забора крови подкожно или внутримышечно вводили препарат «Биферон-Б» в объёме 10,0 см<sup>3</sup> на голову, а на третьи сутки после каждого забора крови по 6 доз каждой вакцины. Кровь сепарировали для отделения эритроцитов, полученную плазму дефибринировали, а сыворотку консервировали 0,3 % теотропином. Далее сыворотку прогревали при температуре 54°С в течение 30 мин, отстаивали 24 часа и фильтровали последовательно через фильтрэлемнты с рейтингом 50 мкм, 5 мкм, 0,45 мкм и 0,22 мкм.

Постоянный забор крови производили через каждые 15 суток. Полученная сыворотка при трёхкратном введении больным телятам в дозе 30,0 см<sup>3</sup> на голову защищала от гибели 95 % животных.

**Пример 3. Получение сыворотки против ротавирусной и коронавирусной инфекции, вирусной диареи парагриппа-3 и инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота (по изобретению)**

То же, что в примере 2, но животным вводили подкожно или внутримышечно препарат «Биферон-Б» в объёме 15,0 см<sup>3</sup> на голову.

Полученную сыворотку консервировали 0,4 % теотропином, прогревали при температуре 58°С в течение 30 мин и отстаивали 72 часа.

Полученная сыворотка при трёхкратном введении больным телятам в дозе 30,0 см<sup>3</sup> на голову защищала от гибели 95 % животных.

**Пример 4.**

То же, что в примере 2, но животным вводили подкожно или внутримышечно препарат Биферон-Б» в объёме 20,0 см<sup>3</sup> на голову.

Полученную сыворотку консервировали 0,5 % теотропином, прогревали при температуре 53°С в течение 30 мин и отстаивали 5 суток.

Полученная сыворотка при трёхкратном введении больным телятам в дозе 35,0 см<sup>3</sup> на голову защищала от гибели 95 % животных.

У 5% животных отмечалась аллергическая реакция.

**Пример 5.**

То же, что в примере 2, но животным вводили подкожно или внутримышечно препарат «Биферон-Б» в объёме 8,0 см<sup>3</sup> на голову.

Полученная сыворотка при трёхкратном введении больным телятам в дозе 40,0 см<sup>3</sup> на голову защищала от гибели 90 % животных.

**Пример 6.**

То же, что в примере 2, но животным вводили подкожно или внутримышечно препарат «Биферон-Б» в объёме 20,0 см<sup>3</sup> на голову.

Полученная сыворотка при трёхкратном введении больным телятам в дозе 40,0 см<sup>3</sup> на голову защищала от гибели 90 % животных. Отмечается перенапряжение иммунной системы животных.

**Пример 7.**

То же, что в примере 2, но сыворотку прогревали при 60°С в течение 30 мин. Полученная сыворотка при трёхкратном введении больным телятам в дозе 50,0 см<sup>3</sup> на голову защищала от гибели 90 % животных.

**Пример 8.**

То же, что в примере 2, но сыворотку прогревали при температуре 55°С в течение 20 мин. Сыворотка при введении вызывала аллергические реакции у 10% животных.

**Пример 9.**

То же, что в примере 2, но сыворотку прогревали при температуре 55°С в течение 70 мин. Полученная сыворотка при трёхкратном введении больным телятам в дозе 40,0 см<sup>3</sup> на голову защищала от гибели 95 % животных.

**Пример 10.**

То же, что в примере 2, но сыворотку консервировали 0,08 % теотропином. Отстой сыворотки составил 12 суток. У 3 партий сывороток из 10 стерильность продукта в течение 30 суток их хранения не сохранялась.

**Пример 11. Получение сыворотки против сальмонеллёза, пастереллёза, вирусов парагриппа и инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота (по изобретению)**

Волов-производителей массой 500 кг и выше иммунизировали полученным соответствующим образом антигеном (вакциной) из сальмонелл, пастерелл, вирусов парагриппа, инфекционного ринотрахеита по следующей схеме:

1-я инъекция: подкожно по 2 дозы вакцины против парагриппа-3 и инфекционного ринотрахеита и внутривенно 25 млрд м.к. смеси *S. dublin* и *S. enteritidis* и 25 млрд м.к. пастереллёзного антигена.

2-я инъекция: подкожно 3 дозы вакцины против парагриппа-3 и инфекционного ринотрахеита и внутривбрюшинно по 40 млрд м.к. смеси инаktivированных *S. dublin* и *S. enteritidis* и 40 млрд м.к. инаktivированного пастереллѐзного антигена.

