

РСТ

ВСЕМИРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
Международное бюро



МЕЖДУНАРОДНАЯ ЗАЯВКА, ОПУБЛИКОВАННАЯ В СООТВЕТСТВИИ
С ДОГОВОРом О ПАТЕНТНОЙ КООПЕРАЦИИ (РСТ)

(51) Международная классификация изобретения⁴: C12N 1/00, A61K 35/66	A1	(11) Номер международной публикации: WO 88/06619 (43) Дата международной публикации: 7 сентября 1988 (07.09.88)
(21) Номер международной заявки: РСТ/SU87/00024 (22) Дата международной подачи: 24 февраля 1987 (24.02.87) (71) Заявители (для всех указанных государств, кроме US): ИНСТИТУТ МИКРОБИОЛОГИИ И ВИРУСОЛОГИИ ИМЕНИ Д.К.ЗАБОЛОТНОГО АКАДЕМИИ НАУК УКРАИНСКОЙ ССР [SU/SU]; Киев 252627, ул. Заболотного, д. 26 (SU) [INSTITUT MIKROBIOLOGII I VIRUSOLOGII IMENI D.K.ZABOLOTNOGO AKADEMII NAUK UKRAINSKOI SSR, Kiev (SU)]. УКРАИНСКАЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ [SU/SU]; Киев 252041, ул. Героев Оборона, д. 15 (SU) [UKRAINSKAYA SELSKOKHOZYAISTVENNAYA AKADEMIA, Kiev (SU)]. (72) Изобретатели, и (75) Изобретатели/Заявители (только для US): СМІРНОВ Валерий Вениаминович [SU/SU]; Киев 252042, ул. Саперное поле, д. 26а, кв. 48 (SU) [SMIRNOV, Valery Veniaminovich, Kiev (SU)]. ХАРЧЕНКО Светлана Николаевна [SU/SU]; Киев		252127, ул. Полковника Потехина, д. 5, кв. 67 (SU) [KHARCHENKO, Svetlana Nikolaevna, Kiev (SU)]. РЕЗНИК Семен Рафаилович [SU/SU]; Киев 252207, пр. Маршала Кошешова, д. 14, кв. 125 (SU) [REZNIK, Semen Rafailovich, Kiev (SU)]. ЛИТВИН Владимир Петрович [SU/SU]; Киев 252127, ул. Полковника Потехина, д. 3, кв. 8 (SU) [LITVIN, Vladimir Petrovich, Kiev (SU)]. ВЬЮНИЦКАЯ Валентина Алексеевна [SU/SU]; Киев 252207, пр. Маршала Кошешова, д. 14, кв. 125 (SU) [VJUNITSKAYA, Valentina Alexeevna, Kiev (SU)]. (74) Агент: ТОРГОВО-ПРОМЫШЛЕННАЯ ПАЛАТА СССР; Москва 103735, ул. Куйбышева, д. 5/2 (SU) [THE USSR CHAMBER OF COMMERCE AND INDUSTRY, Moscow (SU)]. (81) Указанные государства: AU, CH, DE, GB, JP, US Опубликована С отчетом о международном поиске
(54) Title: PREPARATION FOR PROPHYLAXIS AND TREATMENT OF GASTRO-INTESTINAL DISTURBANCES IN FARM ANIMALS (54) Название изобретения: ПРЕПАРАТ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ (57) Abstract A preparation for prophylaxis and treatment of gastro-intestinal disturbances in farm animals comprises a biomass of strain Bacillus subtilis TsMPM No. B-2335 and a biomass of strain Bacillus licheniformis TsMPM No. B-2336 produced from wild cultures by way of natural selection according to the characteristics of their maximum and stable antagonistic activity in the course of their cultivation on artificial nutritive media deposited at the Central Museum of Industrial Microorganisms of the USSR Research Institute for Genetics and Industrial Microorganism Breeding, and further comprises a filler in the following ratio of initial components in per cent by weight: - biomass of strain Bacillus subtilis TsMPM No. B-2335, containing 150-200 billion microbe cells in 1 ml³ 45-60, - biomass of strain Bacillus licheniformis TsMPM No. B-2336, containing 150-200 billion microbe cells in 1 ml³ 15-20, - filler the balance.		

