

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202000316** (13) **A1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**(43) Дата публикации заявки
2021.05.31(22) Дата подачи заявки
2020.10.07

(51) Int. Cl. *A61K 31/195* (2006.01)
A61K 33/18 (2006.01)
A61K 47/54 (2006.01)
A61K 47/64 (2006.01)
A23K 50/10 (2006.01)
A23K 50/20 (2006.01)
A23K 50/30 (2006.01)
A23K 50/40 (2006.01)
A23K 50/70 (2006.01)
A23K 50/80 (2006.01)
A23K 20/10 (2006.01)

(54) **БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНАЯ КОРМОВАЯ ДОБАВКА И СПОСОБ ЕЕ ПОЛУЧЕНИЯ**(31) **AM20190126**(32) **2019.10.29**(33) **AM**(96) **EA/AM2020/000003 (AM) 2020.10.07**

(71) Заявитель:

**ИЛЬИН АЛЕКСАНДР ИВАНОВИЧ
(KZ); АГАДЖАНЯН ТИГРАН (AM)**

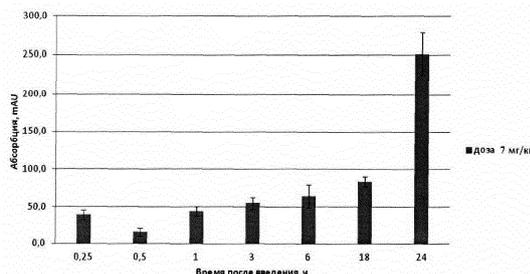
(72) Изобретатель:

**Ильин Александр Иванович (KZ),
Агаджанян Тигран (AM), Измаилов
Тимур Хусанович (KZ)**

(74) Представитель:

Петросян А. (AM)

(57) Изобретение относится к животноводству и может быть использовано в кормлении сельскохозяйственных и домашних животных, птиц и аквакультур и профилактике вирусных и бактериальных инфекций. Добавка содержит две аминокислоты - глицин и аланин, йод, хлорид лития, иодида натрия и калия, гексагидрат хлорида магния, гексагидрат хлорида кальция, носитель - декстрин и воду. Глицин и аланин присутствуют в добавке в форме комплексных соединений гекса-аминопропионовой кислоты лития трииодида дигидрат - $6C_3H_7NO_2 \cdot LiI_3 \cdot 2H_2O$ (комплекс 1) и гексааминоуксусной кислоты йод трииодоводород - $6C_2H_5NO_2 \cdot I_2 \cdot 3HI_3$ (комплекс 2), причем комплексы 1 и 2 интеркалированы в декстрин, при следующем соотношении компонентов, г/л: комплекс 1 - 0,35-35,0; комплекс 2 - 0,15-15,0; декстрин - 65,0-130,0; хлорид лития - 0,12-14,2; иодид натрия - 7,2-8,8; иодид калия - 3,6-4,4; гексагидрат хлорида магния - 3,6-4,4; гексагидрат хлорида кальция - 5,4-6,6; йод - 7,6-9,4; глицин - 0,04-4,0; аланин - 0,04-20,0; остальное - вода. Способ проводят следующим образом: реакцией комплексообразования синтезируют комплексные соединения - комплекс 1 и комплекс 2, затем их вводят в носитель. Реакцию комплексообразования комплекса 1 осуществляют в водном растворе хлорида лития, йодидов натрия и калия, и йода - в соответствии со стехиометрическим соотношением компонентов комплекса, а реакцию комплексообразования комплекса 2 осуществляют в водном растворе глицина, иодидов натрия и калия, и йода - в соответствии со стехиометрическим соотношением компонентов комплекса. Комплексы 1 и 2 вводят в носитель - декстрин - посредством реакции интеркалирования в водном растворе декстрина. Повышается эффективность кормовой добавки.

**A1****202000316****202000316****A1**

Биологически активная кормовая добавка и способ ее получения

Область техники

Изобретение относится к животноводству, и может быть использовано в кормлении сельскохозяйственных и домашних животных, птиц и аквакультур для профилактики вирусных, бактериальных и микст-инфекций. Изобретение также может быть использовано в кормлении животных для профилактики иод-дефицитных заболеваний, стимулировании и повышении продуктивности.

Уровень техники

В последние десятилетия распространились такие опасные для животных, птиц, аквакультур инфекционные заболевания, как грипп птиц, грипп свиней, PMWS, PRPS, нодулярный дерматит КРС, вирус панкреатита лососей и др.

Кроме того, развитие и распространение антибиотикоустойчивой микробной резистентности (AMR) продолжает создавать глобальную угрозу животноводству. Было показано, что использование антибиотиков в любом случае приводит к расширению AMR. Выяснилось, что минимизация использования этих антибиотиков может значительно повлиять на снижение AMR. Тем не менее эта цель достижима при устранении ненадлежащего использования антибиотиков и поиска других способов профилактики инфекций.

Бактериальные инфекции и особенно те, которые вызваны лекарственно-устойчивыми *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* и *Enterococcus faecium*, имеют экономическое значение для свиноводства и птицеводства.

Им подвержены как молодые растущие, так и взрослые животные, причем уровень смертности может оставлять до 100%. В связи с этим, фермеры регулярно лечат или профилактически дают своим животным антибиотики для борьбы с этими бактериальными заболеваниями для обеспечения устойчивого производства (Montagne et al, 2003).

Злоупотребление антибиотиками в животноводческих и птицеводческих хозяйствах стало важной причиной возникновения и распространения бактерий с множественной лекарственной устойчивостью. С другой стороны, изобилие устойчивых к антибиотикам инфекций угрожает развитию свиноводства и птицеводства, особенно в развивающихся странах.

В этой связи особая актуальность приобретает разработка профилактических средств для предупреждения вирусных и бактериальных заболеваний сельскохозяйственных животных, птиц и аквакультур.

В настоящее время существует значительный арсенал средств и способов профилактики зоонозов как специфических, так и общеукрепляющих. В их числе известны биологически активные кормовые добавки целевого назначения. Однако по разным причинам лишь немногие из них имеют широкое практическое применение.

Известна биологически активная добавка, обладающая антисептической и противовирусной эффективностью. Эта добавка содержит соль серебра и спиртовой раствор салициловой кислоты, ее биологическая активность обусловлена синергическим действием компонентов (Патент РФ № 2138183, МПК⁶ А 23 L 1/30, 27.09.1999 г.).

Известна кормовая добавка для бройлерных цыплят, подавляющая развитие патогенной микрофлоры, которая содержит ассоциацию синтрофных микроорганизмов, компоненты растительного происхождения и неорганическую соль (Патент РФ № 2110927, МПК⁶ А 23К 1/165, 20.05.1998).

Известна кормовая добавка для профилактики микотоксикозов птиц, содержащая природный цеолит и тиосульфат натрия (Патент РФ № 2262863, МПК А23К1/16, 27.10.05).

Известен биологически активный стимулятор для птицеводства, который включает водно-спиртовой экстракт из корневищ и корней стеблелиста мощного. Препарат обеспечивает повышение прироста живой массы цыплят и взрослых кур, яйценоскости, сохранности, оплодотворяемости и выводимости яиц и снижение затрат корма на образование яйца. (Россия, патент № 2263510, МПК А61К35/78, 10.11.05).

Известна биологически активная добавка к кормам сельскохозяйственных, домашних животных и птицы для увеличения сохранности молодняка, стимуляции ростовых процессов и плодовитости животных. Эта добавка содержит биомассу продуцентов физиологически активных пуринов и ферментов биомассы *Bac.subtilis* и *Bac.licheniformis*. В состав добавки входит смесь фосфорилированных форм сахаров: фруктозы, или лактозы, или глюкозы, или сахарозы в виде кальциевых солей, а также органические кислоты цикла трикарбоновых кислот: фумаровую и янтарную кислоты или их соли, лимонную кислоту или ее соли, аскорбиновую кислоту или ее соли, а также витамин В₁₂ (Патент РФ № 2265366, МПК А23К 1/16, 10.12.05).

Известна кормовая добавка для крупного рогатого скота, способствующая увеличению среднесуточного прироста телят. Добавка содержит цеолит в комплексе с солями микроэлементов – медь сернокислая, цинк сернокислый, кобальт хлористый и калий иодистый (Патент РФ № 2148358, МПК⁷ А 23К 1/16, 10.05.2000).

Близкой по назначению к предложенной добавке является биологически активная добавка, приготовленная на основе лекарственного растительного сырья с добавлением серебряной воды и меда пчелиного, обладающая иммуностимулирующими свойствами, противовирусной и противомикробной активностью (Патент РФ № 2155060, МПК⁷ А 23К 35/78, 35/64, 27.08.2000).

Существенным недостатком известной добавки является сложность и трудоемкость ее приготовления - необходимость получения активных соединений из значительного числа растений и соответственно высокая себестоимость готового продукта.

Другой биологически активной добавкой, наиболее близкой к предложенной добавке по назначению и составу, является йодированный витаминно-аминокислотный концентрат, используемый при йод-дефицитных состояниях и способствующий укреплению иммунной системы. (Патент РФ № 2189154, МПК⁷ А 23L 1/30, А23J 1/18, 20.09.2002).

