



(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)



1-0025666

(51)⁷ A61K 39/02; A61K 39/12; A61K 9/00; (13) B
A61K 45/00; A61K 47/32; A61K 39/00;
A61K 39/39

(21) 1-2013-04119

(22) 26/06/2012

(86) PCT/EP2012/062279 26/06/2012

(87) WO 2013/000876 03/01/2013

(30) 11171448.1 27/06/2011 EP; 61/501,866 28/06/2011 US

(45) 26/10/2020 391

(43) 25/07/2014 316A

(73) INTERVET INTERNATIONAL B.V. (NL)

Wim de Koerverstraat 35, NL-5831 AN Boxmeer, Netherlands

(72) MOMBARG, Erwin (NL).

(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) CHẾ PHẨM NƯỚC CHỨA KHÁNG NGUYÊN SINH HỌC VÀ DƯỢC PHẨM
TIÊM CHỨA CHẾ PHẨM NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm nước chứa kháng nguyên sinh học và polyme của axit acrylic, trong đó chế phẩm này chứa chất điện giải để tạo ra nồng độ thẩm thấu cao hơn nồng độ thẩm thấu của dung dịch natri clorua 0,9% (khối lượng/thể tích) trong nước. Sáng chế cũng đề cập đến polyme của axit acrylic để dùng trong vacxin một mũi tiêm kháng circovirut lợn typ 2 (PCV2) và tùy ý *Mycoplasma hyopneumoniae* và trong chế phẩm nước để làm giảm hiện tượng sốt bị gây ra bởi kháng nguyên sinh học có mặt trong chế phẩm nước này khi chế phẩm này được sử dụng cho đối tượng động vật.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm nước chứa kháng nguyên sinh học và polyme của axit acrylic. Sáng chế cũng đề cập đến polyme của axit acrylic để dùng trong vacxin một mũi tiêm kháng circovirut lợn typ 2 (PCV2) và *Mycoplasma hyopneumoniae* và trong chế phẩm nước để làm giảm hiện tượng sốt bị gây ra bởi kháng nguyên sinh học có mặt trong chế phẩm nước khi chế phẩm này được sử dụng cho đối tượng động vật.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Đã được biết ví dụ từ WO 2010/025469 đề xuất chế phẩm nước (tức là chế phẩm được dựa trên nước hoặc chất lỏng ưa nước khác mà cho phép tạo thành liên kết hydro) chứa kháng nguyên sinh học và polyme của axit acrylic (kháng nguyên sinh học là kháng nguyên mà thu được từ sinh vật sống như vi khuẩn, virus, động vật, sinh vật đơn bào, nấm v.v., thông thường là vi sinh vật sống hoặc chết, hoặc phân tử sinh học, tốt hơn là protein hoặc polysacarit, thu được từ sinh vật sống này; thuật ngữ “thu được từ” bao gồm chính phân tử sinh học này hoặc tiền chất của chúng được sản xuất bởi vi sinh vật). Polyme của axit acrylic trong các giải pháp đã biết được sử dụng làm tá dược, tức là chất kích thích miễn dịch không đặc hiệu được bao gồm trong chế phẩm để tạo điều kiện thuận lợi hoặc khuếch đại quá trình cụ thể trong chuỗi các sự kiện miễn dịch, sau cùng là gây ra đáp ứng miễn dịch tốt hơn. Polyme của axit acrylic từ rất lâu đã được công nhận là tá dược an toàn và thích hợp, có thể cải thiện đáp ứng miễn dịch với các loại kháng nguyên khác nhau như vi sinh vật sống hoặc chết, các tiểu đơn vị của các vi sinh vật này hoặc các tiểu đơn vị được sản xuất theo cách tái tổ hợp như protein, polysacarit và các loại phân tử khác. Ví dụ, US 3,178,350 đã mô tả việc sử dụng polyme của axit acrylic làm dược. Các tá dược này là sẵn có dưới tên thương mại Carbopol™.

Đặc tính đáng chú ý của polyme của axit acrylic là chúng làm tăng đáng kể độ nhớt của chế phẩm nước do chúng vốn đã tạo ra chuỗi polyme được liên kết trong các chế phẩm này. Cụ thể là các gốc axit của chuỗi polyme có thể tương tác bằng cách tạo liên kết hydro. Mặc dù liên kết hydro yếu hơn đáng kể so với các liên kết cộng hóa trị, tương tác này giữa các chuỗi polyme có thể có ảnh hưởng đáng kể đến độ nhớt của dung

dịch nước. Đặc tính vốn có này của polyme của axit acrylic, mà là đặc tính hầu như không phụ thuộc vào độ dài của chuỗi polyme và loại của chuỗi/nhóm bên, được sử dụng rộng rãi trong ví dụ kem hoặc kem dưỡng lông trong đó polyme của axit acrylic được sử dụng làm chất làm đặc. Khi polyme đã liên kết tạo ra mạng lưới thực sự của các chuỗi polyme trong toàn bộ chế phẩm (trên nồng độ polyme nhất định, thông thường là trên 0,2% đến 0,5% khối lượng/khối lượng), và các khe hở của mạng lưới được nạp đầy pha liên tục, chế phẩm này được gọi là gel. Với các ứng dụng tại chỗ của chế phẩm nước (như kem bôi tay, kem chống nắng) đây là trạng thái được ưu tiên của chế phẩm. Với chế phẩm chứa kháng nguyên sinh học, mà là chế phẩm thường được sử dụng bằng cách tiêm, sự tăng độ nhớt là một bất lợi đáng kể. Ngay cả khi độ nhớt của chế phẩm tăng từ khoảng 5-70mPas (điển hình đối với chế phẩm nước chứa kháng nguyên) đến khoảng 200mPas, điều này rất đáng lưu ý khi sử dụng chế phẩm bằng cách tiêm (bằng tay) cho đối tượng động vật (thuật ngữ động vật trong phần mô tả và yêu cầu bảo hộ này bao gồm người). Việc tạo gel của chế phẩm thường được tránh ở tất cả các thời điểm: chế phẩm được tạo gel không thể tiêm được một cách dễ dàng. Vì thế trên thực tế, đối với chế phẩm chứa kháng nguyên sinh học, thường từ 0,1 đến tối đa là 0,2% (khối lượng trên khối lượng; khối lượng/khối lượng) polyme của axit acrylic được sử dụng. Thật vậy, trong WO 2010/025469 đề cập đến vacxin mới nhất, 0,1% khối lượng/khối lượng polyme của axit acrylic được sử dụng. Một ví dụ về vacxin có bán trên thị trường chứa polyme của axit acrylic là Suvaxyn™ M.Hyo - Parasuis (có từ Pfizer Animal Health), mà chứa 0,2% (khối lượng/khối lượng) Carbopol™ 941.

