

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **040871**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

- | | |
|--|--|
| (45) Дата публикации и выдачи патента
2022.08.09 | (51) Int. Cl. <i>A61K 39/395</i> (2006.01)
<i>A61K 39/108</i> (2006.01)
<i>A61K 39/112</i> (2006.01)
<i>A61K 31/53</i> (2006.01)
<i>A61K 38/21</i> (2006.01)
<i>A61P 31/04</i> (2006.01)
<i>A61P 31/12</i> (2006.01) |
| (21) Номер заявки
202000005 | |
| (22) Дата подачи заявки
2019.09.27 | |

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

- | | |
|--|---|
| (43) 2021.03.31 | (56) BY-C1-13245
RU-C1-2691139
EA-B1-31933
BY-C1-12963 |
| (96) 2019/EA/0083 (BY) 2019.09.27 | |
| (71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ПРОКУЛЕВИЧ ВЛАДИМИР
АНТОНОВИЧ (BY) | |
| (72) Изобретатель:
Прокулевич Владимир Антонович,
Зайцева Алеся Владимировна,
Зайцева Виктория Владимировна,
Потапович Максим Иосифович (BY) | |
| (74) Представитель:
Беляева Е.Н., Беляев С.Б., Сапега
Л.Л. (BY) | |

-
- (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-производителей 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 см³, 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.

040871
B1

040871
B1

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 пероральное 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 внутривентриально 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 O-антигена бактерий рода *Salmonella* или *Escherichia*, а инактивированную вакцину смешивают в соотношении 9:1 с 2,0-6,0%-ным раствором липополисахаридпептидной фракции O-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 прелативной 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 ч до забора крови волу-продуценту и/или быку на откорме вводят препарат "Биферон-Б" в объёме 10,0-15,0 см³, 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°C в течение 30-60 мин, отстаивают в течение 24-72 ч 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 1×10^4 МЕ, находящихся в стабилизирующей лекарственной форме, обеспечивающей пролонгированность действия интерферонов и мощный противовирусный эффект. Исходя из упомянутых выше свойств компонентов препарата, био-препарат "Биферон-Б" является полифункциональным, обладает противовирусным, противобактериальным, антистрессовым и иммуномодулирующим действием и способен выступать в качестве мощного неспецифического противои инфекционного средства, оказывая терапевтический эффект при введении в организм животного не путём прямого воздействия на факторы патогенеза (вирусы и бактерии), а опосредовано активизируя 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 внутривнутрибрюшинно, а в качестве антигена используют инактивированный антиген, который предпочтительно вводят внутривнутрибрюшинно.

Препарат "Биферон-Б" может быть введён подкожно, внутримышечно или внутривнутрибрюшинно.

Дополнительное введение препарата "Биферон-Б" позволяет, кроме прочего, без вреда для животного-продуцента 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 волю-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, коронарусной инфекции, вирусной диареи, парагриппа-3 и инфекционного ринотрахеита, при этом волю-производителю или быку на откорме в качестве препаратов вводят инактивированные вакцины против ротавирусной инфекции и против коронарусной инфекции, живые сухие вакцины против вирусной диареи, парагриппа-3 и инфекционного ринотрахеита, а также препарат "Биферон-Б";

против вирусной диареи, ротавирусной инфекции, коронарусной инфекции и эшерихиоза для лечения бактериально-вирусных заболеваний, характеризующихся желудочно-кишечным синдромом, при этом волю-производителю или быку на откорме в качестве препаратов вводят инактивированные вакцины против ротавирусной инфекции и против коронарусной инфекции, живую сухую вакцину против вирусной диареи и инактивированный антиген эшерихий, а также препарат "Биферон-Б";

против сальмонеллёза, при этом волю-производителю или быку на откорме в качестве препарата вводят инактивированные микробные клетки сальмонелл и сальмонеллёзный антиген или вакцину, а также препарат "Биферон-Б";

против эшерихиоза, при этом волю-производителю или быку на откорме в качестве препарата вводят инактивированные 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).

Волю-производителей иммунизировали инактивированной вакциной против ротавирусной и коронарусной 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: внутривенно 2 дозы вакцины против ротавирусной и коронарусной 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: внутривенно 4 дозы вакцины против ротавирусной и коронарусной 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: внутривенно 5 доз вакцины против ротавирусной и коронарусной 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 дефибрировали, а сыворотку консервировали 0,5% фенолом и отстаивали в течение 60 суток. Отстоявшуюся сыворотку декантировали от осадка белков, фильтровали через фильтрыэлементы с рейтингом 5, 1 и 0,22 мкм.