Препарат для профилактики и лечения желудочно-кишечных заболеваний сельскохозяйственных животных состоит из биомассы штамма *Bacillus subtilis* ЦМММ № В-2335 и биомассы штамма *Bacillus licheniformis* ЦМММ № В-2336, селекционированных из диких культур путем естественного отбора по признакам наибольшей и стабильной антагонистической активности при культивировании на искусственных питательных средах, депонированных в Центральном музее промышленных микроорганизмов Всесоюзного научно-исследовательского института генетики и селекции промышленных микроорганизмов, и наполнителя при следующем соотношении исходных компонентов в мас. %:

биомасса штамма *Bacillus subtilis*

ЦМММ № В-2335, содержащая 150-200 млрд
микробных клеток в 1 мл

45-60

биомасса штамма *Bacillus licheniformis*

ЦМММ № В-2336, содержащая 150-200 млрд
микробных клеток в 1 мл,

15-20

наполнитель остальное.

ИСКЛЮЧИТЕЛЬНО ДЛЯ ЦЕЛЕЙ ИНФОРМАЦИИ

Коды, используемые для обозначения стран-членов РСТ на титульных листах брошюр, в которых публикуются международные заявки в соответствии с РСТ:

AT	Австрия	FR	Франция	ML	Мали
AU	Австралия	GA	Габон	MR	Мавритания
BB	Барбадос	GB	Великобритания	MW	Малави
BE	Бельгия	HU	Венгрия	NL	Нидерланды
BG	Болгария	IT	Италия	NO	Норвегия
BJ	Бенин	JP	Япония	RO	Румыния
BR	Бразилия	KP	Корейская Народно-Демократическая Республика	SD	Судан
CF	Центральноафриканская Республика	KR	Корейская Республика	SE	Швеция
CG	Конго	LI	Лихтенштейн	SN	Сенегал
CH	Швейцария	LK	Шри Ланка	SU	Советский Союз
CM	Камерун	LU	Люксембург	TD	Чад
DE	Федеративная Республика Германии	MC	Монако	TG	Того
DK	Дания	MG	Мадагаскар	US	Соединенные Штаты Америки
FI	Финляндия				

ПРЕПАРАТ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Область техники

5 Настоящее изобретение относится к ветеринарии, а точнее, к препарату для профилактики и лечения желудочно-кишечных заболеваний сельскохозяйственных животных.

Предшествующий уровень техники

10 В современных животноводческих комплексах, где концентрируется значительное количество молодняка сельскохозяйственных животных, даже при соблюдении удовлетворительных гигиенических условий, у значительной части новорожденных возникают острые желудочно-кишечные заболевания.

15 Основные причины таких заболеваний состоят в том, что в первые часы и дни после рождения у животных еще не сформирована нормальная микрофлора, играющая важную роль противoinфекционной защиты. В этот период из окружающей среды (из воздуха, предметов ухода, от больных животных, 20 от персонала и других источников) в организм животных могут попадать различные патогенные и условно патогенные микроорганизмы (энтеропатогенные кишечные палочки, стафилококки, протеи, клебсиеллы, сальмонеллы и др.), которые практически беспрепятственно размножаются в кишечнике новорожденных, вызывая у них желудочно-кишечные заболевания различной тяжести. Развитие таких заболеваний в раннем возрасте приводит к ослаблению новорожденных и 25 снижению процента их сохранности (гибели части животных).

Широко известно применение для лечения острых 30 желудочно-кишечных заболеваний антибиотиков, сульфамидных и нитрофурановых препаратов, а также отваров трав и других средств. Однако, все эти средства недостаточно эффективны, так как ряд патогенных и условно патогенных микроорганизмов устойчивы к этим средствам.

35 В настоящее время более перспективными являются препараты для профилактики и лечения желудочно-кишечных заболеваний животных из живых микробных культур. Эти пре-

-2-

параты способствуют искусственному формированию на раннем периоде жизни животных в их желудочно-кишечном тракте микрофлоры, способной подавить размножение в нём патогенных и условно патогенных микроорганизмов. Так, например, 5 известен препарат из живых культур микроорганизма *Streptococcus faecium* Cernelle 68 (патент Великобритании № I300446).

Указанный препарат включает один вид микроорганизма, что не обеспечивает широкого спектра его антагонистического действия. Кроме того, указанный препарат не оказывает стимулирующего влияния на защитные реакции организма животных (не индуцирует эндогенный интерферон, не повышает фагоцитарную активность лейкоцитов крови), что также ограничивает область его применения.

15 Раскрытие изобретения

В основу изобретения положена задача путем изменения биомассы бактерий и применения новых штаммов микроорганизмов получить препарат для профилактики и лечения желудочно-кишечных заболеваний сельскохозяйственных животных, обладающий высокой эффективностью действия, характеризующийся широким спектром действия по подавлению роста патогенных и условно патогенных микроорганизмов, стимулирующий защитные реакции организма животного, не вызывающий осложнений, не оказывающий побочного действия, 20 простой в применении, подлежащий длительному хранению.