Giải pháp đã biết (US 3,920,811) đã bộc lộ việc bổ sung chất điện giải chấp nhận được về mặt sinh lý (tức là hợp chất ion hóa khi được hòa tan hoặc nóng chảy để tạo ra môi trường dẫn điện), như các chất điện giải được đề cập trong cột 4, các dòng 28-42 của patent 811) vào chế phẩm tiêm để làm giảm độ nhớt của chế phẩm đến mức mà chúng có thể được sử dụng thương mại trong thực tế, trong khi đồng thời vẫn giữ được các đặc tính tốt của tá dược. Tuy nhiên rõ ràng như đã chỉ ra trong patent 811 (cột 7, dòng 3-6), nồng độ chất điện giải có thể là cao đến mức mà tạo ra tính đẳng trương trong dung dịch tiêm được cuối cùng chứa hỗn hợp của dung dịch tá dược và kháng nguyên sinh học. Cụ thể, chế phẩm tiêm hiện nay thường là bán đẳng trương. Lý do là vì người ta biết được rằng dung dịch ưu trương có thể gây tổn thương mô khi tiêm. Ngay cả khi

chế phẩm chỉ hơi ưu trương và vì thế, sự tổn thương sau cùng có thể là không đáng chú ý, kết quả của việc tiêm là động vật có thể có cảm giác rất khó chịu ở vị trí tiêm, cảm giác này có thể, ví dụ, gây căng thẳng, ngứa ngáy, đau nhức v.v.. Vì thế, để phù hợp với tiêu chuẩn an toàn thường được yêu cầu cho chế phẩm sử dụng cho động vật, mỗi chế phẩm bán trên thị trường chứa kháng nguyên sinh học và polyme của axit acrylic, hầu hết là đẳng trương với dịch cơ thể thông thường (ví dụ huyết thanh), tức là có nồng độ áp lực thẩm thấu của dung dịch natri clorua 0,9% (khối lượng/thể tích) trong nước (khoảng 300 mOsm/l).

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất chế phẩm mới có khả năng ứng dụng rộng hơn.

Bất ngờ phát hiện ra rằng trong chế phẩm chứa polyme của axit acrylic, việc sử dụng một lượng chất điện giải tạo ra dung dịch ưu trương vẫn tạo ra chế phẩm phù hợp với tiêu chuẩn an toàn chấp nhận được nói chung. Hiển nhiên là không có lý do kỹ thuật rõ ràng cho việc chế phẩm là an toàn ngay cả khi nó ưu trương đáng kể, sự có mặt của polyme của axit acrylic tạo ra chế phẩm trong đó sự có mặt của lượng dư chất điện giải không gây ra vấn đề, ngay cả khi tiêm chế phẩm này vào mô động vật. Không bị ràng buộc bởi lý thuyết, tin rằng sự có mặt của polyme ở dạng mạng lưới của chuỗi polyme được liên kết có thể tạo thành chế phẩm trong đó sự pha loãng nhanh chóng nhưng được kiểm soát của lượng dư chất điện giải xảy ra mà không gây tổn thương mô xung quanh. Điều này thực tế là mâu thuẫn với phần bộc lộ của 'patent 811' mà thường được chấp nhận từ trước đến nay từ khi patent này được công bố. Một trong các ưu điểm chính của phát hiện rằng lượng dư chất điện giải có thể được sử dụng, là độ nhớt của chế phẩm chứa polyme của axit acrylic có thể còn được giảm xuống, nhờ đó cho phép sử dụng chế phẩm trên thực tiễn dễ dàng hơn. Đồng thời, sáng chế cho phép sử dụng lượng lớn hơn nhiều của polyme của axit acrylic, thậm chí nồng độ trên 0,5% khối lượng/khối lượng, trong khi vẫn giữ được độ nhớt rất thấp. Việc sử dụng lượng polyme này cho phép tạo ra chế phẩm giải phóng (rất) chậm của kháng nguyên sinh học. Do đặc tính hiển nhiên là chất điện giải hòa tan nhanh từ chế phẩm khi được sử dụng trong mô động vật, ngay sau khi sử dụng độ nhớt của chế phẩm sẽ tăng một cách đáng kể, và thậm chí có thể tạo ra chế phẩm dạng gel tại vị trí sử dụng. Cơ bản là, kháng nguyên sinh học sẽ được giải phóng từ gel này chậm hơn so với giải phóng từ chế phẩm nước (độ nhớt thấp) như vậy,

tùy theo các đặc tính gel, ngoài các đặc tính khác. Thông thường, độ nhớt càng cao, tốc độ giải phóng kháng nguyên càng chậm.

Cụ thể đã phát hiện ra rằng polyme của axit acrylic trong chế phẩm nước chứa các kháng nguyên sinh học có thể được sử dụng để làm giảm hiện tượng sốt do các kháng nguyên sinh học này khi chế phẩm được sử dụng cho đối tượng động vật. Mặc dù sự tăng nhiệt độ 2°C trong vòng 24 giờ đầu tiên sau khi tiêm thường được chấp nhận và được xem là an toàn, sự tăng nhiệt độ dưới 1°C thường được ưu tiên hơn. Với các chế phẩm theo sáng chế, sự tăng nhiệt độ ít hơn 1°C hoặc thậm chí ít hơn 0,5°C có thể đạt được. Lý do của việc duy trì này không rõ ràng nhưng có thể liên quan đến thực tế là dung dịch có độ nhớt thấp ưu trương ngay sau khi sử dụng hầu như sẽ đạt đến độ nhớt cao hơn và vì thế trở thành chế phẩm giải phóng chậm nhiều hoặc ít hơn. Sự giải phóng chậm này có thể gây ra đáp ứng miễn dịch nhẹ hơn, nhưng được kéo dài hơn. Mặc dù cũng dự kiến ít nhất là có sự giảm hiệu giá ở mức nào đó, đã bất ngờ phát hiện ra rằng hiệu giá cao vẫn có thể đạt được, ngay cả khi hiện tượng sốt được giảm đáng kể. Điều này cho phép thu được vacxin an toàn hơn dựa trên kháng nguyên thường gây sốt như, ví dụ, kháng nguyên chứa lipopolysaccharit (LPS) có mặt trong nhiều vacxin chứa vi khuẩn gram âm như, ví dụ, *Escherichia coli* (*E. coli*), *Salmonella* spp, *Shigella* spp và các Enterobacteriaceae khác, *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Helicobacter*, *Stenotrophomonas*, *Bdellovibrio*, vi khuẩn axit axetic, *Legionella* và alpha-proteobacteria như *Wolbachia*, vi khuẩn lam, xoắn thể, vi khuẩn lưu huỳnh màu lục và vi khuẩn không lưu huỳnh màu lục, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus* spp như *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Helicobacter pylori*, và *Acinetobacter baumannii*.