Существенным признаком известного концентрата, совпадающим с признаками предложенной кормовой добавки, являются содержание в ней иода. Однако известная добавка не обладает свойствами, необходимыми для профилактики бактериальных и вирусных инфекций у млекопитающих. Кроме того, к недостаткам известного концентрата можно отнести трудоемкость технологического процесса его получения.

Таким образом, несмотря на существование разнообразных добавок целевого назначения, прямые аналоги, идентичные предлагаемой биологически активной кормовой добавке, не выявлены.

Сущность изобретения

Задачей изобретения является разработка профилактического продукта - кормовой добавки, обладающей широким спектром биологической активности для профилактики вирусных и бактериальных инфекций, технологически и экономически приемлемой.

Технический результат заключается в том, что использование предлагаемой кормовой добавки позволяет существенно снизить уровень заболеваемости сельскохозяйственных животных инфекциями вирусной и бактериальной этиологии, а также микст-инфекциями. Кроме того, введение этой добавки в рацион способствует предупреждению йод-дефицитных заболеваний, стимулирует рост мышечной массы животных, птиц и аквакультур и сопровождается адаптогенным действием.

Указанный технический результат достигается и обусловлен уникальным составом компонентов и их соотношением, которые в предлагаемой кормовой добавке оптимально и эффективно сбалансированы для млекопитающих, птиц и аквакультур.

В данном изобретении предлагается использовать йодосодержащие комплексы (аддукты) в качестве возможных заменителей антибиотиков и использовать их в

комбинации с антибиотиками для снижения их доз при их использовании, ингибирования развития AMR у сельскохозяйственных и домашних животных, птиц и аквакультур. Следует отметить, что предлагаемые иодсодержащие комплексы не являются иодофорами. Иодофоры, такие как Бетадин и Веладол, использовались в качестве антисептиков и дезинфицирующих средств в течение многих лет (Lawrence et al., 1957).

Иодофоры образованы иодом в сочетании с солюбилизующими носителями, такими как спирт или вода. Растворы иода являются токсичными, вызывают неприятный запах, могут вызывать раздражение кожи и дыхательных путей. Принцип их действия заключается в прямом окислении молекулярным иодом.

В отличие от иодофоров, предлагаемые соединения представляют собой комплексы (аддукты) иода с аминокислотами в качестве лигандов.

Сущностью изобретения является биологически активная кормовая добавка для профилактики вирусных и бактериальных инфекций сельскохозяйственных и домашних животных, птиц, аквакультур, включающая в свой состав две аминокислоты - глицин и аланин, иод, которая, *согласно изобретению* дополнительно содержит лития хлорид, натрия и калия иодиды, гексагидрат хлорида магния, гексагидрат хлорида кальция, носитель – декстрин и воду, а глицин и аланин образуют координационные соединения (аддукты) гекса-аминопропионовой кислоты лития трииодида дигидрат - $6C_3H_7NO_2 \cdot LiI_3 \cdot 2H_2O$ (комплекс 1) и гексааминоуксусной кислоты иод трииодоводород - $6C_2H_5NO_2 \cdot I_2 \cdot 3HI_3$ (комплекс 2), причем Комплексы 1 и 2 интеркалированы в декстрин.

Биологически активная кормовая добавка содержит, г/л (масс.%):

Комплекс 1	от 0,35 (0,33) до 35,0 (3,10)
Комплекс 2	от 0,15 (0,01) до 15,0 (1,43)
- декстрин	65 (6,21)– 130 (11,53)
- лития хлорид*	0,12 (0,012) – 14,2 (1,26)
- натрия иодид	7,2 (0,69) – 8,8 (0,78)
- калия иодид	3,6 (0,34) – 4,4 (0,39)
- магния хлорид гексагидрат	3,6 (0,34) – 4,4 (0,39)
- кальция хлорид гексагидрат	5,4 (0,52) – 6,6 (0,59)
- иод*	7,6 (0,73) – 9,4 (0,83)
- глицин*	0,04 (0,004)– 4,0 (0,38)
- аланин*	0,04 (0,004)– 20,0 (1,77)
- вода	остальное

* аналитическая концентрация в растворе.

Предлагаемая БАКД в качестве аминокислот содержит глицин и аланин.

В качестве носителя БАКД содержит декстрин, полученный из крахмала ферментативным гидролизом.

Биологически активная кормовая добавка, в качестве комплексообразователей (аддендов) содержит катионы лития и протоны, а в качестве дополнительных субстанций натрия иодид, калия иодид, магния хлорид и кальция хлорид.

Соотношение концентраций Комплекса 1 и Комплекса 2, процент масс, составляет от 1:100 до 100: 1 соответственно.

Предлагаемая добавка может быть нанесена на приемлемый наполнитель (отруби, дробленое зерно, вермикулит и другие).

Сущность способа получения биологически активной добавки заключается в том, что синтезируют комплексные соединения реакцией комплексообразования, с последующим внедрением комплексов в носитель. Согласно изобретению синтезируют два комплексных соединения - Комплекс 1 и Комплекс 2, причем синтез Комплекса 1 осуществляют реакцией комплексообразования аланина, лития хлорида, натрия и калия иодидов и иода в водном растворе, в соответствии со стехиометрическим соотношением компонентов комплекса, а синтез Комплекса 2- реакцией комплексообразования глицина, натрия и калия иодидов и иода в водном растворе, в соответствии со стехиометрическим соотношением компонентов комплекса, а внедрение комплексов 1 и 2 в носитель-декстрин осуществляют реакцией интеркаляции в водном растворе декстрина.

Сущность способа получения биологически активной добавки заключается также в том, что соотношение Комплекса 1 к Комплексу 2 от 1:100 и 100:1 (% масс) обеспечивают смешением рассчитанного количества Комплексов 1 и 2 в водных растворах.

Сущность способа получения биологически активной добавки заключается также в том, что в водный раствор декстрина вносят лития хлорид, натрия и калия иодиды, магния хлорид и кальция хлорид.

Для осуществления способа проводят следующие операции:

а) приготовление водных растворов соответствующих веществ для осуществления реакции комплексообразования;

б) выделение комплексных соединений кристаллизацией;

в) смешивание Комплекса 1 и Комплекса 2 в необходимом соотношении или

г) смешивание исходных растворов Комплексов 1 и 2, полученных по пункту а) без выделения комплексов в кристаллическом виде;

д) приготовление раствора декстрина и вспомогательных субстанций в воде, причем рН раствора должен быть 3,5-5,0;

е) интеркаляция Комплексов 1 и 2 в декстрина путем введения растворов Комплексов 1 и 2 в необходимом соотношении в раствор декстрина и введение вспомогательных субстанций;

ж) полученный раствор БАКД можно нанести на подходящий природный растительный или неорганический носитель (отруби, дробленое зерно, перлит, вермикулит и др.).

Краткое описание графических материалов

Фиг. 1 – динамика изменения оптической плотности среды с тест-штаммом *Salmonella enterica* ATCC 14028 под воздействием сыворотки мышей, получавших БАКД в дозе 7,0 мг/кг.

Фиг. 2 – динамика изменения оптической плотности среды с тест-штаммом *Salmonella enterica* ATCC 14028 под воздействием сыворотки мышей, получавших гентамицин в дозе 10 мг/кг.

Фиг. 3 – динамика изменения оптической плотности среды с тест-штаммом *Salmonella enterica* ATCC 14028 под воздействием сыворотки мышей, получавших БАКД в дозе 7,0 мг/кг и гентамицин в дозе 10 мг/кг.

Фиг. 4 – изменение оптической плотности среды с тест-штаммом *Salmonella enterica* ATCC 14028 под воздействием сыворотки мышей в различных экспериментальных группах.

Фиг. 5 – Динамика падежа птицы.

Фиг. 6 – График падежа птицы по птичнику №1.

Фиг. 7 – График падежа на птичнике №2.

Осуществление изобретения

Пример 1

В 200 мл воды растворяют 0,35 г глицина, 0,21 г аланина, 0,35 г Комплекса 1 и 15,0 г Комплекса 2. Отдельно, в 500 мл воды растворяют 65г декстрина, 0,12 г лития хлорида, 7,2 г натрия иодида, 3,6 калия иодида, 3,6 г магния хлорида гексагидрата, 5,4 г кальция хлорида гексагидрата.

Для интеркаляции комплексов 1 и 2 к полученному раствору декстрина порциями, при перемешивании, добавляют раствор комплексов 1 и 2. Все вышеуказанные процедуры проводят при комнатной температуре. Затем температуру раствора поднимают до 40⁰С и выдерживают растров при этой температуре в течение 2-х часов. Раствор охлаждают до комнатной температуры, корректируют рН раствора 0,1 М соляной кислотой и доводят объем раствора до 1 л водой.

