



(12) **BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)**
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11) 
1-0022907

(51)⁷ **A61K 39/395**

(13) **B**

(21)	1-2013-01934	(22)	21.11.2011		
(86)	PCT/US2011/061708	21.11.2011	(87)	WO2012/071346	31.05.2012
(30)	61/416,667	23.11.2010	US		
(45)	27.01.2020	382	(43)	27.01.2014	310
(73)	PANTHERYX, INC. (US) 5480 Valmont Road, Suite 325, Boulder, Colorado 80301, United States of America				
(72)	STARZL, Timothy, W. (US)				
(74)	Công ty TNHH Sở hữu trí tuệ Thảo Thọ Quyến (INVENCO.,LTD)				

(54) **DƯỢC PHẨM ĐIỀU TRỊ BỆNH TIÊU CHẢY VÀ BỆNH TRUYỀN NHIỄM Ở ĐƯỜNG RUỘT**

(57) Sáng chế đề xuất các dược phẩm và phương pháp được cải thiện để gây miễn dịch thụ động. Theo các phương án, dược phẩm chứa tổ hợp có tác dụng hiệp trợ của các kháng thể đa dòng đặc hiệu trong cơ chất mang. Sáng chế đề xuất các dược phẩm và phương pháp có hiệu quả, có chi phí thấp để điều trị bệnh tiêu chảy và tình trạng bệnh truyền nhiễm ở đường ruột trong các ứng dụng lâm sàng phổ rộng, không phân biệt được hoặc hỗn hợp.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề xuất dược phẩm và phương pháp gây miễn dịch thụ động. Theo các phương án, sáng chế đề xuất các dược phẩm chứa hỗn hợp các kháng thể đa dòng đặc hiệu có tác dụng hiệp đồng với cơ chất mang. Sáng chế đề xuất các dược phẩm và phương pháp có hiệu quả và rẻ tiền để điều trị các bệnh truyền nhiễm trong các ứng dụng lâm sàng phổ rộng, không phân biệt được hoặc kết hợp. Theo một phương án, sáng chế đề xuất các dược phẩm và phương pháp điều trị bệnh tiêu chảy và bệnh truyền nhiễm ở đường ruột.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các kháng thể, globulin miễn dịch và các yếu tố miễn dịch sinh học khác (được gọi chung ở đây là các kháng thể), cả chất tương tự tự nhiên và các chất tương tự tổng hợp của chúng, là các chất điều trị đã biết ở người và động vật. Các kháng thể hoạt động bằng cách gắn kết (qua lực liên kết không phải là liên kết cộng hóa trị) giữa vị trí kết hợp kháng nguyên trên kháng thể và một phần của kháng nguyên được gọi là quyết định kháng nguyên hay epitop. Các kháng thể có khả năng có các mức đặc hiệu cao. Ví dụ, lĩnh vực kháng thể đơn dòng đã được phát triển một cách rộng rãi với sự thúc đẩy của việc tạo ra các đặc tính gắn kết đặc hiệu và chính xác hơn bao giờ hết. Tuy nhiên, tính đặc hiệu cao này có thể dẫn đến các thuộc tính gắn kết bị giới hạn quá mức, trong đó các chất hoặc các kháng nguyên giống nhau về mặt chức năng không phản ứng giống nhau với chất phản ứng miễn dịch hoặc chất điều trị miễn dịch. Mặt khác, khả năng phản ứng chéo, thường được cho là sai sót hoặc không thu được tính đặc hiệu gắn kết, là phản ứng giữa kháng nguyên và kháng thể mà được sản sinh kháng lại kháng nguyên khác nhưng tương tự. Có thể sử dụng khả năng phản ứng chéo có kiểm soát với mục đích xây dựng để mở rộng mức gắn kết của kháng thể.

Sữa non sinh ra một cách tự nhiên ở riêng động vật có vú để phân phối các thành phần của nó cho trẻ sơ sinh và qua đường dạ dày-ruột ở dạng rất đậm đặc có

thể tích nhỏ. Sữa non đã được biết là có chứa các kháng thể như IgA, IgG và IgM. Các thành phần khác của sữa non bao gồm lactoferin, lysozym, lactoperoxidaza, bổ thể và các polypeptit giàu prolin (proline-rich polypeptide-PRP). Một số xytokin (các peptit truyền tin nhỏ có tác dụng kiểm soát việc thực hiện chức năng của hệ miễn dịch) cũng được tìm thấy trong sữa non, bao gồm các intolokin, yếu tố hoại tử khối u, chemokin và các chất khác. Sữa non cũng chứa một số yếu tố sinh trưởng, như các yếu tố sinh trưởng tương tự insulin I và II, yếu tố sinh trưởng biến đổi alpha, beta 1 và beta 2, yếu tố sinh trưởng nguyên bào sợi, yếu tố sinh trưởng biểu bì, yếu tố sinh trưởng kích thích đại thực bào-tế bào hạt, yếu tố sinh trưởng có nguồn gốc từ tiểu cầu, yếu tố sinh trưởng nội mô mạch và yếu tố kích thích khuẩn lạc I.

Các kháng thể và các đồng yếu tố trong sữa non có thể, thông qua việc nuôi bằng sữa mẹ tạo ra tính miễn dịch thụ động cho người nhận. Thông thường, các kháng thể và các đồng yếu tố được chuyển cho trẻ sơ sinh từ người mẹ và tạo ra sự bảo vệ đầu tiên chống lại tác nhân gây bệnh. Các yếu tố sinh trưởng cũng kích thích sự phát triển và phục hồi của ruột.

Một tình trạng bệnh lý mà có thể được giải quyết bằng cách sử dụng tính miễn dịch thụ động là bệnh tiêu chảy. Bệnh tiêu chảy chủ yếu là do sự ăn phải tác nhân gây bệnh gây ra. Theo Tổ chức Y tế Thế giới (WHO), 88% trường hợp mắc bệnh tiêu chảy trên toàn thế giới là do nguồn nước không an toàn, các hệ thống vệ sinh không thích hợp hoặc thiếu vệ sinh. Các ca bệnh này làm cho khoảng 1,5 triệu người tử vong mỗi năm, hầu hết số người tử vong là trẻ nhỏ. (Pruss-Urstin et al., Safer water, better health: costs, benefits and sustainability of interventions to protect and promote world health. World Health Organization, Geneva, 2008. ISBN 978 92 4 1596435).

Mối quan ngại đặc biệt mang tính toàn cầu là các trường hợp bệnh tiêu chảy truyền nhiễm ở các nước đang phát triển, mà là nguyên nhân gây ra tỷ lệ mắc bệnh và tử vong đang diễn ra khủng khiếp, đặc biệt là trẻ em. Ví dụ, Ấn Độ là một trong những nước có tỷ lệ tử vong ở trẻ nhỏ lớn nhất trên thế giới theo báo cáo Phát triển con người của Liên hiệp quốc (United Nations Human Development) năm 2009. Ví dụ, Tổ chức Cứu trợ Trẻ em (Save the Children), một tổ chức phi lợi nhuận toàn

cầu, báo cáo rằng ở Ấn Độ cứ 15 giây thì có 1 trẻ em bị chết và 90% số trẻ em bị chết này là do các bệnh có thể phòng ngừa được, như bệnh tiêu chảy. Các vắc xin sởi và rotavirut, rửa tay bằng xà phòng, cải thiện nguồn nước uống và hệ thống vệ sinh công cộng đã được khuyến cáo bởi WHO để phòng ngừa bệnh tiêu chảy; tuy nhiên, các biện pháp này thì không hữu hiệu trong việc điều trị bệnh.

Phác đồ điều trị chuẩn ở nhiều nước trên thế giới để điều trị bệnh tiêu chảy ở trẻ nhỏ bao gồm sử dụng đồng thời các thuốc kháng sinh và liệu pháp bù nước qua đường miệng. Vì nhiều lý do, các thuốc kháng sinh là thuốc được kê đơn. Các thuốc kháng sinh không có hiệu quả trong điều trị bệnh truyền nhiễm do virut. Ví dụ, ước tính rotavirut gây ra khoảng 40% trong tất cả các trường hợp nhập viện do bệnh tiêu chảy trong số các trẻ em dưới năm tuổi trên toàn thế giới. (Weekly Epidemiological Record, vol. 83, No. 47, 21 tháng 11 năm 2008). Việc sử dụng thuốc kháng sinh không thích hợp có thể thúc đẩy các chủng vi khuẩn kháng thuốc. Ngược lại, sự lây nhiễm có thể do chủng vi khuẩn kháng thuốc gây ra. Thậm chí trong trường hợp tốt nhất, việc sử dụng thuốc kháng sinh thích hợp cũng có thể mất vài ngày để làm giảm tính trầm trọng của các triệu chứng của bệnh tiêu chảy.

Một bất lợi khác của thuốc kháng sinh là việc dùng kháng sinh có thể tiêu diệt cả vi khuẩn gây bệnh và vi khuẩn lành tính được tìm thấy trong đường dạ dày-ruột, điều này còn có thể dẫn đến sự giải phóng lipopolysaccharit nội độc tố. (Holzheimer, The significance of endotoxin release in experimental and clinical sepsis in surgical patients-evidence for antibiotic-induced endotoxin release? Infection. 1998 Mar-Apr;26(2):77-84). Các nội độc tố này có một loạt các tác động toàn thân bất lợi trong đó có sốt, sự thay đổi về số lượng bạch cầu, đông máu nội mạch rải rác, hạ huyết áp, sốc và chết, chúng kém hấp thu; trên thực tế, việc tiêm trực tiếp các liều nội độc tố khá nhỏ cũng gây chết cho hầu hết động vật có vú. Todor K. *Bacterial Endotoxin*. Textbook of Bacteriology. 2008. textbookofbacteriology.net.

Theo WHO, liệu pháp bù nước qua đường miệng và cho uống kẽm liên tục, bao gồm cho bú, đã được khuyến cáo để điều trị bệnh tiêu chảy ở trẻ nhỏ. Xi-rô chứa kẽm hoặc dung dịch bù nước qua đường miệng giàu kẽm (ORS, 40mg/l) thường được dùng ở liều nằm trong khoảng từ 15 đến 30mg/ngày. Kẽm thì không

đất, nhưng có hiệu quả không cao. Xi-rô chứa kẽm chỉ làm giảm khoảng 25% thời gian tiêu chảy cấp và làm giảm 40% tỷ lệ tử vong hoặc điều trị thất bại. (Bhutta et al. Therapeutic effects of oral zinc in acute and persistent diarrhea in children in developing countries: pooled analysis of randomized controlled trials. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2000; 72(6):1516-22). Một nghiên cứu đã đánh giá tính hiệu quả và độ an toàn của ORS được tăng cường kẽm (40mg/l) trong số 1.219 trẻ nhỏ mắc tiêu chảy cấp. Các kết quả lâm sàng trong nhóm ORS được tăng cường kẽm được cải thiện không nhiều, so với kết quả thu được ở nhóm đối chứng, nhóm người chỉ nhận ORS chuẩn. Trong nghiên cứu đó, tổng số lần đi đại tiện ở nhóm ORS0-kẽm thấp hơn so với tổng số lần đi đại tiện ở nhóm đối chứng. Không nhận thấy hiệu quả đáng kể trong khoảng thời gian bị tiêu chảy hoặc nguy cơ tiêu chảy kéo dài. (Bahl R, Bhandari N, Saksena M, et al. Efficacy of zinc-fortified oral rehydration solution in 6- to 35-month-old children with acute diarrhea. *J Pediatr* 2002;141:677-82).

Đã biết được rằng các thuốc kháng sinh không có hiệu quả điều trị bệnh truyền nhiễm do virus, như bệnh truyền nhiễm do rotavirus. Các can thiệp khác có hiệu quả hạn chế. Ngoài ra, các phương tiện chẩn đoán thích hợp để phân biệt nguyên nhân gây bệnh tiêu chảy không phải lúc nào cũng có sẵn để sẵn sàng sử dụng hoặc người bệnh có thể chấp nhận được về mặt chi phí.

Rõ ràng là, có nhu cầu về một phương pháp điều trị thay thế nhanh chóng, hiệu quả và tiết kiệm để điều trị bệnh tiêu chảy không phân biệt được. Vẫn có nhu cầu đối với các dược phẩm và phương pháp hiệu quả, tiết kiệm để điều trị bệnh tiêu chảy và bệnh truyền nhiễm ở đường ruột với các ứng dụng lâm sàng phổ rộng, không phân biệt được hoặc hỗn hợp.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất các dược phẩm và phương pháp gây miễn dịch thụ động, trong đó một phân tử gắn kết đặc hiệu, như globulin miễn dịch đặc hiệu, được kết hợp với cơ chất mang để tạo ra dược phẩm dùng qua đường miệng hoặc niêm mạc để kiểm soát vi sinh vật; bao gồm điều trị hoặc phòng ngừa sự lây nhiễm bệnh hoặc chủng không mong muốn. Theo các phương án, dược phẩm được dùng cho đối tượng không phải là trẻ sơ sinh.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất được phẩm để dùng cho người không phải là trẻ sơ sinh để kiểm soát vi sinh vật, được phẩm này bao gồm ít nhất một phân tử gắn kết đặc hiệu hoặc đoạn của nó, có nguồn gốc từ hệ miễn dịch thích ứng của động vật, trong đó phân tử gắn kết đặc hiệu này được chọn từ globulin miễn dịch, kháng thể, peptit, thụ thể tế bào lympho biến đổi, yếu tố chuyển hoặc hỗn hợp của chúng; và cơ chất mang bao gồm từ hai thành phần trở lên của hệ miễn dịch bẩm sinh của động có vú không phải là người, trong đó cơ chất này có thể được chọn từ, hoặc có nguồn gốc từ các thành phần của, sữa non, sữa, huyết thanh, huyết tương, nước bọt, dịch bạch huyết, dịch nhầy hoặc dịch nước mắt; trong đó cơ chất và phân tử gắn kết đặc hiệu có nguồn gốc từ các loài khác nhau.

Theo một phương án được ưu tiên, cơ chất mang bao gồm sữa non của bò. Theo một phương án khác, cơ chất này bao gồm các thành phần của hệ miễn dịch bẩm sinh mà được chọn từ lysozym, phospholipaza, defensin, opsonin, các thành phần của hệ bổ thể, beta-lysin, peptit giàu protein (PRP), (PRPs), lactoferin, transferin, xytokin, intolokin, chemokin, interferon, TNF-alpha, fibronectin, bạch cầu, bạch huyết bào, thực bào, đại thực bào, bạch cầu đơn nhân to, bạch cầu trung tính, tế bào nhân đa hình, tế bào đuôi gai, tế bào mast, bạch cầu ưa eosin, bạch cầu ưa kiềm, tế bào giết tự nhiên (NK), tế bào giết được hoạt hóa bởi lymphokin (lymphokine activated killer-LAK), defensin, elastaza, cathepsin G, myeloperoxidaza và NADPH oxidaza.

Theo các phương án khác nhau, được phẩm chứa chất mang được dùng. Theo các phương án khác, được phẩm chứa chất mang loại dùng trong thực phẩm. Theo các phương án, được phẩm có thể được sử dụng thông qua việc phân phối qua đường miệng, phân phối qua mũi, phân phối qua mắt hoặc các dạng kết hợp của chúng.

Theo các phương án khác, được phẩm không chứa polyme, copolyme, liposom, hydrogel hoặc fibrin được bổ sung ngoại sinh. Theo các phương án khác, được phẩm không chứa các vi cầu hoặc vi nang. Theo một phương án khác nữa, được phẩm không chứa kháng nguyên được bổ sung ngoại sinh.

Theo một phương án khác, các phân tử gắn kết đặc hiệu gắn kết một cách đặc hiệu với tác nhân gây bệnh, độc tố liên quan đến tác nhân gây bệnh, phân tử

bám dính liên quan đến tác nhân gây bệnh, chúng không mong muốn hoặc dạng kết hợp của chúng. Theo một khía cạnh, tác nhân gây bệnh bao gồm tác nhân gây bệnh đường ruột hoặc dạ dày-ruột cho người hoặc thú y, gây bệnh viêm dạ dày-ruột.

Theo các khía cạnh khác nhau, tác nhân gây bệnh hoặc chúng không mong muốn được chọn từ nhóm bao gồm: *Campylobacter jejuni*, *Salmonella*, *Salmonella enterica* serovar *Typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Plesiomonas shigelloides*, *Escherichia coli* [kể cả *E. coli* gây bệnh đường ruột (EPEC), *E. coli* sinh độc tố đường ruột (ETEC), *E. coli* gây kết dính ruột (EaggEC), *E. coli* xâm lấn đường ruột (EIEC) và *E. coli* gây xuất huyết đường ruột (EHEC)], *Clostridium difficile*, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio cholerae* O1, *Vibrio* O139, Non-O1 *Vibrios*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Aeromonas hydrophila*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile*, *Helicobacter* gây bệnh ruột-gan (kể cả *Helicobacter pylori*), *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella*, rotavirut, coronavirut, norovirut, calicivirut, adenovirut đường ruột, cytomegalovirut, astrovirut, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, virut gây bệnh zona, *Fusarium* spp. và *Acanthamoeba* spp.

Theo một khía cạnh cụ thể, độc tố liên quan đến tác nhân gây bệnh bao gồm nội độc tố và ngoại độc tố.

Theo một khía cạnh cụ thể khác, phần tử bám dính liên quan đến tác nhân gây bệnh bao gồm adhesin, cadherin, nhung mao, tua viền, cấu trúc bám dính virut hoặc dạng kết hợp của chúng.

Theo các phương án khác, dược phẩm được sử dụng qua đường miệng với lượng hữu hiệu để điều trị hoặc phòng ngừa bệnh tiêu chảy không phân biệt được, tiêu chảy khi đi du lịch, tiêu chảy do rotavirut, tiêu chảy do độc tố gây ra, bệnh tả, bệnh nhiễm *C. difficile*, kiết lỵ, sốt thương hàn, loét hệ tiêu hóa hoặc để kiểm soát hệ vi sinh dạ dày-ruột. Theo một khía cạnh khác, lượng hữu hiệu của dược phẩm tạo ra sự miễn dịch thụ động cho đối tượng.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất phương pháp bào chế dược phẩm theo sáng chế theo các bước (a) thu từ động vật ít nhất một phân tử gắn kết đặc hiệu hoặc đoạn của nó mà gắn kết với kháng nguyên đặc hiệu, trong đó phân tử gắn kết đặc hiệu được chọn từ globulin miễn dịch, kháng thể, peptit, thụ thể tế bào lympho biến đổi, yếu tố chuyển và hỗn hợp của chúng; (b) thu ít nhất một cơ chất

mang, chứa ít nhất hai thành phần thu được từ động vật không phải là người được chọn từ nhóm bao gồm enzym, lactoferin, transferin, globulin miễn dịch không đặc hiệu, xytokin, bạch huyết bào, các thành phần bổ thể, interferon và fibronectin; (c) bào chế cơ chất mang ở dạng rắn và phân tử gắn kết đặc hiệu hoặc đoạn của nó ở dạng rắn; và (d) trộn dạng rắn của cơ chất mang với dạng rắn của phân tử gắn kết đặc hiệu hoặc đoạn của nó .

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất phương pháp bào chế được phẩm tạo ra tính miễn dịch. Phương pháp này bao gồm (a) việc thu ít nhất một yếu tố miễn dịch được nhắm đến một cách đặc hiệu có nguồn ngoại sinh; (b) bào chế dạng bột chứa ít nhất một yếu tố miễn dịch được nhắm đến một cách đặc hiệu có nguồn ngoại sinh; (c) thu ít nhất một cơ chất mang có nguồn ngoại sinh, tùy ý trộn chất mang có nguồn ngoại sinh này với hỗn hợp gồm các chất để mang và tương tác với yếu tố miễn dịch được nhắm đến một cách đặc hiệu có nguồn ngoại sinh; (d) bào chế dạng bột chứa ít nhất một cơ chất mang có nguồn ngoại sinh; và (e) trộn dạng bột thu được ở bước (b) với dạng bột thu được ở bước (d), nhờ đó thu được được phẩm tạo ra miễn dịch thụ động. Theo một khía cạnh, được phẩm tạo ra miễn dịch thụ động bao gồm chế phẩm được kiểm soát liều. Theo các khía cạnh khác nhau, được phẩm tạo ra miễn dịch thụ động bao gồm chất mang được dụng. Theo các khía cạnh, được phẩm tạo ra miễn dịch thụ động không bao gồm polyme, copolyme, liposom, hydrogel hoặc fibrin. Theo các khía cạnh khác, được phẩm tạo ra miễn dịch thụ động không bao gồm vi cầu hoặc vi nang. Theo các khía cạnh khác, được phẩm tạo ra miễn dịch thụ động không bao gồm chất sinh miễn dịch hoặc kháng nguyên.

Sáng chế bao gồm ít nhất một trong số các thuộc tính khác biệt sau đây: (a) cho phép thiết kết tùy chỉnh cơ chất, các yếu tố đặc hiệu và các trường hợp hoạt hóa các bệnh được chỉ ra hoặc bệnh được nhắm tới; (b) cho phép bào chế chế phẩm được kiểm soát liều chứa nhiều hỗn hợp các thành phần, mà có thể được làm phù hợp hoặc điều chỉnh để có tác dụng; (c) cho phép bào chế chế phẩm được kiểm soát liều mà tạo ra các hợp phần cụ thể vượt quá các mức sinh lý thông thường có thể đạt được trong các hệ tự nhiên; (d) sử dụng các tương tác nhiều đường nhiều thành phần phức hợp để tạo ra hiệu quả toàn thân để cạnh tranh với đáp ứng của hệ miễn

dịch tự nhiên; (e) cho phép tạo ra đáp ứng miễn dịch thụ động được tạo điều kiện trước hoặc được tăng cường mà có thể được sử dụng ở trạng thái được tăng cường của nó và sau đó, được hoạt hóa nhờ sự có mặt của các tác nhân gây bệnh đích, độc tố, tình trạng bệnh lý hoặc hội chứng; (f) cho phép tạo ra các chế phẩm có tính đặc hiệu xác định hoặc hiệu quả phổ rộng, để đáp ứng nhu cầu về hội chứng hoặc tình trạng bệnh lý đích cụ thể hoặc về môi trường thực hiện mà trong đó sản phẩm sẽ được sử dụng; và (g) cho phép tạo ra các chế phẩm mà có thể được nhắm đến để phòng ngừa cũng như can thiệp điều trị.

Theo một khía cạnh khác, bằng cách điều chỉnh lượng các phân tử gắn kết đặc hiệu, như các kháng thể đa dòng, trong dược phẩm, thì có thể bào chế chế phẩm được kiểm soát liều.

Theo một phương án được ưu tiên, ít nhất một phân tử gắn kết đặc hiệu bao gồm IgY có nguồn gốc từ gà được gây miễn dịch. Theo các khía cạnh cụ thể khác, IgY bao gồm một nhóm IgY đặc hiệu với ít nhất là *E. coli* spp. sinh độc tố đường ruột, yếu tố bám dính nhung mao *E. coli* K99, *Clostridium perfringens* toxoid, *Salmonella typhimurium*, rotavirut và coronavirut.

Theo một phương án khác, dược phẩm được dùng khu trú ở niêm mạc.

Theo một phương án khác, tác nhân gây bệnh bao gồm tác nhân gây bệnh gây ra bệnh viêm âm đạo. Theo các khía cạnh khác, tác nhân gây bệnh được chọn từ nhóm bao gồm: *Gardnerella* spp., *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydiae trachomatis*, *Mycoplasma* spp., *Campylobacter jejuni*, *Trichomonas vaginalis*, virut hecpet typ 1, virut hecpet typ 2, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* và *Candida krusei*.

Theo một phương án khác, tác nhân gây bệnh là vi khuẩn *Streptococcus* nhóm A.

Theo một phương án khác, tác nhân gây bệnh bao gồm tác nhân gây bệnh gây viêm kết mạc được chọn từ nhóm bao gồm *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, adenovirut, hecpet đơn dạng, virut gây bệnh zona, enterovirut, *Fusarium* spp, *Candida* spp. và *Acanthamoeba* spp.

Theo một phương án khác, các dược phẩm theo sáng chế là hữu ích làm các chế phẩm dinh dưỡng để sử dụng cho đối tượng cần đến chế phẩm này, người mà mắc một bệnh nào đó tạo ra nhu cầu về chế độ ăn đặc biệt như bệnh tiêu chảy ở trẻ, bệnh Crohn và viêm loét ruột kết.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1 thể hiện tần suất đi đại tiện trung bình hằng ngày trong khoảng thời gian năm ngày đối với hai nhóm thử nghiệm trên người bệnh so với đối chứng âm tính đối với dược phẩm ở ví dụ 1A. Trong thử nghiệm 1 ($n = 29$) và thử nghiệm 2 ($n = 31$), dược phẩm ở ví dụ 1A được dùng một lần hằng ngày trong ba ngày với kháng sinh và các muối bù nước qua đường miệng (ORS). Trong nhóm đối chứng âm tính ($n = 28$), chỉ có kháng sinh và ORS được dùng mà không dùng dược phẩm theo sáng chế.

Fig. 2 thể hiện độ sệt của phân trung bình hằng ngày theo thang điểm từ 1 đến 5 (1 = bình thường và 5 = lỏng) trong cùng khoảng thời gian năm ngày đối với ba nhóm tương tự từ Fig. 1.

Fig. 3 thể hiện tình trạng sức khỏe trung bình được đánh giá bởi bác sỹ theo thang điểm từ 1 đến 5 (1 = bình thường và 5 = ốm nặng) trong cùng khoảng thời gian năm ngày đối với ba nhóm tương tự từ Fig. 1.

Fig. 4 thể hiện tần suất đi đại tiện trung bình hằng ngày trong khoảng thời gian năm ngày đối với ba nhóm thử nghiệm nghiên cứu trên người bệnh (thử nghiệm). Các thử nghiệm 1 và 2 và đối chứng âm tính, là như được mô tả trong Fig. 1. Trong thử nghiệm 3 ($n = 140$), người bệnh được cho dùng dược phẩm ở ví dụ 1B với thuốc kháng sinh và ORS.

Fig. 5 thể hiện độ sệt của phân trung bình hằng ngày theo thang điểm từ 1 đến 5 (1 = bình thường và 5 = lỏng) trong cùng khoảng thời gian năm ngày đối với bốn nhóm tương tự từ Fig. 4.

Fig. 6 thể hiện tình trạng sức khỏe trung bình được đánh giá bởi bác sỹ theo thang điểm từ 1 đến 5 (1 = bình thường và 5 = ốm nặng) trong cùng khoảng thời gian năm ngày đối với bốn nhóm tương tự từ Fig. 1.

Fig. 7 thể hiện tần suất đi đại tiện trung bình hằng ngày trong khoảng thời gian năm ngày đối với các thử nghiệm 1 và 2, đối chứng âm tính, Thử nghiệm 3 được

phân chia thành 6 nhóm nhỏ (ES204A): 2g trứng được sấy phun với 4g sữa non được dùng trong 3 ngày; (ES204B): 2g trứng được sấy phun với 4g sữa non được dùng trong 2 ngày; (MT204A) 2g trứng được sấy nhiệt với 4g sữa non được dùng trong 3 ngày; (MT304A) 3g trứng được sấy nhiệt với 4g sữa non được dùng trong 3 ngày; (MS204A) 2g trứng được sấy phun bằng 4g sữa non được dùng trong 3 ngày; (MS304A) 3g trứng được sấy phun với 4g sữa non được dùng trong 3 ngày.

Fig. 8 thể hiện độ sệt của phân trung bình hằng ngày theo thang điểm từ 1 đến 5 (1=bình thường và 5 = lỏng) trong cùng khoảng thời gian năm ngày đối với các nhóm tương tự từ Fig. 7.

Fig. 9 thể hiện tình trạng sức khỏe trung bình được đánh giá bởi bác sỹ theo thang điểm từ 1 đến 5 (1 = bình thường và 5 = ốm nặng) trong cùng khoảng thời gian năm ngày đối với các nhóm tương tự từ Fig. 7.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các định nghĩa

Thuật ngữ "sự phòng ngừa", "phòng ngừa", "việc phòng ngừa", "phép phòng bệnh" và như được sử dụng trong bản mô tả này chỉ quá trình tác động (như việc dùng hợp chất hoặc được phẩm theo sáng chế) được bắt đầu trước khi khởi phát biểu hiện lâm sàng của tình trạng bệnh hoặc tình trạng bệnh lý để phòng ngừa hoặc làm giảm biểu hiện lâm sàng của tình trạng bệnh hoặc tình trạng bệnh lý. Việc phòng ngừa và ngăn chặn này không cần phải hoàn toàn là hữu ích.

Thuật ngữ "sự điều trị", "điều trị" và "việc điều trị" như được sử dụng trong bản mô tả này chỉ quá trình tác động (như việc dùng hợp chất hoặc được phẩm) được bắt đầu sau khi khởi phát biểu hiện lâm sàng của tình trạng bệnh hoặc tình trạng bệnh lý để loại bỏ hoặc làm giảm biểu hiện lâm sàng của tình trạng bệnh hoặc tình trạng bệnh lý. Việc điều trị này không cần phải hoàn toàn là hữu ích.

Thuật ngữ "cần điều trị" như được sử dụng trong bản mô tả này chỉ sự đánh giá được đưa ra bởi điều dưỡng viên mà người bệnh cần hoặc sẽ được lợi từ việc điều trị. Đánh giá này được đưa ra dựa trên một loạt yếu tố thuộc lĩnh vực chuyên môn của điều dưỡng viên, nhưng bao gồm sự biểu biết rằng người bệnh bị ốm hoặc sẽ bị ốm, do tình trạng bệnh mà có thể điều trị bằng phương pháp, hợp chất hoặc được phẩm theo sáng chế.

Thuật ngữ "cần phòng ngừa" như được sử dụng trong bản mô tả này chỉ sự đánh giá được đưa ra bởi điều dưỡng viên mà người bệnh cần hoặc sẽ được lợi từ việc phòng ngừa. Sự đánh giá này được dựa trên một loạt yếu tố thuộc lĩnh vực chuyên môn của điều dưỡng viên, nhưng bao gồm sự hiểu biết rằng người bệnh sẽ bị ốm hoặc trở nên bị ốm, do tình trạng bệnh lý mà có thể phòng ngừa bằng phương pháp, hợp chất hoặc dược phẩm theo sáng chế.

Thuật ngữ "cá thể", "đối tượng" hoặc "người bệnh" như được sử dụng trong bản mô tả này chỉ động vật bất kỳ, bao gồm chim hoặc động vật có vú, như chuột, chuột Na Uy, chuột bông, chuột nhảy, chuột lang, chuột đồng, các loài gặm nhấm khác, thỏ, chó, mèo, lợn, gia súc, cừu, dê, ngựa hoặc động vật linh trưởng và người. Thuật ngữ này có thể chỉ rõ giống đực hoặc giống cái hoặc cả hai hoặc loại trừ giống đực hoặc giống cái. Theo một khía cạnh, người bệnh là người trưởng thành. Theo một khía cạnh khác, người bệnh là trẻ nhỏ không phải trẻ sơ sinh. Theo một khía cạnh khác, người bệnh là trẻ mới biết đi, trẻ em hoặc thanh thiếu niên.

Thuật ngữ "sơ sinh", hoặc mới sinh, chỉ trẻ nhỏ trong 28 ngày đầu tiên sau khi sinh. Thuật ngữ "không phải sơ sinh" chỉ động vật hơn 28 ngày tuổi.

Thuật ngữ "lượng hữu hiệu" như được sử dụng trong bản mô tả này chỉ lượng của chất, riêng rẽ hoặc trong vai trò là một phần của dược phẩm, có khả năng có tác động tích cực có thể phát hiện bất kỳ đối với triệu chứng, khía cạnh hoặc các đặc tính của trạng thái bệnh hoặc tình trạng bệnh lý bất kỳ. Tác động này không cần phải hoàn toàn là có lợi.