Ngoài phần nêu trên, cũng đã phát hiện ra rằng sáng chế có thể được sử dụng thuận lợi trong chế phẩm chứa kháng nguyên circovirut lợn typ 2 (PCV2) và tùy ý kháng nguyên *Mycoplasma hyopneumoniae* và kháng nguyên *Lawsonia intracellularis* để tạo ra vacxin mà sau một lần sử dụng duy nhất tạo ra đáp ứng miễn dịch đủ để kháng lại bệnh nhiễm circovirut lợn typ 2 và *Mycoplasma hyopneumoniae* và *Lawsonia intracellularis*.

Lưu ý là sáng chế cũng đề cập đến được phẩm tiêm (cụ thể là chế phẩm có độ nhớt nhỏ hơn 200 mPa.s, tốt hơn là nhỏ hơn 100 mPa.s) chứa chế phẩm nước như được nêu trên đây.

Mô tả chi tiết sáng chế

Theo một phương án, nồng độ áp lực thẩm thấu của chế phẩm này cao hơn ít nhất là 30% so với nồng độ áp lực thẩm thấu của dung dịch natri clorua 0,9% (khối lượng/thể tích) (tức là khoảng 400mOsmol/l hoặc cao hơn). Đã phát hiện ra rằng ngay cả nồng độ áp lực thẩm thấu cao này cũng có thể được sử dụng mà không gây ra các tác dụng phụ bất lợi tại vị trí sử dụng. Điều này làm tăng mạnh việc sử dụng tự do polyme của axit acrylic. Ngay cả các lượng lớn hơn một cách đáng kể so với 0,2% như thường được sử dụng giờ đây có thể được sử dụng trong khi vẫn duy trì được độ nhớt.

Theo một phương án, nồng độ áp lực thẩm thấu của chế phẩm cao hơn ít nhất là 50% so với nồng độ áp lực thẩm thấu của dung dịch natri clorua 0,9% (khối lượng/thể tích) (tức là khoảng 450 mOsmol/l hoặc cao hơn). Đã phát hiện ra rằng ngay cả nồng độ áp lực thẩm thấu cao này cũng có thể được sử dụng mà không gây ra các tác dụng phụ bất lợi tại vị trí sử dụng. Điều này làm tăng mạnh việc sử dụng tự do polyme của axit acrylic. Ngay cả các lượng cao hơn đáng kể so với 0,2% như thường được sử dụng giờ đây có thể được sử dụng mà vẫn duy trì được độ nhớt.

Theo một phương án được ưu tiên, chế phẩm này chứa polyme của axit acrylic với lượng nhiều hơn 0,2% (khối lượng/khối lượng), hoặc polyme của axit acrylic với lượng thậm chí nhiều hơn 0,5% (khối lượng/khối lượng). Với các lượng polyme của axit acrylic này, chế phẩm này có thể ở dạng gel nhớt. Bằng cách bổ sung lượng dư chất điện giải vào chế phẩm dạng gel, độ nhớt có thể giảm xuống đến các giá trị thông thường nằm trong khoảng từ 10 đến 70 mPa.s. Vì thế, chế phẩm này sẽ dễ dàng được sử dụng bằng ống tiêm cầm tay chuẩn, và sau khi tiêm, bằng cách pha loãng lượng dư chất điện giải, sẽ trở về gel có độ nhớt cao. Đã phát hiện ra rằng gel polyme của axit acrylic như vậy đặc biệt thích hợp để thu được hiệu giá kháng thể cao kháng kháng nguyên mà thường gây sốt, trong khi làm giảm hiện tượng sốt. Chế phẩm mà chứa polyme của axit acrylic với lượng từ 0,8% đến 1,6% (khối lượng/khối lượng) được đặc biệt ưu tiên. Trong phương án này, lượng dư chất điện giải tốt hơn là tạo ra nồng độ áp lực thẩm thấu lớn hơn từ 2 đến 3 lần nồng độ áp lực thẩm thấu của dịch mô thông thường (dung dịch

muối natri clorua 0,9%), vì thế cao hơn khoảng 600-900 mOsmol/l. Theo cách này, độ nhớt trước khi sử dụng có thể được giữ ở mức đủ thấp để tiêm được. Sau khi tiêm, chất điện giải sẽ pha loãng và chế phẩm sẽ trở lại dạng gel.

Theo một phương án, polyme của axit acrylic là polyme được tạo liên kết ngang, tốt hơn là bằng cách sử dụng polyalkenylete, rượu đa chức và/hoặc đivinylglycol làm chất tạo liên kết ngang. Sự liên kết ngang polyme này tạo thành mạng lưới của chuỗi polyme trong chế phẩm ít phụ thuộc vào ví dụ nhiệt độ và độ pH, đơn giản là do một phần của việc tạo thành mạng lưới vốn tồn tại ở dạng liên kết ngang cộng hóa trị.

Theo một phương án khác, chế phẩm này chứa chất điện giải bao gồm cation nhiều điện tích (là cation có điện tích lớn hơn 1+, thông thường là 2+ hoặc 3+). Đã phát hiện ra rằng khi sử dụng cation nhiều điện tích, độ nhớt có thể được làm giảm một cách hiệu quả hơn, ngay cả khi nồng độ áp lực thẩm thấu là tương tự như khi sử dụng cation đơn điện tích (1+). Theo một phương án được ưu tiên, cation này có mặt ở nồng độ lên đến 0,05M, tốt hơn là lên đến khoảng 0,03M. Lượng cation mà có thể được sử dụng phụ thuộc vào lượng của nhóm carboxylat trong dung dịch polyme của axit acrylic. Quá nhiều cation sẽ gây kết tủa. Đã phát hiện ra rằng khi sử dụng đến các lượng của cation nhiều điện tích này, độ nhớt có thể được giảm xuống rất hữu hiệu, trong khi vẫn giữ được độ an toàn khi sử dụng chế phẩm.