Подкожно или внутривбрюшинно животным также вводили препарат «Биферон-Б» в объеме 10,0 см<sup>3</sup> на голову.

3-я инъекция: подкожно по 6 доз вакцины против парагриппа-3 и инфекционного ринотрахеита; внутривбрюшинно по 60 млрд м.к. смеси инаktivированных *S. dublin* и *S. enteritidis* и 60 млрд м.к. инаktivированного пастереллѐзного антигена.

За 48-24 часа до забора крови подкожно и внутривбрюшинно животным вводили препарат «Биферон-Б» в объеме 10,0 см<sup>3</sup> на голову.

В последующем на третьи сутки после забора крови вводили упомянутые выше вакцины в дозах и антигены в количествах, указанных для третьей инъекции (по 6 доз каждой вакцины и по 60 млрд м.к. каждого антигена). Постоянный забор крови производили через каждые 15 суток.

В последующие разы за 48-24 часа до забора крови вводили препарата «Биферон-Б» в объеме 10,0 см<sup>3</sup> на голову, а на третьи сутки после каждого забора крови по 6 доз каждой вакцины и по 60 млрд м.к. каждого инаktivированного антигена. Далее кровь сепарировали для отделения эритроцитов, полученную плазму дефибринировали, а сыворотку консервировали 0,3% теотропином. Далее сыворотку прогревали при температуре 54°C в течение 30 мин, отстаивали 24 часа и фильтровали.

Полученная сыворотка при трёхкратном введении телятам больным сальмонеллѐзом, пастереллѐзом, парагриппом-3 и ринотрахеитом в дозе 30,0 см<sup>3</sup> на голову защищает от гибели 95% животных.

#### **Пример 12.** (по изобретению)

То же, что в примере 11, но в качестве продуцента сыворотки использовали быков на откорме весом не менее 400 кг живой массы.

**Пример 13. Получение сыворотки против вирусной диареи, рота- и коронавирусной инфекции и эшерихиоза крупного рогатого скота (по изобретению)**

Волов-продуцентов и/или быков на откорме массой не менее 400 кг иммунизировали вакцинами и антигенами трёхкратно с интервалом 6 суток по нижеприведенной схеме:

1 инъекция: подкожно 2 дозы вакцины против вирусной диареи и внутривбрюшинно 2 дозы инаktivированной вакцины против ротавирусной и коронавирусной инфекции крупного рогатого скота, и 25 млрд м.к. инаktivированного антигена эшерихий.

2-я инъекция: подкожно 3 дозы вакцины против вирусной диареи и внутривбрюшинно 3 дозы инаktivированной вакцины против ротавирусной и коронавирусной инфекции крупного рогатого скота, и 40 млрд м.к. инаktivированного антигена эшерихий. Подкожно животным также вводили препарат «Биферон-Б» в объёме 10,0 см<sup>3</sup> на голову.

3-я инъекция: подкожно 6 доз вакцины против вирусной диареи и внутривбрюшинно 6 доз инаktivированной вакцины против ротавирусной и коронавирусной инфекции крупного рогатого скота, и 60 млрд м.к. инаktivированного антигена эшерихий.

За 48-24 часа до забора крови подкожно животным вводили препарат «Биферон-Б» в объёме 10 см<sup>3</sup>.

В последующем на третьи сутки после забора крови вводили упомянутые выше вакцины в дозах и антигены в количествах, указанных для третьей инъекции (по 6 доз каждой вакцины и по 60 млрд м.к. каждого антигена). Постоянный забор крови производили через каждые 15 суток.

В последующие разы за 48-24 часа до забора крови вводили препарат «Биферон-Б» в объёме 10,0 см<sup>3</sup>.

Получение сыворотки осуществляли по методу, описанному в примере 2.

Полученная сыворотка при трёхкратном введении телятам больным вирусной диареей, рота-и коронавирусной инфекцией и эшерихиозом в дозе 30,0 см<sup>3</sup> на голову защищает от гибели 95% животных.

**Пример 14. Получение сыворотки против сальмонеллёза (по изобретению)**

Волов-продуцентов и/или быков на откорме иммунизировали соответствующими образцами инаktivированного антигена (вакцины) из сальмонелл по схеме:

1 инъекция: внутривбрюшинно 25 млрд м.к. смеси сальмонелл *S. dublin* и *S. enteritidis*.