Thuật ngữ "bao gồm" như được sử dụng trong bản mô tả này có phạm vi không bị giới hạn, sao cho các yếu tố bổ sung được dự liệu là có thể có, ngoài những thành phần đã được liệt kê ra; thuật ngữ này có thể được hiểu trong trường hợp bất kỳ là "bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở" .

Thuật ngữ "gây miễn dịch", "gây miễn dịch chủ động", "việc gây miễn dịch chủ động" và "sự gây miễn dịch chủ động" có nghĩa là gây miễn dịch có mục đích cho đối tượng bằng cách cho đối tượng tiếp xúc với kháng nguyên, ví dụ, kháng nguyên có nguồn gốc từ vi sinh vật, như nhưng không chỉ giới hạn ở, virus hoặc vi khuẩn; việc tiếp xúc này có thể được thực hiện bằng cách cho đối tượng tiếp xúc với

sinh vật nguyên vẹn, sinh vật được làm giảm tính độc, một phần sinh vật, một hoặc nhiều kháng nguyên có mặt ở sinh vật hoặc dạng kết hợp của chúng.

Thuật ngữ "gây miễn dịch thụ động", "việc gây miễn dịch thụ động" và "sự gây miễn dịch thụ động" có nghĩa là tạo ra các kháng thể kháng lại kháng nguyên, ví dụ, kháng nguyên có nguồn gốc từ vi sinh vật, như, nhưng không chỉ giới hạn ở, virus hoặc vi khuẩn, cho đối tượng mà không cần phải tạo ra đáp ứng miễn dịch đối với sinh vật ở đối tượng. Việc gây miễn dịch thụ động tạo ra sự bảo vệ ngay lập tức nhưng kết quả là đối tượng không phát triển các tế bào nhớ.

Thuật ngữ "miễn dịch thụ động" như được sử dụng trong bản mô tả này đề cập đến sự miễn dịch đạt được một cách nhân tạo bằng cách chuyển các kháng thể vào đối tượng. Thuật ngữ "trứng" hoặc "sản phẩm trứng" thì mỗi thuật ngữ có nghĩa là trứng có vỏ nguyên vẹn có nguồn gốc từ loài chim (thông thường, được gây miễn dịch hoặc theo cách khác) hoặc sản phẩm hoặc phần bất kỳ có nguồn gốc từ trứng.

Thuật ngữ "trứng miễn dịch" hoặc "sản phẩm trứng miễn dịch" mỗi thuật ngữ có nghĩa là trứng nguyên vẹn hoặc sản phẩm hoặc phần bất kỳ có nguồn gốc từ trứng, thu được từ động vật đẻ trứng được nuôi ở trạng thái được gây miễn dịch.

Thuật ngữ "kháng nguyên" đề cập đến kháng nguyên hoặc đoạn của nó mà có thể gây ra đáp ứng miễn dịch ở sinh vật, cụ thể là động vật. Thuật ngữ này bao gồm chất sinh miễn dịch và các vùng của nó chịu trách nhiệm về tính kháng nguyên hoặc quyết định kháng nguyên.

Thuật ngữ "kháng thể đa dòng" chỉ các kháng thể là quần thể khác nguồn gốc của phân tử kháng thể có nguồn gốc từ huyết thanh của động vật được gây miễn dịch bằng kháng nguyên hoặc một dẫn xuất có chức năng kháng nguyên của nó. Để tạo ra các kháng thể đa dòng, các động vật chủ khác nhau có thể được gây miễn dịch bằng cách tiêm bằng kháng nguyên. Các tá được khác nhau có thể được sử dụng để làm tăng đáp ứng miễn dịch, tùy thuộc vào các loài động vật chủ.

Thuật ngữ "kháng thể đơn dòng" là đã biết rõ trong lĩnh vực này và chỉ kháng thể mà được sản xuất với khối lượng lớn trong phòng thí nghiệm từ một dòng và chỉ nhận diện một kháng nguyên. Các kháng thể đơn dòng thường được tạo ra bằng cách dung hợp tế bào B tạo ra kháng nguyên có vòng đời ngắn thông thường với tế bào sinh trưởng nhanh, như tế bào ung thư (đôi khi được gọi là tế bào "bất

tử"). Tế bào lai hoặc thể lai thu được, nhân lên một cách nhanh chóng, tạo ra dòng có chức năng sản xuất số lượng lớn kháng thể. "Các kháng thể đơn dòng" về cơ bản là quần thể kháng thể có cùng nguồn gốc hướng đến kháng nguyên hoặc epitop cụ thể. Các kháng thể đơn dòng có thể thu được bằng kỹ thuật bất kỳ được đưa ra để sản xuất các phân tử kháng thể bằng các dòng tế bào liên tục trong môi trường nuôi cấy. Có thể thu được các kháng thể đơn dòng bằng các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Xem, ví dụ, Kohler, et al., Nature 256:495-497, 1975 và patent Mỹ số 4,376,110.

Thuật ngữ "tinh thể" chỉ kháng thể, như kháng thể đơn dòng mà đã được tinh chế bằng quá trình kết tinh, như bằng quá trình kết tinh theo mẻ. Có thể sử dụng các kháng thể dạng tinh thể để tạo ra các dạng cô đặc ở mức cao với thể tích nhỏ. (Yang et al., 2003, Crystalline antibodies for subcutaneous delivery. PNAS 100(12):6934-6939).

Thuật ngữ "bệnh tiêu chảy không phân biệt được" có nghĩa là tác nhân gây bệnh tiêu chảy chưa được chẩn đoán.

Thuật ngữ "đoạn kháng thể" bao gồm protein tổng hợp hoặc được thao tác di truyền bất kỳ mà hoạt động tương tự kháng thể bằng cách gắn kết với kháng nguyên đặc hiệu để tạo thành phức hợp. Ví dụ, các đoạn kháng thể bao gồm các đoạn được phân lập, các đoạn "Fv" bao gồm các vùng biến đổi của các chuỗi nặng và nhẹ, các phân tử polypeptit chuỗi đơn tái tổ hợp trong đó các vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và nặng được nối bởi cầu nối peptit ("protein scFv") và các đơn vị nhận diện nhỏ nhất bao gồm các gốc axit amin có chức năng mô phỏng vùng siêu biến. Các đoạn kháng thể bao gồm một phần của kháng thể như F(ab')₂, F(ab)₂, Fab', Fab, Fv, sFv và các đoạn tương tự. Bất kể cấu trúc thể nào, đoạn kháng thể gắn kết với cùng một kháng nguyên mà được nhận diện bởi kháng thể nguyên vẹn.

Thuật ngữ "yếu tố chuyển" chỉ phân tử miễn dịch có khối lượng phân tử khoảng 5000 Dalton, cấu thành từ các axit amin, có chức năng gây ra miễn dịch qua trung gian tế bào đặc hiệu kháng nguyên, tính quá mẫn muộn chủ yếu và quá trình tạo ra lymphokin, cũng như gắn kết với chính kháng nguyên. (Kirkpatrick 1993, Structural nature and functions of transfer factors. Ann. N.Y. Acad. Sci. 685:362-368.)

Thuật ngữ “các thụ thể tế bào lympho biến đổi” chỉ các phân tử có nguồn gốc từ tế bào lympho được phát hiện ở động vật có xương sống không hàm như cá miệng tròn và cá mút đá. Các động vật này có hệ các thụ thể tế bào lympho biến đổi lớn mà được tạo ra chỉ từ một số lượng nhỏ các gen và gắn kết với các kháng nguyên gây bệnh theo cách tương tự với kháng thể và với cùng một mức đặc hiệu. (Alder et al., 2005, Diversity and function of adaptive immune receptors in a jawless vertebrate. *Science*, 310(5756):1970-1973).

Thuật ngữ “thụ thể tế bào” chỉ gốc gắn kết với phối tử của thụ thể tế bào B; phân tử globulin miễn dịch gắn kết màng của một isotyp (ví dụ, IgD, IgM, IgE). Không kể đến sự có mặt của miền xuyên màng, các phân tử này giống với các dạng được tiết ra của chúng.

Thuật ngữ “gắn kết đặc hiệu” trong văn cảnh về các đặc tính của các phân tử gắn kết đặc hiệu, còn được gọi là các yếu tố miễn dịch được nhắm đến đặc hiệu, như kháng thể, đoạn kháng thể, thụ thể tế bào lympho biến đổi hoặc yếu tố chuyển, chỉ khả năng ưu tiên gắn kết vào kháng nguyên cụ thể mà có mặt trong hỗn hợp đồng nhất gồm các kháng nguyên khác nhau. Theo các phương án nhất định, sự tương tác gắn kết đặc hiệu sẽ phân biệt giữa các kháng nguyên mong muốn và không mong muốn (ví dụ, các kháng nguyên “đích” và “không đích”) trong mẫu, theo một số phương án, lớn hơn khoảng từ 10 đến 100 lần hoặc lớn hơn nữa (ví dụ, lớn hơn khoảng 1000 hoặc 10.000 lần). Theo một số phương án, phân tử gắn kết đặc hiệu có thể gắn kết đặc hiệu với epitop có chung giữa các loài hoặc các chủng vi sinh vật khác nhau so với các epitop không có chung. Theo các phương án nhất định, ái lực giữa kháng thể và kháng nguyên khi chúng được gắn kết đặc hiệu trong phức hợp kháng thể-kháng nguyên được đặc trưng bởi K_D (hằng số phân ly) nhỏ hơn $10^{-6}M$, nhỏ hơn $10^{-7}M$, nhỏ hơn $10^{-8}M$, nhỏ hơn $10^{-9}M$, nhỏ hơn $10^{-10}M$, nhỏ hơn $10^{-11}M$ hoặc nhỏ hơn khoảng $10^{-12}M$ hoặc nhỏ hơn nữa.

Thuật ngữ “hệ miễn dịch bẩm sinh” hoặc hệ miễn dịch không đặc hiệu, chỉ các tế bào, các thành phần phân tử và các cơ chế mà bảo vệ vật chủ khỏi bị lây nhiễm bởi các sinh vật khác theo cách không đặc hiệu. Các tế bào và thành phần phân tử của hệ miễn dịch bẩm sinh nhận diện và đáp ứng với tác nhân gây bệnh theo cách chung, nhưng khác với hệ miễn dịch thích ứng, nó không tạo ra miễn dịch

kéo dài hoặc miễn dịch có tính bảo vệ cho đối tượng. Hệ miễn dịch bẩm sinh tạo ra sự bảo vệ ngay tức thì chống lại sự lây nhiễm. Động vật có xương sống có lớp bảo vệ thứ hai, hệ miễn dịch thích ứng, hệ miễn dịch này được hoạt hóa bởi đáp ứng bẩm sinh.

Thuật ngữ "hệ miễn dịch thích ứng" chỉ các tế bào và quy trình hệ thống có tính chuyên biệt ở mức cao có chức năng nhận diện và đáp ứng với kháng nguyên, ví dụ, để loại bỏ, làm trung hòa hoặc ngăn ngừa sự sinh trưởng của tác nhân gây bệnh. Hệ thống này có khả năng thích ứng ở mức cao nhờ siêu đột biến cơ thể (quy trình đột biến cơ thể được gia tăng) và tái tổ hợp V(D)J (tái tổ hợp di truyền không thuận nghịch của các đoạn gen của thụ thể kháng nguyên). Miễn dịch thích ứng cũng được gọi là miễn dịch đạt được và tạo ra đáp ứng nhớ miễn dịch. Đáp ứng miễn dịch thích ứng là có tính đặc hiệu với tác nhân gây bệnh và với kháng nguyên và có thời gian trễ giữa đáp ứng lúc tiếp xúc và đáp ứng tối đa. Đáp ứng miễn dịch thích ứng dựa trên nguyên tắc nhận biết dòng, sao cho ngay lần tiếp xúc thứ nhất với kháng nguyên, tế bào lympho được môi biệt hóa thành tế bào hiệu ứng miễn dịch hoặc tạo thành tập hợp tế bào nhớ mở rộng mà đáp ứng với sự tiếp xúc lần thứ hai với cùng một kháng nguyên bằng cách làm tăng đáp ứng được khuếch đại và nhanh chóng hơn.

Thuật ngữ "động vật" chỉ định nghĩa về giới động vật.

Tất cả các đại từ dự định nêu ra nghĩa rộng nhất của chúng. Trừ phi được quy định khác, các đại từ giống cái bao gồm giống đực, đại từ giống đực bao gồm giống cái, đại từ số ít bao gồm số nhiều và đại từ số nhiều bao gồm số ít.

Các khoảng số như được sử dụng trong bản mô tả này nhằm bao gồm mỗi số và tập hợp con gồm các con số được chứa trong khoảng đó, dù có được bộc lộ một cách cụ thể hay không. Ngoài ra, các khoảng số này cần phải hiểu là tạo ra cơ sở cho yêu cầu hướng đến số hoặc tập hợp con gồm các con số bất kỳ trong khoảng đó. Ví dụ, cần phải hiểu khoảng mô tả nằm trong khoảng từ 1 đến 10 nên được hiểu là bao gồm các khoảng từ 2 đến 8, từ 3 đến 7, từ 5 đến 6, từ 1 đến 9, từ 3,6 đến 4,6, từ 3,5 đến 9,9 và v.v.

Tất cả các patent, công bố patent và các công bố được xem xét tương đương (nghĩa là, "tham khảo") được trích dẫn trong bản mô tả này được nêu ra một cách rõ

ràng nhằm mục đích tham khảo đến cùng một mức độ như thể mỗi tài liệu tham khảo riêng rẽ được nêu ra một cách cụ thể và riêng biệt là được nêu ra ở đây nhằm mục đích tham khảo. Trong trường hợp xung đột giữa sáng chế và tài liệu tham khảo được đưa vào đây, thì sáng chế sẽ chiếm ưu thế hơn.

Phương thức thực hiện sáng chế

Sáng chế đề xuất được phẩm và phương pháp hữu ích trong việc kiểm soát các chủng hoặc các vi sinh vật gây bệnh không mong muốn.

Theo một phương án, sáng chế dựa trên phương pháp bào chế chế phẩm trên cơ sở kháng nguyên hướng đích được bao gồm trong hoặc được đưa vào cơ chất mang, trong đó các kháng thể sử dụng dạng được kiểm soát có khả năng phản ứng chéo với nhiều kháng nguyên đích có liên quan và trong đó cơ chất mang chứa chất nền và các đồng yếu tố có tác dụng làm tăng hiệu quả của kháng thể. Lợi ích của các chế phẩm chứa kháng thể/cơ chất này có thể bao gồm các can thiệp điều trị bệnh phổ rộng trong các điều kiện mà trong đó nhóm tác nhân gây bệnh, nhưng không phải là tác nhân gây bệnh chính xác hoặc cụ thể đã được biết đến hoặc nghi ngờ hoặc trong các trường hợp mà trong đó nhiều (hỗn hợp) tác nhân gây bệnh hoạt động.

Một phương pháp mới để sử dụng các kháng thể theo cách này đã được phát triển, phương pháp này tận dụng cả tính đặc hiệu và thuộc tính phản ứng chéo của các kháng thể và sau đó, còn sử dụng các hợp phần trong cơ chất mang để tạo ra đáp ứng miễn dịch tại chỗ đa hợp phần. Theo phương án này, các kháng thể được thiết kế để gắn kết với tất cả trong số vài epitop liên quan chặt chẽ tiêu biểu cho cụm kháng nguyên có liên quan về mặt cấu trúc. Các kháng nguyên này có thể khác nhau một cách rõ rệt theo các khía cạnh khác và có thể bắt nguồn từ các nguồn, sinh vật hoặc các loài khác nhau.

Theo một phương án, sáng chế bao gồm phương pháp sử dụng các phân tử gắn kết đặc hiệu (các yếu tố miễn dịch, ví dụ, kháng thể), trong cơ chất mang, trong đó phân tử gắn kết đặc hiệu có tính đặc hiệu với cụm kháng nguyên có liên quan và phản ứng chéo một cách đặc hiệu trong các trường hợp khác nhau của các thành viên của nhóm đó. Có một mức độ tương tự về mặt cấu trúc trong các cụm kháng nguyên đích có liên quan, mà không quan tâm đến sinh vật hoặc tác nhân gây bệnh

là nguồn kháng nguyên. Tính tương tự về cấu trúc có thể dẫn đến hiện tượng đã biết là “khả năng phản ứng chéo” (gắn kết không gian của phân tử có tính phản ứng vào kháng nguyên khác với kháng nguyên được dự định). Khả năng phản ứng chéo thường là không định trước được và trong hầu hết các trường hợp được cho là nguồn gốc của lỗi và của tính không đặc hiệu. Tuy nhiên, theo phương án này, phạm vi và mức độ phản ứng chéo được kiểm soát bằng nhiều phương tiện khác nhau để giới hạn và hướng vào sự biểu hiện của nó để tạo ra các đặc điểm mong muốn.

Việc điều trị này tạo ra miễn dịch thụ động cho người bệnh. Bản chất của việc điều trị này là làm cho các yếu tố nguy cơ đi kèm có thể so sánh với các yếu tố ăn thức ăn từ nguồn trong đó các kháng thể được thu hoạch (ví dụ, các yếu tố nguy cơ có thể tương tự với các yếu tố của việc ăn trứng và uống một cốc sữa). Đây là quá trình điều trị hiệu quả với độ độc thấp hơn so với các can thiệp khác có sẵn hiện nay.

Sáng chế dựa trên phát hiện có tính đột phá rằng có thể sử dụng cơ chất mang có nguồn ngoại sinh (chứa các thành phần thu được từ động vật khác với động vật sẽ được điều trị) kết hợp với các yếu tố miễn dịch được nhắm đến đặc hiệu (thu được hoặc tương ứng với các yếu tố miễn dịch thu được từ động vật khác với động vật sẽ được điều trị) để vận chuyển và đưa miễn dịch đa tham số hiệu quả vào đối tượng cần điều trị này.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất được phẩm chứa: a) một lượng hữu hiệu đối với người không phải trẻ sơ sinh của ít nhất một phân tử gắn kết đặc hiệu hoặc đoạn của nó thu được từ động vật và gắn kết đặc hiệu với kháng nguyên, trong đó phân tử gắn kết đặc hiệu được chọn từ globulin miễn dịch, kháng thể, peptit, thụ thể tế bào lympho biến đổi, yếu tố chuyển và hỗn hợp của chúng; và b) cơ chất mang bao gồm ít nhất hai hợp phần thu được từ động vật không phải người được chọn từ nhóm bao gồm enzym, lactoferin, transferin, globulin miễn dịch không đặc hiệu, xytokin, bạch huyết bào, các thành phần bổ thể, interferon và fibronectin, trong đó ít nhất một phân tử gắn kết đặc hiệu và ít nhất hai thành phần chất mang thu được từ các động vật khác nhau.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp bào chế dược phẩm chứa (a) việc thu ít nhất một phân tử gắn kết đặc hiệu hoặc đoạn của nó từ động vật mà gắn kết với kháng nguyên đặc hiệu, trong đó phân tử gắn kết đặc hiệu được chọn từ globulin miễn dịch, kháng thể, peptit, thụ thể tế bào lympho biến đổi, yếu tố chuyển và hỗn hợp của chúng; (b) thu ít nhất một cơ chất mang, bao gồm ít nhất hai hợp phần thu được từ động vật không phải người được chọn từ nhóm bao gồm enzym, lactoferin, transferin, globulin miễn dịch không đặc hiệu, xytokin, bạch huyết bào, các thành phần bổ thể, interferon và fibronectin; (c) tạo ra dạng rắn gồm cơ chất mang và phân tử gắn kết đặc hiệu hoặc đoạn của nó; và (d) trộn dạng rắn của cơ chất mang với dạng rắn của phân tử gắn kết đặc hiệu hoặc đoạn của nó.

Theo một khía cạnh khác nữa, các dược phẩm theo sáng chế là hữu ích trong việc điều trị hoặc phòng ngừa lây nhiễm vi sinh vật. Theo các phương án, lây nhiễm vi sinh vật bao gồm các lây nhiễm do *Campylobacter jejuni*, *Salmonella*, *Salmonella enterica serovar Typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Plesiomonas shigelloides*, *Escherichia coli*, *E. coli* gây bệnh đường ruột, *E. coli* sinh độc tố đường ruột, *E. coli* gây kết dính ruột, *E. coli* xâm lấn đường ruột, *E. coli* gây xuất huyết, *Clostridium difficile*, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio cholerae* O1, *Vibrio* O139, Non-O1 *Vibrios*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Aeromonas hydrophila*, *Clostridium perfringens*, *Helicobacter* gây bệnh ruột-gan, *Helicobacter pylori*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella*, rotavirut, coronavirut, norovirut, calicivirut, adenovirut đường ruột, cytomegalovirut và astrovirut gây ra. Theo các phương án, các dược phẩm là hữu ích để điều trị hoặc phòng ngừa các tình trạng bệnh như bệnh tiêu chảy không phân biệt được, bệnh tiêu chảy khi đi du lịch, tiêu chảy do rotavirut, tiêu chảy do độc tố gây ra, bệnh tả, bệnh truyền nhiễm *C. difficile*, kiết lỵ, sốt thương hàn, loét hệ tiêu hóa, viêm âm đạo hoặc để kiểm soát hệ vi sinh dạ dày-ruột.

Theo một phương án cụ thể, các dược phẩm và phương pháp theo sáng chế được dùng để điều trị hoặc phòng ngừa bệnh tiêu chảy. Có nhiều vi sinh vật gây ra bệnh tiêu chảy bao gồm virut, vi khuẩn, vật ký sinh và sinh vật đơn bào. Các nguyên nhân chủ yếu của bệnh nhiễm khuẩn, ví dụ ở Ấn Độ, bao gồm *Escherichia coli* spp., *E. coli* sinh độc tố đường ruột, *E. coli* bám dính đường ruột. *Aeromonas* spp., *Campylobacter jejuni*, *Shigella* spp., *Vibrio* spp., *Vibrio cholera* O1, *Vibrio*

parahaemolyticus, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens* và *Yersinia enterocolitica*. Các nguyên nhân thứ cấp bao gồm *Clostridium difficile* (độc tố A hoặc B). Nguyên nhân chủ yếu của bệnh tiêu chảy do virus là nhiễm Rotavirus; mặc dù Calcivirus, Astrovirus, Norwalk virus và Adenovirus cũng đã được biết là nguyên nhân gây bệnh tiêu chảy. Các nguyên nhân thứ cấp gây bệnh tiêu chảy do virus bao gồm adenovirus đường ruột, virus hecpet dạng đơn và viêm gan do virus. (John B. Sullivan and Gary R. Krieger, Clinical Environmental Health and Toxic Exposures, ấn bản thứ 2, Lippincott Williams & Wilkins, 2001, trang 1040).

Cũng đã biết là có sự khác nhau về tỷ lệ mắc bệnh tiêu chảy theo vùng và theo mùa. Ví dụ, ở Pranam, Ấn Độ, một nghiên cứu đã ghi nhận rằng rotavirus chiếm trung bình từ 15 đến 25% các ca mắc bệnh tiêu chảy ở trẻ em. *E. coli* sinh độc tố đường ruột gây ra từ 10 đến 20% trong tổng số các ca mắc bệnh tiêu chảy, mà *E. coli* gây bệnh đường ruột gây ra khoảng từ 1 đến 5% các ca mắc bệnh tiêu chảy. Sự lây nhiễm *Camphylobacter jejuni* đã gây ra khoảng từ 10 đến 15% và *Shigella* đã gây ra khoảng từ 5 đến 15% các ca mắc bệnh tiêu chảy ở trẻ em. Phẩy khuẩn tả đã gây ra khoảng từ 5 đến 10% các ca mắc bệnh. *Salmonella* (không phải bệnh sốt thương hàn) đã gây ra khoảng từ 1 đến 5% các ca mắc bệnh. Sự lây nhiễm sinh vật đơn bào chủ yếu là do *Cryptosporidium* (5-15%) gây ra. Chưa xác định được nguyên nhân gây bệnh ở từ 20 đến 30% các ca mắc bệnh. (Fricker, Children in the Tropics, Putting an end to diarrheal diseases, 1993-No. 204: 1-66).

Các vùng khác nhau ở Ấn Độ gán các ca mắc bệnh tiêu chảy ở trẻ em do vi khuẩn cho các tác nhân gây bệnh khác nhau với mức độ khác nhau về tỷ lệ nhiễm bệnh. Ví dụ, một nghiên cứu ở Orissa, Ấn Độ đã phát hiện ra rằng, trong số 866 mẫu dương tính nuôi cấy *E. coli* sp. (75,5%), *E. coli* gây bệnh (13,2%), *Aeromonas* spp. (2%), *Shigella* spp. (4,5%), *Vibrio cholera* O1 (17,3%), *V. cholera* O139 (1%) và *Salmonella* spp. (0,7%). find-health-articles.com/rec_pub_18806340-incidence.

Do một loạt rất nhiều nguyên nhân bệnh, nên mong muốn có phương pháp điều trị bệnh tiêu chảy không phân biệt được có hiệu quả, phổ rộng, tiết kiệm và an toàn. Phần lớn các ca mắc bệnh tiêu chảy ở trẻ em dường như là do sự nhiễm vi

khuẩn và virus gây ra, nhưng cũng mong muốn có một lựa chọn thay thế cho các thuốc kháng sinh và các chất kháng virus.

A. Dược phẩm

Một khía cạnh của sáng chế đề xuất dược phẩm hữu ích trong việc điều trị, phòng ngừa hoặc kiểm soát khu hệ vi sinh vật. Theo các phương án, các dược phẩm này là hữu ích để điều trị các bệnh truyền nhiễm, cụ thể là bệnh truyền nhiễm ở đường dạ dày ruột.

Theo các phương án, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa:

a) một lượng hữu hiệu cho người không phải trẻ sơ sinh gồm ít nhất một phân tử gắn kết đặc hiệu hoặc đoạn của nó thu được từ động vật và gắn kết đặc hiệu với kháng nguyên, trong đó phân tử gắn kết đặc hiệu được chọn từ globulin miễn dịch, kháng thể, peptit, thụ thể tế bào lympho biến đổi, yếu tố chuyển và hỗn hợp của chúng; và,

b) cơ chất mang bao gồm ít nhất hai hợp phần thu được từ động vật không phải người được chọn từ nhóm bao gồm enzym, lactoferin, transferin, globulin miễn dịch không đặc hiệu, xytokin, bạch huyết bào, các thành phần bổ thể, interferon và fibronectin, trong đó ít nhất một phân tử gắn kết đặc hiệu và ít nhất hai hợp phần của cơ chất mang thu được từ các động vật khác nhau.

Các phân tử gắn kết đặc hiệu

Các dược phẩm và phương pháp theo sáng chế đề xuất các phân tử gắn kết đặc hiệu hoặc đoạn của nó thu được từ động vật và gắn kết đặc hiệu với kháng nguyên. Phân tử gắn kết đặc hiệu bao gồm kháng thể, đoạn kháng thể, peptit, thụ thể tế bào lympho biến đổi, yếu tố chuyển và hỗn hợp của chúng.

Các kháng thể

Các kháng thể, globulin miễn dịch và các yếu tố miễn dịch sinh học khác (được gọi chung là các kháng thể), cả các chất tương tự tự nhiên và chất tương tự tổng hợp của chúng, là những chất có tác dụng điều trị bệnh đã biết ở người và động vật.

Các kháng thể hoạt động nhờ gắn kết (qua lực liên kết không phải là liên kết cộng hóa trị) giữa vị trí kết hợp kháng nguyên trên kháng thể và phần kháng nguyên được gọi là quyết định kháng nguyên hay epitop. Các kháng thể có khả năng có các

mức đặc hiệu cao. Ví dụ, lĩnh vực kháng thể đơn dòng đã được phát triển một cách rộng rãi với sự thúc đẩy của việc tạo ra các đặc tính gắn kết đặc hiệu hơn và chính xác hơn bao giờ hết. Tuy nhiên, tính đặc hiệu cao này có thể dẫn đến các thuộc tính gắn kết bị giới hạn quá mức, trong đó các chất hoặc kháng nguyên giống nhau về mặt chức năng không phản ứng một cách giống nhau với chất phản ứng miễn dịch hoặc liệu pháp miễn dịch. Mặt khác, khả năng phản ứng chéo thường được cho là thất bại hoặc lỗi, là phản ứng giữa kháng nguyên và kháng thể mà được sản sinh để kháng lại kháng nguyên khác nhưng tương tự. Khả năng phản ứng chéo được kiểm soát có thể được sử dụng có mục đích xây dựng để mở rộng khoảng gắn kết của kháng thể.

Một phương án của sáng chế là dựa trên phương pháp bào chế chế phẩm trên cơ sở kháng thể hướng đích được bao gồm hoặc được kết hợp trong cơ chất mang, trong đó các kháng thể sử dụng dạng được kiểm soát có khả năng phản ứng chéo với nhiều cụm kháng nguyên đích có liên quan và trong đó có chất mang chứa chất nền và các đồng yếu tố có tác dụng nâng cao hiệu quả của kháng thể. Lợi ích của các dược phẩm chứa kháng thể/cơ chất này có thể bao gồm các can thiệp điều trị phổ rộng trong các tình trạng bệnh lý mà trong đó nhóm tác nhân gây bệnh, nhưng không phải là tác nhân gây bệnh chính xác hoặc đặc hiệu đã được biết đến hoặc nghi ngờ hoặc trong các trường hợp mà trong đó nhiều (hỗn hợp) tác nhân gây bệnh hoạt động. Phương pháp mới để sử dụng các kháng thể theo cách này đã được phát triển, phương pháp này tận dụng cả tính đặc hiệu và thuộc tính phản ứng chéo của các kháng thể và sau đó, còn sử dụng các hợp phần trong cơ chất mang để tạo ra đáp ứng miễn dịch tại chỗ đa hợp phần. Theo phương án này, các kháng thể được thiết kế để gắn kết với tất cả trong số vài epitop liên quan chặt chẽ là cụm kháng nguyên có liên quan về mặt cấu trúc. Các kháng nguyên này có thể khác nhau một cách rõ rệt theo các khía cạnh khác và có thể bắt nguồn từ các nguồn, sinh vật hoặc các loài khác nhau.

Vì các mục đích của sáng chế này, các kháng thể có thể là đơn dòng, đa dòng có nguồn gốc từ động vật, các đoạn, thể khảm, được làm tương thích với người hoặc dạng khác bất kỳ và các kháng thể có thể là isotyp bất kỳ: ví dụ IgA, IgD, IgE, IgG và IgM (các động vật có vú có nhau thai), IgY (gà) hoặc các dạng khác, có thể là

kháng thể đặc hiệu kép hoặc chức năng kép hoặc đa đặc hiệu hoặc đa chức hoặc đoạn của nó. Theo các phương án, phân tử gắn kết đặc hiệu có thể được chọn từ một trong số ba loại chính: kháng thể đơn dòng của động vật có vú, kháng thể đa dòng của động vật có vú và kháng thể đa dòng của chim; hoặc các đoạn bất kỳ có nguồn gốc từ các loài động vật này mà giữ lại khả năng gắn kết với hợp phần gây bệnh.