Theo một phương án kháng nguyên sinh học là kháng nguyên mà khi sử dụng gây sốt, tức là cao hơn 0,5°C, cụ thể là cao hơn 1,0°C, cao hơn 1,5°C hoặc thậm chí cao hơn 2,0°C. Trên thực tế, nhiều kháng nguyên khi được sử dụng gây sốt nhẹ. Mức sốt cao nhất mà có thể bị gây ra thường được đặt ra bởi cơ quan quản lý. Để phù hợp với mức độ tối đa này, trong một số trường hợp cần phải giảm lượng kháng nguyên xuống nồng độ dưới mức tối ưu, do đó chấp nhận thu được đáp ứng miễn dịch không tối ưu. Đối với việc ngăn ngừa bệnh thực tế mà vacxin cần gây ra tác dụng bảo vệ kháng lại, đây là tình huống không thuận lợi. Đã bất ngờ phát hiện ra rằng bằng cách sử dụng chế phẩm theo sáng chế, hiện tượng sốt bị gây ra bởi kháng nguyên có thể được giảm xuống trong khi vẫn duy trì đáp ứng miễn dịch. Sự giải phóng chậm của kháng nguyên không thể là lý do duy nhất của tác dụng này do dự đoán rằng nếu hiện tượng sốt được giảm xuống do việc giải phóng chậm, đáp ứng miễn dịch cũng yếu hơn. Tuy nhiên, tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng bằng cách sử dụng chế phẩm theo sáng chế, hiện tượng

sốt có thể được giảm xuống trong khi vẫn duy trì đáp ứng miễn dịch thích hợp.

Theo một phương án, kháng nguyên được chọn từ nhóm bao gồm kháng nguyên vi khuẩn gram âm và kháng nguyên circovirut. Theo một phương án cụ thể, kháng nguyên này được chọn từ nhóm bao gồm kháng nguyên *Actinobacillus pleuropneumoniae*, kháng nguyên *Haemophilus parasuis* và kháng nguyên circovirut lợn typ 2 (PCV2). Các kháng nguyên này đặc biệt được biết là gây sốt khi sử dụng. Bằng cách sử dụng sáng chế, hiện tượng sốt có thể được giảm xuống một cách đáng kể trong khi vẫn giữ được hiệu quả miễn dịch của chế phẩm ở mức độ thích hợp.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế sẽ được minh họa thêm bằng các ví dụ sau.

Ví dụ 1 thể hiện hiệu quả của polyme của axit acrylic lên độ nhớt

Ví dụ 2 thể hiện đặc tính vật lý của chế phẩm theo sáng chế, và độ an toàn của nó

Ví dụ 3 mô tả thành phần của chế phẩm theo sáng chế

Ví dụ 4 thể hiện thử nghiệm chủng ngừa bằng chế phẩm theo sáng chế

Ví dụ 5 thể hiện thử nghiệm chủng ngừa lần thứ hai bằng chế phẩm theo sáng chế

Ví dụ 6 thể hiện thử nghiệm chủng ngừa lần ba bằng chế phẩm theo sáng chế

Ví dụ 7 mô tả chế phẩm khác theo sáng chế và phương pháp bào chế các chế phẩm này.

Ví dụ 1

Các chế phẩm nước đẳng trương khác nhau được tạo ra bằng cách sử dụng polyme của axit acrylic được tạo liên kết ngang để đánh giá tác dụng của polyme này lên độ nhớt của chế phẩm. Các chế phẩm này không chứa kháng nguyên (mà thông thường sẽ làm tăng độ nhớt). Đồng thời, hiệu quả của việc bổ sung lượng dư của chất điện giải được tích điện kép được đánh giá.

Tất cả các chế phẩm chứa polyme của axit acrylic được tạo liên kết ngang Carbopol 974P (có bán từ BFGoodrich Specialty Chemicals, Cleveland, Ohio). Các

lượng khác nhau của polyme (0,1% đến 1,6% khối lượng/khối lượng) được hòa tan trong dung dịch nước của dung dịch muối natri clorua 0,9% khối lượng/thể tích. Độ nhớt của chế phẩm được đo bằng nhớt kế phòng thí nghiệm Brookfield. Kết quả như sau:

Bảng 1: Độ nhớt của các dung dịch đẳng trương của polyme của axit acrylic

Ví dụ số	Carbopol 974 P khối lượng/thể tích	Độ nhớt mPa.s
1	0,1	3,8
2	0,2	5,0
3	0,5	70,0
4	0,8	214
5	1,6	4600

Lưu ý là chế phẩm nước theo sáng chế có thể được sử dụng để tạo ra nhũ tương với pha dầu, thường là thu được nhũ tương nước trong dầu, nhũ tương dầu trong nước hoặc nhũ tương nước trong dầu trong nước. Vì thế, nhũ tương này chứa chế phẩm nước theo sáng chế. Việc bào chế nhũ tương tất nhiên sẽ tác động đến độ nhớt, thường làm độ nhớt tăng đáng kể. Ví dụ, khi dầu (ví dụ 10% khối lượng/thể tích) được nhũ hóa trong dung dịch nước có độ nhớt bằng khoảng 3mPas, thì giá trị độ nhớt có thể tăng đến khoảng 25 mPa.s hoặc thậm chí cao hơn.

Trong thử nghiệm tiếp theo, tác động đến độ nhớt bằng cách sử dụng lượng dư chất điện giải được đánh giá bằng cách sử dụng chế phẩm Carbopol 0,8%. Chế phẩm này được bổ sung các lượng natri clorua và canxi clorua khác nhau để thể hiện tác động lên độ nhớt. Kết quả được thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2: Độ nhớt của các dung dịch polyme của axit acrylic khác nhau

Mẫu số	NaCl khối lượng/thể tích	CaCl ₂ •2H ₂ O khối lượng/thể tích	Độ nhớt mPa.s	Nồng độ thẩm thấu mOsmol/l
1	0,45%	0,16%	748	190
2	0,9%	0,16%	221	340
3	1,5%	0,16%	71	530
4	2,5%	0,16%	12	850

Có thể được hiểu là, việc bổ sung lượng dư chất điện giải làm giảm đáng kể độ nhớt của chế phẩm chứa polyme của axit acrylic. Người ta đã phát hiện ra rằng (xem ví dụ 2) khi tiêm, lượng dư này sẽ pha loãng từ chế phẩm vào trong mô xung quanh, do đó làm tăng độ nhớt của chế phẩm để chuyển thành dạng gel. Gel này sẽ duy trì ở vị trí tiêm để đợi khuếch tán và phân hủy chậm của các thành phần của nó.