Состав полученной биологически активной кормовой добавки, г/л (масс. %):

Комплекс 1- гекса-аминопропионовой кислоты лития трииодида дигидрат -
 $6C_3H_7NO_2 \cdot LiI_3 \cdot 2H_2O$ 0,35 (0,33)

Комплекс 2 - гексааминоуксусной кислоты иод трииодоводород -
 $6C_2H_5NO_2 \cdot I_2 \cdot 3HI_3$ 15,0 (1,43)

- декстрин 65,0 (6,21)
- лития хлорид* 0,12 (0,012)
- натрия иодид 7,2 (0,69)
- калия иодид 3,6 (0,34)
- магния хлорид, гексагидрат 3,6 (0,34)
- кальция хлорид, гексагидрат 5,4 (0,52)
- иод* 7,6 (0,73)
- глицин* 4,0 (0,4)
- аланин* 0,4 (0,04)
- вода остальное

* аналитическая концентрация в растворе

Пример 2.

В 200 мл воды растворяют 2,17 г глицина, 0,21 г аланина, 7,0 г Комплекса 1 и 7,5 г Комплекса 2. Отдельно, в 600 мл воды растворяют 120 г декстрина, 1,68 г лития хлорида, 8,0 г натрия иодида, 4,0 калия иодида, 4,0 г магния хлорида гексагидрата, 6,0 г кальция хлорида гексагидрата.

Для интеркаляции комплексов 1 и 2 к полученному раствору декстрина порциями, при перемешивании, добавляют раствор комплексов 1 и 2. Все вышеуказанные процедуры проводят при комнатной температуре. Затем температуру раствора поднимают до 40⁰С и выдерживают раствор при этой температуре в течение 2-х часов. Раствор охлаждают до комнатной температуры, корректируют рН раствора 0,1 М соляной кислотой и доводят объем раствора до 1 л водой.

Состав полученной биологически активной кормовой добавки, г/л (масс. %):

Комплекс 1- гекса-аминопропионовой кислоты лития трииодида дигидрат -
 $6C_3H_7NO_2 \cdot LiI_3 \cdot 2H_2O$ 7,0 (0,64)

Комплекс 2- гексааминоуксусной кислоты иод трииодоводород -
 $6C_2H_5NO_2 \cdot I_2 \cdot 3HI_3$ 7,5 (0,69)

- декстрин 120 (11,04)

- лития хлорид*	2,0 (0,18)
- натрия иодид	8,0 (0,74)
- калия иодид	4,0 (0,37)
- магния хлорид гексагидрат	4,0 (0,37)
- кальция хлорид гексагидрат	6,0 (0,55)
- иод*	8,8 (0,81)
- глицин*	4,0 (0,37)
- аланин*	0,04(0,004)
- вода	остальное

* аналитическая концентрация в растворе

Пример 3

В 200 мл воды растворяют 3,63 г глицина, 0,48 г аланина, 35 г Комплекса 1 и 0,15 г Комплекса 2. Отдельно, в 500 мл воды растворяют 130 г декстрина, 12,65 г лития хлорида, 8,8 г натрия иодида, 4,4 г калия иодида, 4,4 г магния хлорида гексагидрата, 6,6 г кальция хлорида гексагидрата.

Для интеркаляции комплексов 1 и 2 к полученному раствору декстрина порциями, при перемешивании, добавляют раствор комплексов 1 и 2. Все вышеуказанные процедуры проводят при комнатной температуре. Затем температура раствора поднимают до 40⁰С и выдерживают раствор при этой температуре в течение 2-х часов. Раствор охлаждают до комнатной температуры, корректируют рН раствора 0,1 М соляной кислотой и доводят объем раствора до 1 л водой.

Состав полученной биологически активной кормовой добавки, г/л (масс. %):

Комплекс 1- гекса-аминопропионовой кислоты лития трииодида дигидрат - $6C_3H_7NO_2 \cdot LiI_3 \cdot 2H_2O$	35,0 (3,10)
Комплекс 2- гексааминоуксусной кислоты иод трииодоводород - $6C_2H_5NO_2 \cdot I_2 \cdot 3HI_3$	0,15 (0,01)
- декстрин	130 (11,53)
- лития хлорид*	14,2 (1,26)
- натрия иодид	8,8 (0,78)
- калия иодид	4,4 (0,39)
- магния хлорид гексагидрат	4,4 (0,39)
- кальция хлорид гексагидрат	6,6 (0,59)
- иод*	9,4 (0,83)

- глицин*	4,0 (0,38)
- аланин*	20,0 (1,77)
- вода	остальное

* аналитическая концентрация в растворе.

Основные физико-химические свойства БАКД определяли по методам и требованиям Европейской фармакопеи. В том числе определяли: растворимость, плотность, pH, подлинность (идентификация) и содержание ингредиентов: иода, лития, натрия, калия, декстрина и аминокислот.

Определение примесей тяжелых металлов осуществляли по ГФ РК (Государственная Фармакопея Республики Казахстан) I, том 1, 2.2.23 Атомно-абсорбционная спектрометрия, с.62, метод I – определение ртути, метод II – определение кадмия и свинца.

Определение микробиологических показателей по ГФ РК I, том 1, 2.6. Биологические испытания.

Статистическую обработку результатов физико-химических экспериментов и биологических испытаний проводили в компьютерной программе GraphPad Prism, 6.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). Уровень достоверности был принят при $p < 0,05$.

Из результатов испытаний следует, что стабильность добавки составляет 2 года со дня изготовления при средней температуре хранения 25 ± 2 °C и относительной влажности 60% $\pm 5\%$.

Кормовая добавка нетоксична, в коротком контакте с кожей человека не обладает местным раздражающим действием.

Кормовая добавка безопасна для окружающей среды.

Биологическую активность предлагаемой кормовой добавки подтверждают результаты экспериментов *in vitro* и *in vivo*, а также производственных испытаний.

Микробиологические исследования БАКД

Для определения микробной контаминации кормовой добавки проведена оценка микробиологической чистоты.

Испытание на микробиологическую чистоту включает количественное определение жизнеспособных бактерий и грибов, а также выявление определенных видов микроорганизмов, наличие которых недопустимо в БАКД.

Для количественного определения микроорганизмов испытание проводят двухслойным агаровым методом.

По показателям микробиологической чистоты БАКД соответствует требованиям ГФ РК, категории ЗВ (таблица 1).

Таблица 1 – Показатели микробиологической чистоты кормовой добавки

Показатель	Норма
Общее число аэробных бактерий, КОЕ/мл, не более	10 ⁴
Общее число грибов, КОЕ/мл, не более	10 ²
Энтеробактерии, КОЕ/мл, не более	10 ²
<i>Escherichia coli</i> , КОЕ/мл	Не допускается
<i>Staphylococcus aureus</i> , КОЕ/мл	Не допускается
<i>Salmonella</i> , КОЕ/ 10 мл	Не допускается

Примечание:

КОЕ/мл – колоний образующих единиц микроорганизмов в миллилитре

Бактерицидная активность БАКД изучена по общепринятой методике качественно-суспензионным методом. Использованы эталонные культуры *E. coli* (штамм Adams, CA8, CA-ROW), *S. typhimurium* (штамм 27), *S. aureus* (штамм 906), *P. aeruginosa* (штамм NC TC-2134).

Перед постановкой опыта проводили внутрилабораторный контроль, результаты которого были удовлетворительные и позволили обеспечить адекватность проводимого исследования.

Растворы испытуемой добавки соответствовали концентрации от 164 до 4,1 мкг/мл.

Посевы с культурами бактерий выращивали при температуре 37° С на мясо-пептонном агаре, мясо-пептонном бульоне, на среде Эндо.

Изучение острой и субхронической токсичности и фармакокинетики

Токсикологические исследования проводили по Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.

Определение цитотоксичности веществ *in vitro*

Оценку цитотоксичности исследуемых веществ *in vitro* проводили, используя МТТ-тест (Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays // J. Immunol. Methods. – 1983. – Vol. 65. – P. 55.). Клетки рассеивали в 96-луночные планшеты в концентрации $2,5 \times 10^5$ клеток в 1,0 мл. Планшеты инкубировали в термостате при 37 °С и 5,0 % CO₂. Из лунок планшета через 24 ч инкубации удаляли ростовую среду и вносили по 200,0 мкл среды DMEM, содержащей вещества в исследуемых концентрациях. В лунки с отрицательным контролем вносили по 200,0 мкл неполной питательной среды DMEM. Через 72 ч среду с веществом удаляли из лунок и добавляли 200,0 мкл свежей питательной среды и 50,0 мкл рабочего раствора МТТ, планшет инкубировали 4 ч при 37 °С.

После окончания срока инкубации удаляли надосадочную жидкость. В каждую лунку вносили по 100,0 мкл DMSO. Оптическую плотность в лунках измеряли на

микропланшетном ридере Tecan Sunrise RC.4 (Австрия) при длине волны основного фильтра 540 нм и референс-фильтра – 620 нм и рассчитывали среднее арифметическое значение. Долю выживших клеток для каждой повторности каждой концентрации исследуемого вещества определяли по формуле (1):

$$\text{Процент жизнеспособности клеток} = \frac{Y_i}{\bar{Y}_{NC}} \times 100 \%, \quad (1)$$

где Y_i – результат измерения ОП (оптическая плотность) для каждой группы;

\bar{Y}_{NC} – средняя арифметическая величина ОП (\bar{Y}) для отрицательного контроля;

ЦТК₅₀ (цитотоксическая концентрация, концентрация веществ, при которой происходит гибель 50 % клеток) для каждого исследуемого вещества вычисляли по Риду и Минчу.