2-я инъекция: внутривбрюшинно 40 млрд м.к. смеси инаktivированных сальмонелл *S. dublin* и *S. enteritidis*. Подкожно животным также вводили препарат «Биферон-Б» в объёме 10,0 см<sup>3</sup> на голову.

3-я инъекция: внутривбрюшинно 60 млрд м.к. смеси инаktivированных сальмонелл *S. dublin* и *S. enteritidis*. За 48-24 часа до забора крови подкожно или внутривбрюшинно животным вводили препарат «Биферон-Б» в объёме 10,0 см<sup>3</sup> на голову. В последующем на третьей сутки после забора крови вводили антиген в количестве, указанном для третьей инъекции. Постоянный забор крови производили через каждые 15 суток. В последующие разы за 48-24 часа до забора крови вводили препарат «Биферон-Б» в объёме 10,0 см<sup>3</sup> на голову, а на третьей сутки после каждого забора крови 60 млрд м.к. инаktivированного антигена. Далее обработку полученной крови производили, как описано в примере 11.

Полученная сыворотка при трёхкратном введении телятам больным сальмонеллёзом в дозе 30,0 см<sup>3</sup> на голову защищает от гибели 95% животных.

**Пример 15. Получение сыворотки против эшерихиоза (по изобретению)**

Волов-продуцентов и/или быков на откорме иммунизировали инаktivированным антигеном (вакциной) против эшерихиоза крупного рогатого скота по следующей схеме:

1-я инъекция: внутривбрюшинно 50 млрд м.к. инаktivированной эшерихионной вакцины (антигена).



2-я инъекция: внутривбрюшинно 100 млрд м.к. инактивированной эшерихиозной вакцины (антигена). Подкожно также вводили препарат «Биферон-Б» в объёме 10,0 см<sup>3</sup> на голову.

3-я инъекция: внутривбрюшинно 150 млрд м.к. инактивированной эшерихиозной вакцины (антигена). За 48-24 часа до забора крови подкожно животным вводили препарат «Биферон-Б» в объёме 10,0 см<sup>3</sup> на голову.

В последующем на третьей сутки после забора крови вводили вакцину (антиген) в концентрациях, указанных для третьей инъекции. Постоянный забор крови производили через каждые 15 суток. Далее обработку полученной крови производили, как описано в примере 11.

Полученная сыворотка при трёхкратном введении телятам больным эшерихиозом в дозе 30,0 см<sup>3</sup> на голову защищает от гибели 95% животных.

#### **Анализ экспериментальных данных.**

Из примера 4 видно, что увеличение концентрации теотропина (0,5%) и снижение температуры прогрева (53°C) приводит к удлинению отстоя (5 суток). У отдельных животных после введения сыворотки отмечалась аллергическая реакция.

Из примера 5 видно, что при введении животным-продуцентам препарата «Биферон-Б» в более низких дозах (8,0 см<sup>3</sup>/гол) биологическая активность сыворотки снижается.

Как видно из примера 6, увеличение объёма введения препарата «Биферон-Б» (20,0 см<sup>3</sup>/гол) животным приводит к снижению биологической активности сыворотки, очевидно за счёт чрезмерного увеличения неспецифической защиты у продуцента.

Как следует из примера 7, увеличение температуры прогрева до 60°C приводит к снижению биологической активности сывороток.

Снижение времени прогрева сыворотки до 20 мин (пример 8) приводит к повышению аллергенности.

Увеличение времени прогрева сыворотки до 70 мин (пример 9) приводит к снижению её биологической активности, так как лечебная доза с 35,0 см<sup>3</sup> на голову (пример 2) повышается до 40,0 см<sup>3</sup> на голову.

Снижение дозы теотропина в сыворотке до 0,08 % (пример 10) приводит к удлинению времени отстоя сыворотки до 12 суток, а также не обеспечивает её стерильность.

Таким образом, сыворотки, полученные в условиях примеров 2, 3 и 11-15 (по заявляемому изобретению) подтверждают возможность получения поливалентных сывороток против различных комбинаций инфекционных заболеваний с повышением аффинности и превентивной защиты получаемой заявляемым способом сыворотки, а также её эффективности.

При этом в описании изобретения приведены примеры получения заявляемым способом гипериммунной сыворотки только против ограниченного перечня вирусных и бактериальных патогенов и их комбинаций, однако каждому специалисту в области получения гипериммунных сывороток должно быть понятно, что заявляемый способ применим для получения гипериммунных моно- и поливалентных сывороток против любых других вирусных, бактериальных, а также смешанных вирусно-бактериальных инфекций.