Ví dụ 2

Ví dụ này đề cập đến đặc tính vật lý của chế phẩm theo sáng chế, cụ thể là sự tạo gel của chế phẩm sau khi tiêm và sự giải phóng thành phần được phân tán của nó, và độ an toàn của chế phẩm khi tiêm vào trong mô động vật.

Trong thử nghiệm này, bốn con lợn được sử dụng. Mỗi con lợn được nhận 1ml chế phẩm chứa 1,6% Carbopol 974P, 2,5% natri clorua và 0,48% canxi clorua (có nồng độ áp lực thẩm thấu xấp xỉ 925 mOsmol/l) bằng cách tiêm trong cơ. Với mục đích chẩn đoán, chế phẩm còn chứa 0,075% chất tạo màu xanh Patent Blue. Lợn số 1 bị gây chết êm ái 2 giờ sau khi tiêm chế phẩm và ngay lập tức mô cơ được mở ra để kiểm tra vị trí sử dụng. Đốm trong có thể nhìn thấy chứa chất màu xanh như thạch. Thìa được lấy và đốm này có thể được lấy ra dưới dạng gel. Gel này không chảy. Lợn số 2 bị gây chết êm ái 24 giờ sau khi sử dụng chế phẩm tương tự, và mô cơ của nó cũng được mở ra để kiểm tra vị trí sử dụng. Gel trong không màu có thể được chấm tại vị trí sử dụng, là dấu hiệu cho thấy hiện tượng khuếch tán chất màu xanh patent blue vào cơ thể của lợn. Lợn số 3 bị gây chết êm ái sau 48 giờ, và lợn số 4 bị gây chết êm ái sau một tuần. Gel không thể phân lập được từ các con lợn này. Màu xanh bị biến mất hoàn toàn.

Kết quả này cho thấy rằng gel xuất hiện 2 ngày sau khi tiêm. Các phân tử nhỏ khuếch tán từ gel này trong vòng 1 ngày. Dự đoán là sự giải phóng các phân tử lớn như protein được diễn ra chậm lại trong khoảng 2 ngày trong chế phẩm cụ thể này.

Các phản ứng tại chỗ (tức là các đốm có sự phân tán trong mô bình thường) cũng được tính điểm ở các thời điểm khác nhau. Kết quả, kích thước của các đốm có sự phân tán, được liệt kê dưới đây trong bảng 3. Lưu ý là sự phân tán sau 2 giờ chủ yếu bị giới hạn vào chính các đốm thạch này. Sau 24 giờ một số vết phân tán trong thể tích mô lớn hơn đôi chút (5cm³) được quan sát thấy, nhưng ở mức độ an toàn (chấp nhận được). Sau 1 tuần, đốm có sự phân tán còn lại thực sự biến mất. Các con lợn sống không thể hiện các dấu hiệu bất kỳ của các phản ứng tại chỗ (như căng thẳng, ngứa ngáy, tấy đỏ, đau nhức v.v.). Dựa trên các kết quả này có thể kết luận rằng chế phẩm này được xem là an toàn, mặc dù nồng độ thẩm thấu bằng khoảng ba lần nồng độ thẩm thấu của dung dịch muối natri clorua 0,9%.

Bảng 3: Kích thước của phản ứng tại chỗ sau khi tiêm IM

Thời gian sau khi chủng ngừa (giờ)	Kích thước (dài*rộng*cao theo cm)	Thể tích (cm ³)
2	4*1*1	4
24	5*2*0,5	5
48	3*2*0,5	1,5
168	1*0,2*0,3	0,6

Ví dụ 3

Các chế phẩm khác nhau được tạo ra chứa các kháng nguyên sinh học khác nhau và các polyme của axit acrylic với các loại và lượng khác nhau. Lượng của polyme của axit acrylic trong mỗi trường hợp ít nhất là 0,8% khối lượng/khối lượng để đảm bảo độ nhớt cao sau khi tiêm. Thành phần chung của mỗi chế phẩm được thể hiện trong bảng 4. Lưu ý là độ nhớt được thể hiện là độ nhớt trước khi tiêm. Sau khi tiêm, chất điện giải sẽ được pha loãng nhanh từ chế phẩm, sau đó chế phẩm sẽ có độ nhớt cao và có thể vẫn ở dạng gel bền tại vị trí sử dụng.

Bảng 4: Thành phần chung của chế phẩm chứa kháng nguyên sinh học

Trong mỗi 1000g chế phẩm		
Thành phần	loại “0,8” (độ nhớt $\pm$ 40 cP)	loại “1,6” (độ nhớt $\pm$ 70 cP)
Polyme của axit acrylic	8,0 g	16 g
CaCl ₂ •2H ₂ O	1,6 g	4,8 g
NaCl	9,0 g	25 g
Kháng nguyên	x số đơn vị (phụ thuộc vào kháng nguyên)	x số đơn vị (phụ thuộc vào kháng nguyên)
Nước	được bổ sung để đạt 1000g	được bổ sung để đạt 1000g

Thông thường hai loại chế phẩm chứa polyme của axit acrylic được tạo ra, loại 0,8 chứa 0,8% polyme của axit acrylic và loại 1,6 chứa 1,6% polyme của axit acrylic. Để giữ cho độ nhớt của chế phẩm đủ thấp để có thể tiêm chế phẩm bằng ống tiêm dưới da tiêu chuẩn, chất điện giải được bổ sung như được chỉ ra ở trên trong bảng 4. Hai loại polyme được tạo liên kết ngang của axit acrylic khác nhau được sử dụng, cụ thể là Carbopol 974P và Carbopol 971P (đều thu được từ BFGoodrich). Các loại kháng nguyên khác nhau đang được sử dụng, thu được từ vi khuẩn *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Haemophilis parasuis*, *Mycoplasma hyopneumoniae* và circovirut lợn typ 2 (PCV2). Với các kháng nguyên này, các chế phẩm sau được sản xuất:

1. Chế phẩm Mhyo/PCV2

Chế phẩm thứ nhất (được gọi là “A”) chứa polyme của axit acrylic Carbopol 974P với nồng độ bằng 0,8%. Trong chế phẩm này kháng nguyên *Mycoplasma hyopneumoniae* bị bất hoạt (kháng nguyên giống như kháng nguyên có mặt trong vaccin có bán trên thị trường Porcilis Mhyo, có bán từ Intervet Schering-Plough Animals Health, Boxmeer, The Netherlands, ở cùng nồng độ) và kháng nguyên PCV (các kháng nguyên giống như kháng nguyên có mặt trong vaccin có bán trên thị trường Porcilis PCV, có bán từ Intervet Schering-Plough Animals Health, Boxmeer, ở cùng nồng độ).