Определение противовирусного действия исследуемых веществ *in vitro*

Изучение профилактической активности БАКД проводили на двух штаммах вирусов гриппа: A/FPV/Waybrige/78 (H7N7) и штамм A/Swine/Iowa/30/H1N1. Для этого в соответствующие лунки планшета вносили по 200,0 мкл конечных разведений БАКД. В лунки с контролем препарата, отрицательным и положительным контролями вносили по 200,0 мкл питательной среды DMEM. Планшеты инкубировали 1 ч при 37°C. По окончании инкубации содержимое лунок удаляли, и вносили по 200,0 мкл рабочего разведения вируса.

В лунки с положительным контролем вносили по 200,0 мкл рабочего разведения вируса. В лунки с отрицательным контролем вносили по 200,0 мкл среды DMEM. Планшеты инкубировали в течение 72 ч в CO₂-инкубаторе при 37°C и 5,0 % CO₂. Все исследования проводились в пяти повторах. Профилактическую активность веществ в отношении вируса гриппа выявляли в результате снижения титра инфекционности остаточного вируса в реакции гемагглютинации.

Определение антимикробной активности.

Процедуру определения антимикробной активности проводили методом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде (CLSI M100, 2016). Для метода двукратных серийных разведений использовался инокулюм тест-штамма микроорганизма в концентрации $1,5 \times 10^6$ КОЕ/мл. Первичная суспензия тест-штамма готовилась на физиологическом растворе (0,9 % NaCl). Стерильной петлей отобрали аликвоту суточно-культивированного тест-штамма, после чего внесли ее в стерильную пробирку с 5 мл 0,9 %-ного NaCl. Контроль мутности полученного инокулюма осуществлялся путем замера

оптической плотности на денситометре DEN-1 (Biosan, Латвия). Плотность первичной суспензии составила 0,5 ед. по МакФарланду, что соответствует $1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл. Далее первичную суспензию в количестве 0,1 мл вносили в пробирку с 9,9 мл изотонического раствора для достижения рабочей концентрации равной $1,5 \times 10^6$ КОЕ/мл.

Тест-штаммы.

Используемые в исследовании тест-штаммы были получены из Американской коллекции типовых культур (ATCC – American Type Culture Collection). В эксперименте использовались музейные чувствительные, музейные мультирезистентные и один клинический тест-штаммы:

- 1) *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P (музейный чувствительный штамм);
- 2) *Staphylococcus aureus* ATCC BAA-33591 (музейный мультирезистентный штамм);
- 3) *Escherichia coli* ATCC 8739 (музейный чувствительный штамм);
- 4) *Escherichia coli* ATCC BAA-2523 (музейный мультирезистентный штамм);
- 5) *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 (музейный чувствительный штамм);
- 6) *Pseudomonas aeruginosa* TA2 (клинический мультирезистентный штамм);
- 7) *Salmonella enterica* ATCC 14028 (музейный чувствительный штамм);
- 8) *Salmonella enterica* ATCC 35988 (музейный мультирезистентный штамм);
- 9) *Acinetobacter baumannii* ATCC BAA-1790 (музейный мультирезистентный штамм).

Процедура тестирования методом серийных разведений

Тестирование проводили в жидкой питательной среде, используя бульон Мюллера-Хинтона (богатая белковая среда), а также на физиологическом растворе.

Для определения антимикробной активности использовали 48-луночный планшет (BIOLOGIX, Китай).

Во все лунки, за исключением 1-й (со 2 по 16), разливали питательную среду в количестве 0,5 мл. Рабочий раствор БАКД вносили в объеме 0,5 мл в 1-ю пробирку, в которой отсутствовала питательная среда и во вторую с уже имеющейся в ней питательной средой (0,5 мл). Далее, производили серийные разведения, переносили из 2-й пробирки 0,5 мл в 3-ю пробирку, уже содержащую 0,5 мл питательной среды и т.д. Из последней пробирки 0,5 мл смеси удаляли. Таким образом, были получены следующие разведения: 1:0; 1:1; 1:2; 1:4; 1:8; 1:16; 1:32; 1:64; 1:128; 1:256; 1:512; 1:1024; 1:2048; 1:4096; 1:8192; 1:16384, что соответствует пробиркам от 1-й по 16-ю. 17-я по счету пробирка являлась контролем роста культуры.

После проведения серии разведений, во все пробирки добавили по 0,05 мл тест-штамма микроорганизмов в концентрации $1,5 \times 10^6$ КОЕ/мл. Процедуру повторили для всех испытуемых культур.

Образцы, протитрованные в бульоне Мюллера-Хинтона инкубировали в течение 18-24 часов при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$. Образцы, протитрованные в физ. растворе, инкубировали в течение 30 минут при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$. По истечении времени инкубации, проводили высеив на плотную питательную среду – агар Мюллера-Хинтона (Himedia, Индия) для определения жизнеспособных клеток. После засева чашки помещали в термостат на 18-24 часа, культивирование проводили при температуре равной $(37\pm 1)^\circ\text{C}$.

Учет результатов проводили по наличию/отсутствию видимого роста микроорганизмов на поверхности плотной питательной среды. Минимальной бактерицидной концентрацией (МБК) считали наименьшую концентрацию в лунке, которая полностью подавляла рост микроорганизмов.

Все эксперименты проводили в трех повторах.

Исследования на лабораторных животных

Определение средней смертельной дозы БАКД и токсичности

Острая токсичность изучалась на крысах при однократном внутривенном введении. Животным контрольной группы вводили физиологический раствор. Введение максимальной дозы БАКД 30 мл/кг не вызывало никаких реакций или симптомов отравления.

Учитывая то, что максимально допустимый объем вводимого вещества крысам массой 200 г составляет 6 мл, достичь смертности путем повышения дозы не представляется возможным. За животными вели наблюдения в течение 14 дней. После их эвтаназии и некропсии, патологических изменений не выявлено. Динамика массы тела за весь период имела положительные значения, и экспериментальные группы не отличались от контрольных значений.

Вследствие этого LD_{50} (LD_{50} - средняя доза вещества, вызывающая гибель 50% испытуемой группы) будет превышать 30 мл/кг, максимально-переносимая доза составляет 30 мл/кг. В таблице 2 приведено сравнение ПДК (максимально допустимая концентрация) иода с МПД (максимально переносимая доза) БАКД.

Таблица 2 – Параметры острой токсичности кормовой добавки, г/кг живой массы в пересчете на общий иод в сравнении с ПДК

Вид животного	Показатели		
	МПД	LD_{50}	ПДК* йода
Крыса	0,6	Более 0,6	0,110

Примечание: * - литературные данные

Как следует из представленных данных, кормовая добавка обладает довольно низкой токсичностью по сравнению с ПДК иода (в пересчете на иод).

БАКД достаточно быстро всасывается из желудочно-кишечного тракта и распределяется преимущественно в крови. Выводится с мочой в виде иодидов. Декстран метаболизируется до глюкозы. БАКД не обладает мутагенными свойствами.

Субхроническая токсичность БАКД изучалась на крысах, при оральном введении в течение 90 дней. При профилактической дозе не приводило к изменениям в крови у крыс, в сравнении с контрольной группой.

Изучение продукции ИФН- α и ИФН- γ в плазме крови крыс

Определение продукции основных интерферонов ИФН- α и ИФН- γ со стимуляцией Con-A (Concanavalin A) и без, проводили в плазме крови крыс после однократного внутрижелудочного введения БАКД в различных дозах. Для этого предварительно половине животных внутрибрюшинно вводили Con-A в дозе 5 мг/кг. Каждая группа состояла из 5 самцов, массой 220 г \pm 10%. Животным без стимуляции вводили стерильную апиrogenную воду. Через 12 и 24 часа животных умерщвляли цервикальной дислокацией. Кровь отбирали для выделения плазмы, в которой измерялся уровень ИФН- α и ИФН- γ . Результаты представлены в таблицах 3 и 4.