Полученная сыворотка при трёхкратном введении больным телятам в дозе 50,0 см³ защищала от гибели 90% больных животных.

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

Пример 2. Получение сыворотки против ротавирусной и коронарусной инфекции, вирусной диа-

реи 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 см³ 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 ч до забора крови подкожно или внутримышечно животным вводили препарат "Биферон-Б" в объёме 10,0 см³ 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 ч до забора крови подкожно или внутримышечно вводили препарат "Биферон-Б" в объёме 10,0 см³ на голову, а на третьи сутки после каждого забора крови по 6 доз каждой вакцины. Кровь сепарировали для отделения эритроцитов, полученную плазму дефибриновали, а сыворотку консервировали 0,3% теотропином. Далее сыворотку прогревали при температуре 54°C в течение 30 мин, отстаивали 24 ч и фильтровали последовательно через фильтрыэлементы с рейтингом 50, 5, 0,45 и 0,22 мкм.

Постоянный забор крови производили через каждые 15 суток. Полученная сыворотка при трёхкратном введении больным телятам в дозе 30,0 см³ 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 см³ на голову.

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

Полученная сыворотка при трёхкратном введении больным телятам в дозе 30,0 см³ 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 см³ на голову.

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

Полученная сыворотка при трёхкратном введении больным телятам в дозе 35,0 см³ 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 см³ на голову.

Полученная сыворотка при трёхкратном введении больным телятам в дозе 40,0 см³ 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 см³ на голову.

Полученная сыворотка при трёхкратном введении больным телятам в дозе 40,0 см³ 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°C в течение 30 мин. Полученная сыворотка при трёхкратном введении больным телятам в дозе 50,0 см³ на голову защищала от гибели 90% животных.

Пример 8.

То же, что в примере 2, но сыворотку прогревали при температуре 55°C 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°C в течение 70 мин. Полу-

ченная сыворотка при трёхкратном введении больным телятам в дозе 40,0 см³ 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 внутрибрюшинно 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 внутрибрюшинно по 40 млрд м.к. смеси инактивированных *S. dublin* и *S. enteritidis* и 40 млрд м.к. инактивированного пастереллёзного антигена. Подкожно или внутрибрюшинно животным также вводили препарат "Биферон-Б" в объёме 10,0 см³ на голову;

3-я инъекция: подкожно по 6 доз вакцины против парагриппа-3 и инфекционного ринотрахеита; внутрибрюшинно по 60 млрд м.к. смеси инактивированных *S. dublin* и *S. enteritidis* и 60 млрд м.к. инактивированного пастереллёзного антигена. За 48-24 ч до забора крови подкожно и внутрибрюшинно животным вводили препарат "Биферон-Б" в объёме 10,0 см³ 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 ч до забора крови вводили препарата "Биферон-Б" в объёме 10,0 см³ на голову, а на третьи сутки после каждого забора крови по 6 доз каждой вакцины и по 60 млрд м.к. каждого инактивированного антигена. Далее кровь сепарировали для отделения эритроцитов, полученную плазму дефибрировали, а сыворотку консервировали 0,3% теотропином. Далее сыворотку прогревали при температуре 54°C в течение 30 мин, отстаивали 24 ч и фильтровали.

Полученная сыворотка при трёхкратном введении телятам больным сальмонеллёзом, пастереллёзом, парагриппом-3 и ринотрахеитом в дозе 30,0 см³ 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-производителей 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 внутрибрюшинно 2 дозы инактивированной вакцины против ротавирусной и коронавирусной инфекции крупного рогатого скота, и 25 млрд м.к. инактивированного антигена эшерихий;

2-я инъекция: подкожно 3 дозы вакцины против вирусной диареи и внутрибрюшинно 3 дозы инактивированной вакцины против ротавирусной и коронавирусной инфекции крупного рогатого скота, и 40 млрд м.к. инактивированного антигена эшерихий. Подкожно животным также вводили препарат "Биферон-Б" в объёме 10,0 см³ на голову;

3-я инъекция: подкожно 6 доз вакцины против вирусной диареи и внутрибрюшинно 6 доз инактивированной вакцины против ротавирусной и коронавирусной инфекции крупного рогатого скота, и 60 млрд м.к. инактивированного антигена эшерихий. За 48-24 ч до забора крови подкожно животным вводили препарат "Биферон-Б" в объёме 10 см³.