Задача решена тем, что заявляемый препарат для профилактики и лечения желудочно-кишечных заболеваний сельскохозяйственных животных, включающий биомассу бактерий, согласно изобретению, в качестве биомассы бактерий содержит биомассу штамма *Bacillus subtilis* ЦМГМ № В-2335 и биомассу штамма *Bacillus licheniformis* ЦМГМ № В-2336, селекционированных из диких культур путем естественного отбора по признакам наибольшей и стабильной антагонистической активности при культивировании на искусственных 30 питательных средах, депонированных в Центральном музее промышленных микроорганизмов Всесоюзного научно-исследо-

-3-

вательского института генетики и селекции промышленных микроорганизмов, и содержит наполнитель при следующем соотношении исходных компонентов в мас. % :

5	биомасса штамма <i>Bacillus</i>	
	<i>subtilis</i> ЦМГМ № В-2335,	
	содержащая 150-200 млрд микробных	
	клеток в 1 мл,	45-60
10	биомасса штамма <i>Bacillus</i>	
	<i>licheniformis</i> ЦМГМ № В-2336,	
	содержащая 150-200 млрд	
	микробных клеток в 1 мл,	15-20
	наполнитель	остальное.

Эффективность действия заявляемого препарата обеспечивается использованием указанных штаммов.

- 15 Штамм *Bacillus subtilis* ЦМГМ № В-2335 характеризуется свойством определенное время сохраняться в различных отделах пищеварительного тракта животных, обладает антагонистическим действием по отношению к патогенным и условно патогенным бактериям (*Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella*
- 20 *sonnei*, *Salmonella* *Weslaco*, *Salmonella* *typhimurium*, *Salmonella* *stenley*, *Salmonella* *newport*, *Klebsiella* *pneumoniae* *Proteus* *vulgaris* и другие), стимулирует фагоцитарную активность лейкоцитов крови, повышает индукцию эндогенного интерферона в организме животных, не влияет на нормальную микрофлору.
- 25 Штамм *Bacillus licheniformis* ЦМГМ № В-2336 характеризуется свойством определенное время сохраняться в различных отделах пищеварительного тракта животных, обладает антагонистическим действием по отношению к патогенным бактериям и грибам (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus*
- 30 *albus*, *Candida albicans*, *Aspergillus flaves* и другие), стимулирует фагоцитарную активность лейкоцитов крови животных, не влияет на нормальную микрофлору, характеризуется ферментативной активностью, способствующей процессам пищеварения.
- 35 В качестве наполнителя заявляемый препарат предпочтительно содержит смесь сыворотки крови крупного рога-

- 4 -

того скота или желатина с сахарозой или глюкозой.

Использование сыворотки крови крупного рогатого скота или желатина способствует стабилизации биологических свойств культур, входящих в состав препарата. Применение 5 сахарозы или глюкозы обеспечивает оптимальные условия лизиса в процессе изготовления препарата, сохранения его биологических и физических свойств в процессе хранения и хорошую смешиваемость с растворителем препарата в процессе его применения.

10 Лучший вариант осуществления изобретения

В состав заявляемого препарата входит биомасса указанных новых штаммов. Штаммы *Bacillus subtilis* ЦММ № В-2335 и *Bacillus licheniformis* ЦММ № В-2336 депонированы в Центральном музее промышленных микроорганизмов Всесоюзного 15 научно-исследовательского института генетики и селекции промышленных микроорганизмов. Штамм *Bacillus subtilis* ЦММ № В-2335 выделен из диких культур и селекционирован в процессе исследования его естественной изменчивости при культивировании на искусственных питательных средах путем 20 отбора вариантов, характеризующихся наибольшей и в то же время стабильной (на протяжении более 50 пассажей) антагонистической активностью.