Таблица 3 – Продукция интерферонов под воздействием БАКД через 12 часов в плазме крови крыс (пг/мл)

БАКД, мл/кг	ИФН- α		ИФН- γ	
	кОНА «-»	кОНА «+»	кОНА «-»	кОНА «+»
Контроль (вода)	15,6 \pm 3,9	82,9 \pm 16,4	10,8 \pm 2,3	58,2 \pm 14,6
0,03	47,8 \pm 8,7*	152,7 \pm 14,9*	22,5 \pm 7,9	158,6 \pm 28,2*
0,3	42,9 \pm 9,5*	171,1 \pm 29,3*	35,9 \pm 10,3	198,3 \pm 30,2*
3	44,5 \pm 10,3*	152,2 \pm 21,7*	31,7 \pm 9,4	145,8 \pm 21,1*

* P<0,05 по сравнению с контролем

Таблица 4 – Продукция интерферонов под воздействием БАКД через 24 часа в плазме крови крыс (пг/мл)

БАКД, мл/кг	ИФН- α		ИФН- γ	
	кОНА «-»	кОНА «+»	кОНА «-»	кОНА «+»
Контроль (вода)	47,9 \pm 7,8	151,6 \pm 12,0	131,8 \pm 18,9	305,4 \pm 26,9
0,03	80,3 \pm 10,5*	207,9 \pm 15,6*	304,3 \pm 20,8**	587,2 \pm 28,0**
0,3	98,5 \pm 14,4*	258,8 \pm 12,1*	307,9 \pm 20,4**	608,5 \pm 27,6**
3	87,3 \pm 11,7*	247,2 \pm 17,5*	306,7 \pm 20,7**	601,8 \pm 27,3**

* P<0,05; **<0,01 по сравнению с контролем

Однократное воздействие БАКД на крыс в дозах от 0,03 до 3 мг/кг индуцирует продукцию ИФН- α и ИФН- γ уже через 12 часов. В дальнейшем индукция интерферонов возрастает к 24 часам.

Антивирусную активность БАКД определяли по профилактической схеме применения в отношении вируса гриппа A/FPV/Waybrige/78 (H7N7) и A/Swine/Iowa/30/H1N1. Для заражения культуры клеток использовали вирус в дозе 100 ИД/0,2 мл (ИД-инфекционная доза). Результаты изучения противовирусной профилактической активности представлены в таблицах 5 и 6.

Таблица 5 – Профилактическая активность кормовой добавки на вирусе гриппа A/FPV/Waybrige/78 (H7N7)

Концентрация, мг/мл	Титр в ГАЕ*
3,70	0
1,85	0
0,93	0
0,46	4,2 \pm 0,4
0,23	4,0 \pm 0
0,12	6,0 \pm 0

Примечание – *титр гемагглютинирующих единиц приведен в двоичном логарифме со среднеарифметическим стандартным отклонением ($\log_2 \pm \text{StD}$)

Таблица 6 – Профилактическая активность кормовой добавки на вирусе гриппа A/Swine/Iowa/30/H1N1

Концентрация, мг/мл	Титр в ГАЕ*
3,70	0
1,85	0
0,93	0
0,46	2,0 \pm 0
0,23	5,0 \pm 0
0,12	7,0 \pm 0

Примечание – *титр гемагглютинирующих единиц приведен в двоичном логарифме со среднеарифметическим стандартным отклонением ($\log_2 \pm \text{StD}$)

Показано, что БАКД в исследуемых концентрациях проявляет профилактическую активность как в отношении вируса A/FPV/Waybrige/78 (H7N7), так и вируса A/Swine/Iowa/30/H1N1.

Результаты антимикробной активности БАКД приведены в таблице 7.

Таблица 7 – Результаты изучения антимикробной активности БАКД, выраженные в минимальных бактерицидных концентрациях (МБК), мкг/мл

Тест-штамм	МБК, полученные на NaCl, мкг/мл	МБК, полученные на МХБ*, мкг/мл
------------	---------------------------------	---------------------------------

<i>S.aureus</i> ATCC 6538-p	0,488	250
<i>S.aureus</i> ATCC BAA-33591	0,488	250
<i>E.coli</i> ATCC 8739	0,488	250
<i>E.coli</i> ATCC BAA-2523	0,488	250
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 9027	0,122	250
<i>P.aeruginosa</i> TA2	0,122	500
<i>S. enterica</i> ATCC 14028	0, 122	250
<i>S. enterica</i> ATCC 35988	0,122	250
<i>A.baumannii</i> ATCC BAA-1790	0,031	250

* бульон Мюллера-Хинтона

При тестировании на физиологическом растворе, наибольшую активность БАКД проявляет в отношении тест-штаммов *A.baumannii* ATCC BAA-1790, *P.aeruginosa* ATCC 9027, *P.aeruginosa* TA2, *Sal. enterica* ATCC 14028 и *Sal. enterica* ATCC 35988, значения минимальных бактерицидных концентраций при тестировании составили 0,031 мкг/мл и 0,122 мкг/мл, соответственно. В отношении чувствительного *S.aureus* ATCC 6538-p и резистентного штамма *S.aureus* ATCC BAA-33591 значения минимальных бактерицидных концентраций соответствовали 0,488 мкг/мл. Также в концентрации 0,488 мкг/мл БАКД обладает антимикробной активностью в отношении резистентного штамма *E.coli* ATCC BAA-2523 и чувствительного штамма *E.coli* ATCC 8739.

При тестировании на бульоне Мюллера-Хинтона, БАКД обладает антимикробной активностью в отношении мультирезистентного штамма *A.baumannii* ATCC BAA-1790, а также устойчивых и чувствительных штаммов, *P.aeruginosa*, *S. enterica*, *S.aureus* и *E.coli* в концентрации равной 250 мкг/мл. Лишь в отношении клинического мультирезистентного штамма *P.aeruginosa* TA2, данное координационное соединение активно в концентрации 500 мкг/мл. Следует отметить, что БАКД обладает выраженным антибактериальным действием, как в отношении чувствительных, так и в отношении мультирезистентных бактерий.

Действие биологически активной кормовой добавки (БАКД) и антибиотиков на примере гентамицина

Для определения бактериостатического действия БАКД в сыворотке лабораторных животных в лунки планшета с суспензией микроорганизмов *Salmonella enterica* ATCC 14028 на питательной среде добавляли сыворотку опытных животных, которым предварительно вводили БАКД. Результат оценивали по изменению оптической плотности при инкубации в сравнении с положительным контролем. Антимикробную активность сыворотки определяли по задержке роста тест-штамма микроорганизма.

Дозы, группы и сроки введения для изучения потенцирующего действия БАКД на гентамицин представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Распределение животных по группам для изучения потенцирующего действия биологически активной кормовой добавки на гентамицин

Исследуемое вещество	Доза, мг/кг	Группа	Пути и кратность введения	Кол-во животных	Время забора образца
Гентамицин субстанция	10,0	I	Внутримышечно, однократно	3×7 = 21	15; 30 мин; 1; 3; 6; 18 и 24 ч
-	0	Контроль для группы I	-	7	15; 30 мин; 1; 3; 6; 18 и 24 ч
Сыворотка БАКД	7,0	II	Перорально, однократно	3×7 = 21	15; 30 мин; 1; 3; 6; 18 и 24 ч
-	0	Контроль для группы II	-	7	15; 30 мин; 1; 3; 6; 18 и 24 ч
Сыворотка БАКД	7,0	III	Перорально, однократно	3×7 = 21	15; 30 мин; 1; 3; 6; 18 и 24 ч
Гентамицин субстанция	10,0		Внутримышечно, однократно		
-	0	Контроль для группы III	-	7	15; 30 мин; 1; 3; 6; 18 и 24 ч

Изучение антимикробного действия БАКД в сыворотке мышей

При измерении оптической плотности на бактериологическом анализаторе Multiscan Ascent было показано, что максимальное снижение ее достигается через 30 мин после введения БАКД мышам, что говорит о максимальной концентрации исследуемой БАКД в крови мышей через данный промежуток времени. В связи с тем, что рост *Salmonella enterica* ATCC 14028 при приеме лабораторными животными БАКД не подавлялся полностью, можно сделать заключение, что БАКД обладает бактериостатическим действием, которое сохраняется до 18 часов (Фиг. 1).

Изучение антимикробного действия гентамицина в сыворотке мышей.

Полученные данные (Фиг. 2) позволили установить, что гентамицин обладает бактерицидным действием в сыворотке, так как оптическая плотность в тестовых лунках не изменяется по сравнению с исходным значением. Максимальная концентрация гентамицина в крови лабораторных животных достигается уже через 15 мин после внутримышечного введения и сохраняется до 3 ч. После 3 ч наблюдается бактериостатическое действие гентамицина, которое сохраняется до 18 ч.

Изучение бактериостатического действия гентамицина при его внутримышечном однократном введении мышам в дозе 10 мг/кг в присутствии БАКД

Результаты оптической плотности в сыворотке мышей при внутримышечном однократном введении гентамицина (10 мг/кг) и пероральном однократном введении БАКД (7,0 мг/кг) представлены на Фиг. 3.

В присутствии БАКД наблюдается более выраженное подавление роста тестового штамма *Salmonella enterica* ATCC 14028, чем при использовании гентамицина. Так, идет снижение оптической плотности после 6 ч в 2 раза, после 18 ч – в 3 раза, а после 24 ч – в 4,2 раза, что свидетельствует о потенцирующем действии БАКД на гентамицин. Также увеличивается время сохранения бактериостатических свойств сыворотки в крови с 18 до 24 ч.

Обобщенные данные динамики изменения оптической плотности среды под воздействием сыворотки мышей в различных экспериментальных группах показаны на Фиг. 4. Достоверность отличий результатов между группой животных, получавших гентамицин и гентамицин совместно с БАКД, показана по снижению оптической плотности при 6-, 18- и 24-часовом воздействии после применения вышеуказанных препаратов.