Chế phẩm thứ hai (được gọi là “B”) chứa polyme của axit acrylic Carbopol 971P với nồng độ bằng 0,8%. Trong chế phẩm này kháng nguyên *Mycoplasma hyopneumoniae* bị bất hoạt (kháng nguyên giống như kháng nguyên có mặt trong vaccin có bán trên thị trường Porcilis Mhyo, do Intervet Schering-Plough Animal Health, Boxmeer cung cấp, ở cùng nồng độ) và kháng nguyên PCV (kháng nguyên giống như kháng nguyên có mặt trong vaccin có bán trên thị trường Porcilis PCV, do Intervet Schering-Plough Animal Health, Boxmeer cung cấp, ở cùng nồng độ).

Chế phẩm tham chiếu thứ nhất được gọi là “C” được sản xuất chứa kháng nguyên tương tự ở cùng nồng độ nhưng được bào chế trong tá dược nhũ tương Emunade, như được sử dụng trong vaccin có bán trên thị trường M+Pac, do Intervet Schering-Plough Animal Health, Summit, NJ, USA cung cấp. Chế phẩm đối chứng nghiêm ngặt “D” được sản xuất chỉ chứa dung dịch PBS.

2. Chế phẩm APP

Chế phẩm thứ nhất (được gọi là “E”) chứa polyme của axit acrylic Carbopol 974P với nồng độ bằng 0,8%. Chế phẩm này chứa cùng kháng nguyên *Actinobacillus hyopneumoniae* (cụ thể là APXI, APX II, APXIII và OMP), với lượng giống như trong vaccin có bán trên thị trường Porcilis APP, có bán từ Intervet Schering-Plough Animal Health, Boxmeer, Hà Lan.

Vaccin có bán trên thị trường Porcilis APP (được gọi là “F”) được sử dụng làm chế phẩm tham chiếu.

3. Chế phẩm *Haemophilus parasuis*

Chế phẩm thứ nhất (được gọi là “G”) chứa polyme của axit acrylic Carbopol 974P với nồng độ bằng 0,8%. Chế phẩm này chứa cùng kháng nguyên *Haemophilus*

parasuis (cụ thể là tế bào bị bất hoạt của vi khuẩn *Haemophilus parasuis*), với lượng giống như trong vaccin có bán trên thị trường Porcilis Glässer, do Intervet Schering-Plough Animal Health, Boxmeer, Hà Lan cung cấp.

Vaccin có bán trên thị trường Porcilis Glässer (được gọi là “H”) được sử dụng làm chế phẩm tham chiếu.

Các chế phẩm A, B, E và G được bào chế bằng cách đầu tiên là pha chế dung dịch chất điện giải trong khoảng 70% lượng nước cần thiết. Sau đó, polyme của axit acrylic được bổ sung vào và được trộn cho đến khi polyme này được hydrat hóa hoàn toàn. Sau đó độ pH của dung dịch được thiết lập ở giá trị 7,2 bằng cách bổ sung nhỏ giọt dung dịch NaOH 4M. Sản phẩm này được hấp trong 20 phút ở nhiệt độ 121°C. Sau đó, sản phẩm được làm nguội xuống nhiệt độ khoảng 20°C trong khi khuấy, sau đó độ pH được kiểm tra và được điều chỉnh nếu cần. Sau đó, kháng nguyên được bổ sung vào trong khi khuấy, sau đó độ pH được kiểm tra và điều chỉnh lần nữa nếu cần. Lượng nước còn lại được bổ sung vào. Sản phẩm được khuấy qua đêm trước khi nạp vào vật chứa, và sau khi nạp, được bảo quản trong khí quyển khí nitơ ở nhiệt độ từ 2 đến 8°C.

Ví dụ 4

Trong thử nghiệm chủng ngừa, bốn nhóm mà mỗi nhóm gồm 10 lợn con được sử dụng. Các chế phẩm A, B, C và D được sử dụng trong cơ với liều 2ml ở thời điểm ba tuần tuổi. Nhiệt độ trực tràng được đo ngay trước khi chủng ngừa ($t=0$ giờ) và 4 giờ sau khi chủng ngừa (mức tăng nhiệt độ tối đa được mong đợi).

Các kết quả sau đây thu được. Không quan sát thấy dấu hiệu lâm sàng của bệnh ở nhóm bất kỳ trong các nhóm này, điều này có nghĩa là tất cả các chế phẩm đều có thể được xem là an toàn. Nhiệt độ trung bình đo được được nêu trong bảng 5.

Bảng 5: Nhiệt độ trung bình sau một lần sử dụng vaccin Mhyp/PCV

Chế phẩm	T_{av} theo °C ở $t = 0$ giờ	T_{av} theo °C ở $t = 4$ giờ	ΔT theo °C
A	39,8	39,6	-0,2
B	39,8	39,9	+0,1
C	39,6	40,3	+0,7
D (đối chứng nghiêm ngặt)	39,7	39,5	-0,2

Như có thể thấy, kháng nguyên được sử dụng có thể làm cho nhiệt độ tăng lên

đáng kể ở động vật được chủng ngừa (xem kết quả với chế phẩm C). Tuy nhiên, khi được bào chế bằng phương pháp theo sáng chế, mức tăng nhiệt độ có thể thấp hơn và thậm chí bị ức chế hoàn toàn.

Tiếp theo sự tăng nhiệt độ, hiệu giá kháng thể kháng kháng nguyên được đo, 6 tuần sau khi sử dụng chế phẩm. Kết quả được thể hiện trong bảng 6.

Bảng 6: Hiệu giá trung bình ở thời điểm 6 tuần sau một lần sử dụng vaccin Mhyp/PCV

Chế phẩm	Hiệu giá Mhyo trung bình	Hiệu giá PCV trung bình
A	0,21	10,1
B	0,12	9,2
C	0,06	7,0
D (đối chứng nghiêm ngặt)	0,02	<3,4

Lưu ý là chế phẩm C là vaccin tạo ra tác dụng bảo vệ kháng Mhyo do phần Mhyo là giống với vaccin một mũi tiêm, M+Pac có bán trên thị trường. Do đó dự đoán là chế phẩm A và B cũng tạo ra tác dụng bảo vệ kháng *Mycoplasma hyopneumoniae* gây bệnh. Liên quan đến PCV2, đã biết rằng vaccin Porcilis PCV có bán trên thị trường làm tăng tác dụng bảo vệ khi hiệu giá cao hơn 9 ở khoảng 6 tuần sau khi dùng (xem EP 2 291 195, các kết quả của Ví dụ 3).