Культурно-морфологические и физиолого-биохимические особенности штамма следующие: клетки палочковидной формы 25 в препарате " раздавленная" или "висячая" капля подвижные, грамположительные, продуцируют каталазу; в аэробных условиях образует споры, которые в клетке расположены центрально. Культура обильно растет на общепотребляемых средах (мясо-пептонном агаре, сусло-агаре, среде Громько, картофельном 30 агаре). На мясо-пептонном агаре образует колонии, имеющие неправильную форму с морщинистой матовой поверхностью, белого или беловато-кремового цвета с изрезанными фестончатыми краями. Колонии могут также быть круглыми, гладкими, с блестящей поверхностью и ровными краями. Оба вида колонии 35 легко снимаются с агара петлей. При росте на мясо-пептонном бульоне культура образует пленку. В мазках 18-часовой культуры обнаруживаются грамположительные клетки палочковидной

-5-

- формы, прямые, размером 2,0-2,2x0,7-0,85 мкм, расположенные отдельно или в виде цепочек. При спорообразовании клетки не раздуваются, после роста на глюкозном агаре в протоплазме не обнаруживаются включения поли- β -оксимасляной кислоты. Культура ферментирует глюкозу, арабинозу, манит, ксилозу с образованием кислоты без газа. Реакция Фогес-Проскауэра положительна. Культура не образует газ из NO_3 в анаэробных условиях, не продуцирует аргининдигидролазу. Культура растет на среде, содержащей 7% NaCl , гидролизует крахмал, желатину, утилизирует цитрат, не использует пропионат, не обладает лецитиназной активностью, не патогенна для теплокровных. Штамм *Bac. licheniformis* ЦММ № В-2336 выделен из диких культур и селекционирован в процессе исследования его естественной изменчивости при культивировании на искусственных питательных средах путем отбора вариантов, характеризующихся наибольшей, и в то же время стабильной (на протяжении более 45 пассажей), антагонистической активностью.

- Культурально-морфологические и физиолого-биохимические особенности штамма следующие: клетки палочковидные. в препарате "раздавленная" или "висячая" капля подвижные, размером 2,4-2,7x0,5-0,75 мкм, располагаются, в основном, в виде цепочек. Споры овальной формы, располагаются в клетке центрально, клетку не раздувают. После роста на глюкозном агаре глобулы в протоплазме не обнаруживаются.

- На мясо-пептонном агаре колонии с тусклой грубой поверхностью, непрозрачные. Они могут также иметь гладкую блестящую поверхность. Оба вида колоний плотно прикреплены к агару и трудно снимаются петлей. Нередко на поверхности обнаруживается слизь.

- Колонии старых культур могут приобретать темно-коричневую окраску. На мясо-пептонном бульоне образуется морщинистая пленка, иногда с кремовым оттенком. Культура образует каталазу. Характеризуется способностью расти на агаре в анаэробных условиях. Дает положительную реакцию Фогес-Проскауэра, растет на среде, содержащей 7% NaCl ,

-6-

5 гидролизует крахмал, казеин, не гидролизует мочевину. Желатин разжижает медленно. При росте на мясо-пептонном бульоне образует аммиак, не образует индол, сероводород. Ферментирует глюкозу, лактозу, манит с образованием кислоты. Редуцирует нитраты, в анаэробных условиях из нитратов образует газ. Культура не обладает коагулазной, гиалуронидазной и лецитиназной активностью, не патогенна для теплокровных.

10 Заявляемый препарат представляет собой пористую кристаллизованную сухую массу светло-коричневого цвета, не растворимую в воде, но образующую в ней и молоке однородную устойчивую взвесь. Массовая доля воды не более 5%. Препарат выпускают в стеклянных ампулах с содержанием 250 мг сухого вещества (300-400 млрд микробных клеток) 15 или в стеклянных флаконах с содержанием 500 мг сухого вещества (600-800 млрд микробных клеток).

20 Заявляемый препарат может быть использован в качестве средства профилактики или в качестве средства лечения острых желудочно-кишечных заболеваний молодняка сельскохозяйственных животных (дисбактериоза, колибактериоза, сальмонеллеза, различных других острых желудочно-кишечных заболеваний сельскохозяйственных животных, вызванных патогенными и условно патогенными микроорганизмами).

25 Способ применения препарата, с целью профилактики, заключается в следующем: содержимое ампулы, в котором имеется 300-400 млрд жизнеспособных микробных клеток, размешивают в одном литре молока или воды, прокипяченных и охлажденных до 25-30°C, и выпаивают новорожденному животному 200 мл смеси до выпойки молозива, но не позднее, чем через 1-2 часа после рождения, затем повторяют 30 выпойку через 24 и 48 часов.

35 Способ применения препарата с лечебной целью заключается в следующем: содержимое ампулы, в котором имеется 300-400 млрд жизнеспособных микробных клеток, размешивают в одном литре молока или воды, прокипяченных и охлажденных до 25-30°C, и выпаивают больному животному по 200 мл

-7-

смеси 2-3 раза в день до выздоровления.