Полученные данные на мышах показали, что совместное применение гентамицина и БАКД увеличивает активность антибиотика с продлением антибактериального эффекта.

Применение БАКД при сальмонеллезе.

В птичнике на момент проведения эксперимента находилось 250000 голов птицы. Возраст при вскрытии наблюдались следующие изменения: поражение репродуктивных органов (воспаление яйцевода, деформация фолликул яичников), поражение слизистой оболочки кишечника (отслоение внутреннего слоя), клостридиоз, фибринозный перигепатит, гепатоз печени, поражение легких.

Предварительный диагноз: Хроническая бактериальная инфекция, не чувствительная к антибиотикам.

Установленный лабораторией диагноз: Сальмонеллез птицы, усложненный вторичной инфекцией.

Таблица 9 – Результаты эксперимента

Дни эксперимента	Падеж, голов	Доза препарата, мл/кг
1	1588	-
2	1914	-
3	1959	0,3
4	1825	0,1
5	1700	0,05
6	1515	0,05
7	1300	0,05

8	1120	-
9	1107	-
10	1010	-
11	940	-
12	797	-
13	717	-
14	642	-
15	660	-
16	610	-
17	530	-
18	452	-
19	410	-
20	396	-
21	380	-
22	377	-

Выпойка проводилась на протяжении 5 дней в дозе:

1 день – 0,3 мл на кг живого веса

2 день – 0,1 мл на кг живого веса

3, 4, 5 день – 0,05 мл на кг живого веса

По динамике спад падежа начался на второй день после начала использования БАКД. После окончания выпаивания динамика по снижению падежа продолжалась. Если на первый день выпаивания падеж составлял 1959 голов в день, то через 2 недели после использования добавки падеж составлял 380 голов в день. Что в 5 раз меньше, чем на начало проведения испытания (Фиг. 5), причем это снижение смертности достигнуто всего после пятикратного приема БАКД.

Полученные результаты позволяют сделать вывод, что кормовая добавка обладает выраженным антибактериальным действием, в кормовой концентрации, эффективна при ассоциированных бактериальных инфекциях.

БАКД может быть широко использована для профилактики бактериальных заболеваний сельскохозяйственных животных, птиц и рыб, для повышения иммунного статуса и стимулирования роста.

В качестве одного из примеров возможности осуществления изобретения приводим результаты комиссионных испытаний профилактического действия кормовой добавки в фермерских свиноводческих и птицеводческих хозяйствах.

Применение БАКД при болезни Гамборо и болезни Ньюкасла.

Эксперимент проведен на двух птичниках (таблица 10).

Таблица 10 – Влияние БАКД на сохранность птиц.

дни эксперимента	птичник №1				птичник №2			
	количество птиц,голов	возраст, дни	падеж, голов	дозировка мл/кг	количество птиц, голов	возраст, дни	падеж, голов	дозировка мл/кг
1	275491	46	96	-	206653	212	405	-
2	275395	47	93	-	206248	213	423	-
3	275302	48	103	-	205825	214	489	-
4	275199	49	126	-	205336	215	455	-
5	275073	50	197	-	204881	216	559	-
6	274876	51	370	-	204322	217	436	-
7	274506	52	601	-	203886	218	451	-
8	273905	53	716	-	203435	219	408	-
9	273189	54	1100	-	203027	220	540	-
10	272089	55	1500	-	202487	221	552	-
11	270589	56	1800	-	201935	222	528	-
12	268789	57	1300	-	201407	223	489	-
13	267489	58	1145	-	200918	224	446	-
14	266344	59	2358	-	200472	225	302	-
15	263986	60	1852	-	200170	226	297	-
16	262134	61	1158	-	199873	227	305	-
17	260976	62	1100	-	199568	228	210	-
18	260974	63	1021	-	199282	229	267	-
19	259953	64	690	-	199015	230	293	-
20	259263	65	750	-	198722	231	259	-
21	258513	66	952	-	198463	232	287	-
22	257561	67	1564	-	198176	233	258	-
23	255997	68	1360	-	197918	234	189	0,017
24	254637	69	1457	0,2	197729	235	199	0,017
25	253180	70	1300	0,1	197530	236	216	0,017
26	251880	71	1358	0,1	197314	237	252	0,005
27	250522	72	1261	-	197062	238	219	0,005
28	249261	73	1100	-	196843	239	162	0,005
29	248161	74	900	-	196681	240	183	0,005
30	247261	75	754	0,1	196498	241	126	0,005
31	246507	76	734	0,1	196372	242	186	0,005
32	245773	77	700	0,1	196186	243	164	0,005
33	245073	78	576	-	196022	244	210	0,005
34	244497	79	568	-	195812	245	167	0,017
35	243929	80	651	-	195645	246	139	0,005
36	243278	81	640	0,05	195506	247	149	0,005
37	242638	82	566	0,05	195357	248	158	0,005
38	242072	83	670	0,05	195199	249	167	0,005
39	241402	84	719	-	195032	250	175	0,005
40	240683	85	630	-	194857	251	174	0,005
41	240053	86	610	-	194683	252	145	0,005

42	239443	87	648	-	194538	253	148	0,005
43	238795	88	586	0,05	194390	254	122	0,005
44	238209	89	555	0,05	194268	255	139	0,005
45	237654	90	561	0,05	194129	256	125	0,005
46	237093	91	470	0,05	194004	257	135	0,005
47	236623	92	613	-	193869	258	142	0,005
48	236010	93	688	-	193727	259	115	0,005
49	235322	94	752	-	193612	260	128	0,005
50	234570	95	777	-	193484	261	142	0,005
51	233793	96	711	-	193342	262	134	0,005
52	233082	97	880	-	193208	263	145	0,005
53	232202	98	873	-	193063	264	116	0,005
54	231329	99	830	-	192947	265	133	0,005
55	230499	100	774		192814	266	121	0,005
Всего, из них			32409				1362 6	
До приема БАКД			21 952				8 401	

Птичник №1 возраст кур 64 дня, количество птицы на начало эксперимента 275491 голов.
Птичник №2 возраст кур 212 дней, количество птицы на начало эксперимента 206653 голов.

В птичнике №1 при вскрытии наблюдались следующие паталого анатомические изменения: тимус с точечными кровоизлияниями. Трахеит. Признаки хронического коллибактериоза - фиброзный перикардит и полисерозит. Фибринозный аэросакулит. Кишечник с участками петехиальных кровоизлияний на слизистой оболочке и некоторым объёмом крови в просвете кишечника. Анемичный внешний вид. Лабораторно подтверждены болезнь Гамборо и болезнь Ньюкасла.

В птичнике №2 при вскрытии наблюдались следующие изменения: тимус напряжённый. Признаки хронической бактериальной инфекции, с признаками общей интоксикации. Кровотечения в просвет кишечника. Содержимое имело слизисто - кровяной вид или запечённой крови, которая иногда забрасывалась в мышечный желудок, или в виде свернувшейся крови наслаивалась фибрином, создавая закупорки просвета кишечника в начале прямой кишки. Риниты, синуситы.

Данные по падежу птичника №1 (Фиг. 6) брались за 3 недели до проведения эксперимента.

Падеж птицы за 3 недели до использования добавки составлял - 20592 головы

Падеж птицы после проведения выпойки добавки на протяжении 9 дней составлял – 6898 голов и в дальнейшем наблюдается тенденция к снижению падежа.

В птичнике №1 после использования БАКД при вскрытии наблюдались следующие изменения: уменьшились признаки хронического колибактериоза. В кишечнике уменьшилось количество кровоизлияний и кровяной слизи.

Падеж птицы за 3 недели до использования добавки составлял - 8366 голов

Падеж птицы на 5 день после использования добавки идет на снижение и составил за 25 дней – 3805 голов и в дальнейшем идет тенденция к снижению падежа.

В птичнике №2 (Фиг. 7) после проведения выпойки БАКД наблюдались следующие изменения: уменьшились признаки интоксикации, бактериальной инфекции. Стенки кишечника утолщены, эпителий рыхлый, легко отслаивается. Не наблюдается слизисто-кровянистых и фибринозных сгустков.

В птичнике №1 падеж снизился с 7,97% до 4,11% и в птичнике №2 с 4,07% до 2,63% после применения БАКД.

Эффективность БАКД в сравнении с другими препаратами.

Эксперимент проведен в производственных условиях на курах кросса КОББ 500. Общее поголовье составило 549970 голов.

Данное поголовье было разделено на 3 группы в которых проводилась выпойка разными ветеринарными препаратами:

1 группа –146140 голов –БАКД;

2 группа –108810 голов –Биозоль;

3 группа –111240 голов –АСД2.

В дальнейшем, по завершении выращивания (после проведения убоя), проводился анализ по разным показателям: сохранность, средний вес 1 головы при забое на 27 – 30 день, средний вес 1 головы при основном забое, среднесуточный привес, затраты корма на 1 кг привеса, затраты корма на 1 кг живой птицы, коэффициент эффективности (таблица 11).