Ví dụ 5

20 con lợn được sử dụng ở độ tuổi 5¹/₂ - 6 tuần. Các con lợn này được xếp ngẫu nhiên vào hai nhóm điều trị mà mỗi nhóm gồm 10 con lợn. Các con lợn nhận được chế phẩm E và F tương ứng ở thời điểm 6 và 10 tuần tuổi. Các con lợn được quan sát phản ứng toàn thân, cụ thể là nhiệt độ trực tràng và các dấu hiệu lâm sàng, và các phản ứng tại chỗ sau cả hai lần chủng ngừa. Việc lấy mẫu máu được thực hiện ở thời điểm 6, 10, 13 và 23 tuần tuổi để xác định các đáp ứng huyết thanh với vaccin. Ở 23 tuần tuổi, lợn được đánh giá sau khi chết đối với các phản ứng tại chỗ ở vị trí tiêm.

Đối với việc đánh giá này, tại thời điểm mổ không quan sát thấy các phản ứng tại chỗ không chấp nhận được ở các vị trí tiêm. Sự tăng nhiệt độ trung bình được xác định 4, 6 và 8 giờ sau khi sử dụng chế phẩm. Kết quả được thể hiện trong bảng 7.

Bảng 7: Sự tăng nhiệt độ trung bình sau khi sử dụng vaccin APP

Chế phẩm	Chủng ngừa lần đầu tiên (cơ sở)			Chủng ngừa lần thứ hai (nhắc lại)		
	$\Delta T_{av}, t = 4$	$\Delta T_{av}, t = 6$	$\Delta T_{av}, t = 8$	$\Delta T_{av}, t = 4$	$\Delta T_{av}, t = 6$	$\Delta T_{av}, t = 8$
E	0,8	0,8	0,6	0,5	0,5	0,1
F	0,8	0,7	0,7	0,7	1,0	1,1

Như có thể thấy, kháng nguyên được sử dụng có thể làm tăng nhiệt độ đáng kể ở động vật được chủng ngừa (xem kết quả đối với liều nhắc lại khi sử dụng chế phẩm F). Tuy nhiên, khi được bào chế theo sáng chế, mức tăng nhiệt độ có thể thấp hơn và thậm chí bị ức chế hoàn toàn (cụ thể, xem kết quả ở $t = 8$ giờ sau khi chủng ngừa nhắc lại).

Tiếp theo sự tăng nhiệt độ, hiệu giá kháng thể kháng kháng nguyên được đo, 13 tuần sau khi dùng chế phẩm. Kết quả được thể hiện trong bảng 8.

Bảng 8: Hiệu giá trung bình ở 13 tuần sau khi dùng vaccin APP

Chế phẩm	APXI	APXII	APXIII	OMP
E	9,7	11,0	9,7	9,5
F	8,5	10,0	8,5	8,3

Do thực tế là chế phẩm theo sáng chế (chế phẩm E) mặc dù tạo ra hiệu giá cao hơn vaccin Porcilis APP (chế phẩm F) thường được xem là có hiệu quả và có bán trên thị trường, thể hiện rằng chế phẩm mới là vaccin hữu hiệu để bảo vệ động vật kháng lại sự nhiễm vi khuẩn *Actinobacillus pleuropneumoniae* gây bệnh.

Ví dụ 6

Trong thử nghiệm chủng ngừa, hai nhóm, mỗi nhóm gồm 6 lợn con được sử dụng. Các chế phẩm G và H được sử dụng trong cơ với liều 2ml ở thời điểm một tuần tuổi (chủng ngừa cơ sở) và bốn tuần tuổi (chủng ngừa nhắc lại). Nhiệt độ trực tràng được đo ngay trước khi chủng ngừa ($t=0$ giờ) và 6 giờ sau khi chủng ngừa (mức tăng nhiệt độ tối đa được mong đợi).

Không quan sát thấy dấu hiệu lâm sàng của bệnh ở nhóm bất kỳ trong các nhóm này, điều này có nghĩa là tất cả chế phẩm có thể được xem là an toàn. Sự tăng nhiệt độ trung bình ($t=6$ so với $t=0$ giờ) được thể hiện trong bảng 9.

Bảng 9: Sự tăng nhiệt độ trung bình sau khi sử dụng vaccin *H. parasuis*

Chế phẩm	chủng ngừa lần đầu tiên (cơ sở) $\Delta T_{av}, t = 6$ giờ	chủng ngừa lần thứ hai (nhắc lại) $\Delta T_{av}, t = 6$ giờ
G	0,6	0,9
H	0,8	1,7

Như có thể thấy, kháng nguyên được sử dụng có thể làm tăng nhiệt độ đáng kể ở động vật được chủng ngừa (cụ thể, xem kết quả với lần chủng ngừa nhắc lại khi sử dụng chế phẩm H). Tuy nhiên, khi được bào chế theo sáng chế, mức tăng nhiệt độ có thể thấp hơn một cách đáng kể.

Tiếp theo sự tăng nhiệt độ, hiệu giá kháng thể kháng nguyên được đo, 6 tuần sau khi sử dụng chế phẩm. Kết quả được thể hiện trong bảng 10.

Bảng 10: Hiệu giá trung bình ở thời điểm 6 tuần sau khi sử dụng vaccin *H. parasuis*

Chế phẩm	Hiệu giá HPS trung bình
G	8,1
H	8,1

Do chế phẩm theo sáng chế (chế phẩm G) tạo ra hiệu giá tương tự như vaccin Porcilis Glässer (chế phẩm H) có bán trên thị trường và thường được coi là hữu hiệu, điều này đã thể hiện rằng chế phẩm mới là vaccin hữu hiệu để bảo vệ động vật kháng lại sự lây nhiễm với vi khuẩn *Haemophilus parasuis* gây bệnh.

Ví dụ 7

Ví dụ này mô tả thêm các chế phẩm khác theo sáng chế và phương pháp bào chế các chế phẩm này. Các chế phẩm này được thể hiện trong bảng 11. Bảng này cho thấy số đơn vị trong mỗi 1000ml chế phẩm.