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 ч до забора крови вводили препарат "Биферон-Б" в объёме 10,0 см³.

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 см³ на голову защищает от гибели 95% животных.

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

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

1 инъекция: внутрибрюшинно 25 млрд м.к. смеси сальмонелл *S. dublin* и *S. Enteritidis*;

2-я инъекция: внутрибрюшинно 40 млрд м.к. смеси инактивированных сальмонелл *S. dublin* и *S. enteritidis*. Подкожно животным также вводили препарат "Биферон-Б" в объёме 10,0 см³ на голову;

3-я инъекция: внутривбрюшинно 60 млрд м.к. смеси инактивированных сальмонелл *S. dublin* и *S. enteritidis*. За 48-24 ч до забора крови подкожно или внутривбрюшинно животным вводили препарат "Биферон-Б" в объёме 10,0 см³ на голову. В последующем на третьи 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 ч до забора крови вводили препарат "Биферон-Б" в объёме 10,0 см³ на голову, а на третьи сутки после каждого забора крови 60 млрд м.к. инактивированного антигена. Далее обработку полученной крови производили, как описано в примере 11.

Полученная сыворотка при трёхкратном введении телятам больным сальмонеллёзом в дозе 30,0 см³ на голову защищает от гибели 95% животных.

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

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

1-я инъекция: внутривбрюшинно 50 млрд м.к. инактивированной эшерихиозной вакцины (антигена);

2-я инъекция: внутривбрюшинно 100 млрд м.к. инактивированной эшерихиозной вакцины (антигена). Подкожно также вводили препарат "Биферон-Б" в объёме 10,0 см³ на голову;

3-я инъекция: внутривбрюшинно 150 млрд м.к. инактивированной эшерихиозной вакцины (антигена). За 48-24 ч до забора крови подкожно животным вводили препарат "Биферон-Б" в объёме 10,0 см³ на голову.

В последующем на третьи 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 см³ 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-производителям препарата "Биферон-Б" в более низких дозах (8,0 см³/гол) биологическая активность сыворотки снижается.

Как видно из примера 6, увеличение объёма введения препарата "Биферон-Б" (20,0 см³/гол) животным приводит к снижению биологической активности сыворотки, очевидно за счёт чрезмерного увеличения неспецифической защиты у производителя.

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 см³ на голову (пример 2) повышается до 40,0 см³ 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 С2, 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 С1, 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, опублик. 30.06.2010.

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-производителей 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 первую, вторую и третью инъекцию проводят через интервалы времени, составляющие 6 суток, при этом при первой инъекции волу-производителю или быку на откорме вводят препараты в количестве 2 дозы каждой вакцины или 25 млрд микробных клеток каждого антигена, при второй инъекции - в количестве 3 дозы каждой вакцины или по 40 млрд микробных клеток каждого антигена и при третьей инъекции - в количестве 6 доз каждой вакцины или по 60 млрд микробных клеток каждого антигена, а забор крови проводят через каждые 15 суток, причём одновременно со второй инъекцией, а также каждый раз за 48-24 ч до забора крови волу-производителю или быку на откорме вводят препарат "Биферон-Б" в объёме 10,0-15,0 см³, 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°C в течение 30-60 мин, отстаивают в течение 24-72 ч и фильтруют последовательно через фильтр-элементы с рейтингом 50, 5, 0,45 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 внутрибрюшинно.

6. Способ по любому из пп.1-5, 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 инактивированные вакцины против ротавирусной инфекции и против коронавирусной инфекции, живые сухие вакцины против вирусной диареи, парагриппа-3 и инфекционного ринотрахеита, а также препарат "Биферон-Б".

7. Способ по любому из пп.1-5, 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 инактивированные вакцины против ротавирусной инфекции и против коронавирусной инфекции, живую сухую вакцину против вирусной диареи и инактивированный антиген эшерихий, а также препарат "Биферон-Б".

8. Способ по любому из пп.1-5, отличающийся тем, что получают гипериммунную сыворотку против сальмонеллёза, при этом волу-производителю или быку на откорме в качестве препарата вводят инактивированные микробные клетки сальмонелл и сальмонеллёзный антиген или вакцину, а также препарат "Биферон-Б".

9. Способ по любому из пп.1-5, отличающийся тем, что получают гипериммунную сыворотку против эшерихиоза, при этом волу-производителю или быку на откорме в качестве препарата вводят инактивированные микробные клетки эшерихий и эшерихиозный антиген или вакцину, а также препарат "Биферон-Б".