Một phương án theo sáng chế là việc sử dụng nó để tạo ra liệu pháp phổ rộng. Một phương pháp để bào chế loại chế phẩm có tính phản ứng này bao gồm quá trình tạo ra các kháng thể đa dòng thu hoạch được từ động vật được gây miễn dịch một cách thích hợp và trong đó các kháng thể này sau đó được đưa vào cơ chất mang. Các kháng thể đa dòng (hoặc kháng huyết thanh) là những kháng thể mà có nguồn gốc từ các dòng tế bào B khác nhau. Các kháng thể đa dòng này thường được thu hoạch từ huyết thanh, sữa, sữa non, trứng hoặc các dịch sinh học của động vật được gây miễn dịch. Các kháng thể đa dòng là một hỗn hợp gồm các phân tử globulin miễn dịch được tiết ra chống lại kháng nguyên đặc hiệu hoặc cụm kháng nguyên, nhận diện khoảng epitop khác nhau. Có thể có nhiều kháng thể đối với một kháng nguyên đơn (gắn kết với các epitop khác nhau) hoặc đối với một kháng thể đơn gắn kết với nhiều kháng nguyên do khả năng phản ứng chéo. Có thể thu được kháng thể đa dòng từ các động vật, như gia súc, cừu, ngựa, dê, lợn, thỏ, gà, vịt, ngỗng hoặc gà tây mà đã được cho dùng vắc xin hoặc tiêm chủng kháng nguyên có nguồn gốc từ các thành phần đích. Có thể thu hoạch kháng thể từ, ví dụ, mô, huyết thanh, sữa hoặc trứng được tạo ra bởi hoặc có nguồn gốc từ động vật được tiêm chủng này. Trái với các kháng thể đơn dòng, các kháng thể này là giống nhau và đặc hiệu đơn; được tạo ra bởi một loại tế bào miễn dịch mà đều là các dòng của một tế bào mẹ.

Các kháng thể được sử dụng trong sáng chế này có thể được thu gom từ huyết thanh, huyết tương, sữa non, sữa, trứng hoặc dịch có nguồn gốc về mặt sinh học thích hợp khác hoặc từ môi trường nuôi cấy tế bào, dịch nổi, v.v.. Các kháng thể được sử dụng trong sáng chế này có thể được xử lý theo cách thích hợp bất kỳ để tạo ra chế phẩm và sử dụng, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các phương pháp phân tách, rút huyết tương, các quy trình làm khô, làm đông khô, khử trùng và bảo quản. Các kháng thể được sử dụng trong sáng chế này có thể được xử lý, cô,

tách hoặc tinh chế theo nhiều cách khác nhau, tùy thuộc vào mục đích dự định sử dụng cuối cùng của chúng.

Bằng cách làm thay đổi hỗn hợp các kháng thể thành các hỗn hợp thích hợp theo các phương án khác nhau, sáng chế đề xuất các dược phẩm và phương pháp thích hợp để điều trị hoặc phòng ngừa các bệnh truyền nhiễm ở dạ dày-ruột khác như bệnh tả, *C. difficile*, kiết lỵ, *Salmonella typhi* (sốt thương hàn) và *H. pylori* (loét đường tiêu hóa).

Theo một phương án, tốt hơn nếu nuôi cấy kháng thể được sản sinh ở động vật bằng cách, ví dụ, tiêm nhiều lần dưới da (sc) hoặc trong màng bụng (ip) kháng nguyên có liên quan và tùy ý với tá dược. Theo một khía cạnh, có thể hữu ích khi tiếp hợp kháng nguyên có liên quan (đặc biệt là khi các peptit tổng hợp được sử dụng) với protein có tính gây miễn dịch ở các loài sẽ được gây miễn dịch. Ví dụ, kháng nguyên có thể được tiếp hợp với hemoxyanin của ốc đá có lỗ khóa (KLH), anbumin huyết thanh, thyroglobulin bò hoặc chất ức chế trypsin đậu nành, bằng cách sử dụng chất có chức năng kép hoặc tạo dẫn xuất, ví dụ, este maleimidobenzoyl sulfosuccinimit (tiếp hợp qua các gốc xystein), N-hydroxysuccinimit (qua các gốc lysin), glutaraldehyt, anhydrit succinic, SOCl_2 hoặc $\text{R N}=\text{C}=\text{NR}$, trong đó R và R là các nhóm alkyl khác nhau. Các động vật được gây miễn dịch chống lại kháng nguyên, các thể tiếp hợp gây miễn dịch hoặc các dẫn xuất như được mô tả ở đây. Theo các phương án khác, các kháng thể có thể là tổng hợp hoặc bán tổng hợp, ví dụ, như thu được ở thư viện thể hiện thể thực khuẩn, hoặc được tạo ra như là các kháng thể được làm tương thích với người hoặc kháng thể thể khảm.

Chim (như gà mái đang thời kỳ đẻ trứng) mang lại lợi nhuận cao khi làm động vật sản xuất kháng thể so với các động vật có vú được sử dụng theo truyền thống đối với quá trình sản xuất này. Các kháng thể ở chim có ưu điểm về mặt hóa sinh so với các kháng thể ở động vật có vú. Những khác biệt về miễn dịch giữa động vật có vú và chim dẫn đến tính miễn cảm gia tăng và nên được làm giảm trong các thử nghiệm miễn dịch; cũng như tính đặc hiệu cao và thiếu tác dụng miễn dịch bổ sung khi được dùng cho các đối tượng là động vật có vú. Trái với các kháng thể ở động vật có vú, các kháng thể ở chim không hoạt hóa hệ bổ thể của người qua con

đường nguyên thủy hoặc cổ điển, chúng cũng sẽ không phản ứng với các yếu tố dạng thấp, các kháng thể IgG người kháng chuột, các protein tụ cầu khuẩn A hoặc G hoặc các thụ thể Fc của vi khuẩn và người. Tuy nhiên, các kháng thể ở chim có thể hoạt hóa quá trình không viêm khác. Do đó, các kháng thể ở chim đem lại nhiều ưu điểm hơn so với các kháng thể ở động vật có vú.

Theo một phương án được ưu tiên, các phân tử đặc hiệu là các kháng thể đa dòng được tạo ra trong trứng của gà mái được tiêm chủng một trong số hoặc hỗn hợp gồm các thành phần gây bệnh. Các chế phẩm khác nhau chứa các kháng nguyên đặc hiệu cũng có thể được dùng để tiêm chủng. Sau khi tiêm chủng, gà mái đẻ trứng chứa một lượng lớn globulin miễn dịch IgY đặc hiệu trong lòng đỏ trứng, cũng như một lượng nhỏ globulin miễn dịch IgM và IgA trong lòng trắng trứng. Do đó, trứng gà là một nguồn tuyệt vời để sản xuất lượng lớn kháng thể có lợi về mặt kinh tế, có tính đặc hiệu cao và ổn định. Theo một phương án, gà được sử dụng để tạo ra kháng thể ở loài chim; tuy nhiên, theo cách khác, cũng có thể sử dụng gà tây, vịt, ngỗng, đà điểu, v.v.. Theo một khía cạnh, gà mái được tiêm chủng bằng phương pháp đã biết bất kỳ trong lĩnh vực này, như được mô tả ở đây. Ví dụ, kháng nguyên có thể được tiêm trong cơ hoặc dưới da. Cơ được ưu tiên để tiêm ở loài chim là cơ ngực. Các phương pháp dùng thuốc khác mà có thể được sử dụng bao gồm tiêm dưới da, tiêm trong tĩnh mạch, tiêm trong màng bụng, dùng trong da, thuốc đạn dùng qua trực tràng, khí dung hoặc dùng qua đường miệng.

Tốt hơn, nếu trạng thái miễn dịch đặc hiệu được gây ra và được duy trì ở động vật đích bằng quá trình gây miễn dịch và quá trình sử dụng nhắc lại liều thích hợp được lặp lại ở các khoảng cách cố định. Tốt hơn là, nếu khoảng cách này là khoảng cách từ 1 đến 8 tuần trong thời gian từ 1 đến 12 tháng. Liều được chọn nằm trong khoảng từ 0,01 đến 5 miligam kháng nguyên. Theo một khía cạnh, liều dùng nằm trong khoảng từ 0,01mg đến 1,0mg kháng nguyên/lần tiêm chủng, tốt hơn là 100mg, 200mg, 250mg, 300mg, 400mg, 500mg hoặc 750mg kháng nguyên/lần tiêm chủng đối với gà mái. Tổng số lần dùng vắc xin có thể được chọn từ 1, 2, 3, 4, 5 hoặc 6 trong thời gian 12 tháng. Thông thường, lần tiêm chủng thứ nhất được thực hiện vào ngày 1, với các lần dùng vắc xin nhắc lại vào ngày 10 và ngày 20. Gà mái có thể được cho dùng vắc xin lại lần nữa nếu cần bằng cách theo dõi nồng độ kháng

thể đặc hiệu, hoặc hiệu giá, trong trứng bằng, ví dụ, ELISA. Thể tích liều dùng dưới da thông thường đối với gà mái được chọn nằm trong khoảng từ 0,2 đến 1,0ml, từ 0,3 đến 0,7ml hoặc 0,5ml. Tuy nhiên, điều quan trọng là việc dùng nhắc lại không dẫn đến tình trạng dung nạp miễn dịch. Các quy trình như vậy là đã biết rõ trong lĩnh vực này.

Có thể sử dụng các quy trình duy trì tiêm chủng khác hoặc dạng kết hợp của các quy trình, như, ví dụ, tiêm trong cơ đối với lần gây miễn dịch đầu tiên và tiêm trong tĩnh mạch đối với các lần tiêm nhắc lại. Các quy trình khác nữa bao gồm việc dùng đồng thời chất sinh miễn dịch được tạo vi nang và dạng lỏng hoặc tiêm trong cơ đối với lần gây miễn dịch đầu tiên và các liều nhắc lại dùng qua đường miệng hoặc dùng ngoài đường tiêu hóa bằng vi nang. Vài dạng kết hợp của quy trình gây miễn dịch đầu tiên và nhắc lại thì đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Tá được, còn được gọi là chất mang được dùng hoặc các chất tương đương chức năng của nó có thể được bao hàm trong dung dịch gây miễn dịch/chế phẩm vắc xin để tăng cường đáp ứng miễn dịch đặc hiệu của động vật. Một số lượng lớn tá được đã được mô tả và được sử dụng để tạo ra kháng thể ở động vật dùng trong phòng thí nghiệm, như chuột nhắt, chuột cống, thỏ và gà. Trong bối cảnh này, sự dung nạp tác dụng phụ là khá cao do mục đích chính là để thu được đáp ứng kháng thể mạnh.

Tá được theo sáng chế có thể được phân nhóm theo nguồn gốc của chúng, là sản phẩm khoáng, sản phẩm của vi khuẩn, của thực vật, tổng hợp hoặc sản phẩm của vật chủ. Nhóm thứ nhất trong cách phân loại này là các tá được khoáng, như các hợp chất của nhôm. Các kháng nguyên được tạo kết tủa với các muối nhôm hoặc kháng nguyên được trộn với hoặc được hấp phụ vào các hợp chất nhôm được tạo tính năng đã được sử dụng rộng rãi để làm tăng các đáp ứng miễn dịch ở động vật và người. Theo một phương án, tá được trong được phẩm gây miễn dịch có nguồn gốc từ vi khuẩn. Tá được có nguồn gốc từ vi khuẩn có thể được tinh chế và tổng hợp (ví dụ, muramyl dipeptit, lipit A) và các chất trung gian vật chủ đã được tách dòng (intolokin 1 và 2). Quá trình tinh chế hóa học một vài tá được đã biết của hoạt chất có nguồn gốc từ vi khuẩn bao gồm: *Bordetella pertussis*, *Mycobacterium*

tuberculosis, lipopoly-sacarit, tá dược Freund hoàn chỉnh (FCA) và tá dược Freund không hoàn chỉnh (Difco Laboratories, Detroit, Mich.) và Merck Adjuvant 65 (Merck and Company, Inc., Rahway, N.J.). Theo một khía cạnh cụ thể, tá dược Freund hoàn chỉnh hoặc tá dược Freund không hoàn chỉnh được dùng trong chế phẩm gây miễn dịch của sáng chế. Ngoài ra, các tá dược thích hợp theo sáng chế là ví dụ, tá dược Titermax Classical (SIGMA-ALDRICH), ISCOMS, Quil A, ALUN, xem các patent Mỹ số 5,876,735 và 5,554,372, các dẫn xuất Lipit A, các dẫn xuất choleratoxin, các dẫn xuất HSP, các dẫn xuất LPS, các cơ chất peptit tổng hợp, GMDP và tá dược khác cũng như được kết hợp với các chất kích thích miễn dịch (patent Mỹ số 5,876,735). *B. pertussis* đang được quan tâm như là một tá dược theo sáng chế do khả năng điều biến miễn dịch qua trung gian tế bào qua tác động đối với quần thể tế bào lympho T. Tá dược Freund hoàn chỉnh là tiêu chuẩn trong hầu hết các nghiên cứu thử nghiệm. Dầu khoáng có thể được bổ sung vào chế phẩm vắc xin để bảo vệ kháng nguyên khỏi bị dị hóa nhanh chóng.

Có thể sử dụng nhiều loại nguyên liệu khác làm tá dược trong các dược phẩm sinh miễn dịch hoặc gây miễn dịch theo sáng chế. Các nguyên liệu này bao gồm các sản phẩm từ thực vật như saponin, các sản phẩm từ động vật như chitin và nhiều hóa chất tổng hợp khác nhau.

Gà được gây miễn dịch bằng đường tiêm trong cơ có thể tạo ra các lượng lớn kháng thể đặc hiệu trong trứng của chúng 28 ngày sau khi gây miễn dịch và tiếp tục tạo ra các kháng thể đặc hiệu trong thời gian nhiều hơn 200 ngày sản xuất chế phẩm kháng thể sẵn có trong khoảng thời gian ngắn, ví dụ ít hơn từ 4 đến 5 tuần. Trứng chứa nồng độ kháng thể IgY nằm trong khoảng từ 50 đến 100mg/quả. Có thể thu được nhiều hơn 100mg IgY được tinh chế từ một quả trứng. Tỷ lệ phần trăm kháng thể đặc hiệu kháng nguyên trong một lòng đỏ trứng có thể nằm trong khoảng từ 2% đến 10%. (daSilva et al., IgY: A promising antibody for use in immunodiagnostic and in immunotherapy. Veterinary Immunol. Immunopath., 135(2010):173-180).

Một con gà thuộc loại đẻ trứng nhiều có thể đẻ ra khoảng 20 quả trứng/tháng. Khối lượng trứng nằm trong khoảng từ 33 đến 77gam, với khoảng 10,5% khối lượng trứng nguyên vẹn là vỏ trứng. Lòng đỏ trứng chiếm khoảng 31% khối lượng quả trứng nguyên vẹn. Khi làm khô, khoảng 1kg bột trứng nguyên vẹn được làm

khô có thể được tạo ra từ 72 quả trứng. Do đó, theo tính toán này, một quả trứng có thể cho khoảng 13,9g trứng nguyên vẹn được làm khô. Theo một khía cạnh khác, một quả trứng miễn dịch có thể cho từ 10g đến 15g trứng nguyên vẹn được làm khô. Theo một khía cạnh khác, các quả trứng miễn dịch theo sáng chế có khoảng từ 40 đến 55ml/quả trứng với tổng lượng IgY nằm trong khoảng từ 1 đến 2mg/ml mỗi quả trứng. Theo một khía cạnh khác, các quả trứng miễn dịch theo sáng chế chứa IgY đặc hiệu với lượng nằm trong khoảng từ 0,01mg/ml đến 0,05mg/ml mỗi quả trứng. Do đó, theo một khía cạnh sau khi xử lý, một quả trứng miễn dịch nguyên vẹn được làm khô chứa tổng lượng IgY với lượng nằm trong khoảng từ 80 đến 110mg và tổng lượng IgY đặc hiệu kháng nguyên với lượng nằm trong khoảng từ 6 đến 10mg, ví dụ từ gà được gây miễn dịch bằng, ví dụ chế phẩm kháng nguyên hỗn hợp.

Có thể xác định được liệu vắc xin đã gây ra đáp ứng miễn dịch ở động vật đẻ trứng hay không qua nhiều phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực miễn dịch này. Các ví dụ về các phương pháp này bao gồm thử nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết enzym (ELISA), thử nghiệm để biết sự có mặt của kháng thể đối với kháng nguyên kích thích và thử nghiệm được thiết kế để đánh giá khả năng của các tế bào miễn dịch từ vật chủ trong việc đáp ứng với kháng nguyên. Liều tối thiểu của chất sinh miễn dịch cần để gây ra đáp ứng miễn dịch phụ thuộc vào quy trình dùng vắc xin được sử dụng, kể cả loại tá được và chế phẩm chứa (các) chất sinh miễn dịch được sử dụng cũng như loại động vật đẻ trứng được sử dụng làm vật chủ.

Theo một phương án, gà mái thích hợp cho mục đích đẻ trứng trên quy mô thương mại được sử dụng để sản xuất kháng thể đa dòng. Có thể sử dụng phương pháp nhân giống gà bất kỳ thích hợp cho mục đích đẻ trứng. Ví dụ, có thể chọn các con gà mái Rhode Island Reds, White Leghorns, Brown Leghorns, Lohmann Brown, giao phối lai ghép giới tính, hoặc giống khác thích hợp để làm lớn kích cỡ quả trứng, sản xuất trứng với thể tích lớn và dễ xử lý. Theo một khía cạnh, gà được tiêm chủng là gà con như đối với các bệnh tiêu chuẩn (ví dụ, Salmonella, bệnh cúm ở gia cầm hoặc virus Newcastle, v.v). Theo một khía cạnh, có thể tiêm chủng gà ở độ tuổi bất kỳ. Gà mái đạt đến tuổi đẻ trứng, khoảng từ 15 đến 19 tuần đối với gà hoặc thời gian được chọn trước bất kỳ trước hoặc sau đó, được tiêm chủng theo lịch

trình được định trước theo lượng và tính toán thời gian của sản phẩm cuối cùng để tạo ra dòng sản xuất liên tục ổn định. Thông thường, sau thời gian cách ly và thích nghi khí hậu thích hợp khoảng từ 2 đến 4 tuần, mỗi nhóm sẽ đưa vào chương trình tiêm chủng bằng cách sử dụng các kháng nguyên hoặc được phẩm gây miễn dịch khác nhau chứa các kháng nguyên đặc hiệu mà kháng thể mong muốn được gắn kết vào đó.

Theo một phương án, trứng được thu gom từ gà được tiêm chủng và được xử lý ở dạng trứng nguyên quả. Trứng được bảo quản trong các điều kiện làm lạnh cho đến khi thu gom đủ để chuẩn bị một mẻ. Các mẻ trứng từ các nhóm gà được định trước được làm vỡ, phần trứng bên trong được tách ra khỏi vỏ trứng và được trộn và tốt hơn là được khử trùng để loại trừ sự nhiễm bẩn tiềm ẩn từ các vi sinh vật gây bệnh từ gà.

Theo một khía cạnh, sản phẩm trứng miễn dịch được khử trùng. Sản phẩm trứng được xử lý trong các cơ sở hợp vệ sinh. Trứng có vỏ được xử lý thành sản phẩm trứng miễn dịch bằng thiết bị tự động có tác dụng lấy trứng còn vỏ ra khỏi hộp nông, rửa và làm vệ sinh vỏ, làm vỡ trứng. Tùy ý, lòng trắng trứng được tách ra khỏi lòng đỏ trứng. Sản phẩm trứng dạng lỏng được tùy ý lọc, được tùy ý trộn với các thành phần khác và sau đó được làm lạnh trước khi xử lý tiếp. Các sản phẩm trứng thu được ở dạng lỏng sau đó được xử lý gây chết như khử trùng hoặc gia nhiệt ở dạng đã làm khô. Ở Mỹ, Luật thanh tra các sản phẩm từ trứng (Egg Products Inspection Act-EPIA) năm 1970, quy định rằng tất cả sản phẩm từ trứng được phân phối cho người tiêu dùng phải được khử trùng.

Sau khi khử trùng, tổng lượng trứng được làm khô bằng cách sử dụng các phương pháp thương mại tiêu chuẩn, như sấy phun bằng cách sử dụng không khí môi trường hoặc không khí nóng, làm khô bằng nhiệt, làm khô ở nhiệt độ thấp hoặc làm đông khô. Theo một khía cạnh, phương pháp thích hợp để làm khô trứng dạng lỏng được khử trùng làm giảm thiểu tổn hại cho kháng thể và các thành phần phân tử trong trứng, tạo ra sản phẩm có giá trị dinh dưỡng cao và có khả năng tạo ra sự bảo vệ thụ động.

Theo một khía cạnh, trứng đã làm khô được thử nghiệm để xác định tổng hiệu giá hoặc lượng kháng thể. Các phương pháp thử nghiệm chuẩn được sử dụng,

như ELISA, FIA (thử nghiệm miễn dịch huỳnh quang), RIA (thử nghiệm miễn dịch phóng xạ) hoặc các phương pháp tương tự. Theo một khía cạnh khác, mề này được trộn lẫn với các mề từ các nhóm gà ở các mức độ sản xuất trung bình khác tạo ra một lô chứa lượng kháng thể được chuẩn hóa. Trứng đã làm khô chứa các kháng thể đa dòng đặc hiệu có thể được bảo quản trong vật chứa kín khí ở nhiệt độ trong phòng trước khi bào chế thành các dược phẩm theo sáng chế. Theo các phương án, nguyên liệu trứng đã khô được sử dụng ở dạng trứng nguyên vẹn và không tách ra. Theo các phương án, nguyên liệu trứng khô nguyên vẹn chứa ít nhất 5mg IgY đặc hiệu mỗi quả trứng.

Theo một phương án khác, IgY được phân lập. Bước thứ nhất trong quá trình phân lập IgY là tách protein hòa tan trong nước ra khỏi lipoprotein. Protein hòa tan trong nước chiếm 42,4% tổng lượng protein trong lòng đỏ trứng (Osuga et al., "Egg Proteins: In Food Proteins, J. R. Whitaker and S. R. Tannenbaum eds., AVI Pub. Co., Westport, Conn. (1977)).

Nhiều phương pháp đã được sử dụng để phân lập và tinh chế globulin miễn dịch từ lòng đỏ trứng (Martin et al., Can J. Biochem. Physiol. 35:241 (1957); Martin et al., Can. J. Biochem Physiol. 36:153 (1958); Jensenius et al., J. Immunol. Methods 46:63 (1981); Bade et al., J. Immunol. Methods 72:421 (1984); Polson et al., Immunol. Invest. 14:323 (1985); Hassl et al., J. Immunol. Methods 110:225 (1988)). Hatta et al. (Agric. Biol. Chem. 54:2531 (1990)) đã sử dụng các chất gồm tự nhiên loại sử dụng được trong thực phẩm (ví dụ, carageenan) để loại bỏ lipoprotein lòng đỏ trứng dưới dạng chất kết tủa và thu hồi IgY trong phần hòa tan trong nước từ lòng đỏ trứng. Các phương pháp thu hồi kháng thể từ lòng đỏ trứng gà là đã biết rõ trong lĩnh vực này. Có thể sử dụng một vài phương pháp cho việc chiết IgY từ lòng đỏ trứng và kit chiết thương mại là sẵn có (van Regenmortel, M. H. V. (1993). Eggs as protein and antibody factories. In Proceedings of the European Symposium on the Quality of Poultry Meat, các trang 257-263. Tours, France: INRA).

Theo một phương án khác, phân tử gắn kết đặc hiệu không gian có thể là kháng thể đơn dòng đặc hiệu đối với thành phần gây bệnh.

Các kháng thể đơn dòng có thể được tạo ra bằng cách sử dụng phương pháp lai được mô tả lần đầu tiên bởi Kohler et al., Nature.256:495 (1975) hoặc có thể được tạo ra bằng các phương pháp ADN tái tổ hợp (U.S. 4,816,567). Trong phương pháp lai, chuột hoặc động vật chủ thích hợp khác, như chuột đồng, được gây miễn dịch như được mô tả trên đây để tạo ra tế bào lympho có tác dụng sản sinh hoặc có khả năng sản sinh kháng thể mà sẽ gắn kết đặc hiệu với protein được sử dụng để gây miễn dịch. Theo cách khác, tế bào lympho có thể được gây miễn dịch in vitro. Sau khi gây miễn dịch, tế bào lympho được phân lập và sau đó, được dung hợp với dòng tế bào u tủy bằng cách sử dụng một chất dung hợp thích hợp, như polyetylen glycol, để tạo thành tế bào lai (Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, pp.59-103 (Academic Press, 1986)).

Môi trường nuôi cấy trong đó tế bào lai phát triển được thử nghiệm về sự sản sinh các kháng thể đơn dòng trực tiếp kháng lại kháng nguyên. Tốt hơn, nếu tính đặc hiệu gắn kết của kháng thể đơn dòng được sản sinh bởi tế bào lai được xác định bằng phản ứng kết tủa miễn dịch hoặc bằng thử nghiệm gắn kết in vitro, như thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA) hoặc thử nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết enzym (ELISA). Ví dụ, có thể xác định ái lực gắn kết của kháng thể đơn dòng bằng phân tích Scatchard được mô tả trong Munson et al., Anal. Biochem.. 107:220 (1980).

Các kháng thể đơn dòng được tiết bởi các dòng phụ được tách một cách thích hợp khỏi môi trường nuôi cấy, dịch cổ trướng hoặc huyết thanh theo các quy trình tinh chế kháng thể thông thường như, ví dụ, sắc ký ái lực (ví dụ, bằng cách sử dụng protein A hoặc protein G-Sepharose) hoặc sắc ký trao đổi ion, sắc ký hydroxylapatit, điện di gel, thẩm tách, v.v.

ADN mã hóa kháng thể đơn dòng được phân lập dễ dàng và giải trình tự bằng cách sử dụng phương pháp thông thường (ví dụ, bằng cách sử dụng các mẫu dò oligonucleotit có khả năng gắn kết đặc hiệu với các gen mã hóa chuỗi nặng và nhẹ của kháng thể chuột). Các tế bào lai có tác dụng làm nguồn được ưu tiên của ADN này. Khi được phân lập, ADN có thể được đặt vào vectơ biểu hiện, mà sau đó được chuyển nhiễm vào tế bào vật chủ như tế bào E. coli, tế bào COS khi, tế bào buồng trứng chuột đồng Trung quốc (CHO) hoặc tế bào u tủy mà không sản sinh

protein kháng thể theo cách khác, để có được quá trình tổng hợp kháng thể đơn dòng ở tế bào vật chủ tái tổ hợp. Xem xét các bài báo về sự biểu hiện tái tổ hợp ở vi khuẩn chứa ADN mã hóa kháng thể bao gồm Skerra et al., *Curr. Opinion in Immunol.*, 5:256-262 (1993) và Plückthun. *Immunol. Revs.* 130:151-188 (1992).

Theo một phương án khác nữa, các kháng thể đơn dòng hoặc đoạn kháng thể có thể được phân lập từ các thư viện thể thực khuẩn kháng thể được tạo ra bằng cách sử dụng các kỹ thuật được mô tả trong ấn phẩm McCafferty et al., *Nature*. 348:552-554 (1990). Clackson et al. *Nature*. 352:624-628 (1991) và Marks et al., *J. Mol. Biol.*, 222:581-597 (1991) lần lượt mô tả quá trình phân lập các kháng thể chuột và người, bằng cách sử dụng thư viện thể thực khuẩn. Các công bố sau đó mô tả quá trình sản xuất kháng thể của người có ái lực cao (khoảng nM) bằng cách xáo trộn chuỗi (Marks et al., *Bio/Technology*. 10:779-783 (1992)), cũng như lây nhiễm tổ hợp và tái tổ hợp in vivo như là chiến lược xây dựng thư viện thể thực khuẩn rất lớn (Waterhouse et al., *Nuc. Acids. Res.* 21 :2265-2266 (1993)). Do đó, các kỹ thuật này là các giải pháp thay thế khả thi cho các kỹ thuật lai kháng thể đơn dòng truyền thống dùng để phân lập kháng thể đơn dòng.

Có thể biến đổi ADN có tác dụng mã hóa kháng thể để tạo ra các polypeptit kháng thể khảm hoặc dung hợp, ví dụ, bằng cách dùng các trình tự miền ổn định chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của người (C_H và C_L) thay thế cho các trình tự tương đồng của chuột (patent Mỹ số 4,816,567; và Morrison, et al., *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 81:6851 (1984)) hoặc bằng cách dung hợp trình tự mã hóa globulin miễn dịch với tất cả hoặc một phần trình tự mã hóa dùng cho polypeptit không phải globulin miễn dịch (polypeptit khác nguồn gốc). Các trình tự polypeptit không phải globulin miễn dịch có thể thay thế cho các miền ổn định của kháng thể hoặc chúng được dùng để thay thế cho các miền biến đổi của một vị trí kết hợp kháng nguyên của kháng thể để tạo ra kháng thể thể khảm có hóa trị hai chứa một vị trí kết hợp kháng nguyên có tính đặc hiệu đối với kháng nguyên và một vị trí kết hợp kháng nguyên khác có tính đặc hiệu đối với một kháng nguyên khác.

Các kháng nguyên dùng để gây miễn dịch để tạo ra protein gắn kết đặc hiệu

Các kháng nguyên được chọn để gây miễn dịch có thể là vi khuẩn, virus, sinh vật đơn bào, nấm, vật ký sinh, tế bào hoặc các chất khác bất kỳ mà hệ miễn dịch của

động vật sẽ đáp ứng. Theo một khía cạnh, tính sinh miễn dịch của kháng nguyên được tăng cường bằng cách sử dụng tá được.

Theo một khía cạnh, động vật được tiêm chủng bằng các thành phần gây bệnh, kháng nguyên hoặc chất sinh miễn dịch trong chế phẩm chứa vắc xin, chất tiêm chủng hoặc vắc xin. Theo một khía cạnh, các thành phần gây bệnh hoặc kháng nguyên đặc hiệu có thể thu được hoặc có nguồn gốc từ các nguồn thương mại như bảo tàng chủng giống của Mỹ (American Type Culture Collection-ATCC). Theo một khía cạnh khác, các thành phần gây bệnh có thể được phân lập từ chủng kiểu dại. Theo một khía cạnh khác, các thành phần gây bệnh hoặc các chủng không mong muốn có mặt trong chế phẩm kháng nguyên hỗn hợp. Các kháng nguyên bất kỳ hoặc dạng kết hợp của các kháng nguyên có nguồn gốc từ các chủng không mong muốn hoặc các thành phần gây bệnh khác nhau có thể được dùng trong được phẩm gây miễn dịch.

Theo một khía cạnh, chất tiêm chủng, kháng nguyên hoặc chất sinh miễn dịch được chọn đối với thành phần thông thường hoặc được bảo quản hoặc vùng của cụm kháng nguyên được nhắm tới, trong khi phớt lờ các thành phần biến đổi hoặc phân biệt hoặc vùng của các thành viên riêng rẽ của cụm kháng nguyên có liên quan. Phương pháp này bao gồm việc điều chế chất sinh miễn dịch thích hợp có các đặc tính là gây sản sinh kháng thể mà phản ứng chéo với các trường hợp mong muốn của epitop đó, nhưng không phản ứng với các epitop khác và việc tiêm chủng hoặc cho sinh vật hoặc tế bào sản sinh tiếp xúc với chất sinh miễn dịch đó để gây ra quá trình sản sinh kháng thể, trong đó các kháng thể thu được sẽ được đưa vào cơ chất mang thích hợp cho việc sử dụng thuốc. Có thể phát triển các chế phẩm loại này sử dụng hỗn hợp các kháng thể tạo ra được theo phương pháp này để tạo ra mức độ bao quát rộng gồm nhiều hơn một cụm kháng nguyên đích. Ví dụ, trong trường hợp hai cụm kháng nguyên không liên quan gắn liền với bệnh hoặc tình trạng bệnh lý và mong muốn tạo ra chế phẩm đơn lẻ nhằm điều trị bệnh hoặc tình trạng bệnh lý này, thì có thể tạo ra hỗn hợp gồm hai kháng thể, globulin miễn dịch hoặc các yếu tố miễn dịch sinh học bằng cách sử dụng phương pháp này để đồng thời tạo ra hai miễn có khả năng phản ứng rộng. Một ví dụ về phương án này là tạo ra kháng thể

kháng độc tố có tính phản ứng đặc hiệu với nhóm độc tố có liên quan về mặt cấu trúc.