Применение заявляемого препарата с лечебной целью не исключает назначения животным других средств патогенетической терапии, кроме перорального введения антибиотиков. В рекомендуемых дозах он не вызывает осложнений и не оказывает побочного действия. Противопоказаний к применению заявляемого препарата нет. Использование препарата в ветеринарной практике не требует соблюдения мер безопасности.

10 Заявляемый препарат был испытан с целью профилактики и лечения желудочно-кишечных заболеваний молодняка сельскохозяйственных животных. С профилактической целью препарат был применен на 328 новорожденных телятах. Применение заявляемого препарата осуществлялось следующим образом. Содержимое ампулы (300-400 млрд микробных клеток) размешивали в одном литре молока или воды, прокипяченных и охлажденных до температуры 25-30°C, и выпаивали индивидуально животным в первые 2-3 часа после рождения по 200 мл, затем повторно на второй и третий день также по 200 мл. В отдельных случаях выпаивание препаратом проводили и на 4-7 сутки. Параллельно проводили эксперимент на контрольной группе животных (185 голов), где применялись общепринятые меры профилактики. Наблюдение за телятами проводили на протяжении месяца. Взвешивание проводили в день рождения и на 30-й день рождения.

Результаты испытаний заявляемого препарата показали, что из 328 новорожденных телят, которых выпоили заявляемым препаратом, 19 из них имели расстройства желудочно-кишечного тракта. В контрольной группе из 185 животных 123 заболели и 4 из них пали. Таким образом, благодаря применению заявляемого препарата заболеваемость снизилась в 10 раз.

С лечебной целью заявляемый препарат применили на 284 телятах с различными желудочно-кишечными заболеваниями, вызванными энтеропатогенными штаммами кишечной палочки, стафилококком, протеем, клебсиеллой, сальмонеллами.

-8-

Заявляемый препарат применяли следующим образом. Содержимое ампулы (300-400 млрд микробных клеток) размешивали в одном литре молока или воды, прокипяченных и охлажденных до температуры 25-30°C, и выпаивали животным до выздоровления (обычно в течение 4-5 дней). В результате применения заявляемого препарата с лечебной целью из 284
5 выжило 279. В контрольных группах из 134 животных, которых лечили антибиотиками, химиопрепаратами, отварами трав и другими методами, пало 18 голов.

10 Таким образом, сохранность животных при использовании препарата на 12% выше, чем при использовании общепринятых средств.

На основании проведенных испытаний заявляемый препарат показал высокую лечебно-профилактическую эффективность.
15 Препарат характеризуется высоким спектром антагонистического действия по отношению к различным видам микроорганизмов - возбудителей желудочно-кишечных заболеваний животных. Препарат способствует повышению защитных реакций организма животных (индукция эндогенного интерферона, повышение фагоцитарной активности лейкоцитов крови).
20 Препарат прост в применении, безвреден и безопасен, не требует изменений технологии - кормления и выращивания новорожденных животных.

Заявляемый препарат получают следующим образом.

25 Культуры штаммов *Bac.subtilis* ЦМПМ № В-2335 и *Bac.licheniformis* ЦМПМ № В-2336 выращивают отдельно в течение 18 часов и 12 суток на агаризованном сусле при температуре 28°C. Выросшие биомассы культур смывают стерильной водопроводной водой и готовят суспензии, содержащие
30 150-200 млрд микробных клеток в 1 мл. Соединяют равные объемы 12-суточной и 18-часовой культуры *Bac. subtilis* ЦМПМ № В-2335 и отдельно равные объемы 12-суточной и 18-часовой культуры *Bac.licheniformis* ЦМПМ № В-2336.

Затем готовят препарат в следующих соотношениях компонентов % вес: биомасса штамма *Bac. subtilis* ЦМПМ № В-2335 45-60; биомасса штамма *Bac.licheniformis* ЦМПМ
35

-9-

№ В-2336 I5-20; наполнитель остальное.

В качестве наполнителя используют смесь сыворотки крови крупного рогатого скота или желатина с сахарозой или глюкозой.

5 Полученную смесь разливают в стерильные ампулы и помещают в холодильник на 24 часа при температуре не выше -20°C . Лиофилизацию препарата проводят на протяжении не менее 44 часов при режиме от -20° до $+20^{\circ}\text{C}$. После лиофилизации ампулы запаивают.

10 Заявляемый препарат сохраняет активность при длительном хранении в течение не менее 2-х лет.

Для лучшего понимания настоящего изобретения приводятся следующие конкретные варианты состава заявляемого препарата, проверка его безвредности и специфической ак-

15 тивности.

Пример I.