#### **Источники информации:**

1. Патент RU № 2396979 C2, опубл. 20.08.2010 г.
2. Илларионова О.Г. Производство-лечебно-профилактических сывороток – курсовая работа – М.: ФГОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И.Скрябина, 2007 – [Электронный ресурс] - 26 августа 2019. - Режим доступа: <http://topuch.ru/proizvodstvo-lechebno-profilakticheskikh/index.html>.
3. Патент RU № 2438709 C1, опубл. 10.01.2012 г.
4. Ветеринарные препараты : справочник / Под ред. Д.Ф. Осидзе. – М.: Колос, 1981. – 448 с.

5. Медведев А.П., Вербицкий А.А. Противобактериальные гипериммунные сыворотки : монография. – Витебск, 2001. – 121 с.
6. Методические рекомендации по иммунологической диагностике, профилактике и терапии вирусно-бактериальных пневмоэнтеритов телят. – Минск, 1996. 16 с.
7. Руководство по вакцинному и сывороточному делу / Под ред. П.Н. Бургасова. – М.: Медицина, 1978. – С. 294-310.
8. Патент ВУ № 13245 С1, опубл. 30.06.2010.

Евразийский патентный поверенный,  
Рег. № 96



Е.Н.Беляева

## Формула изобретения

1. Способ получения гипериммунной сыворотки против инфекционных заболеваний крупного рогатого скота, выбранных из группы, включающей заболевания вирусной, бактериальной и вирусно-бактериальной этиологии, включающий иммунизацию волов-продуцентов и/или быков на откорме путём, по меньшей мере, трёхкратной инъекции перед забором крови через заданные интервалы времени соответствующего набора препаратов, выбранных из группы, включающей вакцину в заданном количестве доз и антиген в заданной концентрации, с последующим получением из забранной крови сыворотки крови, **отличающийся тем, что**, одновременно со второй инъекцией, а также каждый раз за 48-24 часа до забора крови волу-продуценту и/или быку на откорме вводят препарат «Биферон-Б» в объёме 10,0-15,0 см<sup>3</sup>, а на третьи сутки после каждого забора крови вводят каждый препарат, выбранный из группы, включающей вакцину в количестве доз, соответствующем третьей инъекции, и антиген в концентрации, соответствующей третьей инъекции, при этом полученную сыворотку с добавлением 0,1-0,4 % теотропина прогревают при температуре 54-58°С в течение 30-60 мин, отстаивают в течение 24-72 часов и фильтруют последовательно через фильтрэлементы с рейтингом 50 мкм, 5 мкм, 0,45 мкм и 0,22 мкм или обрабатывают гамма излучением.

2. Способ по п. 1, **отличающийся тем, что** инфекционное заболевание выбрано из группы, включающей, по меньшей мере, ротавирусную инфекцию, коронавирусную инфекцию, вирусную диарею, парагрипп-3, инфекционный ринотрахеит, пастереллёз, сальмонеллёз, стрептококкозы, эшерихиоз и колибактериоз молодняка крупного рогатого скота.

3. Способ по п. 1, **отличающийся тем, что** в качестве вакцины используют вакцину, выбранную из группы, включающей живую сухую вакцину, которую предпочтительно вводят подкожно с правой и левой стороны туловища, и инактивированную вакцину, которую предпочтительно вводят внутрибрюшинно.

4. Способ по п. 1, **отличающийся тем, что** в качестве антигена используют инактивированный антиген, который предпочтительно вводят внутрибрюшинно.

5. Способ по п. 1, **отличающийся тем, что** препарат «Биферон-Б» вводят подкожно, внутримышечно или внутривбрюшинно.

6. Способ по п. 1, **отличающийся тем, что** первую, вторую и третью инъекцию проводят через интервалы времени, составляющие 6 суток.

7. Способ по п. 6, **отличающийся тем, что** при первой инъекции волу-производителю или быку на откорме вводят препараты в количестве, выбранном из группы, включающей по 2 дозы каждой вакцины и 25 млрд. микробных клеток каждого антигена, при второй инъекции – в количестве, выбранном из группы, включающей по 3 дозы каждой вакцины и по 40 млрд. микробных клеток каждого антигена, и при третьей инъекции – в количестве, выбранном из группы, включающей по 6 доз каждой вакцины и по 60 млрд. микробных клеток каждого антигена.