Theo một phương án, phương pháp này được sử dụng để tạo ra kháng thể có tính phản ứng rộng với lipopolysaccharit (LPS) (nội độc tố) từ vi khuẩn gram âm bất kỳ (*Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella* và các họ vi khuẩn đường ruột khác, *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Helicobacter*, *Stenotrophomonas* và các vi khuẩn khác) hoặc, ví dụ, kháng thể có tính phản ứng rộng với các độc tố AB5 (kể cả độc tố đường ruột *Campylobacter*, độc tố gây bệnh tả, độc tố đường ruột không ổn định nhiệt (LT và LT-II) (*E. coli*), độc tố gây bệnh ho gà, độc tố shiga (*Shigella*), độc tố tương tự shiga (hoặc verotoxin)).

Theo một khía cạnh được ưu tiên, các kháng thể kháng độc tố theo ví dụ này có tác dụng mà không cần quan tâm đến các loài tạo ra độc tố. Theo một khía cạnh khác, các kháng thể được tạo ra là những kháng thể làm trung hòa, có khả năng làm trung hòa hoặc làm bất hoạt hoạt tính sinh học của các độc tố đích. Có thể sử dụng kháng thể làm trung hòa có phổ rộng này để can thiệp vào các ca bệnh (ví dụ, các loại bệnh tiêu chảy cụ thể) trong đó độc tố gây ra triệu chứng là một phần tử trong nhóm được nhắm tới (trong các ví dụ này, là AB5 hoặc LPS), mà không cần phải biết sinh vật nào là nguyên nhân gây bệnh. Hơn nữa, nếu hỗn hợp được tạo ra chứa kháng thể kháng AB5 và kháng thể kháng LPS với lượng hữu hiệu về mặt lâm sàng, thì chế phẩm này có thể được sử dụng để can thiệp vào trường hợp trong đó độc tố có hoạt tính là AB5 hoặc LPS hoặc cả hai.

Phương pháp này có thể được mở rộng để bao gồm nhóm độc tố (trong ví dụ này bất kỳ) và bao gồm các kháng thể làm trung hòa phổ rộng kháng các chất trung gian của các phản ứng tương tự độc tố khác (ví dụ, hiện tượng tương tự độc tố của virus), để tạo ra sự can thiệp có thể áp dụng rộng rãi (trong ví dụ này cho) bệnh tiêu chảy trong đó các triệu chứng và bệnh lý có thể được kiểm soát mà không cần biết về nguyên nhân lây nhiễm hoặc nếu có nhiều nguyên nhân lây nhiễm. Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa hỗn hợp có tác dụng hiệp đồng của các kháng thể kháng độc tố được đưa vào cơ chất mang.

Theo một số phương án, các phương pháp và chế phẩm theo sáng chế được sử dụng cho một loạt tác nhân gây bệnh và chất bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn

ở, độc tố gây bệnh tả (*Vibrio cholera*), *E. coli* (kể cả vi khuẩn sinh độc tố đường ruột (ETEC)), *Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Clostridium difficile*, vật ký sinh (ví dụ, *Giardia*, *Entamoeba histolytica*, *Cryptosporidiosis*, *Cyclospora*) và các virus gây bệnh tiêu chảy (ví dụ, rotavirus).

Sau khi đi vào đường dạ dày-ruột, nhiều tác nhân gây bệnh, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, vi khuẩn như *E. coli*, gắn kết (bám dính) vào biểu mô, niêm mạc hoặc mô khác và gắn được vào mô của đường dạ dày-ruột, như thành ruột. Sau khi gắn kết vào mô trong đường dạ dày-ruột, tác nhân gây bệnh sao chép, làm tăng nồng độ độc tố, trực tiếp từ việc sản sinh hoặc gián tiếp từ sự dung giải tế bào tác nhân gây bệnh gia tăng bằng cách tác động vào hệ miễn dịch. Việc ức chế khả năng tác nhân gây bệnh gắn kết vào mô của đường dạ dày-ruột thúc đẩy sự huy động tác nhân gây bệnh, tiêu hóa và bài tiết hiệu quả hơn trước khi các khuẩn lạc có kích cỡ đủ để gây thương tổn và các triệu chứng khác được tạo ra. Bằng cách phong bế cụm thụ thể và phối tử trên tác nhân gây bệnh mà sẽ được sử dụng để kết dính vào đường dạ dày-ruột, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, adhesin, cadherin, nhung mao, tua viền và/hoặc cấu trúc bám dính của virus, có thể ngăn ngừa hoặc giảm thiểu mức bám dính vào mô của đường dạ dày-ruột, cuối cùng dẫn đến là bệnh lý do tác nhân gây bệnh về cơ bản là được giảm sử dụng phương thức tác động này.

Theo các phương án khác nhau, tác nhân gây bệnh được chọn từ một hoặc tổ hợp các tác nhân gây bệnh từ người hoặc thú y, đường ruột hoặc dạ dày-ruột, các tác nhân gây bệnh gây viêm dạ dày-ruột. Theo khía cạnh khác, tác nhân gây bệnh được chọn từ nhóm bao gồm: *Campylobacter jejuni*, *Salmonella*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enterica* serovar *Typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Plesiomonas shigelloides*, *Escherichia coli* [bao gồm *E. coli* gây bệnh đường ruột (EPEC), *E. coli* sinh độc tố đường ruột (ETEC), *E. coli* gây kết dính ruột (EaggEC), *E. coli* xâm lấn đường ruột (EIEC) và (EHEC) *E. coli* gây xuất huyết đường ruột], *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio cholerae* O1, *Vibrio* O139, Non-O1 *Vibrios*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Aeromonas hydrophila*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile*, *Helicobacter* gây bệnh ruột – gan (kể cả *Helicobacter pylori*), *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella*, rotavirus, coronavirus, noravirus, calicivirus, adenovirus đường ruột, cytomegalovirus và astrovirus. Theo một khía cạnh khác,

độc tố liên quan đến tác nhân gây bệnh bao gồm nội độc tố hoặc ngoại độc tố. Theo một khía cạnh khác, yếu tố bám dính có liên quan đến tác nhân gây bệnh bao gồm adhesin, cadherin, nhung mao, tua viền, cấu trúc bám dính của virus hoặc dạng kết hợp của chúng.

Theo các khía cạnh cụ thể khác, các thành phần gây bệnh, chất sinh miễn dịch hoặc kháng nguyên có thể có nguồn gốc từ, ví dụ, Rotavirus, Corona virus; *Clostridium Perfringens* Typ C; *Escherichia coli* (tế bào); các chủng sinh độc tố đường ruột và độc tố đường ruột từ *E.coli*; vi khuẩn bất kỳ có kháng nguyên yếu tố bám dính nhung mao K99, K88, 987P hoặc F41; nội độc tố (hoặc LPS) do *E. coli* và *Salmonella typhimurium* gây ra (thường là, vi khuẩn gram âm). Theo một khía cạnh cụ thể, gà mái được tiêm chủng kháng nguyên hoặc độc tố có nguồn gốc từ một, hai, ba, bốn, năm, sáu, bảy hoặc tám hoặc nhiều hơn nữa vi sinh vật gây bệnh.

Theo một khía cạnh, đáp ứng miễn dịch có hiệu lực hơn khi khoảng cách giữa nguồn kháng nguyên và hệ miễn dịch của động vật được dùng vắc xin tăng lên.

Theo một phương án cụ thể, đàn gà thứ nhất được tiêm chủng bằng một chế phẩm kháng nguyên hỗn hợp thứ nhất. Theo một khía cạnh, đàn gà thứ hai được tiêm chủng bằng chế phẩm kháng nguyên hỗn hợp thứ hai chứa một nhóm các kháng nguyên khác với đàn gà thứ nhất. Theo một khía cạnh khác, đàn gà thứ ba được tiêm chủng chế phẩm kháng nguyên hỗn hợp thứ ba. Theo một khía cạnh khác nữa, đàn gà thứ tư được tiêm chủng bằng chế phẩm kháng nguyên hỗn hợp thứ tư. Trong khi không có ý làm giới hạn phạm vi của sáng chế, nhưng tin tưởng rằng có lợi khi gây miễn dịch các đàn gà khác nhau bằng các kháng nguyên khác nhau để tránh sự quá tải kháng nguyên.

Các quả trứng từ mỗi đàn gà được thu gom, tùy ý được xác định hiệu giá đối với IgY đặc hiệu và/hoặc tổng số, tùy ý được phân lập và/hoặc tinh chế và được xử lý một cách tách biệt để tạo ra bột khô. Theo một khía cạnh khác, bột trứng khô từ các đàn gà thứ nhất và thứ hai; thứ nhất, thứ hai và thứ ba; hoặc thứ nhất, thứ hai, thứ ba và thứ tư được trộn lẫn hoặc đóng gói với cơ chất mang để tạo ra được phẩm theo sáng chế. Theo một khía cạnh, chế phẩm kháng nguyên thứ nhất chứa rotavirus bò (typ huyết thanh G6 và G10), coronavirus bò, các chủng *Escherichia coli* sinh độc tố đường ruột có yếu tố bám dính nhung mao K99 và *Clostridium perfringen*

typ C. Chế phẩm kháng nguyên hỗn hợp có thể tùy ý được bổ sung tá được để nâng cao đáp ứng miễn dịch.

Theo một khía cạnh khác, chế phẩm kháng nguyên thứ hai chứa độc tố beta sản sinh bởi *Clostridium perfringens* typ C và các chủng *Escherichia coli* sinh độc tố đường ruột tạo ra độc tố không ổn định nhiệt hoặc có các yếu tố bám dính K99, K88, 987P hoặc F41.

Theo một khía cạnh khác, chế phẩm kháng nguyên thứ ba chứa *E. coli* và *Salmonella typhimurium*. JVAC làm giảm tỷ lệ mắc bệnh và mức độ trầm trọng của chứng nhiễm nội độc tố huyết do *E. coli* và *Salmonella typhimurium* gây ra. Thông thường gắn liền với nội độc tố của chúng là Coliform Mastitis và các bệnh do vi khuẩn gram âm khác gắn liền với chứng nhiễm nội độc tố huyết.

Theo một khía cạnh khác, kháng nguyên được tạo ra bằng phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này. Ví dụ, tế bào từ nguồn kiểu đại, như động vật mắc, ví dụ bệnh tiêu chảy do *E. coli*. Tế bào phân lập có thể được nuôi cấy trong, ví dụ, môi trường canh thanh đậu tương chứa trypticase (Trypticase Soy Broth-TSB) ở nhiệt độ 37°C qua đêm và được cô đặc bằng cách ly tâm. Kết viên thu được có thể được tái huyền phù với formaldehyt 0,4% trong dung dịch đệm PBS và ủ ở nhiệt độ 37°C để khử hoạt tính. Có thể loại bỏ formaldehyt bằng cách ly tâm. Kết viên có thể được tái huyền phù trong PBS và được sử dụng làm kháng nguyên. Theo một khía cạnh khác, kháng nguyên được nhũ hóa bằng một thể tích tá được tương đương trước khi tiêm chủng.

Theo một phương án khác, các kháng nguyên được chọn từ các sinh vật gây bệnh gây ra bệnh viêm kết mạc. Các tác nhân gây bệnh gây bệnh đã biết được mô tả trong công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số US 2008/0031903, Gambotto et al., mà được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Viêm giác-kết mạc dịch thể (EKC) là bệnh lây nhiễm làm suy nhược mắt mà đã được phát hiện trên toàn thế giới. Bệnh này phần lớn là do adenovirus gây ra, đặc biệt là typ huyết thanh 8, 19 và 37. Typ huyết thanh 3, 4 và 11 cũng có liên quan đến một số bệnh dịch EKC. Bệnh này ảnh hưởng đến tất cả các nhóm tuổi, dễ lây và lây lan nhanh trong trường học, bể bơi, nhóm trẻ nhỏ và các doanh trại. Việc điều trị hiện nay là điều trị triệu chứng vì chưa có phương pháp điều trị nào hiệu quả. Việc

phát triển chất kháng virus dùng khu trú có hiệu quả để điều trị bệnh và phòng ngừa dịch bệnh là điều thích hợp.

Bệnh viêm kết mạc cũng có thể do một số trong số các tác nhân vi khuẩn, virus, nấm và sinh vật đơn bào gây ra, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở: *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, Adenovirus, Hepet đơn dạng, virus gây bệnh Zona, Enterovirus, các loài *Fusarium*, các loài *Candida* và các loài *Acanthamoeba*. Các bệnh truyền nhiễm do virus nhất định, như bệnh truyền nhiễm do adenovirus có thể được điều trị bằng các sản phẩm chứa được chất kháng virus, như cidofovir. Thông thường, các sản phẩm chứa được chất có các tác dụng phụ, như tác dụng phụ ở mắt và thận có liên quan đến cidofovir. Các vấn đề về hậu cần khác nảy sinh ở các sản phẩm chứa được chất, bao gồm tính ổn định, chi phí sản xuất, v.v. Như vậy, mong muốn có được sản phẩm chứa được chất rẻ tiền, sẵn có, chấp nhận được và ổn định để điều trị các bệnh truyền nhiễm ở mắt.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất được phẩm để điều trị bệnh viêm kết mạc hoặc bệnh đau mắt đỏ, chứa các kháng thể đa dòng kháng tác nhân gây bệnh được đưa vào cơ chất mang như được mô tả dưới đây. Các kháng thể được tạo ra như được mô tả ở đây.

Theo một phương án khác, các kháng nguyên được chọn từ các sinh vật gây bệnh gây ra bệnh viêm âm đạo. Tác nhân lây nhiễm có thể là vi khuẩn, nấm (nấm men) hoặc vật ký sinh. Bệnh viêm âm đạo do vi khuẩn có thể là, ví dụ, do *Gardnerella* spp., *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydiaeae trachomatis*, *Mycoplasma* spp., *Campylobacter jejuni* gây ra. Bệnh viêm âm đạo do vật ký sinh có thể là, ví dụ, do *Trichomonas vaginalis* gây ra. Viêm âm đạo do virus có thể là, ví dụ, do virus hepet typ 1 hoặc typ 2 gây ra. Bệnh viêm âm đạo do candida là do nấm *Candida* kiểu nấm men gây ra. Có hơn 170 loài nấm kiểu nấm men được mô tả. *C. albicans* là tác nhân gây bệnh gây ra bệnh viêm âm đạo do candida thường xuyên nhất nơi từ 85 đến 90% phụ nữ. *C. glabrata* (từ 5 đến 10%), *C. tropicalis* (từ 3 đến 5%), *C. parapsilosis* (từ 3 đến 5%) và *C. krusei* (từ 1 đến 3%) cũng có ý nghĩa về mặt lâm sàng trong số các loài khác của nấm *Candida*. Tác nhân gây bệnh bất kỳ

trong số các tác nhân gây bệnh này có thể được chọn là nguồn kháng nguyên để tạo ra kháng thể đa dòng như được mô tả ở đây.

Bệnh viêm âm đạo do nấm candida thường do một số yếu tố nguy cơ gây ra, như sử dụng lâu dài và không được kiểm soát đối với thuốc kháng sinh, corticosteroid, chất kìm hãm tế bào, dùng thuốc tránh thai qua đường miệng, xạ trị, bệnh lây nhiễm trầm trọng, rối loạn tuyến nội tiết, tình trạng thiếu hụt miễn dịch, v.v. Việc kê đơn các thuốc kháng sinh phổ rộng không chỉ ngăn chặn vi khuẩn gây bệnh, mà còn ngăn chặn sinh vật hoại sinh trong niêm mạc âm đạo: lactobacilli và bifidobacteria. Kết quả là độ pH của âm đạo tăng (gần với khoảng kiềm) và xảy ra rối loạn quy trình tự làm sạch. Ngoài ra, nấm *Candida* có khả năng sử dụng một số thuốc kháng sinh làm cơ chất dinh dưỡng. Do đó, các điều kiện thuận lợi cho sự phát triển quá mức tích cực của nấm *Candida* tăng ở cơ quan sinh dục nữ. Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất được phẩm để điều trị bệnh viêm âm đạo chứa các kháng thể đa dòng kháng một hoặc nhiều tác nhân gây bệnh đã nêu được kết hợp vào cơ chất mang như được mô tả dưới đây.

Theo một khía cạnh cụ thể, được phẩm theo sáng chế chứa hỗn hợp gồm các kháng thể đa dòng đặc hiệu trong cơ chất mang tạo ra phương pháp điều trị phổ rộng bệnh viêm âm đạo do vi khuẩn, virus, nấm hoặc vật ký sinh. Theo một khía cạnh khác, các được phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng để điều trị bệnh viêm âm đạo không phân biệt được ở đối tượng cần điều trị này.

Các phân tử gắn kết đặc hiệu khác

Các được phẩm và phương pháp theo sáng chế bao gồm các phân tử gắn kết đặc hiệu khác bao gồm yếu tố chuyển, thụ thể tế bào lympho biến đổi và thụ thể tế bào. Yếu tố chuyển là phân tử miễn dịch có khối lượng phân tử khoảng 5000 Dalton, cấu thành từ các axit amin, có tác dụng gây ra miễn dịch qua trung gian tế bào đặc hiệu kháng nguyên, tính quá mẫn muộn chủ yếu và tạo ra các lymphokin, cũng như gắn kết với chính kháng nguyên. (Kirkpatrick 1993, Structural nature and functions of transfer factors. Ann. N.Y. Acad. Sci. 685:362-368.). Các thụ thể tế bào lympho biến đổi là những phân tử có nguồn gốc từ tế bào lympho được phát hiện ở động vật có xương sống không hàm như cá miệng tròn và cá mút đá. Các động vật này có hệ lớn các thụ thể tế bào lympho biến đổi mà được tạo ra chỉ từ một số lượng

nhỏ các gen và gắn kết với các kháng nguyên gây bệnh theo cách tương tự với kháng thể và với cùng một mức đặc hiệu. (Alder et al., 2005, Diversity and function of adaptive immune receptors in a jawless vertebrate. Science, 310(5756):1970-1973).

Cơ chất mang

Sáng chế đề xuất được phẩm để điều trị hoặc phòng ngừa sự bệnh truyền nhiễm tác nhân gây bệnh ở đối tượng. Dược phẩm này chứa các phân tử gắn kết đặc hiệu, như kháng thể đa dòng, được đưa vào cơ chất mang. Trong khi không có ý làm giới hạn phạm vi của sáng chế, cơ chất mang có tác dụng nhằm vào hai mục đích. Thứ nhất, để bảo vệ các kháng thể trong môi trường chức năng được dự định của chúng, ví dụ, ngay khi dùng qua đường miệng và trong đường dạ dày-ruột của đối tượng không phải là trẻ sơ sinh; và còn tạo ra các thành phần, ví dụ các thành phần của hệ miễn dịch bẩm sinh, để phản ứng theo kiểu hiệp đồng với kháng thể để kiểm soát sự lây nhiễm.

Thuật ngữ “cơ chất mang” hoặc cơ chất bảo vệ/phản ứng, chỉ cơ chất, hợp chất, chế phẩm hoặc hỗn hợp bổ sung bất kỳ (tự nhiên hoặc tổng hợp) chứa các phân tử, các đồng yếu tố hoặc các thành phần khác theo tỷ lệ và nồng độ thích hợp để cung cấp các phân tử cần thiết để nhân giống, thúc đẩy, hỗ trợ hoặc nâng cao phản ứng, chuỗi phản ứng hoặc đáp ứng kiểu miễn dịch tại chỗ. Các phân tử này có thể thúc đẩy các phản ứng phân cắt và trưởng thành khác nhau, sự tạo thành các tập hợp và các phức hợp, các chức năng làm tiêu và hấp thụ, cung cấp phân tử thiết yếu, các hợp phần sinh học hoặc hợp chất và tạo ra chức năng bảo vệ đối với các hợp phần hoặc phân tử có hoạt tính. Cơ chất mang có thể chứa hoặc có thể không chứa kháng thể nội sinh (yếu tố miễn dịch), kháng thể này có thể đặc hiệu hoặc có thể không đặc hiệu đối với các kháng nguyên đích.

Theo một phương án, cơ chất mang được chọn từ hoặc có nguồn gốc từ huyết thanh, huyết tương, sữa non, sữa, nước bọt, dịch bạch huyết, dịch nhầy hoặc nước mắt có nguồn gốc từ động vật có vú không phải người.

Một ví dụ về cơ chất mang có trong tự nhiên là sữa non. Sữa non phát triển một cách tự nhiên ở động vật có vú chuyên phân phối các thành phần của nó cho trẻ sơ sinh và qua đường dạ dày-ruột ở dạng thể tích nhỏ rất đậm đặc. Sữa non hoặc

"sữa đầu tiên", được tạo ra bởi động vật có vú ngay sau khi đẻ. Các kháng thể và đồng yếu tố được truyền cho trẻ sơ sinh từ mẹ và tạo ra sự bảo vệ đầu tiên chống lại các tác nhân gây bệnh. Các yếu tố sinh trưởng cũng kích thích sự phát triển và hồi phục của ruột.

Sữa non chứa một loạt yếu tố hỗ trợ miễn dịch. Chúng bao gồm các interferon, globulin miễn dịch (bao gồm IgG và IgA tiết), bạch cầu nhân đa hình, đại thực bào và tế bào lympho. Sữa non cũng chứa polypeptit giàu prolin hoặc PRP, chất hoạt hóa tế bào T. Sữa non đã được biết là có hàm lượng globulin miễn dịch cao so với sữa. Sữa non đã được biết là có chứa các kháng thể như IgA, IgG và IgM ở động vật có vú. IgA được hấp thu qua biểu mô ruột, đi qua máu và được tiết ra trên bề mặt niêm mạc Typ 1 khác. Sữa non của bò được ghi nhận ở nơi bất kỳ là có từ 6% đến 20% globulin miễn dịch; chủ yếu là IgG₁ và IgG₂. Theo một khía cạnh, toàn bộ sữa non của bò được sử dụng làm cơ chất mang.

Sữa non cũng giúp điều hòa môi trường trong ruột, làm cho ruột chống lại các tác nhân gây bệnh ngoại lai. Sữa non chứa lactoferin, protein gắn kết sắt có tác dụng ngăn vi khuẩn và virus lây sắt cần thiết cho việc sao chép. Sữa non cũng nuôi dưỡng một cách chọn lọc các loài lợi khuẩn nhất định, rồi các loài này lại giúp đẩy lùi lây nhiễm. Sữa non là nguồn tự nhiên duy nhất có hai yếu tố sinh trưởng chính, Yếu tố sinh trưởng biến đổi (Transforming Growth Factor-TGF) alpha và beta, cũng như nguồn chứa yếu tố sinh trưởng insulin 1 và 2. Các yếu tố này thúc đẩy hồi phục và phát triển mô. Sữa non cũng là nguồn chứa yếu tố sinh trưởng tế bào gan, có chức năng kích thích quá trình sinh trưởng và mở rộng tế bào thành ruột. Sữa non được tạo ra trong tự nhiên có tác dụng làm cơ chất mang trong môi trường dạ dày-ruột. Kiểu cơ chất mang tổng hợp cũng nằm trong phạm vi của sáng chế. Cơ chất mang mà bao gồm cả thành phần tự nhiên và tổng hợp cũng nằm trong phạm vi của sáng chế.

Sữa non rất giàu protein, vitamin A và natri clorua, nhưng chứa lượng carbohydrat, lipid và kali thấp hơn so với sữa bình thường. Các thành phần có hoạt tính sinh học thích hợp nhất trong sữa non là các yếu tố sinh trưởng và yếu tố kháng vi sinh vật. Các kháng thể trong sữa non tạo ra miễn dịch thụ động, trong khi các yếu tố sinh trưởng kích thích sự phát triển của ruột. Chúng được truyền cho trẻ sơ

sinh và tạo ra sự bảo vệ đầu tiên chống lại các tác nhân gây bệnh. Miễn dịch thụ động từ người mẹ được truyền cho trẻ mới sinh.

Trẻ mới sinh có hệ tiêu hóa rất nhỏ và sữa non phân phối các chất dinh dưỡng ở dạng thể tích nhỏ rất đậm đặc. Đường dạ dày-ruột của trẻ sơ sinh dễ tiếp thu một cách đặc biệt với sự truyền miễn dịch thụ động từ sữa non. Khoảng độ pH trong dạ dày lúc sinh ra giao động trong khoảng từ 6 đến 8 do có dịch ối còn dư trong dạ dày. Sau đó, độ pH trong dạ dày giảm xuống khoảng độ pH từ 1,5 đến 3 trong thời gian từ 24 đến 48 giờ. Do đó, các điều kiện của dạ dày-ruột của trẻ mới sinh là có lợi cho việc gây miễn dịch thụ động. Ngoài ra, thời gian làm rỗng của dạ dày ở trẻ sơ sinh và trẻ sinh non được kéo dài, với các trị số của người trưởng thành đạt được ở từ 6 đến 8 tháng tuổi. Các kháng thể và đồng yếu tố có thể, trong các tình huống cụ thể (ví dụ, cho con bú) tạo ra miễn dịch thụ động cho người nhận; điều này đặc biệt đúng đối với trẻ sơ sinh. Đường dạ dày-ruột của các bé không phải sơ sinh, trẻ em, thanh thiếu niên và người lớn khỏe mạnh là một môi trường bất lợi hơn đối với việc dùng globulin miễn dịch qua đường miệng.

Các thành phần miễn dịch khác của sữa non bao gồm các thành phần chính của hệ miễn dịch bẩm sinh, như lactoferin, transferin, lysozym, lactoperoxidaza, bổ thể và các polypeptit giàu prolin (PRP). Một số xytokin (các peptit truyền tin nhỏ có chức năng kiểm soát chức năng của hệ miễn dịch) cũng được tìm thấy trong sữa non, bao gồm intolokin, yếu tố hoại tử khối u, chemokin và các chất khác. Sữa non cũng chứa một số yếu tố sinh trưởng, như yếu tố sinh trưởng tương tự insulin I và II, yếu tố sinh trưởng biến đổi alpha, beta 1 và beta 2, yếu tố sinh trưởng nguyên bào sợi, yếu tố sinh trưởng biểu bì, yếu tố sinh trưởng kích thích đại thực bào-bạch cầu hạt, yếu tố sinh trưởng có nguồn gốc từ tiểu cầu, yếu tố sinh trưởng nội mô mạch và yếu tố kích thích khuẩn lạc 1.

Theo một khía cạnh, cơ chất mang bao gồm hai hoặc nhiều hơn, ba hoặc nhiều hơn, bốn hoặc nhiều hơn, năm hoặc nhiều hơn hoặc sáu hoặc nhiều hơn hoặc bảy hoặc nhiều hơn các thành phần không phải globulin miễn dịch của sữa non. Theo một khía cạnh khác, cơ chất mang bao gồm sữa non mà đã được xử lý để loại bỏ phần lớn globulin miễn dịch. Theo các phương án, cơ chất mang bao gồm ít nhất hai thành phần thu được từ động vật không phải người được chọn từ nhóm bao gồm

enzym, lactoferin, transferin, globulin miễn dịch không đặc hiệu, các thành phần của hệ bổ thể, xytokin, bạch huyết bào, các thành phần bổ thể, interferon và fibronectin, trong đó ít nhất một phân tử gắn kết đặc hiệu và ít nhất hai thành phần của cơ chất mang thu được từ các động vật khác nhau.

Theo một khía cạnh khác, cơ chất mang bao gồm từ hai chất trở lên được chọn từ lysozym, phospholipaza, defensin, opsonin, polypeptit giàu prolin (PRP), beta-lysin, lactoferin, transferin, xytokin, intolokin, chemokin, interferon, TNF-alpha, fibronectin, polypeptit giàu prolin, yếu tố sinh trưởng insulin typ 1, yếu tố sinh trưởng insulin typ 2, yếu tố sinh trưởng có nguồn gốc từ tiểu cầu, yếu tố sinh trưởng biểu bì, yếu tố sinh trưởng tiểu cầu nguyên bào sợi, yếu tố sinh trưởng biến đổi alpha, yếu tố sinh trưởng biến đổi beta, yếu tố sinh trưởng thần kinh, leptin, bạch cầu, bạch huyết bào, thực bào, đại thực bào, bạch cầu đơn nhân to, bạch cầu trung tính, tế bào nhân đa hình và tế bào đuôi gai, tế bào mast, bạch cầu ưa eosin, bạch cầu ưa kiềm, tế bào giết tự nhiên (NK), tế bào giết được hoạt hóa bởi lymphokin (LAK), các protein cation bao gồm defensin, các enzym phân giải protein bao gồm elastaza, cathepsin G, myeloperoxidaza, các thành phần NADPH oxidaza hoặc dạng kết hợp của chúng. Theo một khía cạnh khác, cơ chất bao gồm hỗn hợp gồm các chất từ hệ miễn dịch bẩm sinh. Theo một khía cạnh được ưu tiên, cơ chất mang bao gồm sữa non của bò không phải siêu miễn dịch.

Sữa non của bò là do bò cái sản sinh ra cho bê con mới sinh của chúng. Trong nhiều đàn bò sữa, bê con không được bú; tốt hơn là chúng được nuôi sữa non và sữa muộn từ chai và sau đó là thùng. Sữa non được thu gom và được xử lý cho mục đích sử dụng thương mại. Các chế phẩm khác nhau bao gồm sữa non và các quy trình điều chế sữa non đã được mô tả trong các patent Mỹ số US 5,846,569, US 6,410,058, US 6,475,511 và US 6,521,277, nội dung của các patent này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Sữa non của bò được làm khô là sẵn có trên thị trường. Theo một khía cạnh cụ thể, cơ chất mang là sữa non của bò được làm khô trên thị trường.

Những người chăn nuôi gia súc/nhà tạo giống gia súc thường lập ngân hàng sữa non từ các động vật của họ. Sữa non được tạo ra trên chính cơ sở chăn nuôi của họ được cho là tốt hơn so với sữa non từ các nguồn khác, do nó được tạo ra bởi

động vật đã được cho tiếp xúc với (và do đó, tạo ra các kháng thể kháng) tác nhân gây bệnh xuất hiện trên cơ sở chăn nuôi này. Thông thường, sữa non từ các động vật được tiếp xúc với các tác nhân gây bệnh liên quan sẽ có các đặc điểm miễn dịch tốt hơn.

Sữa non của bò và các thành phần của nó là an toàn cho người tiêu dùng, ngoại trừ các trường hợp không dung nạp hoặc dị ứng với lactoza hoặc các thành phần khác. Sữa non của bò từ bò ăn cỏ chứa globulin miễn dịch đặc hiệu với nhiều tác nhân gây bệnh ở người, bao gồm *Escherichia coli*, *Cryptosporidium parvum*, *Shigella flexneri*, *Salmonella*, *Staphylococcus* và rotavirut, tùy thuộc vào sự tiếp xúc tự nhiên của chúng với các tác nhân gây bệnh này. Trước khi phát triển thuốc kháng sinh, sữa non là một nguồn globulin miễn dịch chủ yếu được sử dụng để chống các bệnh truyền nhiễm.

Sữa non siêu miễn dịch là nỗ lực để làm tăng hiệu quả của sữa non của bò tự nhiên bằng cách gây miễn dịch cho bò bằng tác nhân gây bệnh cụ thể. Phương pháp này hứa hẹn là các kháng thể được tạo ra để chống lại các tác nhân gây bệnh đặc hiệu hoặc kháng nguyên được sử dụng trong lần thử ban đầu. Tuy nhiên, tình trạng đáp ứng thay đổi với kháng nguyên, tính biến đổi sinh học và sản lượng sữa non thấp đã làm giới hạn tính hữu ích lâm sàng và thương mại của nó.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất được phẩm chứa sữa non mà không phải là sữa non siêu miễn dịch hoặc không chứa một lượng đo được hoặc đáng kể của các kháng thể đặc hiệu đối với các thành phần gây bệnh hoặc kháng nguyên đích. Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất được phẩm trong đó cơ chất mang chứa các thành phần khác nhau của hệ miễn dịch bẩm sinh mà không chứa một lượng đáng kể của kháng thể đặc hiệu hoặc không đặc hiệu.