Заявляемый препарат следующего состава, в мас. %:

	Биомасса штамма <i>Bac. subtilis</i> ЦМПМ № В-2335	45
	Биомасса штамма <i>Bac. licheniformis</i> ЦМПМ № В-2336	20
20	Сыворотка крови крупного рогатого скота	32
	Сахароза	3

Все компоненты смешивают, разливают в стерильные ампулы по 2 мл, помещают на 24 часа при температуре не выше -20°C и затем лиофилизируют на протяжении не менее 25 44 часов при режиме от -20° до $+20^{\circ}\text{C}$. После лиофилизации ампулы запаивают. Проводят испытание безвредности и специфической активности препарата.

Испытание на безвредность проводят по следующему тесту: при пероральном введении не менее 5 мышам весом 30 18-22 грамм 10%ного раствора препарата в воде в количестве 5000 мг на 1 кг живой массы все мыши должны оставаться живыми и клинически здоровыми в течение пяти суток наблюдения.

35 Проверка специфической активности проводится следующим образом. Исследуются антагонистические свойства ас-

-10-

социации микробных культур, входящих в состав препарата, по отношению к ряду тест-микроорганизмов (*Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Candida tropicalis*)

- 5 С целью проверки антагонистической активности, ассоциация культур, входящих в состав препарата, высевается на чашку Петри со средой Гаузе № 2 штрихом по диаметру и после 48 часового роста при температуре 37°C параллельно выросшей ассоциации наносят штрихами 200-миллионную взвесь тест-микроорганизмов. После 18 часового роста при 10 37°C зоны торможения роста тест-культур должны быть не ниже 10-15 мм.

Результаты испытаний представлены в таблице.

Пример 2.

- Заявляемый препарат следующего состава в мас. %:
- | | | |
|----|---|----|
| 15 | биомасса штамма <i>Bac. subtilis</i> ЦМГМ № В-2335 | 60 |
| | биомасса штамма <i>Bac. licheniformis</i> ЦМГМ № В-2336 | 20 |
| | 5%-ный раствор желатина | 15 |
| | глюкоза | 5 |

- Приготовление и испытание препарата проводят аналогично примеру 1. Результаты испытаний представлены в 20 таблице.

Пример 3.

- Заявляемый препарат следующего состава, в мас. %:
- | | | |
|----|---|----|
| | биомасса штамма <i>Bac. subtilis</i> ЦМГМ № В-2335 | 50 |
| 25 | биомасса штамма <i>Bac. licheniformis</i> ЦМГМ № В-2336 | 15 |
| | сыворотка крови крупного рогатого скота | 32 |
| | сахароза | 3 |

- Приготовление и испытание препарата проводят аналогично примеру 1. Результаты испытаний представлены в таблице. 30

Пример 4.

- Заявляемый препарат следующего состава в мас. %:
- | | | |
|----|---|----|
| | биомасса штамма <i>Bac. subtilis</i> ЦМГМ № В-2335 | 55 |
| | биомасса штамма <i>Bac. licheniformis</i> ЦМГМ № В-2336 | 20 |
| 35 | 5%-ный раствор желатина | 21 |
| | сахароза | 4 |

-II-

Приготовление и испытание препарата проводят аналогично примеру I.

Результаты испытаний представлены в таблице.

Пример 5.

5	Заявляемый препарат следующего состава в мас. %:	
	биомасса штамма <i>Bac. subtilis</i> ЦМПМ № В-2335	52
	биомасса штамма <i>Bac. licheniformis</i> ЦМПМ № В-2336	18
	сыворотка крови крупного рогатого скота	25
	глюкоза	5

10 Приготовление и испытание препарата проводят аналогично примеру I. Результаты испытаний представлены в таблице.

Пример 6.

	Заявляемый препарат следующего состава, в мас. %:	
15	биомасса штамма <i>Bac. subtilis</i> ЦМПМ № В-2335	58
	биомасса штамма <i>Bac. licheniformis</i> ЦМПМ № В-2336	17
	сыворотка крови крупного рогатого скота	22
	сахароза	3

20 Приготовление и испытание препарата проводят аналогично примеру I.

Результаты испытаний представлены в таблице.

Пример 7.

	Заявляемый препарат следующего состава, в мас. %:	
	биомасса штамма <i>Bac. subtilis</i> ЦМПМ № В-2335	45
25	биомасса штамма <i>Bac. licheniformis</i> ЦМПМ № В-2336	15
	сыворотка крови крупного рогатого скота	37
	глюкоза	3

30 Приготовление и испытание препарата проводят аналогично примеру I. Результаты испытаний представлены в таблице.