Таблица 11 – Сравнительные данные по сохранности птицы

Показатели	Группа 1	Группа 2	Группа 3
Сохранность за партию, %	96,7	96,7	95,6
Средний вес 1 головы на 27 – 30 день, г	1448,4	1501,8	1422
Средний вес при основном забое, г	2333	2168	2187
Средний суточный привес, г	59,5	57,4	56,8
Затраты корма на 1 кг привеса, кг	1,58	1,58	1,6
Затраты корма на 1 кг живой птицы, кг	1,58	1,58	1,61

Коэффициент эффективности	291,3	280,2	274,6
---------------------------	-------	-------	-------

Из данных таблицы 11 видно, что сохранность птицы в группах №1 и №2 на одном уровне, в то время, как в группе №3 сохранность ниже на 1%.

Средний вес одной головы при убое на 27 – 30 день (разрядка птичника) выше всех наблюдался в группе №2 что превышает на 53,4 грамма группу №1, на 79,8 грамма группу №3. Убой птиц в группе №2 проводился на 29 день, в то время как в остальных группах забой был на 28 день.

Средний вес одной головы при основном забое наблюдается выше всего в группе №1 - 2333 грамм, в группе №2 он составил 2168 грамм, что на 165 грамм меньше чем 1 группа, в 3 группе на 146 грамм меньше чем в первой группе.

Среднесуточный привес выше всего был в группе №1 - 59,5 грамм в сутки. Что выше на 2,1 грамма группы №2 и на 2,7 грамма группы №3.

Затраты корма на 1 кг привеса, а также на 1 кг живой птицы в группах 1,2 был на одном уровне, а в группе №3 были выше на 3 грамма.

Коэффициент эффективности (европейский птицеводческий фактор эффективности) который отображает общий технологический уровень производства у группы №1 составляет 291,3, что на 11,1 пункта больше, чем у группы №2 и на 16,7 пунктов выше, чем у группы №3.

Таким образом, при использовании БАКД в птицеводстве на финальном гибриде КОББ 500 достигается высокая сохранность птицы, высокий средний вес 1 головы при убое, повышение среднесуточных привесов, снижение затрат корма на 1 кг привеса, а также высокий коэффициент эффективности при производстве мяса птицы.

Проведенными испытаниями установлена эффективность БАКД для профилактики ПМЦС свиней и ассоциированных с ним заболеваний, в том числе вызванных антибиотикоустойчивыми патогенными и условно патогенными микроорганизмами.

Кормовую добавку из расчета 1 кг на 1 тонну корма применяли для вскармливания поросят после отъема от груди в течение 8 недель без применения каких-либо других лечебно-профилактических средств.

Результаты испытания представлены в таблице 12

Таблица 12 - Эффективность профилактического действия БАКД на поросят после отъема от груди (0 сутки - возраст 6 недель)

Номер группы	Количество животных			Сохранность, %
	0 сутки	30 сутки	60 сутки	

1 опыт	88 50	82 47	80 42	90,9
2 контроль				70,0
3 опыт	325 50	300 40	293	90,2
4 контроль			35	70,0
Итого Опыт	413 110			90,6
контроль				70

Как следует из данных таблицы, защищенность животных от заболевания ПМЦС, при профилактическом применении БАКД достигает 90,6%, смертность поросят по сравнению с контролем снизилась с 30% до 9,4%. Применение кормовой добавки существенно снижает заболеваемость и смертность поросят после отъема от груди.

По сравнению с контрольными животными, поросята выглядят более здоровыми, с характерными признаками стремления к процветанию: активность, игривость, скорость прироста массы, отсутствие депрессии.

Для промышленного свиноводства особенно важно то, что при применении кормовой добавки снижается депрессия поросят с 80% (контроль) до 5- 10% (опыт), на 10-15% увеличивается прирост массы, на 10-20% снижается смертность поросят после отъема от груди.

В промышленном животноводстве для сокращения трудозатрат отдается предпочтение использованию в рационе животных биологически активных кормовых добавок.

К преимуществам предлагаемой БАКД можно отнести и стимулирование роста сельскохозяйственных животных, птиц и рыб, наблюдаемое при систематическом ее использовании.

В хозяйствах, где применяли добавку, отмечено отчетливое снижение уровня заболеваемости животных, обусловленной дефицитом иода.

БАКД можно использовать как профилактическое средство при дефиците иода и других микроэлементов, вводя их в добавку в зависимости от потребностей животноводства того или иного региона.

Кормовая добавка нетоксична, ее применение не имеет видовых ограничений.

Кормовая добавка содержит необходимые организму сельскохозяйственных и домашних животных, птиц и аквакультур макро и микроэлементы, и имеет сбалансированный состав биологически активных комплексных соединений /аддуктов/. Состав обеспечивает полную усвояемость добавки и быстрое вовлечение в биохимические и физиологические процессы в организме животных.

Таким образом, установлено следующее:

- биологически активная добавка обладает свойствами индуктора интерферона и иммуномодулятора, т.е. повышает иммунный статуса организма;

- обладает профилактическим антивирусным и антимикробным действием, за счет прямого бактерицидного и вирулицидного действия и опосредованного, через иммунную систему, антибактериального и антивирусного действия компонентов;

- обладает профилактическим действием в отношении смешанных вирусно-бактериальных инфекций;

- эффективно стимулирует рост сельскохозяйственных животных, птиц и аквакультур (рыб);

- обладает профилактическими свойствами в отношении заболеваний, обусловленных дефицитом йода;

- обладает адаптогенными свойствами.

Применение БАКД обеспечивает улучшение качества существования домашних и сельскохозяйственных животных, птиц и аквакультур.

Исследованиями в животноводческих хозяйствах доказана профилактическая эффективность предлагаемой добавки в отношении бактериальных заболеваний - диареи, сальмонеллеза, пастереллеза, вирусных заболеваний - гриппа, постотъемного мультисистемного цирковирусного синдрома свиней (ПМЦС) – (Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome PMWS), ротавирусной инфекции, вирусного панкреатита лососей, парвовирусной инфекции, болезней Гамборо и Ньюкасла.

Таким образом, предложенная кормовая добавка является основным базовым общеоздоровительным и профилактическим продуктом с широким спектром биологической активности. Она обладает иммуностимулирующим действием, незаменима для профилактики вирусных и бактериальных инфекций, а также является универсальным средством для профилактики заболеваний, вызванных дефицитом йода. Кроме того, применение добавки улучшает рост мышечной массы, стимулирует рост сельскохозяйственных животных, птиц и рыб.

Предлагаемая добавка может быть приготовлена в виде жидкости или порошка (гранулы). Оптимальная профилактическая доза кормовой добавки составляет 1-2 кг сухого веществ на 1 т корма.

Формула изобретения

1. Биологически активная кормовая добавка для профилактики вирусных и бактериальных инфекций сельскохозяйственных и домашних животных, птиц, аквакультур, включающая в свой состав две аминокислоты - глицин и аланин, иод, отличающаяся тем, что она дополнительно содержит лития хлорид, натрия и калия иодиды, гексагидрат хлорида магния, гексагидрат хлорида кальция, носитель – декстрин и воду, а глицин и аланин образуют координационные соединения (аддукты) гексааминопропионовой кислоты лития трииодида дигидрат - $6C_3H_7NO_2 \cdot LiI_3 \cdot 2H_2O$ (комплекс 1) и гексааминоуксусной кислоты иод трииодоводород - $6C_2H_5NO_2 \cdot I_2 \cdot 3HI_3$ (комплекс 2), причем Комплексы 1 и 2 интеркалированы в декстрин при следующем соотношении компонент, г\л (масс.%):

Комплекс 1	от 0,35 (0,33) до 35,0 (3,10)
Комплекс 2	от 0,15 (0,01) до 15,0 (1,43)
- декстрин	65 (6,21)– 130 (11,53)
- лития хлорид*	0,12 (0,012) – 14,2 (1,26)
- натрия иодид	7,2 (0,69) – 8,8 (0,78)
- калия иодид	3,6 (0,34) – 4,4 (0,39)
- магния хлорид гексагидрат	3,6 (0,34) – 4,4 (0,39)
- кальция хлорид гексагидрат	5,4 (0,52) – 6,6 (0,59)
- иод*	7,6 (0,73) – 9,4 (0,83)
- глицин*	0,04 (0,004)– 4,0 (0,38)
- аланин*	0,04 (0,004)– 20,0 (1,77)
- вода	остальное