Theo một phương án, sữa non có thể được xử lý để loại bỏ phần lớn globulin miễn dịch, ví dụ, bằng cách hấp thụ kháng thể trên nhựa ái lực (ví dụ, Protein G hoặc Protein A Sepharosa; hoặc Protein A hoặc Protein G Agarosa) ở dạng mẻ hoặc cột và giữ lại nước rửa giải để xử lý tiếp. Cũng có thể loại bỏ globulin miễn dịch bằng sắc ký lọc gel trên Sephadex G-200 hoặc sắc ký trao đổi ion DEAE Sephadex A-25. (Lloyd and Soulsby, Immunology, The role of IgA immunoglobulin in the passive transfer of protection to *Taenia taeniaeformis* in the mouse. 34, 939-945).

Các quy trình này có thể chạy trên dạng cột hoặc mẻ bằng các phương pháp và kỹ thuật khác nhau đã biết trong lĩnh vực này.

Theo một phương án cụ thể, cơ chất mang bao gồm sữa non. Theo một khía cạnh, sữa non thương mại được dùng làm cơ chất mang/cơ chất phản ứng. Theo một khía cạnh được ưu tiên, sữa non của bò thương mại là bột sữa non nguyên chất được kết tụ và được làm cho có thể dùng được ngay, được khử trùng, nguyên kem tạo ra được chỉ từ lần vắt sữa non đầu tiên. Theo một khía cạnh khác, sữa non được xử lý ở áp suất thấp và nhiệt độ thấp và sấy phun bằng cách sử dụng hơi nước gián tiếp để duy trì hoạt tính sinh học tối đa. Theo một khía cạnh khác, sữa non thương mại là từ nguồn không chứa thuốc kháng sinh. Theo một khía cạnh khác, sữa non được phân tích vi sinh và được nhận thấy là âm tính hoặc dưới các mức có thể chấp nhận được đối với nhiều tác nhân gây bệnh. Theo các khía cạnh khác nữa, sữa non được thử nghiệm các chất tạp nhiễm khác như nitrat, aflatoxin, nitrofurantoin, dioxin, melamin và các kim loại nặng và được nhận thấy là âm tính hoặc dưới các mức quy định.

Theo một phương án, sáng chế bao gồm sữa non có một vài nguồn được tạo siêu miễn dịch, mỗi nguồn hướng đến một nhóm hoặc cụm kháng nguyên khác nhau, trong đó sữa non được trộn lẫn để tạo ra chế phẩm kháng thể phổ rộng.

Theo một phương án khác, cơ chất mang bao gồm chất bài tiết niêm mạc được tái tạo hoặc nhân tạo như nước mắt, dịch nhầy ở mũi hoặc phế quản, dịch nhầy cổ tử cung, tinh thanh, mồ hôi, huyết tương hoặc nước bọt. Các dịch thể đã được biết là có chứa vài hợp phần với các lượng khác nhau. (Schenkels et al., Biochemical composition of human saliva in relation to other fluids, Crit. Rev. Oral Biol. Med., 1995, 6(2):161-175). Nước bọt chứa mucin, các PRP có tính axit, alpha-amylaza, các PRP có tính bazơ, PRG có tính bazơ, IgA tiết, xystatin, statherin, IgG, glycoprotein tuyến mang tai ngoài (EP-GP), VEGh (lipocalin), histatin, lysozym, kalikrein, lactoferin, lactoperoxidaza, haptocorin, beta-microseminoprotein, IgM, anbumin và Zn-alpha2-glycoprotein. Theo một khía cạnh, cơ chất mang bao gồm hai hoặc nhiều hơn, ba hoặc nhiều hơn, bốn hoặc nhiều hơn, năm hoặc nhiều hơn, sáu hoặc nhiều hơn hoặc bảy hoặc nhiều hơn các thành phần của dịch thể.

Nước mắt hoặc dịch nước mắt có nhiều thành phần giống như nước bọt và có nồng độ đặc biệt cao của IgA tiết, VEGh, lysozym và lactoferin. Theo một khía

cạnh, dịch nước mắt nhân tạo chứa muối như natri clorua và các thành phần tương tự đóng vai trò là thành phần chính hoặc thuốc nhỏ mắt chứa hydroxyethylxenluloza, chondroitin sulfat hoặc axit hyaluronic hoặc gôm xanthan (US 7,875,271, nội dung của tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn) đã biết trong lĩnh vực này được tăng cường bằng hai hoặc nhiều hơn, ba hoặc nhiều hơn, bốn hoặc nhiều hơn, năm hoặc nhiều hơn các thành phần của dịch thể như được mô tả và được sử dụng làm cơ chất mang dùng cho các kháng thể đa dòng được tinh chế, như được mô tả ở đây. Theo một khía cạnh, dược phẩm có thể được sử dụng để điều trị các bệnh nhiễm khuẩn ở mắt, như bệnh đau mắt đỏ.

Dịch nhầy cổ tử cung chứa muxin, alpha-amylaza, lysozym, lactoperoxidaza, anbumin và beta-microseminoprotein. Cơ chất được tạo ra bằng cách kết hợp hai hoặc nhiều hơn, ba hoặc nhiều hơn, bốn hoặc nhiều hơn, năm hoặc nhiều hơn trong số các thành phần này trong vai trò là cơ chất mang trong dược phẩm với phân tử gắn kết đặc hiệu không gian, như các kháng thể đa dòng kháng vi khuẩn hoặc kháng nấm, được tạo ra bằng các phương pháp theo sáng chế.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa gôm có khả năng cố định nước hoặc có thể trương nở trong nước, chứa tinh bột carboxymetyl được kết hợp với xenluloza làm chất hút thấm, mà khi cho tiếp xúc với nước hầu hết tạo thành gel ngay lập tức và có thể sử dụng một cách dễ dàng vào âm đạo. Viên nén chứa chế phẩm kháng thể/cơ chất theo sáng chế, ví dụ, có thể chứa tinh bột carboxymetyl và xenluloza như được mô tả trong patent Mỹ số US 4,808,415, nội dung của tài liệu này được đưa vào đây nhằm mục đích tham khảo. Theo một khía cạnh cụ thể, các kháng thể đa dòng kháng vi khuẩn và kháng nấm được kết hợp trong cơ chất và được bào chế để tạo ra chế phẩm điều trị phổ rộng đối với bệnh viêm âm đạo. Theo một khía cạnh, chế phẩm được sử dụng để điều trị bệnh nhiễm khuẩn âm đạo, như nhiễm *trichomonas* hoặc bệnh viêm âm đạo do nấm, như nhiễm nấm candida.

Nước bọt là dịch tiết niêm mạc có mặt trong khoang miệng và được tiết ra bởi tuyến nước bọt. Nước bọt có chức năng bảo vệ như màng phủ mô, bôi trơn, làm ẩm và tái khoáng hóa cho răng. Nước bọt cũng có chức năng bảo vệ vật chủ bằng hoạt tính miễn dịch, kháng vi khuẩn, kháng virus và kháng nấm. Nước bọt cũng có

hoạt tính tiêu hóa với các enzym tiêu hóa, tạo liều lớn và vị giác. Nước bọt chứa các protein khác nhau như histatin và các protein giàu prolin có tính axit là riêng có đối với nước bọt. Nước bọt cũng chứa các protein có mặt trong các dịch thể khác như lysozym, mucin, statherin và globulin miễn dịch. Nước bọt chứa protein như anbumin và Zn-alpha-2-glycoprotein có nguồn gốc từ huyết tương. Đã biết là nước bọt của bò có tác dụng điều trị. (Varshney et al., 1997, Therapeutic value of bovine saliva in wound healing: a histomorphological study., Indian J. Biol. May 1997, 35(5):535-7). Theo một khía cạnh, các thành phần của nước bọt có thể là hữu ích, ví dụ, trong kem đánh răng hoặc nước súc miệng hoặc các chế phẩm khác để dùng qua đường niêm mạc miệng.

Dịch nhầy phế quản chứa mucin, alpha-amylaza, polypeptit giàu prolin có tính bazơ (PRP), xystatin, statherin, EP-GP, lysozym, beta-microseminoprotein và anbumin. Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất được phẩm chứa phân tử gắn kết đặc hiệu không gian và cơ chất mang bao gồm hai hoặc nhiều hơn, ba hoặc nhiều hơn, bốn hoặc nhiều hơn các thành phần của nước bọt hoặc chất tiết phế quản. Theo một khía cạnh, dược phẩm với cơ chất mang được đóng gói ở dạng khô với phân tử gắn kết đặc hiệu không gian, như các kháng thể đa dòng kháng *Streptococcus* nhóm A được điều chế theo sáng chế. Theo một khía cạnh, dược phẩm ở dạng khô được hoàn nguyên, ví dụ trong dung dịch nước muối và được dùng như thuốc xịt họng để điều trị bệnh viêm họng do liên cầu khuẩn.

Có thể điều chế các cơ chất mang khác để hoạt động trong các môi trường sử dụng khác, ví dụ chế phẩm khí dung (xông), dùng cho mắt, khu trú hoặc các chế phẩm khác.

Theo một phương án cụ thể, phân tử gắn kết đặc hiệu và cơ chất mang có nguồn gốc từ các loài khác nhau. Theo một khía cạnh khác nữa, cả phân tử gắn kết đặc hiệu và cơ chất mang có nguồn gốc từ các loài không phải người. Theo một khía cạnh khác, phân tử gắn kết đặc hiệu có nguồn gốc từ động vật không phải động vật có vú. Theo một khía cạnh khác, cơ chất mang có nguồn gốc từ động vật có vú không phải người.

Chế phẩm và dược phẩm

Theo một phương án, các kháng thể được thu hoạch từ huyết tương, huyết thanh hoặc máu, sữa non, trứng hoặc bộ phận khác của động vật được tiêm chủng hoặc hệ sản xuất nhân tạo (như môi trường nuôi cấy tế bào), sau đó được tinh chế hoặc xử lý và được bổ sung vào cơ chất mang như sữa non. Các thành phần cho phép được sử dụng làm môi trường phân phối, ví dụ, để dùng qua đường miệng chế phẩm chứa kháng thể. Phương pháp này đề xuất cách sản xuất kháng thể ở quy mô lớn đáng tin cậy có hiệu quả để bào chế theo cách này, để kiểm soát hiệu giá, độ sệt và tình trạng sẵn có liên tục, để sử dụng trong thương mại. Theo một phương án, các kháng thể được thu hoạch từ trứng của động vật được tiêm chủng và có thể được tinh chế và được xử lý hoặc được giữ lại trong nguyên liệu trứng và được bổ sung vào sữa non của bò.

Có nhu cầu rõ rệt về phương pháp điều trị có chi phí thấp và hiệu quả đối với nhiều tác nhân gây bệnh dạ dày-ruột và các kháng thể được dùng qua đường miệng là các chất dự tuyển cho vai trò này. Ngoài đặc điểm là có hiệu quả đã được chứng minh ra, các kháng thể được dùng qua đường miệng thường là không sinh miễn dịch. Chúng thường được cho là được dung nạp tốt mà không có các tác dụng phụ bất lợi được ghi nhận và tương đối là không có các phản ứng khác với sản phẩm thực phẩm được tiêu hóa tương đương. Đặc biệt là vài sản phẩm chứa kháng thể dùng qua đường miệng đã nhận được giấy chứng nhận an toàn (Generally Recognized as Safe-GRAS) của FDA.

Một phương án theo sáng chế là chế phẩm kháng độc tố có tác dụng điều trị hoặc phòng bệnh phổ rộng chứa hỗn hợp gồm các kháng thể trung hòa phổ rộng, được đưa vào cơ chất mang, được tạo ra theo phương pháp này, nhằm mục đích cho phép dùng hiệu quả qua một khoảng rộng các tình trạng bệnh chưa biết hoặc chưa được chẩn đoán dẫn đến bệnh tiêu chảy do độc tố gây ra.

Một phương án theo sáng chế là dược phẩm kháng tác nhân gây bệnh có tác dụng điều trị hoặc phòng bệnh phổ rộng, được đưa vào cơ chất mang, chứa hỗn hợp gồm kháng thể kháng tác nhân gây bệnh phổ rộng được tạo ra theo phương pháp này.

Một phương án theo sáng chế là được phẩm kháng adhesin có tác dụng điều trị hoặc phòng bệnh phổ rộng được đưa vào cơ chất mang, chứa hỗn hợp gồm kháng thể kháng adhesin phổ rộng được tạo ra theo phương pháp này.

Một phương án theo sáng chế là chế phẩm điều trị hoặc phòng bệnh phổ rộng được đưa vào cơ chất mang, chứa hỗn hợp gồm kháng thể kháng độc tố, kháng tác nhân gây bệnh và kháng adhesin phổ rộng được tạo ra theo phương pháp này.

Một hạn chế quan trọng của việc sử dụng các sản phẩm trên cơ sở thực phẩm tự nhiên là các chế phẩm đó bị giới hạn bởi các kết quả được cho phép bởi các quy trình tự nhiên. Sáng chế cho phép bổ sung chọn lọc các lượng kháng thể đặc hiệu và các yếu tố miễn dịch chung (chế phẩm) mà cao hơn đáng kể so với các mức sinh lý mà có thể đạt được một cách bình thường trong tự nhiên. Sáng chế cũng cho phép xem xét các yếu tố khác nhau theo một cách tạo ra tính đặc hiệu cao hơn với các bệnh, tác nhân gây bệnh hoặc các chất được nhắm tới.

Theo một phương án, chế phẩm chứa phân tử gắn kết đặc hiệu là chế phẩm dạng rắn khô (bột trứng). Chế phẩm dạng bột được đóng kín trong các gói kín khí, tùy ý được phân lớp bằng khí trơ. Chế phẩm có thể được bảo quản trong khoảng thời gian kéo dài ở nhiệt độ trong phòng, dưới nhiệt độ làm lạnh hoặc làm đông lạnh. Theo các phương án khác, chế phẩm dạng khô được bào chế thành viên nang hoặc viên nén để dùng qua đường miệng. Theo một phương án khác, chế phẩm được nén thành các viên nén có thể nhai được.

Một phương án khác theo sáng chế đề cập đến chất pha loãng được dùng để bào chế được phẩm, trong đó chất pha loãng được dùng này được chọn từ nhóm bao gồm lactoza, manitol, sorbitol, xenluloza vi tinh thể, sucroza, natri xitrat, dicanxi phosphat hoặc thành phần bất kỳ khác khác có bản chất tương tự riêng rẽ hoặc ở dạng kết hợp thích hợp của nó; chất gắn kết được chọn từ nhóm bao gồm gồm tragacan, gôm acacia, metyl xenluloza, gelatin, polyvinyl pyrrolidon, tinh bột hoặc thành phần bất kỳ khác có bản chất tương tự riêng rẽ hoặc ở dạng kết hợp thích hợp của nó; các tá dược được chọn từ nhóm bao gồm aga, canxi cacbonat, natri cacbonat, silicat, axit alginic, tinh bột ngô, tinh bột khoai tây, primogel hoặc thành phần bất kỳ khác có bản chất tương tự riêng rẽ hoặc ở dạng kết hợp thích hợp của nó; chất làm trơn được chọn từ nhóm bao gồm magie stearat, canxi stearat hoặc

steorot, bột talc, polyetylen glycol dạng rắn, natri lauryl sulfat hoặc thành phần bất kỳ khác có bản chất tương tự riêng rẽ; các chất gây trượt được chọn từ nhóm bao gồm silic dioxit dạng keo hoặc thành phần bất kỳ khác có bản chất tương tự riêng rẽ hoặc ở dạng kết hợp thích hợp của nó; chất làm ngọt được chọn từ nhóm bao gồm, như, sucroza, sacarin hoặc thành phần bất kỳ khác có bản chất tương tự riêng rẽ hoặc ở dạng kết hợp thích hợp của nó; chất tạo hương được chọn từ nhóm bao gồm dầu bạc hà cay, metyl salixylat, chất tạo hương cam, chất tạo hương vani hoặc chất tạo hương được dụng bất kỳ khác riêng rẽ hoặc ở dạng kết hợp thích hợp của nó; chất tạo ẩm được chọn từ nhóm bao gồm rượu axetyl, glyxeryl monostearat hoặc chất tạo ẩm được dụng bất kỳ khác riêng rẽ hoặc ở dạng kết hợp thích hợp của nó; chất hấp thụ được chọn từ nhóm bao gồm cao lanh, đất sét bentonit hoặc chất hấp thụ được dụng bất kỳ khác riêng rẽ hoặc ở dạng kết hợp thích hợp của nó; chất làm chậm được chọn từ nhóm bao gồm sáp, parafin hoặc chất làm chậm được dụng bất kỳ khác riêng rẽ hoặc ở dạng kết hợp thích hợp của nó.

Theo một khía cạnh khác, liều hằng ngày dùng cho người không phải trẻ sơ sinh được chuẩn hóa bằng phương pháp bất kỳ định lượng được các kháng thể đặc hiệu. Theo một khía cạnh, liều được phẩm được chuẩn hóa bằng cách sử dụng ELISA để đánh giá nồng độ kháng thể kháng kháng nguyên đặc hiệu trong được phẩm. Theo một khía cạnh, một liều được phẩm dùng qua đường miệng có hiệu quả điều trị bệnh truyền nhiễm tác nhân gây bệnh chứa phân tử gắn kết đặc hiệu kháng nguyên với lượng nằm trong khoảng từ 0,0001mg đến 20mg; từ 0,001mg đến 15mg; từ 0,01 đến 10mg; từ 0,05 đến 5mg; từ 0,1 đến 1mg phân tử gắn kết đặc hiệu kháng nguyên hỗn hợp.

Thuật ngữ “dạng rắn” chỉ dạng được làm khô của phân tử gắn kết đặc hiệu hoặc dạng được làm khô của cơ chất mang hoặc dạng liều rắn chứa cả phân tử gắn kết đặc hiệu và cơ chất mang được làm khô như bột, viên nén được nén, viên ngậm dẹt hoặc viên nang. Theo một khía cạnh, dạng liều rắn được dự định để dùng qua đường miệng. Theo một khía cạnh, bột là chế phẩm để tạo huyền phù. Theo một khía cạnh, trứng miễn dịch dạng bột khô và sữa non dạng bột khô được đóng gói trong gói nhỏ kín khí. Ngay trước khi dùng qua đường miệng, chế phẩm trong gói

nhỏ được tạo huyền phù hoặc hòa tan, trong chất lỏng và được dùng qua đường miệng.

Theo một khía cạnh, dược phẩm cũng có thể được bào chế ở dạng lỏng để sử dụng.

Theo một khía cạnh, một liều chứa 1g, 2g, 3g, 4g, 5g, 5g, 6g hoặc 7g trứng miễn dịch được làm khô và 1g, 2g, 3g, 4g, 5g, 5g, 6g hoặc 7g sữa non của bò được làm khô. Theo một khía cạnh, một liều của dạng liều khô chứa 3g sản phẩm trứng miễn dịch được làm khô và 4g sữa non của bò được làm khô. Theo một khía cạnh, một liều của dạng liều khô chứa 2g sản phẩm trứng miễn dịch được làm khô và 4g sữa non của bò được làm khô. Theo một khía cạnh, một liều của dạng liều khô chứa 4g sản phẩm trứng miễn dịch được làm khô và 4g sữa non của bò được làm khô. Theo một khía cạnh khác, lượng chứa trong gói liều đơn được hòa tan trong khoảng 2 aoxơ nước và được dùng qua đường miệng.

Các chế phẩm để sử dụng qua đường miệng cũng có thể được bào chế thành viên ngậm dẹt, viên nén có thể nhai được hoặc viên nang gelatin cứng trong đó hoạt chất được trộn với chất pha loãng dạng rắn trơ (ví dụ, tinh bột khoai tây, lactoza, xenluloza vi tinh thể, canxi cacbonat, canxi phosphat hoặc cao lanh) hoặc viên nang gelatin mềm trong đó hoạt chất được trộn với nước hoặc môi trường chứa dầu, ví dụ, dầu lạc, parafin dạng lỏng hoặc dầu ôliu. Bột và hạt có thể được bào chế bằng cách sử dụng các thành phần được nêu trên đây trong viên nén và viên nang theo cách thông thường bằng cách sử dụng, ví dụ, máy trộn, thiết bị tạo hạt tầng sôi hoặc thiết bị sấy phun.

Theo các phương án khác nhau, chế phẩm theo sáng chế có nhiều ưu điểm so với các chế phẩm đã biết trong lĩnh vực này. Theo một khía cạnh, chế phẩm theo sáng chế chứa IgY đặc hiệu kháng nguyên và cơ chất mang là sữa non của bò có ưu điểm là được bào chế trong khoảng thời gian nhanh chóng trong khoảng 6 tuần, khi kháng nguyên quan tâm được nhận diện. Điều này cho phép tái hiện và chuẩn hóa dễ dàng phác đồ tiêm vắc xin của gà. Theo một khía cạnh cụ thể, các đàn gà khác nhau được tiêm vắc xin với mỗi chế phẩm chứa kháng nguyên đơn, hỗn hợp và sau đó kết hợp đối với dược phẩm phổ rộng để điều trị bệnh truyền nhiễm tác nhân gây bệnh. Theo một khía cạnh cụ thể, ba đàn gà được tiêm vắc xin với các chế phẩm

chứa kháng nguyên hỗn hợp riêng biệt sau đó được gom lại để tạo ra dược phẩm phổ rộng để điều trị bệnh tiêu chảy không phân biệt được mà không cần phải biết về các tác nhân gây bệnh từ vi sinh vật gây bệnh. Phương pháp này có ưu điểm là hỗn hợp các kháng thể đặc hiệu kháng nguyên trong dược phẩm có thể được hiệu chỉnh thích hợp theo đợt bùng phát dịch bệnh, vùng bệnh hoặc mùa mắc bệnh cụ thể, nếu cần. Cuối cùng, theo các phương án, phân tử gắn kết đặc hiệu không cần phải được tách ra từ trứng được làm khô toàn bộ để bảo chế nhanh chóng và bảo quản lâu dài.

Theo một khía cạnh khác, các dược phẩm theo sáng chế có hiệu quả để dùng qua đường miệng để điều trị bệnh truyền nhiễm tác nhân gây bệnh ở đối tượng không phải trẻ sơ sinh. Đường dạ dày-ruột của đối tượng không phải trẻ sơ sinh có tính axit mạnh và hấp thụ thấp hơn so với trẻ sơ sinh, như được mô tả ở đây. Trong các ví dụ theo sáng chế, các dược phẩm có hiệu quả để điều trị bệnh tiêu chảy không phân biệt được ở trẻ em không phải trẻ sơ sinh từ 6 tháng đến 5 tuổi. Theo một khía cạnh khác, các dược phẩm theo sáng chế có hiệu quả để điều trị hoặc phòng ngừa bệnh tiêu chảy khi đi du lịch ở người trưởng thành. Cơ chất mang là cơ chất có tác dụng bảo vệ và có tính phản ứng dùng để kết hợp với các phân tử gắn kết đặc hiệu kháng nguyên. Theo một khía cạnh khác, các dược phẩm theo sáng chế được bào chế ở dạng bột, dạng rắn để tạo huyền phù ngay trước khi sử dụng. Theo một khía cạnh, dạng liều được tạo huyền phù hoặc hoàn nguyên có ưu điểm là rất ngon miệng với trẻ nhỏ và trẻ em, thậm chí khi mắc các triệu chứng bệnh truyền nhiễm tác nhân gây bệnh. Điều này có ưu điểm là liều đầy đủ có thể được dùng dễ dàng và được tiêu hóa bởi đối tượng mắc bệnh truyền nhiễm tác nhân gây bệnh.

Theo một khía cạnh khác, có thể sử dụng chế phẩm theo sáng chế để đem lại miễn dịch thụ động phổ rộng trong điều trị hoặc phòng ngừa bệnh truyền nhiễm tác nhân gây bệnh. Theo một khía cạnh, mức độ gây miễn dịch thấp của gà có thể là đủ để tạo ra chế phẩm với lượng hữu hiệu của phân tử gắn kết đặc hiệu kháng kháng nguyên để tạo ra dược phẩm phổ rộng có hiệu quả khi được dùng với cơ chất mang. Điều trị hoặc phòng ngừa bệnh truyền nhiễm tác nhân gây bệnh

Các dược phẩm theo sáng chế chứa protein gắn kết đặc hiệu được đưa vào trong cơ chất mang. Các dược phẩm có thể được dùng theo phương pháp bất kỳ thích hợp cho các đặc tính sinh miễn dịch hoặc đặc tính phản ứng về mặt sinh học

hoặc về mặt miễn dịch cụ thể của chúng, bao gồm phương pháp dùng qua đường miệng, trong tĩnh mạch, trong miệng, mũi, niêm mạc, da hoặc phương pháp khác, trong cơ chất mang thích hợp. Một phương án cụ thể bao gồm dùng qua đường miệng được phẩm theo sáng chế.

Theo các phương án khác nhau, chế phẩm được dùng ở dạng dược phẩm phòng bệnh hoặc điều trị bệnh. Theo các khía cạnh khác, dược phẩm chứa chất mang được dụng. Theo các khía cạnh khác nhau, dược phẩm không chứa polyme, copolyme, liposom, hydrogel hoặc fibrin. Theo các khía cạnh, dược phẩm không chứa vi cầu hoặc vi nang. Theo các khía cạnh khác, dược phẩm không chứa chất sinh miễn dịch hoặc kháng nguyên. Dược phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng bằng cách phân phối qua đường miệng, phân phối qua mũi, phân phối qua đường mắt, phân phối qua niêm mạc hoặc dạng kết hợp của chúng.

Một phương án theo sáng chế sử dụng phương thức dùng thuốc qua đường miệng. Đã được chứng minh ở các hệ của người và động vật rằng việc dùng qua đường miệng (ăn vào) các kháng thể, globulin miễn dịch và các yếu tố miễn dịch sinh học khác có thể có các tác dụng có thể đo được đối với tiến trình, tính trầm trọng và khoảng thời gian mắc bệnh, trong, gắn liền với hoặc bị ảnh hưởng bởi hệ dạ dày-ruột.

Hỗn hợp gồm các kháng thể phổ rộng được đưa vào trong cơ chất mang, như, ví dụ, sữa non để dùng qua đường miệng. Sữa non có tác dụng tạo ra các thuộc tính bảo vệ hiệp đồng và có hiệu quả cho dược phẩm chứa kháng thể. Dạng kết hợp bất kỳ của các kháng thể có thể được sử dụng trong chất mang, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, tổ hợp gồm các kháng thể kháng tác nhân gây bệnh, kháng độc tố và kháng adhesin.

Theo một khía cạnh, dược phẩm theo sáng chế được sử dụng để điều trị cho người bệnh mắc các bệnh truyền nhiễm tác nhân gây bệnh khác. Các dạng chế phẩm và dược phẩm để dùng qua đường miệng có thể được dùng ngày một lần, hai lần, ba lần hoặc bốn lần trong hai, ba, bốn, năm, sáu, bảy, 8, 9, 10, 11 hoặc 12 ngày liên tiếp để điều trị bệnh truyền nhiễm tác nhân gây bệnh. Theo một khía cạnh, dược phẩm được dùng hai lần/ngày trong năm ngày để điều trị bệnh truyền nhiễm tác nhân gây bệnh. Theo một khía cạnh cụ thể khác, dược phẩm được dùng một

lần/ngày trong ba ngày liên tiếp để điều trị có hiệu quả bệnh tiêu chảy không phân biệt được ở trẻ em không phải là trẻ sơ sinh hoặc để điều trị bệnh tiêu chảy khi đi du lịch ở trẻ em không phải là trẻ sơ sinh hoặc người trưởng thành. Theo một khía cạnh khác, dược phẩm có thể được dùng thường xuyên để phòng ngừa bệnh truyền nhiễm tác nhân gây bệnh.

Trong trường hợp của dược phẩm để điều trị bệnh truyền nhiễm tác nhân gây bệnh ở niêm mạc bằng cách dùng khu trú vào niêm mạc, dược phẩm có thể được dùng từ hai đến sáu lần/ngày trong khoảng thời gian từ ba đến 12 ngày.

Theo một phương án được ưu tiên, sáng chế đề xuất dược phẩm có hiệu quả để điều trị bệnh tiêu chảy không phân biệt được ở người không phải trẻ sơ sinh. Chế phẩm tận dụng ưu điểm của chiến lược sản xuất kháng thể đa dòng hiệu quả (tiêm chủng ở gà, với kháng thể thu hoạch được từ trứng) để tạo ra các kháng thể đặc hiệu cao nhắm vào một vài nguyên nhân gây bệnh tiêu chảy. Theo một phương án cụ thể, dược phẩm chứa các kháng thể đa dòng đặc hiệu trong cơ chất mang là sữa non của bò thương mại.

Theo một phương án được ưu tiên, sáng chế đề xuất dược phẩm rẻ tiền để điều trị hiệu quả bệnh tiêu chảy ở trẻ em không phân biệt được. Dược phẩm này bao gồm hỗn hợp các kháng thể đa dòng, IgY sơ cấp, đặc hiệu đối với *E. coli*, *Salmonella* spp., rotavirut, vi khuẩn gram âm, độc tố được sản sinh bởi tác nhân gây bệnh và adhesin mà có khả năng gắn kết tác nhân gây bệnh và tạo khuẩn lạc trong đường dạ dày-ruột.

Theo một khía cạnh cụ thể, chế phẩm bao gồm lượng có khối lượng tương đương của sản phẩm trứng miễn dịch được làm khô từ mỗi đàn trong số ba đàn được tiêm chủng bằng các kháng nguyên khác nhau hoặc các chế phẩm chứa kháng nguyên hỗn hợp khác nhau cùng được đóng gói với lượng đặc hiệu của sữa non của bò không siêu miễn dịch thương mại được làm khô. Theo một khía cạnh, từ 0,5 đến 3g, từ 0,7 đến 2,0g, 1,0g, 1,3g hoặc 1,5g sản phẩm trứng miễn dịch được làm khô từ mỗi đàn được bổ sung vào gói liều đơn. Tốt hơn, nếu 1,0g hoặc 1,3g mỗi sản phẩm trứng miễn dịch được bổ sung vào gói nhỏ chứa một liều. Theo một khía cạnh khác, từ 1 đến 5g, từ 2g đến 4g, 1,5g, 2,0g, 2,5g, 3,0g, 3,5g, 4,0g, 4,5g hoặc 5g sữa non khô được bổ sung vào cùng gói nhỏ.

Trước khi sử dụng, lượng dược phẩm bên trong các gói nhỏ hoặc túi được trộn vào khoảng 2 aoxơ nước tinh khiết hoặc một số chất lỏng dùng qua đường miệng khác. Dược phẩm đã hoàn nguyên toàn bộ được dùng qua đường miệng cho đối tượng. Dược phẩm có thể được dùng từ một đến bốn lần/ngày trong thời gian nằm trong khoảng từ hai đến mười ngày. Theo một phương án cụ thể, chế phẩm được dùng một lần/ngày trong 3 ngày liên tiếp. Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh tiêu chảy không phân biệt được ở trẻ nhỏ, bằng cách dùng dược phẩm theo sáng chế một lần/ngày trong hai, ba hoặc bốn ngày.

Theo một khía cạnh, dược phẩm theo sáng chế được dùng làm liệu pháp bổ sung cho phương pháp điều trị bệnh bằng kháng sinh. Theo khía cạnh này, chế phẩm có thể được dùng một lần/ngày trong ba ngày điều trị đầu tiên. Theo một khía cạnh khác, dược phẩm theo sáng chế được dùng với dung dịch bù nước qua đường miệng (ORS). Theo một khía cạnh khác, dược phẩm theo sáng chế được dùng cùng với chế phẩm chứa kẽm qua đường miệng. Theo một khía cạnh khác, dược phẩm theo sáng chế được dùng làm dược phẩm bổ sung cho phương pháp điều trị bệnh bằng kháng sinh để phòng ngừa sự tăng trưởng quá mức của sinh vật gây bệnh cụ thể mà kháng thuốc kháng sinh. Như được mô tả chi tiết trong phần các ví dụ thực hiện sáng chế, dược phẩm và phương pháp có hiệu quả làm tiêu tan nhanh chóng các triệu chứng của bệnh tiêu chảy không phân biệt được ở trẻ nhỏ, kết quả là làm giảm đáng kể thể tích phân, tần suất đi đại tiện và khoảng thời gian bị tiêu chảy, cũng như cải thiện đáng kể tình trạng sức khỏe được ghi nhận bởi bác sỹ.