-12-

Таблица

Результаты испытаний заявляемого препарата

Препараты заявляемого препарата по примерам	Безвредность препарата	Антагонистическая актив- ность (размеры зон торможе- ния к тест-культурам в мм)		
		Salmonella typhimurium	Staphylo- coccus aureus	Candida tropicalis
I	безвреден	10	15	12
2	—"	11	16	13
3	—"	11	16	13
4	—"	11	16	13
5	—"	11	16	13
6	—"	11	16	12
7	—"	10	15	12

Промышленная применимость

Заявляемый препарат может быть использован в качестве средства профилактики или в качестве средства лечения острых желудочно-кишечных заболеваний молодняка сельскохозяйственных животных.

- 13 -

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

5 I. Препарат для профилактики и лечения желудочно-кишечных заболеваний сельскохозяйственных животных, включающий биомассу бактерий, характеризующийся тем, что в качестве биомассы бактерий он содержит биомассу штамма *Bacillus subtilis* ЦМГМ № В-2335 и биомассу штамма *Bacillus licheniformis* ЦМГМ № В-2336, селекционированных из диких культур путем естественного отбора по признакам наибольшей и стабильной антагонистической активности при культивировании на искусственных питательных средах, депонированных в Центральном музее промышленных микроорганизмов Всесоюзного научно-исследовательского института генетики и селекции промышленных микроорганизмов, и содержит наполнитель при следующем соотношении

10

15 исходных компонентов в мас. %:

биомасса штамма *Bacillus subtilis* ЦМГМ № В-2335, содержащая 150-200 млрд микробных клеток в 1 мл, 45-60:

биомасса штамма *Bacillus licheniformis* ЦМГМ № В-2336, содержащая 150-200 млрд микробных клеток в 1 мл, 15-20

20 наполнитель остальное.

2. Препарат по п. I, характеризующийся тем, что в качестве наполнителя он содержит смесь сыворотки крови крупного рогатого скота или желатина с сахарозой или глюкозой.

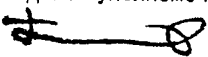
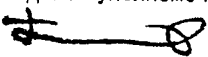
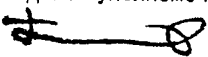
INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/SU 87/00024

I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (if several classification symbols apply, indicate all) ⁶		
According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC IPC ⁴ : C 12 N 1/00, A 61 K 35/66		
II. FIELDS SEARCHED		
Minimum Documentation Searched ⁷		
Classification System	Classification Symbols	
IPC ⁴	C 12 N 1/00, 1/20, A 61 K 35/66, 35/16	
Documentation Searched other than Minimum Documentation to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched ⁸		
III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT ⁹		
Category *	Citation of Document, ¹¹ with indication, where appropriate, of the relevant passages ¹²	Relevant to Claim No. ¹³
A	EP, A1, 0145798, (Miles Kali-Chemie GmbH & Co.KG), 26 June 1985 (26.06.85), see the claims --	1
A	GB, A, 2138023, (Mitsui Toatsu Chemicals Inc.), 17 October 1984 (17.10.84), see the abstract --	1
A	GB, A, 1554525, (W.R. GRACE & CO.), 24 October 1979 (24.10.79), see the claims -----	1,2
* Special categories of cited documents: ¹⁰ "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "&" document member of the same patent family		
IV. CERTIFICATION		
Date of the Actual Completion of the International Search		Date of Mailing of this International Search Report
21 October 1987 (21.10.87)		18 November 1987 (18.11.87)
International Searching Authority		Signature of Authorized Officer
ISA/SU		