Đối với các kháng nguyên đã đề cập, kháng nguyên Mhyo là kháng nguyên giống như có mặt trong vaccin Porcilis Mhyo có bán trên thị trường, do Intervet Schering-Plough Animal Health, Boxmeer, Hà Lan cung cấp, ở cùng nồng độ mỗi liều (1 U/liều). Kháng nguyên PCV là các kháng nguyên giống như có mặt trong vaccin Porcilis PCV có bán trên thị trường, do Intervet Schering-Plough Animal Health, Boxmeer cung cấp, ở cùng nồng độ mỗi liều (5E3 U/liều). Kháng nguyên *Lawsonia* là nhiều tế bào nguyên vẹn bị chết. Vaccin thu được để dùng làm vaccin một mũi tiêm, 1 ml mỗi liều, để bảo vệ lợn kháng lại bệnh nhiễm virus circo lợn typ 2, *Mycoplasma hyopneumoniae* và *Lawsonia intracellularis*. Vaccin này thích hợp để dùng cho lợn 3 ngày tuổi hoặc lớn

hơn. Tin rằng không xảy ra phản ứng tại chỗ, cụ thể là đối với các chế phẩm A, B và C.

Bảng 11: Chế phẩm chứa kháng nguyên PCV, Mhyo và *Lawsonia*.

Thành phần	Chế phẩm A	Chế phẩm B	Chế phẩm C	Chế phẩm D	Đơn vị
WFI	118,68	237,36	356,04	474,72	gam
CaCl ₂ ·2H ₂ O	1,20	2,40	3,60	4,80	gam
NaCl	6,25	12,50	18,75	25,00	gam
Carbopol 974P	4,00	8,00	12,00	16,00	gam
NaOH	2,07	4,14	6,21	8,28	gam
Mhyo	1000	1000	1000	1000	U
PCV2	5x10E6	5x10E6	5x10E6	5x10E6	U
Lawsonia	1x10E11	1x10E11	1x10E11	1x10E11	tế bào
Bổ sung WFI cho đến khi	1007	1015	1021	1029	gam
Nồng độ áp lực thẩm thấu	420	550	800	1100	mOs/l

Quy trình thích hợp để tạo ra các chế phẩm A đến D như được đề cập trong bảng 11 như sau:

1. Bổ sung WFI vào bình phản ứng.
2. Điều chế dung dịch natri clorua và canxi clorua.
3. Bổ sung carbopol. Trộn các thành phần cho đến khi huyền phù đồng nhất thu được.
4. Điều chỉnh độ pH của dung dịch đến khoảng 7 (6,9-7,1) bằng viên natri hydroxit và nếu cần điều chỉnh lại bằng axit clohydric (4M).
5. Hấp diệt trùng sản phẩm trong 20 phút ở 121°C.
6. Làm nguội sản phẩm xuống 20°C (15-25).
7. Kiểm tra độ pH và điều chỉnh nếu cần.
8. Bổ sung kháng nguyên trong khi khuấy.
9. Kiểm tra độ pH và điều chỉnh nếu cần
10. Bổ sung lượng nước để tiêm còn lại
11. Bảo quản sản phẩm ở nhiệt độ từ 2-8°C.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm nước chứa kháng nguyên sinh học và polyme của axit acrylic; trong đó chế phẩm này chứa chất điện giải để tạo ra nồng độ thẩm thấu cao hơn nồng độ thẩm thấu của dung dịch natri clorua 0,9% (khối lượng/thể tích) trong nước; và
 trong đó nồng độ thẩm thấu của chế phẩm này cao hơn ít nhất 30% so với nồng độ thẩm thấu của dung dịch natri clorua 0,9% (khối lượng/thể tích).
2. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó nồng độ thẩm thấu của chế phẩm này cao hơn ít nhất 50% so với nồng độ thẩm thấu của dung dịch natri clorua 0,9% (khối lượng/thể tích).
3. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này chứa polyme của axit acrylic với lượng nhiều hơn 0,2% (khối lượng/khối lượng).
4. Chế phẩm theo điểm 3, trong đó chế phẩm này chứa polyme của axit acrylic với lượng nhiều hơn 0,5% (khối lượng/khối lượng).
5. Chế phẩm theo điểm 4, trong đó chế phẩm này chứa polyme của axit acrylic với lượng nằm trong khoảng từ 0,8% đến 1,6% (khối lượng/khối lượng).
6. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó polyme của axit acrylic là polyme được tạo liên kết ngang.
7. Chế phẩm theo điểm 6, trong đó polyme của axit acrylic được tạo liên kết ngang bằng cách sử dụng polyalkenylete, rượu đa chức và/hoặc divinyglycol.
8. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này chứa chất điện giải bao gồm cation nhiều điện tích.
9. Chế phẩm theo điểm 8, trong đó cation này có mặt với nồng độ lên đến 0,05M.
10. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó kháng nguyên sinh học là kháng nguyên mà khi sử dụng gây sốt.
11. Chế phẩm theo điểm 10, trong đó kháng nguyên này được chọn từ nhóm bao gồm kháng nguyên vi khuẩn gram âm và kháng nguyên circovirut.
12. Chế phẩm theo điểm 10, trong đó kháng nguyên này được chọn từ nhóm bao gồm kháng nguyên *Actinobacillus pleuropneumoniae*, kháng nguyên *Haemophilus parasuis* và kháng nguyên circovirut lợn typ 2.

13. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này chứa kháng nguyên circovirut lợn typ 2 và kháng nguyên *Mycoplasma hyopneumoniae* để dùng làm vacxin mà sau một lần sử dụng tạo ra đáp ứng miễn dịch đủ để kháng lại bệnh nhiễm circovirut lợn typ 2 và tùy ý *Mycoplasma hyopneumoniae*.

14. Dược phẩm tiêm chứa chế phẩm nước, bao gồm kháng nguyên sinh học và polyme của axit acrylic;

trong đó chế phẩm nước này chứa chất điện giải để tạo ra nồng độ thẩm thấu cao hơn nồng độ thẩm thấu của dung dịch natri clorua 0,9% (khối lượng/thể tích) trong nước;

trong đó nồng độ thẩm thấu của chế phẩm nước này cao hơn ít nhất 30% so với nồng độ thẩm thấu của dung dịch natri clorua 0,9% (khối lượng/thể tích); và

trong đó dược phẩm tiêm này có độ nhớt nhỏ hơn 200 MPa.s.

15. Chế phẩm theo điểm 9, trong đó cation có mặt với nồng độ lên đến 0,03M.