Theo một phương án khác, các dược phẩm theo sáng chế được sử dụng để điều trị bệnh tiêu chảy khi đi du lịch. Khởi phát của bệnh tiêu chảy khi đi du lịch thường xảy ra trong tuần đầu tiên của chuyến đi nhưng có thể xảy ra ở thời gian bất kỳ trong khi đi du lịch và thậm chí là sau khi trở về nhà. Yếu tố quyết định nguy cơ quan trọng nhất là điểm đến du lịch. Các điểm đến có nguy cơ cao là các nước đang phát triển thuộc châu Mỹ La-tinh, Châu phi, vùng Trung đông và châu Á. Những người có nguy cơ cao cụ thể bao gồm thanh niên, người bị ức chế miễn dịch, người mắc bệnh viêm ruột hoặc bệnh tiểu đường và người có chất phong bế H-2 hoặc chất giảm axit trong dạ dày. Hầu hết các ca mắc bệnh tiêu chảy khi đi du lịch là khởi phát đột ngột. Ốm thường làm tăng tần suất đi đại tiện, thể tích và khối lượng phân.

Thông thường là độ sệt của phân thay đổi. Thông thường, người mắc bệnh đại tiện phân lỏng hoặc phân nước bốn đến năm lần mỗi ngày. Các triệu chứng đi kèm thông thường khác là buồn nôn, nôn mửa, tiêu chảy, co cứng cơ bụng, sung, sốt, đau cấp và khó chịu.

Các tác nhân lây nhiễm là nguyên nhân chủ yếu gây bệnh tiêu chảy khi đi du lịch. Các tác nhân gây bệnh trong ruột là vi khuẩn gây ra khoảng 80% trường hợp mắc bệnh tiêu chảy khi đi du lịch. Tác nhân gây bệnh phổ biến nhất được phân lập ở các nước đã được điều tra là *Escherichia coli* sinh độc tố đường ruột (ETEC). ETEC gây ra bệnh tiêu chảy phân nước kèm với sốt gây co giật và sốt nhẹ hoặc không bị sốt. Ngoài ETEC và các tác nhân gây bệnh là vi khuẩn khác, nhiều tác nhân gây bệnh đường ruột là virus và vật ký sinh cũng là các tác nhân gây bệnh tiềm tàng.

Theo một khía cạnh, được phẩm theo sáng chế được dùng cho đối tượng một lần/ngày trong ba ngày liên tiếp như là một chất thay thế hoặc bổ sung cho quá trình điều trị bệnh tiêu chảy khi đi du lịch bằng thuốc kháng sinh. Bằng chứng nghiên cứu giới hạn trong lĩnh vực này cho thấy mức cải thiện về các triệu chứng của bệnh tiêu chảy trong vòng 24 hoặc 48 giờ từ liều đầu tiên. Theo cách khác, mức hai liều/ngày của được phẩm theo sáng chế được dùng vào ngày 1, tiếp theo là liều đơn vào các ngày 2 và 3. Theo một khía cạnh, được phẩm theo sáng chế được dùng theo lịch trình hằng ngày hoặc hằng tuần xen kẽ hoặc lịch trình liều được làm giảm để phòng ngừa bệnh tiêu chảy khi đi du lịch.

Theo một phương án khác nữa, được phẩm theo sáng chế được sử dụng như “chất tiền sinh” để kiểm soát hệ vi sinh vật dạ dày-ruột của đối tượng, ví dụ, trước khi dùng lợi khuẩn. Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “chất tiền sinh” chỉ được phẩm mà cho phép có sự thay đổi cụ thể, cả về thành phần và/hoặc hoạt tính của hệ vi khuẩn trong dạ dày-ruột mà tạo ra lợi ích cho sức khỏe và tình trạng sức khỏe của đối tượng. Theo một khía cạnh, được phẩm là hữu ích để kiểm soát hệ vi sinh vật dạ dày-ruột để làm giảm hoặc loại trừ một hoặc nhiều chủng vi khuẩn không mong muốn. Theo một khía cạnh, được phẩm chứa globulin miễn dịch kháng kháng nguyên được hiệu chỉnh để kiểm soát hệ vi sinh vật dạ dày-ruột để làm giảm hoặc loại trừ một hoặc nhiều chủng vi khuẩn không mong muốn. Theo một

khía cạnh khác, các được phẩm được sử dụng làm được phẩm bổ sung cho chất tiền sinh truyền thống. Theo một khía cạnh khác, được phẩm theo sáng chế còn bao gồm chất xơ có thể hòa tan. Theo một khía cạnh khác, được phẩm được sử dụng riêng rẽ để kiểm soát hệ vi sinh vật.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp kiểm soát hệ vi sinh vật trong dạ dày-ruột ở đối tượng bao gồm các bước dùng được phẩm theo sáng chế để làm giảm hoặc loại trừ một hoặc nhiều chủng vi khuẩn không mong muốn, sau đó là cho dùng lợi khuẩn để đưa vào một hoặc nhiều chủng vi khuẩn mong muốn. Theo một khía cạnh khác, được phẩm theo sáng chế được dùng như một chất bổ sung cho phương pháp điều trị bệnh bằng kháng sinh để ngăn ngừa sự sinh trưởng quá mức của sinh vật gây bệnh cụ thể mà kháng thuốc kháng sinh.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1. Được phẩm để điều trị bệnh tiêu chảy

Bệnh tiêu chảy là triệu chứng có nhiều nguyên nhân gây bệnh bao gồm nhiễm vi khuẩn, virus, sinh vật đơn bào và vật ký sinh. Bệnh tiêu chảy do vi khuẩn do nhiều sinh vật gây ra, bao gồm các dạng khác nhau của *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Vibrio cholerae* và *parahemolyticus*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Yersinia* và các dạng khác. Bệnh tiêu chảy ở trẻ nhỏ do virus thường do Rotavirus gây ra, nhưng cũng có thể do một vài virus khác gây ra.

Đã biết là có nhiều sinh vật gây bệnh tiêu chảy. Các sinh vật gây bệnh này có thể được tổ chức thành các cụm thông thường có khả năng tạo ra các độc tố có liên quan về mặt cấu trúc, mà trong đó một loạt kháng thể trung hòa phổ rộng có thể được tạo ra mà, khi được trộn lẫn vào chế phẩm với các hiệu giá có hiệu quả về mặt lâm sàng, thì có thể được sử dụng làm chất can thiệp điều trị độc lập sinh vật phổ rộng đối với bệnh tiêu chảy do độc tố gây ra.

Nói tóm lại, kháng thể đặc hiệu với các sinh vật gây bệnh tiêu chảy được tạo ra bằng cách tiêm chủng gà bằng kháng nguyên. Trứng miễn dịch được thu gom và trứng nguyên được khử trùng và sấy phun để thu được dạng bột. Sữa non của bò thương mại được trộn ở dạng đã tạo bột. Tiếp theo, hai bột này được bổ sung vào gói liều đơn và được đậy kín, và được phân phối ở dạng được làm khô dùng cho dạng chế phẩm dùng qua đường miệng. Trước khi dùng, chế phẩm bột dùng qua

đường miệng được trộn lẫn với một lượng nhỏ nước trước khi dùng qua đường miệng.

Việc điều trị này tạo ra miễn dịch thụ động cho người bệnh, như được chứng minh trong phần các ví dụ trong bản mô tả này. Bản chất của phương pháp điều trị này là làm cho các yếu tố nguy cơ có liên quan tương đương với yếu tố nguy cơ của việc ăn uống thực phẩm từ nguồn mà trong đó các kháng thể được thu hoạch (ví dụ, các yếu tố nguy cơ có thể tương tự với các yếu tố nguy cơ của việc ăn một quả trứng và uống một ly sữa). Đây là phương pháp điều trị có hiệu quả với độ độc thấp hơn so với các thuốc khác hiện có sẵn.

Ví dụ 1A. Gà được tiêm chủng từng cá thể bằng các kháng nguyên được tinh chế có nguồn gốc từ 5 chủng *E. coli*: bốn chủng ATCC, chứa các kháng nguyên bám dính nhung mao *E. coli* F41, 97P, F19 và K99 và một chủng *E. coli* kiểu dại có nguồn gốc từ sữa. Mỗi con gà được tiêm chủng bằng chỉ một kháng nguyên. Các con gà được tiêm chủng một lần/tuần trong ba tuần. Tá được Freund được dùng cho lần tiêm chủng đầu tiên, tiếp theo là tá được Freund không hoàn chỉnh được dùng cho các lần tiêm chủng thứ hai và thứ ba. Hai mũi tiêm, bên phải và bên trái ức được sử dụng/lần tiêm chủng. Các quả trứng được cất vào kho riêng rẽ; gom các quả trứng lại, khử trùng nhanh và sấy phun. Mỗi chế phẩm trong số năm chế phẩm chứa kháng thể được trộn lẫn theo các phần bằng nhau. Chế phẩm kháng thể kháng *E. coli* chứa bột trứng khô được bảo quản đông lạnh trong khoảng 2 năm.

Đàn gà thứ hai được tiêm chủng bằng chế phẩm kháng nguyên hỗn hợp chứa các kháng nguyên rotavirut, coronavirut và *E. coli*. Quy trình tiêm chủng, thu gom và xử lý quả trứng tương tự được sử dụng như trên đây. Chế phẩm kháng thể kháng bệnh tiêu chảy chứa bột trứng khô được bảo quản đông lạnh trong 1,5 năm. ELISA được sử dụng để xác định đặc tính của các chế phẩm kháng thể.

Một gam mỗi chế phẩm kháng thể kháng *E. coli* đã làm khô và chế phẩm kháng thể kháng bệnh tiêu chảy đã làm khô được bổ sung với 3 gam hoặc 4 gam sữa non của bò có đầy đủ chất béo được làm khô thương mại vào gói liều đơn.

Ví dụ 1B. Ba đàn gà được tiêm chủng từng cá thể bằng mỗi chế phẩm trong số các chế phẩm kháng nguyên hỗn hợp khác nhau: chế phẩm kháng nguyên thứ nhất chứa rotavirut (các typ huyết thanh G6 và G10), coronavirut, các chủng *E. coli*

sinh độc tố đường ruột với yếu tố bám dính nhung mao K99 và độc tố *Clostridium perfringens* typ C với tá dược); chế phẩm thứ hai chứa các chủng E. coli sinh độc tố đường ruột có các yếu tố bám dính K99, K88, 987P hoặc F41); và chế phẩm kháng nguyên hỗn hợp thứ ba chứa nội độc tố E. coli khác nhau; với tá dược). Mỗi đàn trong số ba đàn gà chỉ nhận một chế phẩm kháng nguyên hỗn hợp. Gồm các quả trứng, làm sạch, làm vỡ, khử trùng và sấy phun hoặc làm khô bằng nhiệt để tạo ra ba sản phẩm trứng miễn dịch được làm khô. Sản phẩm trứng được làm khô tùy ý được đánh giá bằng ELISA về hoạt tính IgY đặc hiệu. Khối lượng bằng nhau của mỗi sản phẩm trong số ba sản phẩm trứng miễn dịch được làm khô được kết hợp với 3g hoặc 4g sữa non được làm khô trong gói liều đơn. 2g, 3g hoặc 4g theo khối lượng kết hợp của sản phẩm trứng miễn dịch dạng khô được dùng theo gói liều đơn, như được mô tả dưới đây. Theo một khía cạnh, sữa non thương mại được làm khô không thể hiện hoạt tính đặc hiệu đối với kháng nguyên của vắc xin.

Ví dụ 1C. Gây miễn dịch cho gà để tạo ra IgY.

Quy trình gây miễn dịch sau đây được làm thích ứng từ quy trình của Gallus Immunotech, Inc. và có thể được sử dụng để tạo ra các kháng thể đa dòng IgY. Một vài quả trứng tùy ý được thu gom trước khi gây miễn dịch để làm đối chứng ban đầu. Nếu sử dụng chế phẩm kháng nguyên hỗn hợp dùng cho gia súc hoặc lợn, thì pha loãng nó theo tỷ lệ 1:2, 1:4, 1:8 hoặc 1:16 trước khi dùng. Vào ngày 0, các con gà được tiêm kháng nguyên có tá dược Freund hoàn chỉnh với lượng nằm trong khoảng từ 0,02 đến 0,5mg. Các lần tiêm có thể là dưới da hoặc trong cơ ở mô ngực của gà mái ở nhiều vị trí. Tổng thể tích hỗn hợp kháng nguyên/tá dược có thể là khoảng 1ml với tá dược chiếm từ 1/2 đến 2/3 thể tích. Việc gây miễn dịch được lặp lại, thường là vào các ngày 14, 21 và 28, bằng cách sử dụng tá dược Freund không hoàn chỉnh, với khoảng một nửa lượng kháng nguyên ban đầu. Thông thường, kháng thể đặc hiệu có thể được phát hiện ở khoảng ngày 30 trong các quả trứng. Để sản xuất kháng thể trong thời gian dài, gà mái được tiêm nhắc lại sau mỗi hai tháng. Có thể bảo quản trứng trong kho lạnh trước khi xử lý và/hoặc tinh chế IgY. Theo một khía cạnh, trứng có thể được giữ trong kho lạnh tối đa đến một tháng, hoặc tối đa đến hai tháng, trước khi xử lý hoặc tinh chế. Theo một khía cạnh khác, có thể tạo

ra IgY theo cách tương tự như ở trứng vịt, ngỗng, đà điểu, chim cú hoặc gà tây, với việc sử dụng lượng kháng nguyên thích hợp.

Ví dụ 2. Điều trị *Clostridium difficile* bằng kháng thể được sử dụng

Theo một phương án, các phương pháp và dược phẩm theo sáng chế được sử dụng để điều trị *Clostridium difficile* (*C. difficile*), vi khuẩn mà có mặt một cách tự nhiên ở hầu hết mọi người. Lượng quần thể *C. difficile* được duy trì dưới sự kiểm soát bởi hệ vi sinh vật tự nhiên khác của ruột. Người bệnh thường phát triển các bệnh truyền nhiễm *C. difficile* khi thuốc kháng sinh được sử dụng cho tình trạng bệnh khác làm suy yếu hệ vi sinh vật tự nhiên của ruột, cho phép quần thể *C. difficile* tăng lên nhiều lần không được kiểm soát. Trong khi nhiều chủng *C. difficile* có thể được điều trị bằng thuốc kháng sinh đặc hiệu, thì một số lượng lớn chủng *C. difficile* ngày càng kháng lại kháng sinh dùng để điều trị. Điều này dẫn đến tình trạng người bệnh lâu hồi phục và hồi phục khó khăn và thậm chí, trong một số trường hợp là đe dọa đến tính mạng. Quy trình làm trung hòa quần thể *C. difficile* bằng kháng thể được sử dụng mà tạo ra miễn dịch thụ động có khả năng kiểm soát lượng quần thể *C. difficile* để cho phép khôi phục sự cân bằng hệ vi sinh vật ruột tự nhiên.

Đối với trường hợp trong chế phẩm chống bệnh tiêu chảy do rotavirus và vi khuẩn gram âm gây ra, kháng thể được đưa vào cơ chất mang được bào chế để gắn kết một cách đặc hiệu với *C. difficile* hoặc các độc tố của nó là phương pháp điều trị hiệu quả. Có thể sử dụng chế phẩm này để điều trị bệnh truyền nhiễm đang tiếp diễn, hoặc phòng ngừa bệnh truyền nhiễm này xảy ra. Do đó, quá trình điều trị này có thể được sử dụng riêng rẽ hoặc đồng thời với thuốc kháng sinh. Quy trình điều trị này không chỉ giúp ích cho người bệnh hồi phục từ giai đoạn *C. difficile*, mà còn có thể được sử dụng cho người bệnh có nguy cơ cao mắc *C. difficile* làm biện pháp phòng bệnh.

Các kháng thể có chức năng làm trung hòa *C. difficile* được đưa vào trong cơ chất mang (hỗn hợp gồm protein và enzym mà được dự định để "hoạt hóa" kháng thể trong ruột, cũng như tạo ra miễn dịch, bảo vệ hoặc dinh dưỡng thứ cấp hữu ích). Theo một phương án, các kháng thể được tạo ra bằng cách tiêm hoặc tiêm chủng động vật bằng kháng nguyên hoặc tổ hợp gồm các kháng nguyên, mà có thể được

chứa hoặc có thể không được chứa trong chế phẩm kháng nguyên hỗn hợp, (được kết hợp tiềm tàng với tá dược để gây ra đáp ứng miễn dịch mạnh hơn).

Theo một khía cạnh, kháng nguyên là thu được từ hoặc có nguồn gốc từ kháng nguyên hoặc độc tố *C. difficile*. Theo một khía cạnh khác, hỗn hợp kháng nguyên chứa một hoặc nhiều kháng nguyên hoặc độc tố có nguồn gốc từ *C. difficile* và một hoặc nhiều kháng nguyên virus khác. Theo một khía cạnh khác, hỗn hợp kháng nguyên chứa một hoặc nhiều kháng nguyên hoặc độc tố có nguồn gốc từ *C. difficile* và một hoặc nhiều kháng nguyên hoặc độc tố vi khuẩn khác. Theo một khía cạnh khác, hỗn hợp kháng nguyên chứa một hoặc nhiều kháng nguyên có nguồn gốc từ *C. difficile* và một hoặc nhiều kháng nguyên sinh vật đơn bào khác. Theo một khía cạnh khác, hỗn hợp kháng nguyên chứa một hoặc nhiều kháng nguyên có nguồn gốc từ *C. difficile* và một hoặc nhiều kháng nguyên nấm khác.

Sau đó, các kháng thể thu được từ, được phân lập từ hoặc có nguồn gốc từ sản phẩm động vật, như sữa, trứng hoặc sữa non từ động vật hoặc được thu hoạch trực tiếp từ động vật, ví dụ, huyết thanh, huyết tương. Theo một khía cạnh cụ thể, gà mái được tiêm chủng bằng kháng nguyên, hỗn hợp kháng nguyên hoặc vắc xin và các kháng thể thu được từ trứng nguyên quả hoặc lòng đỏ trứng hoặc có nguồn gốc từ hoặc được tinh chế từ trứng nguyên quả hoặc lòng đỏ trứng của gà được tiêm chủng. Theo một khía cạnh khác, các kháng thể này là các kháng thể đa dòng.

Dược phẩm này nhằm mục đích hỗ trợ điều trị bệnh truyền nhiễm *C. difficile* hoặc phòng ngừa bệnh truyền nhiễm *C. difficile*. Ví dụ, chất này bao gồm các kháng thể được nhắm đặc hiệu tới *C. difficile*, được đưa vào trong cơ chất mang (ví dụ, sữa non). Sau khi thu hoạch, kháng thể có thể được nghiền thành bột. Cơ chất mang cũng có thể được nghiền thành bột. Sau đó, hai bột này có thể được trộn kỹ hoặc được bổ sung riêng rẽ vào gói hoặc lọ liều đơn và được phân phối ở dạng được làm khô. Theo phương pháp sử dụng được ưu tiên, cơ chất này sẽ được dùng qua đường miệng, bằng việc ăn vào. Để tiêu thụ, chất dạng bột này sẽ được trộn với một lượng nhỏ chất lỏng, như nước, sữa, nước ép hoặc dung dịch chất điện phân, ngay trước khi tiêu thụ và sẽ được cho dùng như được hướng dẫn bởi bác sĩ. Các phương pháp phân phối khác cũng được dự liệu.

Phương pháp điều trị hiện nay đối với bệnh truyền nhiễm *C. difficile* tập trung vào quá trình điều trị bằng kháng sinh. Tuy nhiên, trong trường hợp trong đó các thuốc kháng sinh mạnh là nguyên nhân gây lây nhiễm và trong trường hợp trong đó tình trạng kháng thuốc kháng sinh đã được phát triển, thì hiện có ít phương pháp điều trị thay thế. Phương án theo sáng chế tìm cách làm trung hòa *C. difficile* bằng cách sử dụng các cơ chế miễn dịch tự nhiên, hơn là các thuốc kháng sinh có độc tố. Có ưu điểm là cho phép có sự sinh trưởng của hệ vi sinh vật có trong tự nhiên trong ruột đồng thời làm giảm lượng quần thể *C. difficile*.

Hỗn hợp kháng thể được đưa vào trong cơ chất mang để nâng cao hiệu quả của kháng thể hiện tại không được sử dụng bởi phương pháp điều trị bệnh *C. difficile* bất kỳ. Các phương pháp theo sáng chế tạo ra miễn dịch thụ động cho người bệnh. Bản chất của phương pháp điều trị này làm cho các yếu tố nguy cơ đi kèm tương đương với các yếu tố ăn uống thực phẩm từ nguồn trong đó các kháng thể được thu hoạch (ví dụ, các yếu tố nguy cơ có thể tương tự với các yếu tố ăn trứng và uống sữa). Phương pháp này là phương pháp điều trị hiệu quả với tính độc ít hơn so với các thuốc thay thế hiện có bán trên thị trường.

Theo một khía cạnh, các kháng thể được chọn là được tạo ra, được tinh chế và được phân lập và được bào chế ở dạng bột. Theo một khía cạnh khác, các kháng thể được chọn không được tinh chế hoặc phân lập, nhưng được xử lý như sản phẩm nguyên vẹn. Ví dụ, các thành phần của trứng nguyên vẹn thu được từ gà được tiệt trùng được xử lý, ví dụ, được khử trùng và được bào chế ở dạng bột, mà không cần có các bước tinh chế bổ sung. Hỗn hợp enzym/protein hoạt hóa (ví dụ, bao gồm sữa non) cũng được bào chế ở dạng bột. Hai bột này được trộn kỹ và được phân phối ở dạng được làm khô đối với chế phẩm dùng qua đường miệng. Trước khi sử dụng, chế phẩm dùng qua đường miệng dạng bột được trộn với một lượng nhỏ nước trước khi dùng.

Phương pháp điều trị này tạo ra miễn dịch thụ động cho người bệnh. Bản chất của phương pháp điều trị này làm cho các yếu tố nguy cơ đi kèm tương đương với các yếu tố ăn uống thực phẩm từ nguồn trong đó các kháng thể được thu hoạch (ví dụ, các yếu tố nguy cơ có thể là tương tự với các yếu tố ăn trứng và uống sữa).

Phương pháp này là phương pháp điều trị hiệu quả với tính độc ít hơn so với các thuốc thay thế hiện có bán trên thị trường.

Ví dụ 3. Điều trị *Helicobacter avlori* bằng kháng thể được sử dụng

Helicobacter pylori (*H. pylori*) là vi khuẩn gram âm có thể cư trú ở các khu vực của dạ dày. Thông thường, người ta cho rằng *H. pylori* đi kèm với bệnh loét tá tràng và dạ dày và có thể là bệnh ung thư dạ dày. *H. pylori* có thể tránh được môi trường axit của khoang dạ dày bằng cách làm ổ trong lớp niêm mạc của bề mặt tế bào biểu mô mà có môi trường pH trung tính hơn. *H. pylori* có thể sản sinh adhesin để gắn kết với các lipid liên kết với màng hoặc carbohydrat của tế bào biểu mô. Việc cư trú của *H. pylori* bên trong các khu vực của dạ dày có thể dẫn đến viêm dạ dày mạn tính, viêm dạ dày kéo dài. Nguyên nhân chính của bệnh loét đường tiêu hóa là do nhiễm *H. pylori*.

Các kháng thể được chọn kháng *Helicobacter pylori* là được tạo ra và được bào chế ở dạng bột. Hỗn hợp enzym/protein hoạt hóa (ví dụ, bao gồm sữa non) cũng được bào chế ở dạng bột. Hai bột này được trộn kỹ hoặc được bổ sung riêng rẽ vào các gói hoặc lọ liều đơn và được phân phối ở dạng được làm khô đối với chế phẩm dùng qua đường miệng. Trước khi sử dụng, chế phẩm dùng qua đường miệng dạng bột được trộn với một lượng nhỏ nước trước khi dùng.

Phương pháp điều trị này tạo ra miễn dịch thụ động cho người bệnh. Bản chất của phương pháp điều trị này làm cho các yếu tố nguy cơ đi kèm tương đương với các yếu tố ăn thực phẩm từ nguồn trong đó các kháng thể được thu hoạch (ví dụ, các yếu tố nguy cơ có thể là tương tự với các yếu tố ăn trứng và uống sữa). Phương pháp này là phương pháp điều trị hiệu quả với tính độc ít hơn so với các thuốc thay thế hiện có bán trên thị trường.

Ví dụ 4. Các nghiên cứu lâm sàng – Hiệu quả đối với bệnh tiêu chảy không phân biệt được

Phương pháp điều trị bệnh tiêu chảy phổ rộng hiệu quả là một thách thức đáng kể do có khoảng rộng các sinh vật gây bệnh, tính khả dụng của thử nghiệm chẩn đoán dùng để điều chỉnh các phác đồ điều trị bị hạn chế. Sự can thiệp tiêu chuẩn hiện nay đối với các ca mắc bệnh tiêu chảy trầm trọng bao gồm dùng toàn thân thuốc kháng sinh và muối bù nước qua đường miệng (ORS). Tuy nhiên,

phương pháp này đã cho thấy hiệu quả hạn chế và đã thúc đẩy sự phát triển của các chủng vi khuẩn kháng thuốc kháng sinh.

Ví dụ 4A. Các nghiên cứu thực nghiệm (thử nghiệm) 1 và 2.

Các nghiên cứu lâm sàng được thực hiện để đánh giá tính khả dụng và hiệu quả của chế phẩm ở ví dụ 1A trong việc điều trị hoặc thúc đẩy quá trình tiêu tan bệnh tiêu chảy không phân biệt được. Nghiên cứu mở đầu tiên không so sánh một trung tâm thực hiện trên tổng số 63 bệnh nhi mắc bệnh tiêu chảy ở trẻ nhỏ ở cả hai giới tính có độ tuổi nằm trong khoảng từ sáu tháng đến năm tuổi. Nghiên cứu này so sánh các kết quả lâm sàng của nhóm thử nghiệm A, “thử nghiệm 1”, tiếp nhận chế phẩm dùng qua đường miệng ở ví dụ 1A, được dùng với thuốc kháng sinh và ORS, với nhóm đối chứng B, chỉ tiếp nhận thuốc kháng sinh và ORS. Nhóm thử nghiệm thứ hai AA, “thử nghiệm 2”, thực hiện trên 33 người bệnh trong nghiên cứu theo dõi để thử nghiệm chế phẩm ở ví dụ 1A trong các điều kiện theo mùa khác nhau.

Tất cả các bệnh nhi tham gia thử nghiệm có hồ sơ bệnh án bệnh tiêu chảy “trầm trọng” hoặc “nghiêm trọng” (mức 4 hoặc 5) hoặc theo thang điểm 5 (xem bảng 1), như được đánh giá bởi bác sỹ điều trị. Không có sự khác biệt chẩn đoán được ghi nhận đối với tác nhân gây bệnh hoặc nguyên nhân gây bệnh của bệnh tiêu chảy ở trẻ nhỏ. Các người bệnh đại tiện phân trắng như nước gạo trong số các người bệnh đại tiện phân có máu được loại trừ. Ngoài ra, người bệnh mắc các chứng dị ứng đã biết đối với sữa, các sản phẩm từ gà hoặc trứng được loại trừ.

Bảng 1. Thang điểm 5		
	Mức 1	Mức 5
Tần suất đi đại tiện	từ 1 đến 2 lần/ngày	10 lần hoặc nhiều hơn/ngày
Độ sệt của phân	1 = bình thường	5 = dạng lỏng hoàn toàn
Tình trạng sức khỏe được bác sỹ đánh giá	1 = bình thường	5 = nguy kịch (thường là bệnh nhân nội trú)

Trẻ nhỏ tham gia trong nhóm thử nghiệm (số lượng=63) được chia thành hai nhóm, nhóm thử nghiệm Nghiên cứu 1, "Nhóm A" (34 trẻ nhỏ tham gia; 29 hoàn thành thử nghiệm), "Nhóm B" đối chứng âm tính, (29 trẻ nhỏ tham gia; 28 hoàn thành thử nghiệm) và nghiên cứu 2 "Nhóm AA" (31 trẻ nhỏ tham gia). Nhóm đối chứng thứ hai "Nhóm BB" tiếp nhận thuốc kháng sinh và ORS được sử dụng làm đối chứng âm tính đồng thời với nhóm AA, tuy nhiên, các kết quả được lược bỏ trong các hình vẽ.

Mỗi nhóm thử nghiệm tiếp nhận 2g bột trứng kết hợp và 4g sữa non, được trộn vào nước, được dùng qua đường miệng một lần/ngày trong ba ngày liên tiếp. Quan sát mỗi nhóm và thu thập các dữ liệu trong năm ngày. Nhóm A nhận chế phẩm ở ví dụ 1 ngoài việc nhận chế độ thuốc kháng sinh chuẩn và chế phẩm bổ sung bù nước dùng qua đường miệng (ORS), như được xác định bởi bác sỹ chuyên khoa nhi điều trị. Nhóm B được điều trị bằng phác đồ dùng thuốc kháng sinh chuẩn và ORS. Giai đoạn của số sáu tháng giữa nghiên cứu 1 và nghiên cứu 2 được cho phép trôi qua để mà thử nghiệm tính theo mùa. Cả hai thử nghiệm này được thực hiện trong cùng một trung tâm nghiên cứu. Trong mỗi nhóm, các thuốc kê đơn kháng sinh và ORS được xác định dựa trên từng trường hợp cụ thể bởi bác sỹ chuyên khoa nhi điều trị (bảng 2).

Bảng 2. Các nhóm nghiên cứu có số lượng các trường hợp hoàn thành				
nhóm	Liệu pháp được sử dụng	Hoàn thành	Thời gian điều trị	Quan sát
A	Dược phẩm ở ví dụ 1 + Thuốc kháng sinh + ORS	29	Dược phẩm ở ví dụ 1: Thuốc kháng sinh các ngày từ 1 đến 4 + ORS: các ngày từ 1 đến 6	5 ngày
AA	Dược phẩm ở ví dụ 1 + Thuốc kháng sinh + ORS	31	Dược phẩm ở ví dụ 1: Thuốc kháng sinh các ngày từ 1 đến 3 + ORS: các ngày từ 1 đến 6	5 ngày

B	Thuốc kháng sinh+ORS	28	Thuốc kháng sinh + ORS: các ngày từ 1 đến 5	5 ngày
---	----------------------	----	---	--------

Dược phẩm ở ví dụ 1A được đóng gói trong các gói liều đơn dạng bột 5 gam. Dược phẩm này được dùng qua đường miệng, với một gói được tái huyền phù trong khoảng 2 aoxơ nước uống. Người bệnh cần phải uống toàn bộ hỗn dịch này trong một lần uống, ngay sau khi việc tái huyền phù hoàn thành và quy trình này được tuân thủ trong tất cả các trường hợp.

Các tham số bao gồm trong ví dụ này, như được xác định đối với mỗi người bệnh, bao gồm tần suất đi đại tiện, độ sệt của phân và tình trạng sức khỏe được bác sỹ đánh giá. Tần suất đi đại tiện là số lần đi đại tiện tiêu chảy trong khoảng thời gian 24 giờ được ghi lại bởi nhân viên bệnh viện hoặc người nhà người bệnh. Độ sệt của phân theo thang độ sệt từ 1 đến 5 với điểm 1 cho biết là bình thường và điểm 5 cho biết là lỏng. Tình trạng sức khỏe được bác sỹ đánh giá theo thang điểm từ 1 đến 5 của toàn bộ tình trạng bệnh lý với điểm 1 cho biết các tham số bình thường đối với trẻ em khỏe mạnh và điểm 5 cho biết trẻ em bị ốm nặng.