СЧЕТ О МЕЖДУНАРОДНОМ ПОИСКЕ

Международная заявка № PCT/SU 87/00024

I. КЛАССИФИКАЦИЯ ОБЪЕКТА ИЗОБРЕТЕНИЯ (если применяются несколько классификационных индексов, укажите все)⁶ В соответствии с Международной классификацией изобретений (МКИ) или как в соответствии с национальной классификацией, так и с МКИ МКИ⁴ - CI2N I/00, A6TK 35/66														
II. ОБЛАСТИ ПОИСКА Минимум документации, охваченной поиском⁷ <table border="1"> <tr> <th>Система классификации</th> <th>Классификационные рубрики</th> </tr> <tr> <td>МКИ⁴</td> <td>CI2N I/00, I/20, A6TK 35/66, 35/I6</td> </tr> </table> Документация, охваченная поиском и не входившая в минимум документации, в той мере, насколько она входит в область поиска⁸			Система классификации	Классификационные рубрики	МКИ ⁴	CI2N I/00, I/20, A6TK 35/66, 35/I6								
Система классификации	Классификационные рубрики													
МКИ ⁴	CI2N I/00, I/20, A6TK 35/66, 35/I6													
III. ДОКУМЕНТЫ, ОТНОСЯЩИЕСЯ К ПРЕДМЕТУ ПОИСКА⁹ <table border="1"> <tr> <th>Категория*</th> <th>Ссылка на документ¹¹, с указанием, где необходимо, частей, относящихся к предмету поиска¹²</th> <th>Относится к пункту формулы №¹³</th> </tr> <tr> <td>A</td> <td>EP, AI, 0145798, (Miles Kali-Chemie GmbH & Co.KG), 26 июня 1985 (26.06.85), смотри формулу</td> <td>I</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>GB, A, 2138023, (Mitsui Toatsu Chemicals Inc.), 17 октября 1984 (17.10.84), смотри реферат</td> <td>I</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>GB, A, 1554525, (W.R.GRACE & CO.), 24 октября 1979 (24.10.79), смотри формулу</td> <td>I,2</td> </tr> </table> * Особые категории ссылочных документов¹⁰: • A* документ, определяющий общий уровень техники, который не имеет наиболее близкого отношения к предмету поиска. • E* более ранний патентный документ, но опубликованный на дату международной подачи или после нее. • I* документ, подвергающий сомнению притязание(я) на приоритет, или который приводит с целью установления даты публикации другого ссылочного документа, а также в других целях (как указано). • O* документ, относящийся к устному раскрытию, применению, выставке и т. д. • P* документ, опубликованный до даты международной подачи, но после даты испрашиваемого приоритета. • T* более поздний документ, опубликованный после даты международной подачи или даты приоритета и не порочащий заявку, но приведенный для понимания принципа или теории, на которых основывается изобретение. • X* документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает новизной и изобретательским уровнем. • Y* документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; документ в сочетании с одним или несколькими подобными документами порочит изобретательский уровень заявленного изобретения, такое сочетание должно быть очевидно для лица, обладающего познаниями в данной области техники. • Z* документ, являющийся членом одного и того же патентного семейства.			Категория*	Ссылка на документ ¹¹ , с указанием, где необходимо, частей, относящихся к предмету поиска ¹²	Относится к пункту формулы № ¹³	A	EP, AI, 0145798, (Miles Kali-Chemie GmbH & Co.KG), 26 июня 1985 (26.06.85), смотри формулу	I	A	GB, A, 2138023, (Mitsui Toatsu Chemicals Inc.), 17 октября 1984 (17.10.84), смотри реферат	I	A	GB, A, 1554525, (W.R.GRACE & CO.), 24 октября 1979 (24.10.79), смотри формулу	I,2
Категория*	Ссылка на документ ¹¹ , с указанием, где необходимо, частей, относящихся к предмету поиска ¹²	Относится к пункту формулы № ¹³												
A	EP, AI, 0145798, (Miles Kali-Chemie GmbH & Co.KG), 26 июня 1985 (26.06.85), смотри формулу	I												
A	GB, A, 2138023, (Mitsui Toatsu Chemicals Inc.), 17 октября 1984 (17.10.84), смотри реферат	I												
A	GB, A, 1554525, (W.R.GRACE & CO.), 24 октября 1979 (24.10.79), смотри формулу	I,2												
IV. УДОСТОВЕРЕНИЕ ОТЧЕТА <table border="1"> <tr> <td>Дата действительного завершения международного поиска</td> <td>Дата отправки настоящего отчета о международном поиске</td> </tr> <tr> <td>21 октября 1987 (21.10.87)</td> <td>18 ноября 1987 (18.11.87)</td> </tr> <tr> <td>Международный поисковый орган</td> <td>Подпись уполномоченного лица</td> </tr> <tr> <td>ISA/SU</td> <td> Н.Шепелев</td> </tr> </table>			Дата действительного завершения международного поиска	Дата отправки настоящего отчета о международном поиске	21 октября 1987 (21.10.87)	18 ноября 1987 (18.11.87)	Международный поисковый орган	Подпись уполномоченного лица	ISA/SU	 Н.Шепелев				
Дата действительного завершения международного поиска	Дата отправки настоящего отчета о международном поиске													
21 октября 1987 (21.10.87)	18 ноября 1987 (18.11.87)													
Международный поисковый орган	Подпись уполномоченного лица													
ISA/SU	 Н.Шепелев													