8. Способ по любому из пп. 1 – 7, **отличающийся тем, что** получают гипериммунную сыворотку против ротавирусной инфекции, коронавирусной инфекции, вирусной диареи, парагриппа-3 и инфекционного ринотрахеита, при этом волу-производителю или быку на откорме в качестве препаратов вводят инаktivированные вакцины против ротавирусной инфекции и против коронавирусной инфекции, живые сухие вакцины против вирусной диареи, парагриппа-3 и инфекционного ринотрахеита, а также препарат «Биферон-Б».

9. Способ по любому из пп. 1 – 7, **отличающийся тем, что** получают гипериммунную сыворотку против вирусной диареи, ротавирусной инфекции, коронавирусной инфекции и эшерихиоза для лечения бактериально-вирусных заболеваний, характеризующихся желудочно-кишечным синдромом, при этом волу-производителю или быку на откорме в качестве препаратов вводят инаktivированные вакцины против ротавирусной инфекции и против коронавирусной инфекции, живую сухую вакцину против вирусной диареи и инаktivированный антиген эшерихий, а также препарат «Биферон-Б».

10. Способ по любому из пп. 1 – 7, **отличающийся тем, что** получают гипериммунную сыворотку против сальмонеллёза, при этом волу-производителю или быку на

откорме в качестве препарата вводят инаktivированные микробные клетки сальмонелл и сальмонеллёзный антиген или вакцину, а также препарат «Биферон-Б».

11. Способ по любому из пп. 1 – 7, отличающийся тем, что получают гипериммунную сыворотку против эшерихиоза, при этом волу-производителю или быку на откорме в качестве препарата вводят инаktivированные микробные клетки эшерихий и эшерихиозный антиген или вакцину, а также препарат «Биферон-Б».

Евразийский патентный поверенный,  
рег. № 96



Е.Н.Беляева

**ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ**  
(статья 15(3) ЕАПК и правило 42 Патентной инструкции к ЕАПК)

Номер евразийской заявки:

**202000005**

**А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:**

**A61K 39/395 (2006.01)**  
**A61K 39/108 (2006.01)**  
**A61K 39/112 (2006.01)**  
**A61K 31/53 (2006.01)**  
**A61K 38/21 (2006.01)**  
**A61P 31/04 (2006.01)**  
**A61P 31/12 (2006.01)**

Согласно Международной патентной классификации (МПК)

**Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:**

Просмотренная документация (система классификации и индексы МПК)

A61K 39/00, 31/53, 38/21, 39/395, 39/108, 39/112, A61P 31/04, 31/12

Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины)

**В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ**

| Категория* | Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей                                                                                                                         | Относится к пункту № |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| Y          | ВУ 13245 С1 (ЗАЙЦЕВ В.В. и др.) 30.06.2010, формула, примеры                                                                                                                                  | 1-11                 |
| Y          | RU 2691139 С1 (ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ "ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ВЕТЕРИНАРНЫЙ ИНСТИТУТ ПАТОЛОГИИ, ФАРМАКОЛОГИИ И ТЕРАПИИ") 11.06.2019, формула | 1-11                 |
| Y          | ЕА 31933 В1 (ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ "НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ЦЕНТР ПРОБИОТЕХ") 29.03.2019, пример 2                                                                         | 1-11                 |
| Y          | ВУ 12963 С1 (ЗАЙЦЕВ В.В. и др.) 28.02.2010, формула, примеры                                                                                                                                  | 1-11                 |

☐ последующие документы указаны в продолжении

\* Особые категории ссылочных документов:

«А» - документ, определяющий общий уровень техники

«D» - документ, приведенный в евразийской заявке

«Е» - более ранний документ, но опубликованный на дату подачи евразийской заявки или после нее

«О» - документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д.

"Р" - документ, опубликованный до даты подачи евразийской заявки, но после даты испрашиваемого приоритета"

«Т» - более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и приведенный для понимания изобретения

«Х» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень, взятый в отдельности

«Y» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с другими документами той же категории

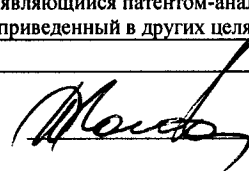
«&» - документ, являющийся патентом-аналогом

«L» - документ, приведенный в других целях

Дата проведения патентного поиска: **23/09/2020**

Уполномоченное лицо:

Начальник Управления экспертизы



Д.Ю. Рогожин