Các bác sỹ tham gia vào thử nghiệm này được yêu cầu cung cấp kinh nghiệm của họ về diễn tiến của người bệnh theo cách thông thường, như được xác định bởi ba tham số được mô tả, trong thời gian điều trị sáu ngày. Các trị số được báo cáo được tập hợp lại thành đường chuẩn diễn tiến của mỗi cá nhân người bệnh được mong đợi đối với mỗi tham số. Người bệnh được đánh giá về mức cải thiện liên quan đến các kết quả mong đợi dựa trên kinh nghiệm của bác sỹ và đối với các đối chứng âm tính xảy ra đồng thời.

Phép phân tích dữ liệu được thực hiện bằng MS Excel và Matlab. Ý nghĩa thống kê được tính bằng kiểm định Chi-bình phương với giá trị $p < 0,05$ được cho là có ý nghĩa. Các kết quả được thể hiện trong các Fig. từ 1 đến 3.

Các cải thiện đáng kể ở những người bệnh nhận chế phẩm ở ví dụ 1A được quan sát trong vòng 24 giờ sau khi dùng liều ban đầu. Trong vòng 48 giờ sau khi dùng liều ban đầu, nói chung là người bệnh trở nên ổn định ở các mức bình thường hoặc gần bình thường.

Như được thể hiện trong Fig. 1, số lần đại tiện tiêu chảy trung bình trong khoảng thời gian 24 giờ giảm từ 9 xuống còn 2 trong nhóm A (thử nghiệm 1) sau khi dùng liều ban đầu của dược phẩm ở ví dụ 1. Nhóm AA (thử nghiệm 2) có sự giảm tương tự từ 10 xuống còn 3. Trái lại, số lần đại tiện tiêu chảy trung bình trong nhóm B (đối chứng âm tính) giảm từ 11 xuống còn 10 trong cùng khoảng thời gian này. Số lần đại tiện tiêu chảy trung bình ở các Nhóm A và AA (các thử nghiệm 1 và 2) vẫn không đổi ở mức 2 từ ngày 3 trở đi, trong khi nhóm B giảm từ từ đến cuối cùng là 6 lần trong 24 giờ vào ngày 5. Trong nhóm A, trong thời gian 24 giờ điều trị bằng dược phẩm ở ví dụ 1, tỷ lệ tần suất đi đại tiện trở về các mức gần bình thường, $2,32 \pm 2,48$, giảm hơn 86% trong khoảng thời gian mắc các triệu chứng dạ dày-ruột so với quần thể đối chứng ($P < 0,001$). Trong thời gian 48 giờ, tỷ lệ tần suất đi đại tiện cải thiện đến $2,14 \pm 2,19$. Trong nhóm AA, tỷ lệ tần suất thể hiện tỷ lệ làm ổn định tương tự, cải thiện đến $2,56 \pm 0,68$ trong vòng 24 giờ và $2,00 \pm 0,45$ trong vòng 48 giờ, một mức cải thiện rõ rệt so với đối chứng ($P < 0,001$).

Như được thể hiện trong Fig. 2, độ sệt của phân ban đầu là dạng lỏng ở tất cả người bệnh. Độ sệt của phân ở nhóm A và nhóm AA được cải thiện đến các mức gần bình thường trong thời gian 24 giờ, sau khi dùng liều dược phẩm đầu tiên, sau khi dùng liều đầu tiên của dược phẩm ở ví dụ 1. Độ sệt của phân ở nhóm đối chứng B được cải thiện nhưng vẫn ở dạng lỏng trong thời gian 24 giờ, với các triệu chứng không hoàn toàn hồi phục trong toàn bộ khoảng thời gian quan sát. Nhóm A có được độ sệt của phân bình thường trong thời gian 48 giờ và thời gian còn lại trong nghiên cứu này, trong khi đó nhóm B, ở ngày 3, hầu như là phân lỏng. Cuối cùng, Nhóm B đạt tới các mức gần bình thường về độ sệt của phân ở ngày 6, trong khi độ sệt của phân ở nhóm A giữ mức bình thường suốt các ngày từ 3 đến 6.

Ngạc nhiên là, trong vòng 24 giờ điều trị bằng dược phẩm ở ví dụ 1A, tỷ lệ độ sệt của phân trở về mức trung bình, $2,05 \pm 1,02$ đối với nhóm A và $1,96 \pm 0,61$ đối với nhóm AA, giảm hơn 86% trong suốt thời gian mắc triệu chứng dạ dày-ruột so với quần thể đối chứng ($P < 0,001$). Trong vòng 48 giờ, độ sệt của phân ở nhóm A giảm tiếp xuống các mức gần bình thường $1,41 \pm 0,9$ và các mức của nhóm AA là $1,17 \pm 0,37$.

Như được thể hiện trong Fig. 3, tất cả các người bệnh tham gia vào nghiên cứu này đã được bác sỹ điều trị đánh giá là ốm trầm trọng, tới mức và bao gồm tình trạng mất nước trầm trọng, nôn mửa và đáp ứng kém. Những người bệnh trong nhóm A và nhóm AA cải thiện đáng kể qua đêm ($P < 0,001$), sau khi dùng liều đầu tiên của được phẩm ở ví dụ 1, đến mức được đánh giá là khỏe mạnh trung bình là xấp xỉ hai. Ở thời điểm 24 giờ, những người bệnh ở nhóm B vẫn còn ốm nặng. Những người bệnh ở nhóm A và nhóm AA, tại thời điểm 48 giờ, cải thiện đến mức gần bình thường và tiếp tục cải thiện vào ngày ba, đạt được tình trạng bình thường, trong khi những người bệnh ở nhóm B đã cải thiện nhưng vẫn còn rất ốm. Trong suốt các ngày từ 4 đến 6, những người bệnh trong nhóm A vẫn giữ mức hồi phục hoàn toàn trong khi những người bệnh ở nhóm B được cải thiện theo kiểu tuyến tính; tuy nhiên, những người bệnh này vẫn còn ốm ở mức vừa phải khi kết thúc nghiên cứu.

Tình trạng sức khỏe tổng thể được bác sỹ báo cáo đã trở lại được gần mức khỏe mạnh trong vòng một ngày, trong đó nhóm A giảm từ giá trị ban đầu từ $4,46 \pm 0,51$ xuống $1,9 \pm 0,9$, mức được xem là nằm trong các tham số thông thường đối với quần thể này. Nhóm AA thể hiện các kết quả tương tự, giảm từ mức ban đầu là $4,3 \pm 0,46$ xuống $2,03 \pm 0,49$. Báo cáo này thể hiện chung là giảm 86% trong khoảng thời gian bị ốm khi so với quần thể đối chứng ($p < 0,001$). Trong vòng 48 giờ, tình trạng sức khỏe được bác sỹ báo cáo được cải thiện thêm đến $1,26 \pm 0,83$ nơi nhóm A và $1,4 \pm 0,49$ đối với nhóm AA.

Việc kiểm tra để xác nhận sự phân bố bình thường của các trường hợp thử nghiệm đối với tỷ lệ mắc bệnh dự kiến với Rotavirus được tiến hành trong nhóm A (thử nghiệm 1), độc lập với đánh giá thử nghiệm ban đầu. Các mẫu phân được thu gom đối với 26 trong số 29 người bệnh thử nghiệm trong nhóm A và 24 trong số 31 người bệnh ở nhóm AA và được thử nghiệm ở phòng thí nghiệm tham chiếu độc lập bằng cách sử dụng thử nghiệm ngưng kết có bán sẵn trên thị trường (Slidex Rota-kit, bioMerieux, Pháp). Bảy trong số 26 người bệnh được lấy mẫu ở nhóm A thử nghiệm dương tính đối với Rotavirus (27% số người thử nghiệm). Tỷ lệ mắc phải lây nhiễm Rotavirus ở trẻ nhỏ này phù hợp với các kết quả dự kiến đối với mùa và mức độ nguy kịch của các ca mắc bệnh tiêu chảy được nhận vào nghiên cứu. Bốn

trong số 24 đối tượng được thử nghiệm dương tính ở nhóm AA (17% số người bệnh thử nghiệm). Tỷ lệ mắc phải rotavirus đối với nhóm AA là hơi thấp hơn dự kiến. Do đó, chế phẩm ở ví dụ 1A dường như là có hiệu quả khi được dùng để điều trị bệnh tiêu chảy không phân biệt được, bao gồm cả bệnh tiêu chảy do nhiễm rotavirus gây ra.

Để xác định tiếp tính tương tự của đáp ứng đối với dược phẩm ở ví dụ 1 giữa nhóm dương tính với Rotavirus (RV) và nhóm không dương tính với Rotavirus (Non-RV), thì sử dụng hệ số tương quan thời điểm sản phẩm Pearson (được thể hiện là "R"), cường độ của nó được thể hiện trong khoảng từ -1 đến 1. Tính toán R sử dụng trị số trung bình của nhóm Non-RV và RV ở mỗi thời điểm, với sự tính toán trị số R từ trị số trung bình của mỗi nhóm trong 6 ngày.

Trị số R của nhóm RV kết hợp với nhóm Non-RV đối với tập dữ liệu tình trạng sức khỏe được đánh giá bởi bác sỹ là 0,99029, thể hiện sự phụ thuộc tuyến tính và hiệp phương sai rất lớn giữa hai nhóm. Các hành vi của người bệnh nhóm Non-RV và RV có tính dự báo mạnh mẽ về nhau và thể hiện các đáp ứng rất giống nhau đối với phép điều trị trong thời gian điều trị và quan sát sáu ngày. Các kết quả này xác nhận hiệu quả của dược phẩm ở ví dụ 1 ở các trường hợp mắc bệnh tiêu chảy do Rotavirus gây ra (bảng 3).

Bảng 3. Các trị số trung bình RV/Non-RV		
Ngày	RV	Non-RV
1	4,71	4,38
2	1,71	1,95
3	1,33	1,24
4	1,28	1
5	1,14	1
6	1	1

Trong số 96 người bệnh tham gia vào các nghiên cứu này, 88 người bệnh hoàn thành đầy đủ thời gian nghiên cứu sáu ngày. Bốn người bệnh được bác sỹ rút

khỏi nhóm A và hai người bệnh được rút khỏi nhóm AA khi xác định được rằng bệnh viêm ruột của họ đã đồng thời mắc với, hoặc là kết quả của các tình trạng bệnh lý khác; như được thể hiện trong bảng 4. Một người bệnh ở nhóm A đã được rút khỏi thử nghiệm khi người giám hộ quyết định rằng người bệnh này đủ khỏe để rút lui sau khi dùng liều thứ hai của dược phẩm ở ví dụ 1. Và, một người bệnh đã được rút khỏi nhóm B do lưu giữ hồ sơ bị lỗi (bảng 4).

Bảng 4. Những người bệnh được rút khỏi nghiên cứu			
Người bệnh số	Nhóm	Lý do	Được rút bởi
A 12	(A) Thử nghiệm	Bệnh sỏi	Bác sỹ nghiên cứu
A 19	(A) Thử nghiệm	Bệnh viêm màng não	1
A26	(A) Thử nghiệm	Người bệnh dường như là khỏe	Người giám hộ
A28	(A) Thử nghiệm	Bệnh sỏi	Bác sỹ nghiên cứu
A33	(A) Thử nghiệm	Bệnh viêm màng não	Bác sỹ nghiên cứu
B08	(B) Đối chứng	Lưu giữ hồ sơ bị lỗi	Bác sỹ nghiên cứu

Các kết quả này cho thấy rằng dược phẩm ở ví dụ 1 có thể đem lại một phương pháp điều trị an toàn và hiệu quả đối với bệnh tiêu chảy không phân biệt được ở trẻ nhỏ. Việc làm giảm thời gian và tính trầm trọng của bệnh tiêu chảy sẽ ngăn ngừa một số lượng đáng kể tỷ lệ mắc bệnh và tỷ lệ tử vong gắn liền với bệnh tiêu chảy ở trẻ nhỏ và cũng có thể giúp phòng ngừa tỷ lệ mắc bệnh đồng thời gắn liền với bệnh tiêu chảy khỏi phát triển ở bệnh nhi.

Sau một ngày điều trị bằng dược phẩm ở ví dụ 1, bác sỹ chuyên khoa nhi báo cáo sự cải thiện đáng kể về tình trạng sức khỏe tổng thể ở 100% người bệnh hoàn thành thử nghiệm. Ngạc nhiên là, sự giảm đáng kể cả khoảng thời gian và tính trầm

trọng của bệnh đã đem lại mức giảm 86% về thời gian bị tiêu chảy sau hai ngày điều trị bằng dược phẩm ở ví dụ 1. Thử nghiệm Rotavirut độc lập đã xác nhận hiệu quả của dược phẩm ở ví dụ 1A trong các trường hợp này.

Dược phẩm ở ví dụ 1A đã cho thấy là có hiệu quả cao trong việc điều trị bệnh tiêu chảy không phân biệt được, làm giảm đáng kể thời gian và độ trầm trọng của bệnh khi so với các liệu pháp bệnh thông thường riêng rẽ. Dược phẩm ở ví dụ 1A được dung nạp tốt mà không có các tác dụng phụ bất lợi được ghi nhận. Các kết quả của nghiên cứu này thể hiện sự cải thiện quan trọng và mạnh mẽ trong điều trị bệnh tiêu chảy ở trẻ nhỏ trong môi trường thực nghiệm đòi hỏi. Các kết quả này tạo ra cơ hội để nghiên cứu bổ sung các cơ chế và hóa sinh mà nhờ đó dược phẩm theo sáng chế bảo vệ người bệnh khỏi mắc các triệu chứng trầm trọng nhất của bệnh tiêu chảy không phân biệt được.

Ví dụ 4B. Nghiên cứu thực nghiệm (thử nghiệm) 3.

Thử nghiệm nghiên cứu thứ ba được thực hiện với 140 người bệnh được điều trị và 30 người bệnh đối chứng âm tính tham gia vào thử nghiệm 3. Liều hằng ngày của dược phẩm trong nhánh được điều trị chứa 2g tổng các phần bằng nhau của trứng nguyên vẹn được làm khô từ mỗi đàn trong ba đàn, mỗi đàn được tiêm chủng một cách tách biệt bằng một vắc xin viêm vú hoặc tiêu chảy bán trên thị trường; và 4 gam sữa non của bò được làm khô (ES204A; MS204A); hoặc 3 gam tổng các phần bằng nhau của trứng nguyên vẹn được làm khô từ mỗi đàn trong ba đàn, mỗi đàn được tiêm chủng một cách tách biệt bằng một vắc xin viêm vú hoặc tiêu chảy bán trên thị trường và bốn gam sữa non của bò đã được làm khô (MS304A). Ngoài ra, trứng được xử lý bằng cách sấy phun (S) hoặc làm khô bằng nhiệt (T). Các đàn gà được nuôi trong chuồng ở hai vị trí địa lý khác nhau trong lãnh thổ Hoa Kỳ (M) hoặc (E).

Thử nghiệm 3 được thực hiện như được mô tả trên đây; người bệnh được điều trị bằng dược phẩm một lần/ngày, trong ba ngày liên tiếp. Các kết quả trung bình đối với thử nghiệm 3 được so sánh với các thử nghiệm 1 và 2 được thể hiện trong các FIG. từ 4 đến 9. Một nhánh nhỏ của thử nghiệm 3 với 15 người bệnh được điều trị với 2g trứng được làm khô và 4g sữa non một lần/ngày trong hai ngày và đã thể hiện sự cải thiện đáng kể ở các ngày một và hai theo mỗi tham số được xác định.

Nhóm này thể hiện hiệu ứng tái phát trung bình thấp trong việc ghi nhận triệu chứng về tình trạng sức khỏe được bác sỹ báo cáo vào ngày 4, độ sệt của phân vào các ngày 3 và 4 (ES204B). Tuy nhiên, các giá trị này vẫn được cải thiện đáng kể so với nhóm đối chứng âm tính.

Các kết quả này cho thấy rằng chế phẩm dạng rắn để tạo huyền phù chứa các phân tử gắn kết đặc hiệu là các kháng thể IgY đặc hiệu với kháng nguyên trong trứng được làm khô nguyên vẹn và cơ chất mang, cơ chất mang này là sữa non của bò được làm khô không miễn dịch là có chi phí thấp và hiệu quả. Cơ chất theo sáng chế, sữa non của bò được làm khô, là có bán sẵn trên thị trường và có thể đem lại mức các thành phần cơ chất khác nhau cao hơn sữa. Điều này trái ngược với, ví dụ, các chỉ dẫn theo giải pháp kỹ thuật hiện có của Larsson et al, US 2010/0233162. Larsson đề xuất phương pháp sử dụng cục bộ globulin miễn dịch lòng đỏ trứng gà được phân lập (IgY) trong sữa của người để điều trị và phòng ngừa các bệnh nhiễm nấm. Chỉ ít, thì việc sử dụng sữa người cũng làm cho được phẩm của Larsson có tính kinh tế thấp hơn và khó khăn trong việc sản xuất một cách nhanh chóng và bảo quản. Hơn nữa, sau ba ngày điều trị, được phẩm theo sáng chế thể hiện là có làm giảm đáng kể khoảng thời gian bị tiêu chảy không phân biệt được ở trẻ nhỏ và trẻ em không phải là trẻ sơ sinh; trong đó các điều kiện trong đường dạ dày-ruột là khắc nghiệt hơn ở trẻ sơ sinh. Điều này trái ngược với Larsson et al., US 2006/0134101, tài liệu này đề xuất phương pháp sử dụng các kháng thể loài chim để điều trị và phòng ngừa bệnh truyền nhiễm ở đường ruột ở trẻ mới sinh. Điều này cũng trái ngược với, Sarker et al., 2001, người đã báo cáo thử nghiệm lâm sàng globulin miễn dịch của lòng đỏ trứng gà siêu miễn dịch ở trẻ nhỏ không phải trẻ sơ sinh mắc bệnh tiêu chảy do rotavirus gây ra mà có ít hoặc không có sự khác biệt về thời gian bị tiêu chảy. (Sarker et al., 2001, Randomized, placebo-controlled, clinical trial of hyperimmunized chicken egg yolk immunoglobulin in children with rotavirus diarrhea. *J. Pediatr. Gastroenterol Nutr.* 32: 19-25).

Ngoài ra, chế phẩm theo sáng chế sử dụng trứng nguyên vẹn được làm khô chứa IgY đặc hiệu kháng nguyên với cơ chất mang có tính bảo vệ và phản ứng, như sữa non của bò để (1) vừa bảo vệ các kháng thể trong khi dùng qua đường miệng vừa (2) hoạt hóa thêm miễn dịch thụ động như đã nêu. Điều này trái ngược với Lee

et al., US 2003/0185856, tài liệu này đề xuất phương pháp sản xuất trứng chứa IgY đặc hiệu kháng vi khuẩn gây bệnh và được phẩm ở dạng sữa chua hoặc kem chứa IgY; tuy nhiên, cơ chất mang có tính bảo vệ và phản ứng thì không được mô tả. Sữa chua và kem thường không có nồng độ các thành phần cơ chất có mặt trong cơ chất có nguồn gốc từ sữa non đủ cao.

Không giống như đáp ứng điều hòa miễn dịch, các tác dụng của việc dùng chế phẩm thường có thể được quan sát trong vòng từ 6 đến 12 giờ sau lần dùng thứ nhất. Được phẩm theo sáng chế thì có hiệu quả mà không phụ thuộc vào đáp ứng miễn dịch của đối tượng.

Ví dụ 5. Nghiên cứu lâm sàng – Hiệu quả bất ngờ đối với bệnh sốt thương hàn

Bằng chứng đối với hiệu quả của được phẩm theo sáng chế có được thông qua sự biểu hiện hiệu quả lâm sàng bất ngờ và ngoài mong đợi do việc tiêm chủng trước chưa được biết.

Trong một nghiên cứu thực nghiệm ở Ấn Độ, một số lượng nhỏ trẻ em được đưa vào quá trình điều trị là những người mà đã được chẩn đoán về mặt lâm sàng mắc "bệnh sốt thương hàn". Bệnh sốt thương hàn là bệnh truyền nhiễm phổ biến nhất do loại vi khuẩn được gọi là *Salmonella typhi* (*S. typhi*) gây ra. Các triệu chứng điển hình của bệnh này, ngoài triệu chứng tiêu chảy, là do pha lây nhiễm toàn thân của nó gây ra. Thông thường, vi khuẩn đầu tiên đi vào ruột và sau đó đi vào dòng máu trong cơ thể, trong đó chúng có thể di trú vào hạch bạch huyết, túi mật, gan, lá lách và các phần khác của cơ thể. Những người bệnh này thể hiện các triệu chứng điển hình của bệnh tiến triển, bao gồm sốt cao, cảm giác bị ốm thông thường và đau bụng và đáng kể là, phát ban cổ điển - "các đốm hoa hồng," là những đốm có màu đỏ nhỏ trên bụng và ngực.

Do là điển hình đối với môi trường thực tế này, không có thử nghiệm chẩn đoán nào được thực hiện đối với những người bệnh này ngoài việc kiểm tra sức khỏe tổng thể. Mặc dù những người bệnh này không thích hợp với các tiêu chuẩn được tham gia đối với nghiên cứu thực nghiệm, nhưng những người bệnh này được dùng được phẩm ở ví dụ 1B, theo yêu cầu của bác sỹ điều trị, với lý do nhân ái.

Quy trình tiêm chủng chuẩn cho gà bằng ba vắc xin có bán sẵn trên thị trường không bao gồm riêng các kháng nguyên đối với *Salmonella*, nên chỉ được cho là có

đáp ứng lâm sàng hạn chế. Mức cải thiện nhẹ do sự trung hòa nội độc tố được dự đoán, với một số người có sự thuyên giảm các triệu chứng chủ yếu của bệnh tiêu chảy, nhưng không có hiệu quả đối với tiến trình của bệnh này.

Ngạc nhiên là, tất cả người mắc bệnh sốt thương hàn tiếp nhận được phẩm ở ví dụ 1B thể hiện mức cải thiện đáng kể về các triệu chứng của bệnh tiêu chảy trong thời gian từ 24 đến 48 giờ. Sự cải thiện này dường như vượt quá những gì có thể được mong đợi đối với chỉ một mình việc trung hòa nội độc tố mà thôi. Tuy nhiên, ngạc nhiên hơn ở chỗ là các triệu chứng toàn thân của bệnh sốt thương hàn trong tất cả các trường hợp cũng biến mất trong thời gian 24 giờ tiếp theo, mang lại khoảng thời gian đạt đến trạng thái bình thường hoặc gần bình thường nằm trong khoảng từ 48 đến 72 giờ. Các triệu chứng của bệnh sốt thương hàn thường cải thiện trong thời gian nằm trong khoảng từ 2 đến 4 tuần điều trị.

Không có người bệnh nào thể hiện sự hồi phục hoặc tái phát bệnh bất kỳ trong thời gian quan sát thử nghiệm thực nghiệm (5 ngày). Đã xác nhận chắc chắn rằng các triệu chứng có thể trở lại nhanh chóng nếu bệnh truyền nhiễm không được điều trị khỏi hoàn toàn.

Điều trị bằng được phẩm ở ví dụ 1B, một lần/ngày trong ba ngày liên tiếp là đủ để (kết hợp với tiêu chuẩn chăm sóc) làm giảm mạnh các triệu chứng của bệnh này, cả đường dạ dày-ruột và toàn thân, trong khoảng thời gian ngắn rõ rệt. Khung thời gian đáp ứng không thể giải thích được bằng các tác động tự nhiên hoặc “tiêu chuẩn chăm sóc” riêng rẽ.

Trong nỗ lực phát hiện ra nguồn hiệu quả bất ngờ này, toàn bộ lịch sử của quy trình sản xuất đối với lô đó đã được xem xét cẩn thận. Đã phát hiện ra rằng như là một phần của quy trình thông thường, nhưng tùy ý, quy trình tiêm chủng cho gà mái đẻ trứng thương mại, gà được sử dụng được tiêm chủng vắc xin *salmonella*.

Mặc dù chim được tiêm vắc xin như gà con, nhưng chế phẩm đã thể hiện là có hiệu quả cao đối với *Salmonella typhi*. *Salmonella* không phải là một trong các kháng nguyên trong quy trình tiêm chủng được sử dụng cho gà trong các chế phẩm ở ví dụ 1. Đáp ứng bất ngờ của những người mắc bệnh sốt thương hàn này với được phẩm theo sáng chế được ghi nhận là rất đáng ngạc nhiên đối với bác sỹ điều trị trong thử nghiệm thực nghiệm.

Ví dụ 6. ELISA định lượng đối với IgY đặc hiệu trong bột trứng và IgY tổng số.

Hoạt tính kháng thể của IgY tổng số và IgY kháng kháng nguyên đặc hiệu có thể được xác định bằng cách sử dụng thử nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết enzym (Enzyme-Linked-Imunosorbant Assay-ELISA) bằng cách cải biến phương pháp nêu trong tài liệu Liou et al., 2011, J. Anim. Vet. Adv., 10(18):2349-2356, như được mô tả dưới đây.

Các đĩa vi chuẩn độ được phủ bằng 100ul chế phẩm kháng nguyên hỗn hợp (10ug/lỗ) hoặc được phủ bằng 100ul kháng thể IgY của thỏ kháng gà (10ug/ml, Sigma-Aldrich), đối với các lỗ đối chứng. Ủ đĩa qua đêm ở nhiệt độ 4°C. Sau khi rửa bằng dung dịch đệm PBS-Tween 20, phong bế các đĩa bằng BSA 2% và ủ qua đêm ở nhiệt độ 4°C. Sau đó, rửa các lỗ bằng dung dịch đệm PBS-Tween 20 và một lần bằng PBS. Sau đó, dung dịch gốc bột trứng được làm khô đã pha loãng (10mg/ml) được pha loãng theo dãy bằng BSA 1% và được bổ sung vào các lỗ mẫu ở mức 100ul/lỗ. Các lỗ dùng cho đường cong chuẩn được nạp 100ul dung dịch pha loãng theo dãy chứa IgY chuẩn, ở, ví dụ, khoảng nồng độ, ví dụ nằm trong khoảng từ 0,015 đến 1ug/ml và ủ qua đêm ở nhiệt độ 4°C. Sau khi rửa bằng dung dịch đệm PBS-Tween 20, bổ sung 100ul IgY của dê kháng gà được tiếp hợp phosphatase kiềm vào các lỗ và ủ trong thời gian 2 giờ ở nhiệt độ 37°C. Sau khi rửa bằng dung dịch đệm PBS-Tween 20, bổ sung 100ul dinatri p-nitrophenyl phosphate dưới dạng cơ chất vào mỗi lỗ và để phản ứng trong thời gian 10 phút ở nhiệt độ 37°C. Hệ số hấp thụ được đo ở mức 405nm bằng cách sử dụng thiết bị đọc đĩa. Hệ số hấp thụ của các đường cong chuẩn đem lại số đo tương đối về nồng độ IgY kháng kháng nguyên đặc hiệu.

Để đo IgY tổng số, mỗi lỗ của đĩa vi chuẩn độ được phủ kháng thể IgY thỏ kháng gà (10ug/ml). Sau khi ủ và rửa như trên đây, bổ sung 100ul dung dịch bột trứng được làm khô đã pha loãng vào và tiến hành thử nghiệm như trên đây.

Mặc dù sáng chế đã được mô tả có dựa vào các ví dụ trên đây, nhưng cần phải hiểu rằng các biến đổi và thay đổi cũng được bao hàm trong tinh thần và phạm vi của sáng chế. Do đó, sáng chế chỉ bị giới hạn bởi bộ yêu cầu bảo hộ sau đây.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Dược phẩm để điều trị bệnh tiêu chảy hoặc bệnh truyền nhiễm ở đường ruột ở người không phải trẻ sơ sinh cần điều trị, trong đó dược phẩm này chứa:

a) một lượng hữu hiệu dùng cho người không phải trẻ sơ sinh của ít nhất một phân tử gắn kết đặc hiệu, trong đó ít nhất một phân tử gắn kết đặc hiệu này bao gồm hỗn hợp các kháng thể IgY đặc hiệu với các kháng nguyên có nguồn gốc từ các tác nhân gây bệnh *Escherichia coli*, rotavirut và coronavirut, các độc tố có liên quan đến tác nhân gây bệnh, và/hoặc các yếu tố bám dính liên quan đến tác nhân gây bệnh; và,

b) cơ chất mang bao gồm cơ chất thu được từ, được phân tách từ, hoặc có nguồn gốc từ sữa non của bò không phải siêu miễn dịch,

trong đó lượng hữu hiệu dùng cho người không phải trẻ sơ sinh là để điều trị bệnh tiêu chảy không phân biệt được, bệnh tiêu chảy ở trẻ em không phân biệt được, bệnh tiêu chảy khi đi du lịch, bệnh tiêu chảy do rotavirut, bệnh tiêu chảy do độc tố gây ra, bệnh tả, bệnh nhiễm *C. difficile*, bệnh kiết lỵ, sốt thương hàn, loét hệ tiêu hóa hoặc để kiểm soát hệ vi sinh dạ dày-ruột

2. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó cơ chất mang bao gồm sữa non của bò không phải siêu miễn dịch đầy đủ chất béo.

3. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó phân tử gắn kết đặc hiệu còn bao gồm IgY đặc hiệu với tác nhân gây bệnh đường ruột hoặc dạ dày-ruột khác, ở người hoặc thú y gây ra bệnh viêm dạ dày-ruột.

4. Dược phẩm theo điểm 3, trong đó tác nhân gây bệnh khác này được chọn từ nhóm bao gồm: *Campylobacter jejuni*, *Salmonella*, *Salmonella enterica serovar Typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Plesiomonas shigelloides*, *E. coli* gây bệnh đường ruột, *E. coli* sinh độc tố đường ruột, *E. coli* gây kết dính ruột, *E. coli* xâm lấn đường ruột, *E. coli* gây xuất huyết đường ruột, *Clostridium difficile*, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio cholerae* O1, *Vibrio* O139, *Vibrios* không phải O1, *Vibrio parahaemolyticus*, *Aeromonas hydrophila*, *Clostridium perfringens*, *Helicobacter* gây bệnh ruột-gan, *Helicobacter pylori*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella*, *Gardnerella* spp., *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydiaceae trachomatis*, *Mycoplasma* spp., *Trichomonas*

vaginalis, virus hecpet typ 1, virus hecpet typ 2, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* và *Candida krusei*, *Streptococcus* spp. nhóm A, norovirus, calicivirus, adenovirus gây bệnh đường ruột, cytomegalovirus, astrovirus, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, virus gây bệnh zona, *Fusarium* spp., và *Acanthamoeba* spp..

5. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó các phân tử gắn kết đặc hiệu là đặc hiệu với tác nhân gây bệnh, độc tố liên quan đến tác nhân gây bệnh, hoặc yếu tố bám dính liên quan đến tác nhân gây bệnh, có nguồn gốc từ 3, 4, 5, 6, 7, hoặc 8, hoặc nhiều hơn 8 vi sinh vật gây bệnh khác nhau.

6. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó độc tố liên quan đến tác nhân gây bệnh bao gồm nội độc tố và ngoại độc tố.

7. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó yếu tố bám dính liên quan đến tác nhân gây bệnh bao gồm adhesin, cadherin, nhung mao, tua viền, cấu trúc bám dính virus hoặc dạng kết hợp của chúng.

8. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó cơ chất mang là sữa non của bò không phải siêu miễn dịch đầy đủ chất béo.

9. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó phân tử gắn kết đặc hiệu là ở dạng rắn.

10. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó cơ chất mang là ở dạng rắn.

11. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó dược phẩm này còn chứa chất pha loãng dược dụng, chất gắn kết, tá dược, chất làm trơn, chất làm ngọt, chất tạo hương, chất làm ẩm hoặc chất hấp thụ.

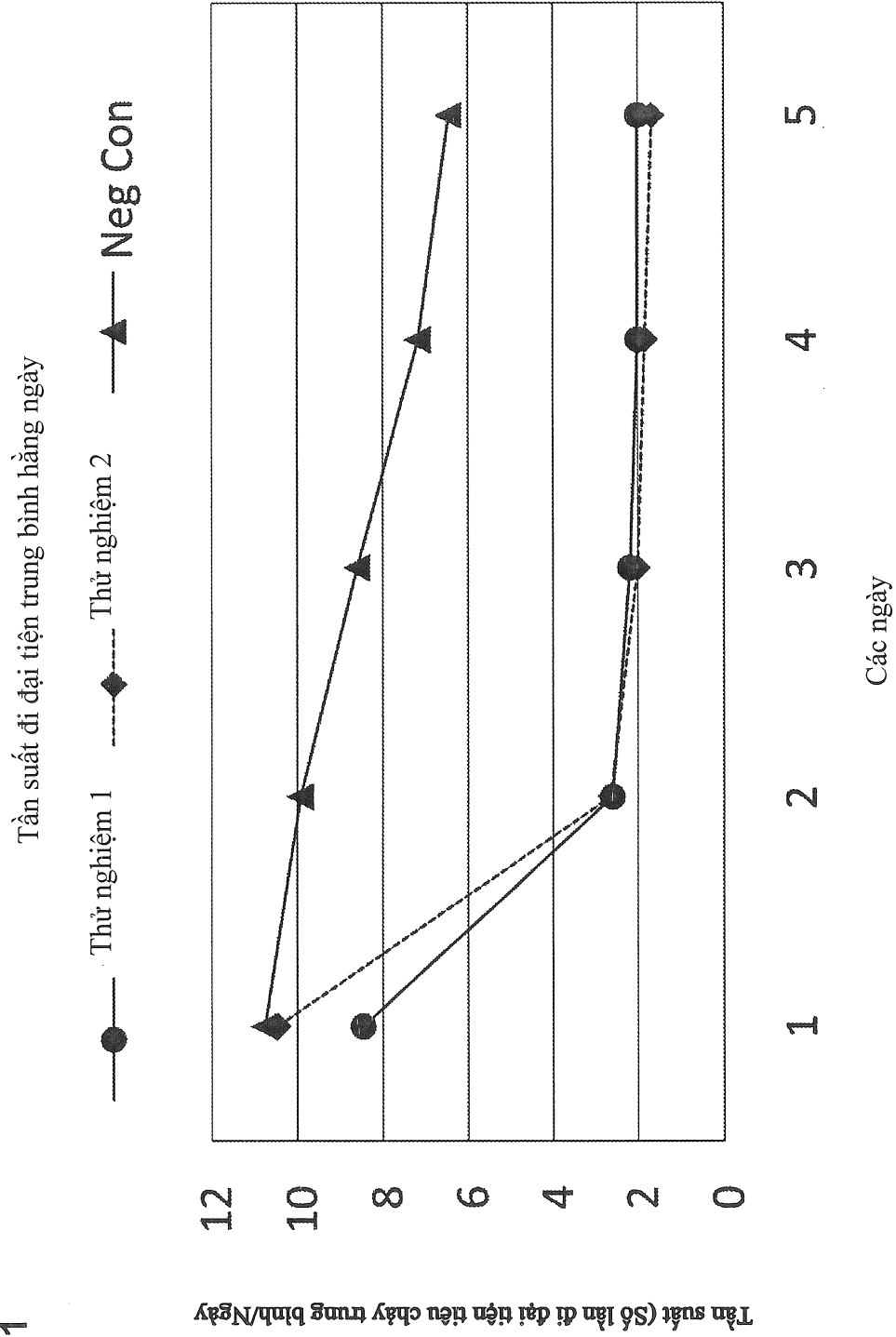
12. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó IgY được thu từ trứng của gà đã được gây miễn dịch.

13. Dược phẩm theo điểm 12, trong đó IgY được thu từ trứng nguyên quả của gà đã được gây miễn dịch.

14. Dược phẩm theo điểm 13, trong đó các kháng thể IgY được tạo ra trong trứng của gà mái đã tiêm chủng một hoặc hỗn hợp các thành phần gây bệnh bao gồm hỗn hợp của IgY đặc hiệu với các kháng nguyên có nguồn gốc từ các tác nhân gây bệnh *Escherichia coli*, rotavirus và coronavirus, *Clostridium Perfringens* và *Salmonella typhimurium*, các độc tố liên quan đến tác nhân gây bệnh, và/hoặc các yếu tố bám dính liên quan đến tác nhân gây bệnh.

15. Được phẩm theo điểm 1, trong đó liều đơn chứa trứng miễn dịch khô với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 7g và sữa non khô của bò không phải siêu miễn dịch đầy đủ chất béo với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 7g.
16. Được phẩm theo điểm 1, trong đó được phẩm này là ở dạng khô.
17. Được phẩm theo điểm 1, trong đó được phẩm này là ở dạng lỏng.
18. Được phẩm theo điểm 1, trong đó sữa non không phải siêu miễn dịch đầy đủ chất béo được kết tụ và được làm cho có thể dùng được ngay.

FIG. 1



Độ set của phân trung bình hằng ngày

FIG. 2

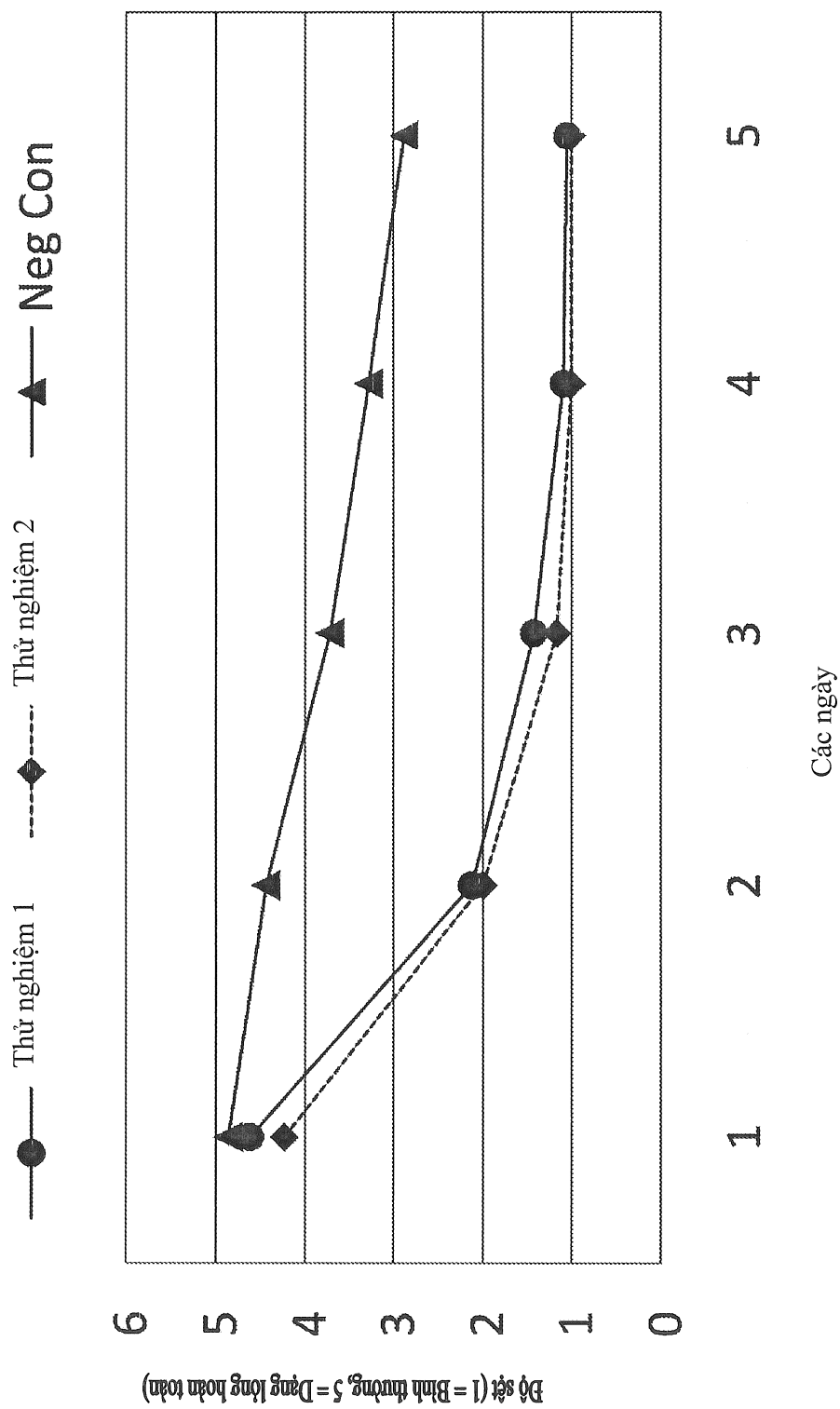
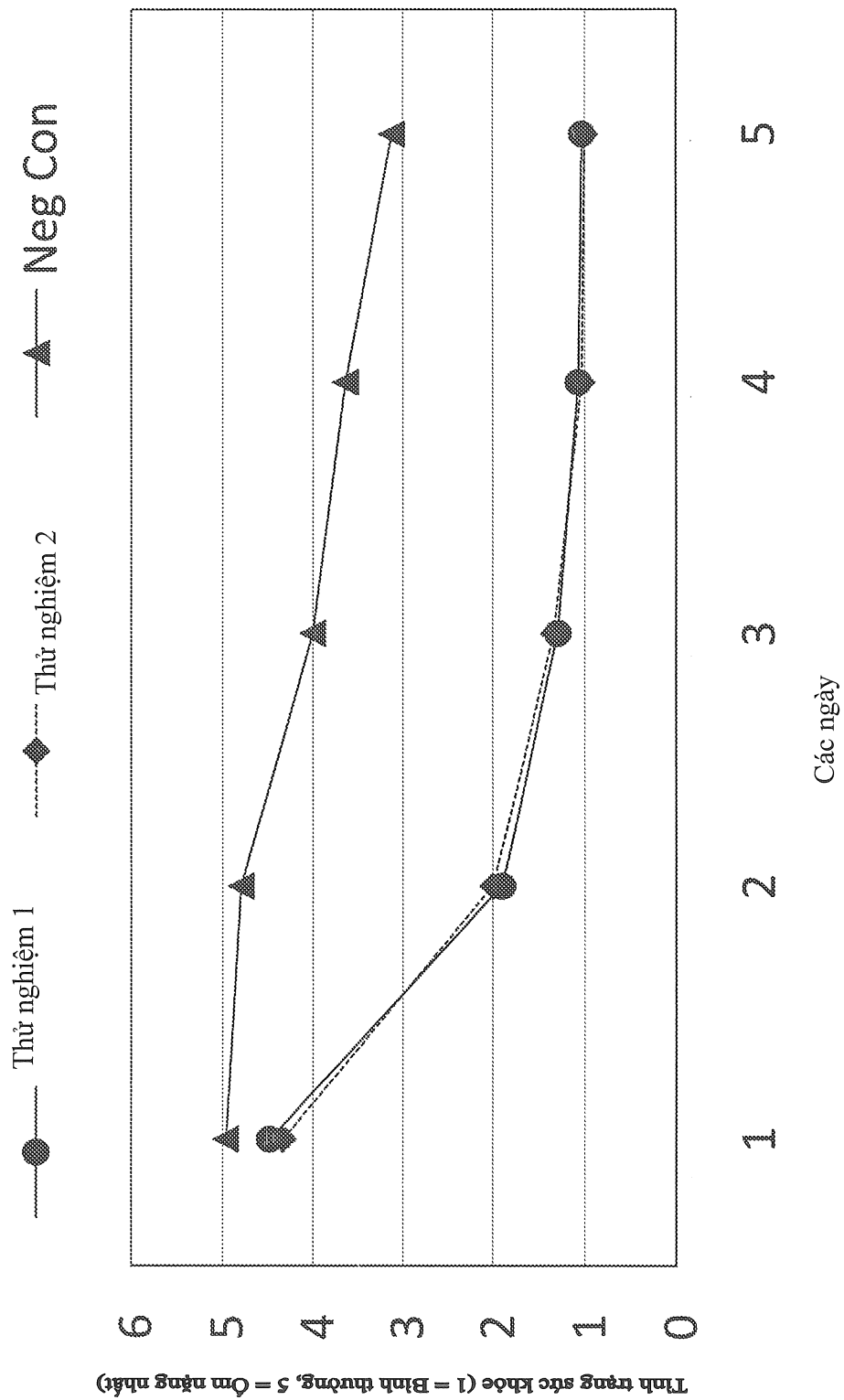
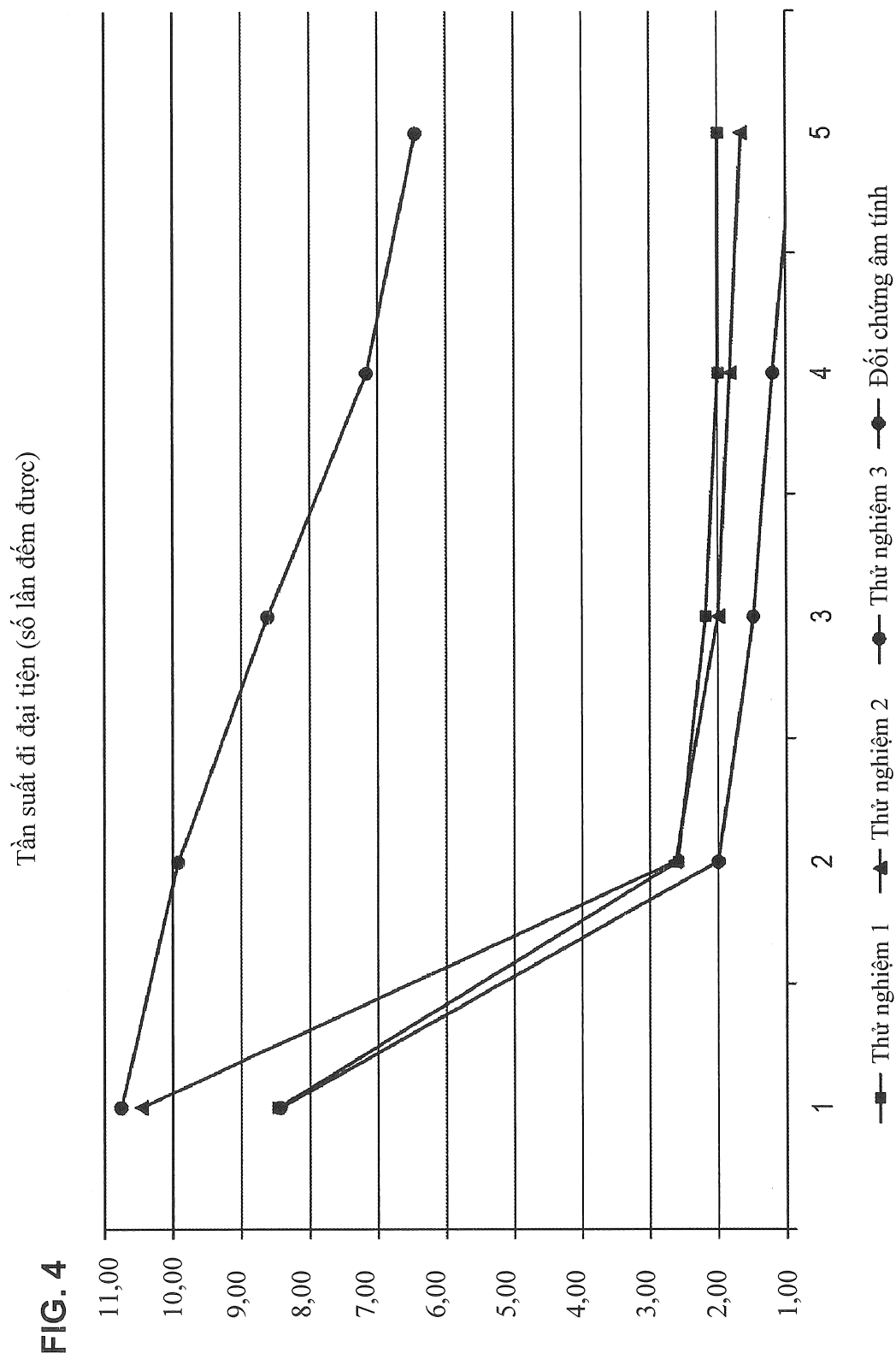
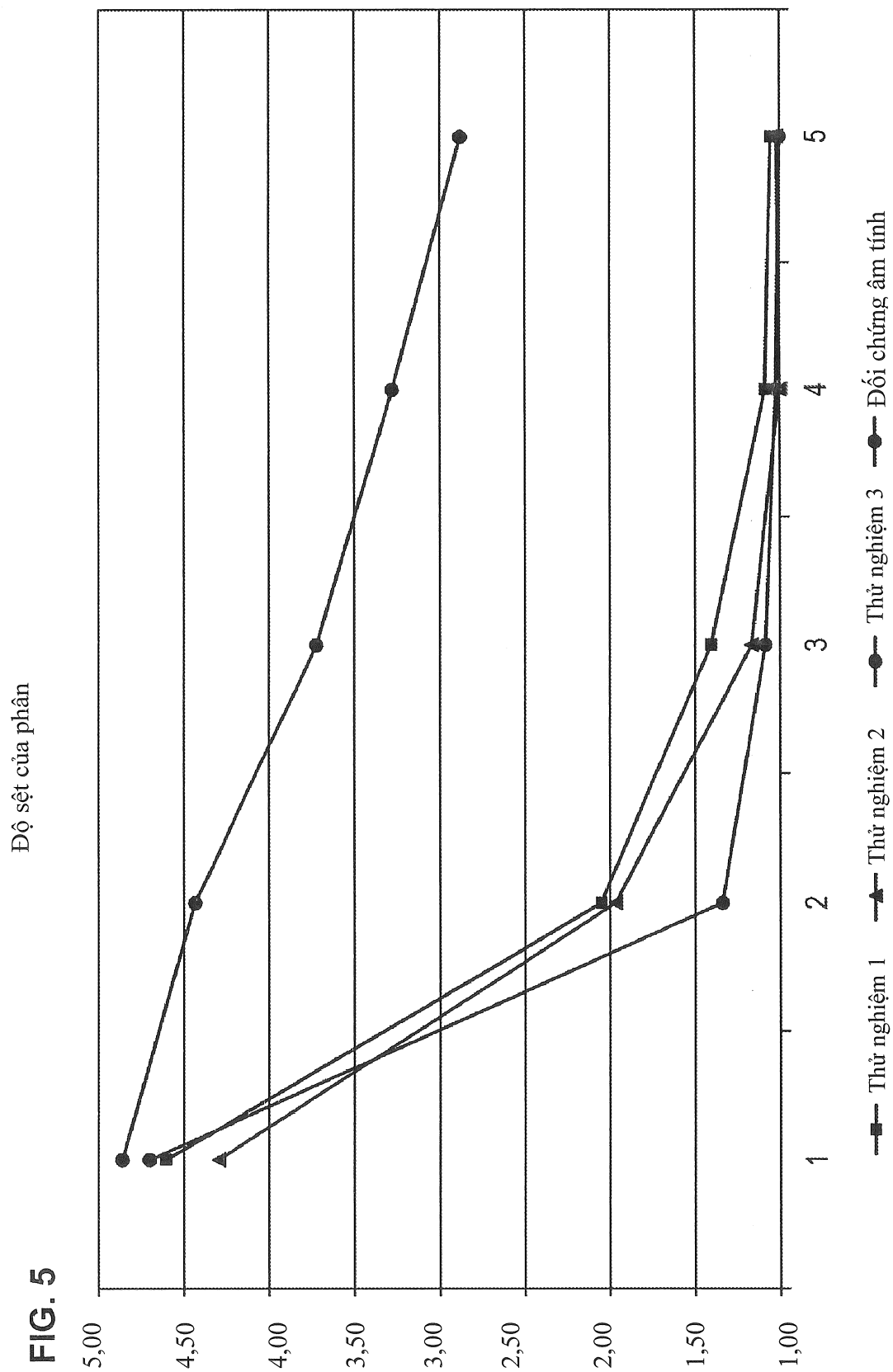


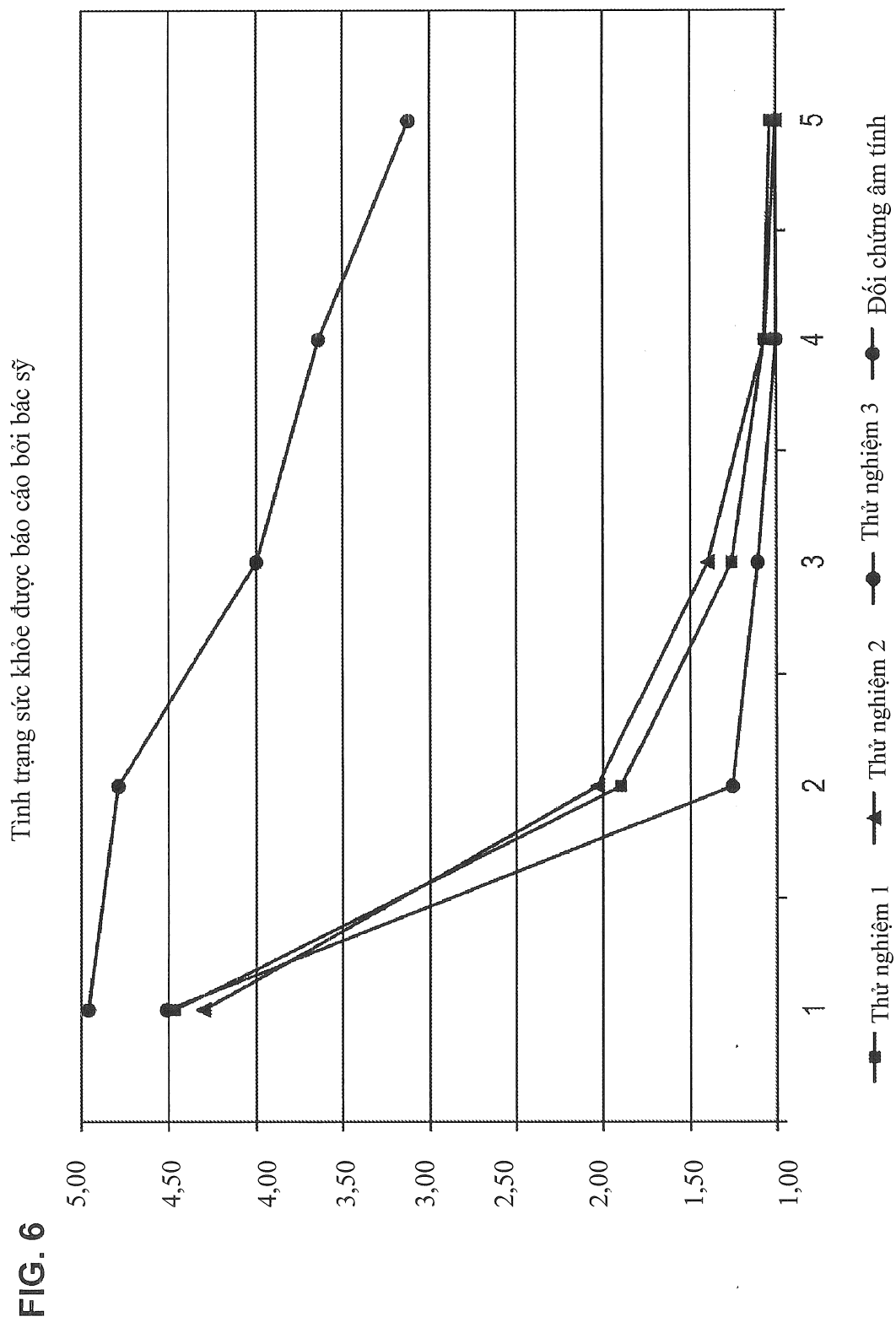
FIG. 3

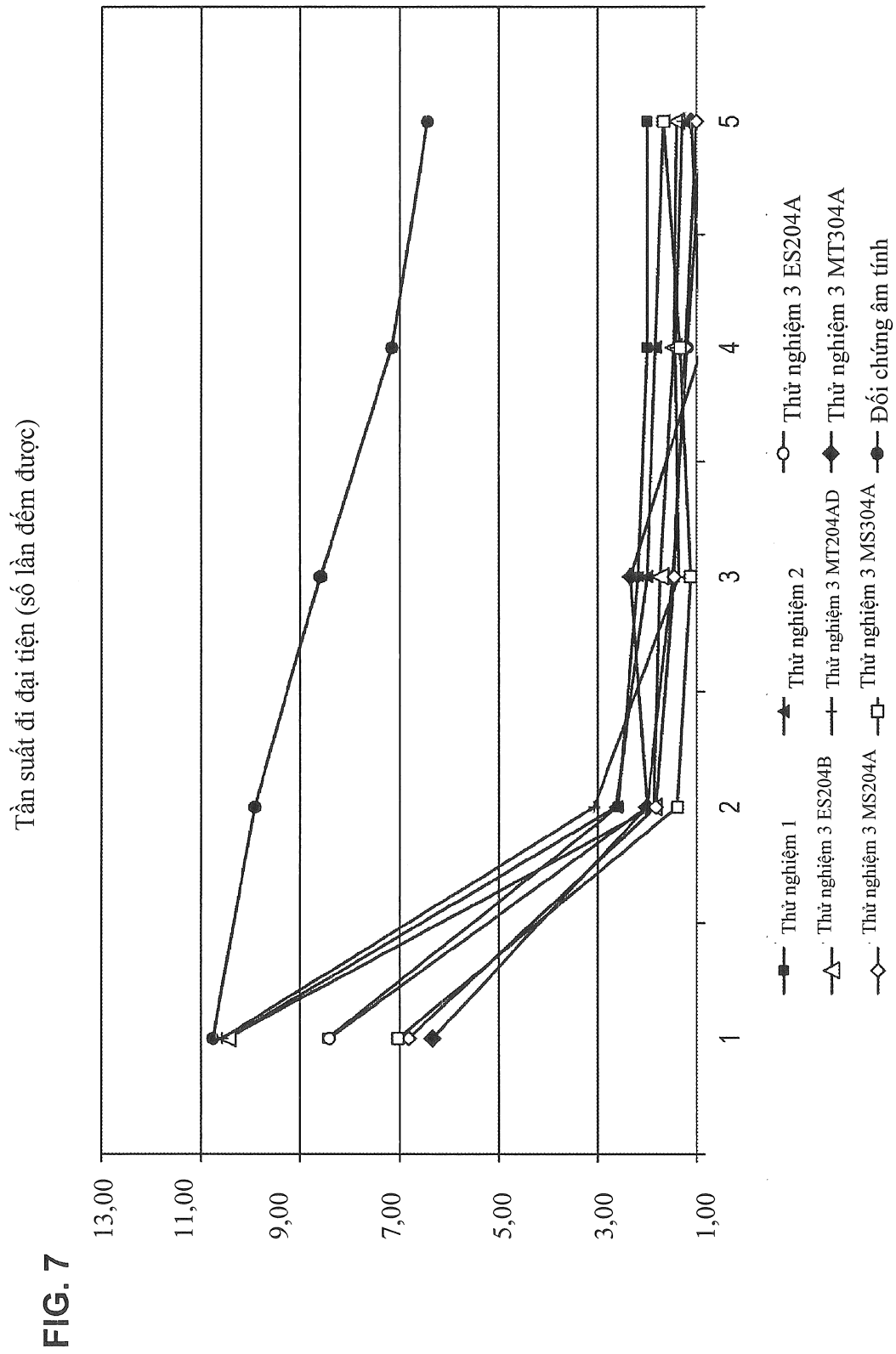
Tình trạng sức khỏe trung bình được đánh giá bởi bác sỹ





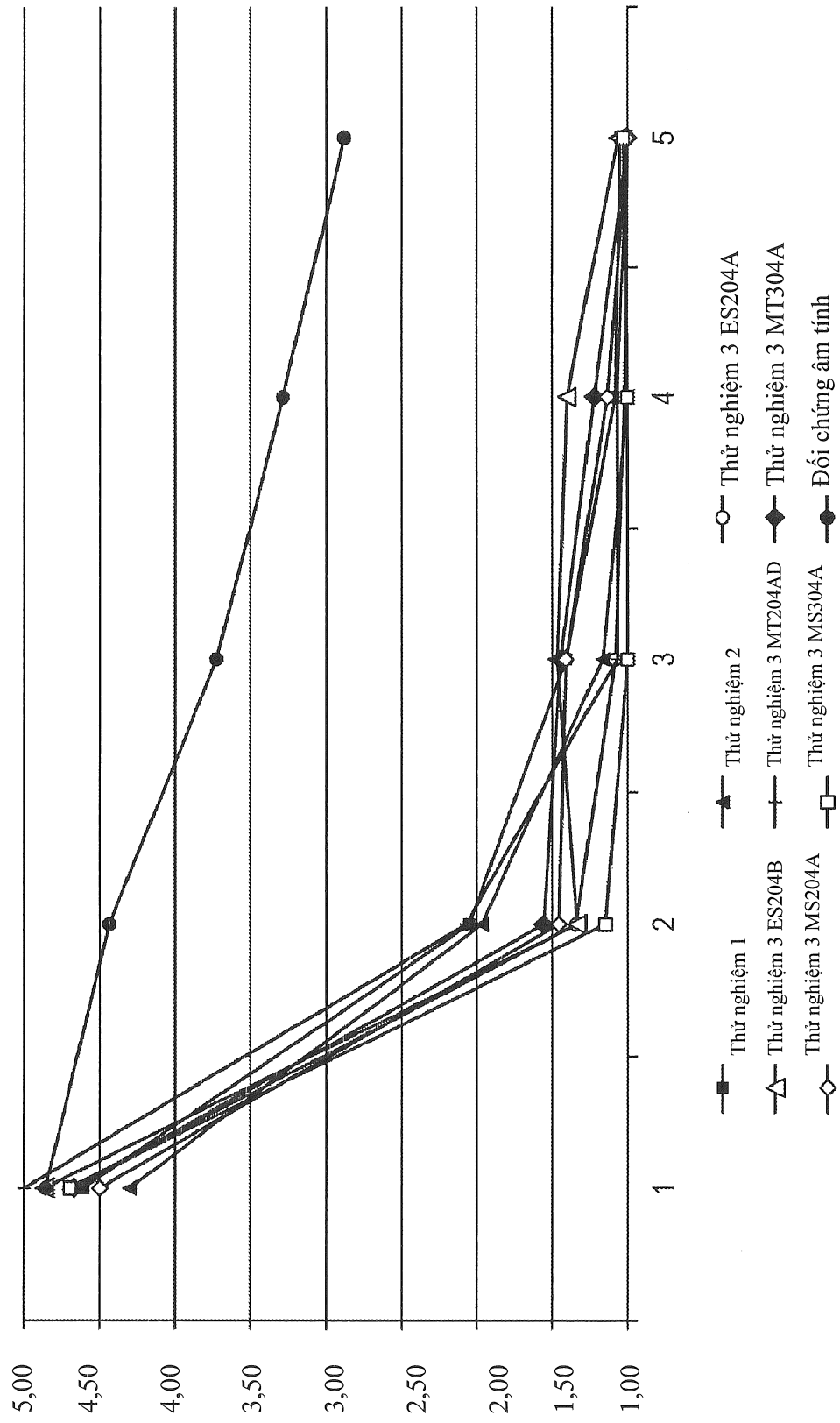






Độ sệt của phân

FIG. 8



Tình trạng sức khỏe được báo cáo bởi bác sỹ

FIG. 9