* аналитическая концентрация в растворе

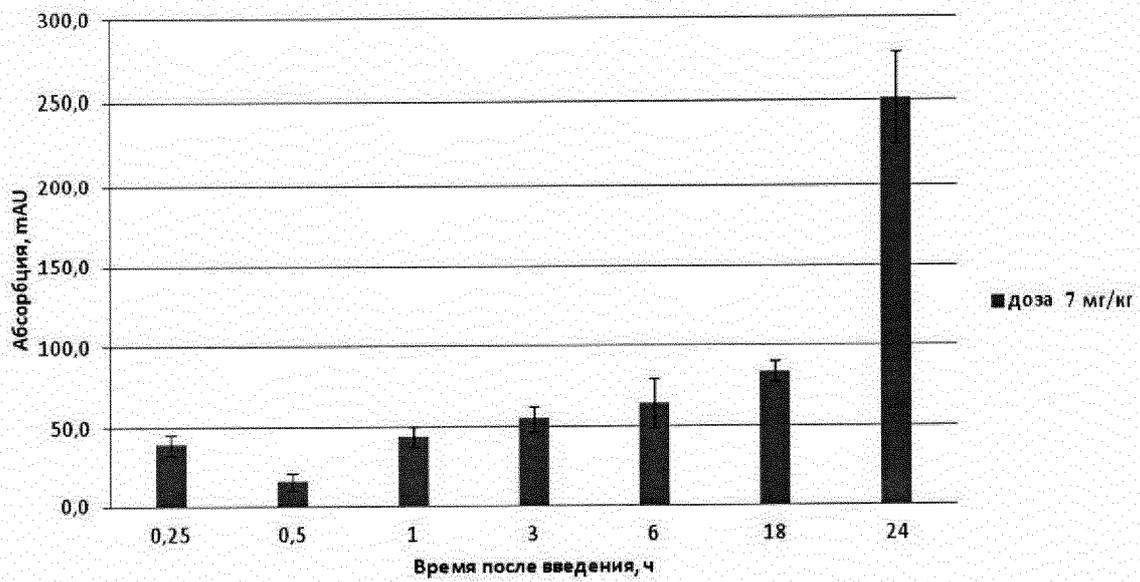
2. Добавка по п. 1, отличающаяся тем, что соотношение Комплекс 1: Комплекс 2 в масс. процентах составляет 1:100 до 100:1.

3. Способ получения биологически активной кормовой добавки по любому из п.п.1,2, согласно которому синтезируют комплексные соединения реакцией комплексообразования, с последующим внедрением комплексов в носитель, отличающийся тем, что синтезируют два комплексных соединения - Комплекс 1 и

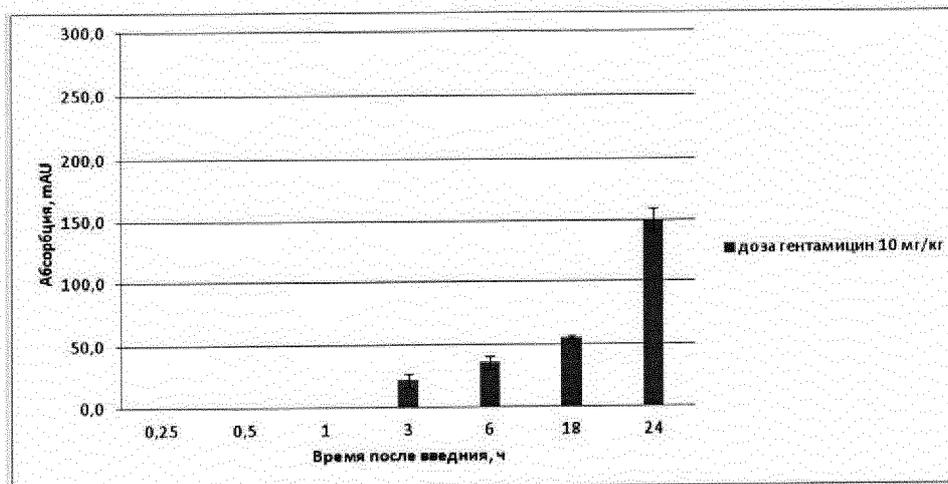
Комплекс 2, причем синтез Комплекса 1 осуществляют реакцией комплексообразования аланина, лития хлорида, натрия и калия иодидов и иода в водном растворе - в соответствии со стехиометрическим соотношением компонентов комплекса, а синтез Комплекса 2- реакцией комплексообразования глицина, натрия и калия иодидов и иода в водном растворе - в соответствии со стехиометрическим соотношением компонентов комплекса, а внедрение комплексов 1 и 2 в носитель-декстрин осуществляют реакцией интеркаляции в водном растворе декстрина.

4. Способ по п.3, отличающийся тем, что соотношение Комплекса 1 к Комплексу 2 от 1:100 и 100:1 (% масс) обеспечивают смешением рассчитанного количества Комплексов 1 и 2 в водных растворах.

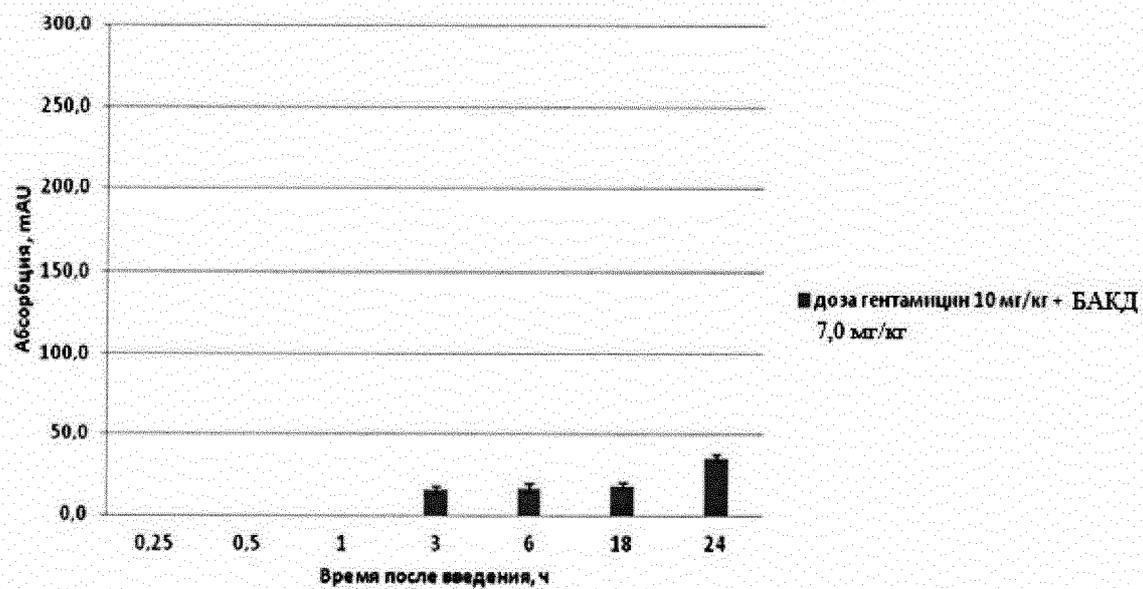
5. Способ по п.п.3 и 4, отличающийся тем, что в водный раствор декстрина вносят лития хлорид, натрия и калия иодиды, магния хлорид и кальция хлорид.



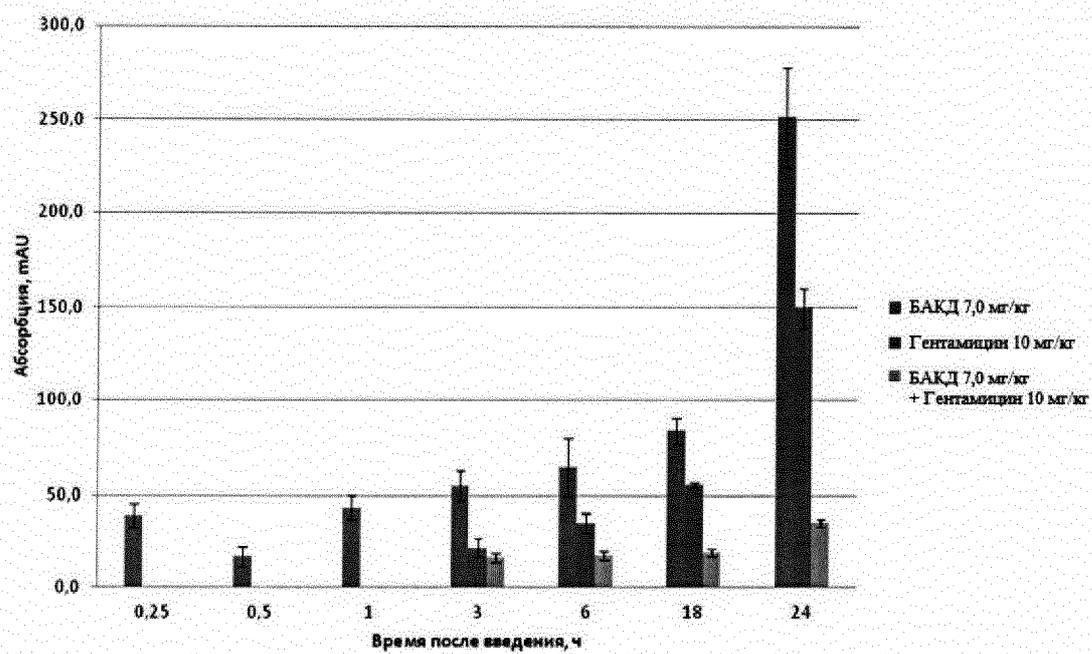
Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5



Фиг. 6

2020 00 3/6



Фиг. 7