



MD 3952 C2 2009.08.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **3952** ⁽¹³⁾ **C2**

(51) Int. Cl.: **A61K 35/64** (2006.01)
A61K 47/46 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61K 47/06 (2006.01)
A61P 37/04 (2006.01)
A23L 1/076 (2006.01)
A23L 1/08 (2006.01)

(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. depozit: a 2009 0027 (22) Data depozit: 2009.03.04	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2009.08.31, BOPI nr. 8/2009
(71) Solicitanți: USATENCO Victor, MD; ȚURCANU Ștefan, MD; DONICA Natalia, MD; IACHIMOVA Tatiana, MD (72) Inventatori: USATENCO Victor, MD; ȚURCANU Ștefan, MD; DONICA Natalia, MD; IACHIMOVA Tatiana, MD (73) Titulari: USATENCO Victor, MD; ȚURCANU Ștefan, MD; DONICA Natalia, MD; IACHIMOVA Tatiana, MD	

(54) **Remediu imunostimulator și metodă de imunostimulare la porcine
(variante)**

(57) **Rezumat:**

1
Invenția se referă la medicina veterinară, în
particular la un remediu imunostimulator și la o
metodă de imunostimulare la porcine. 5

Remediul imunostimulator conține extracte alco-
olice de propolis și de polen, soluție apoasă a
extractului eteric de miere pe baza fracțiunii acide
saponificabile și propilenglicol în următorul raport al
componentelor, % mas.: 10

extract alcoolic de propolis	5...25	
extract alcoolic de polen	3...25	
soluție apoasă a extractului eteric de miere pe baza fracțiunii acide saponificabile	3...20	15
propilenglicol	30...89,	

2
cu concentrația substanțelor uscate de 25,1...239,1
mg/ml.

Metoda de imunostimulare la porcine include
administrarea remediei menționate, conform
variantei I, la scroafe intramuscular în doză de
0,02...0,07 ml/kg de masă vie de două ori: la a 100-a
zi de la începutul gestației și peste 10 zile după
prima administrare și, conform variantei a II-a, la
purcei nou-născuți intramuscular în doză de
0,5...1,2 ml/kg de masă vie, ori peroral, în doză de
5,0...10,0 ml/kg de masă vie în ziua a treia și a zecea
de la naștere.

Revendicări: 3

MD 3952 C2 2009.08.31

Descriere:

Invenția se referă la medicina veterinară, în particular la un remediu imunostimulator și la o metodă de imunostimulare la porcine.

5 Este cunoscut remediu pentru stimularea sistemului imun al animalelor pe bază de hidrolizat al unui produs apicol, unde în calitate de hidrolizat al produsului se utilizează hidrolizat alcalin al păsturii cu concentrația substanțelor uscate de 25 mg/ml [1].

Dezavantajul acestui remediu constă în eficiența scăzută a acestuia.

10 Este cunoscută metoda de imunostimulare a sistemului imun la porcine, unde a fost utilizat remediu pe bază de hidrolizat alcalin al păsturii, care a fost dat la purcei în perioada de înțarcare [2].

Dezavantajul acestei metode constă în eficiența scăzută a acesteia.

Autorii prezentei invenții au efectuat un studiu referitor la proprietățile antimicrobiene ale microorganismelor, ca rezultat s-a determinat că nu toate tulpinile de microorganisme sunt sensibile față de polen, în afară de *Salmonella typhimurium* și *Candida albicans*. Astfel, s-a găsit un remediu compus din 3 componente, unde fiecare are proprietăți biologice individuale, și anume: extract

15 alcoolic de propolis, extract alcoolic de polen, extract de miere și propilenglicol (Apifitostimulin). Este cunoscut că propolisul stimulează procesul hematopoietic, fagocitar și ameliorează reacțiile nespecifice ale organismului, ridică tonusul fiziologic al organismului. Propolisul a fost inclus în componenta remediei datorită complexității de substraturi chimice și spectrului larg de particularități biologice: antibiotice, antiseptice, antivirale, antimicrobiene și trofice.

20 Mai este cunoscut că polenul stimulează creșterea rezistenței organismului din următoarele considerente: prezența proteinelor, vitaminelor, aminoacizilor și microorganismelor. Are un efect antianemic foarte important pentru purceii nou-născuți, la care, după cum se știe, persistă anemia. Polenul conține un șir de vitamine, care influențează creșterea și este destinat profilaxiei bolilor respiratorii, digestive și ale sângelui.

25 Se cunoaște, de asemenea, că mierea prezintă interes având în vedere că în componența ei sunt peste 15 fermenți care catalizează procesele de oxidare-reducere, hidrolitice etc., iar în cenușa (scrumul) de miere s-au depistat 37 de elemente chimice, un mare interes prezentând metalele: Fe, Cu, Mg, Co.

Propilenglicolul în remediu conform invenției se folosește în calitate de solvent.

30 Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în eliminarea dezavantajului remediei cunoscut, și anume în obținerea unui remediu pentru ameliorarea rezistenței nespecifice a organismului porcin.

35 Esența invenției constă în aceea că remediu imunostimulator conține extracte alcoolice de propolis și de polen, soluție apoasă a extractului eteric de miere pe baza fracțiunii acide saponificabile și propilenglicol în următorul raport al componentelor, % mas.:

extract alcoolic de propolis	5...25
extract alcoolic de polen	3...25
soluție apoasă a extractului eteric de miere pe baza fracțiunii acide saponificabile	3...20
propilenglicol	30...89,

cu concentrația substanțelor uscate de 25,1...239,1 mg/ml.

45 Metoda de imunostimulare la porcine include administrarea remediei imunostimulator menționat, care se administrează la scroafe intramuscular în doză de 0,02...0,07 ml/kg de masă vie de două ori: la a 100-a zi de la începutul gestației și peste 10 zile după prima administrare, iar la purceii nou-născuți intramuscular în doză de 0,5...1,2 ml/kg de masă vie, ori peroral, în doză de 5,0...10,0 ml/kg de masă vie în ziua a treia și a zecea de la naștere.

Rezultatul invenției constă în ameliorarea rezistenței nespecifice a organismului porcin.

Pregătirea extractelor

50 Obținerea extractului alcoolic de propolis. Acesta a fost obținut după metoda Brăileanu C., Gheorghiu A., Popescu Ar., Velescu Gh. Cercetări asupra unor forme farmaceutice cu propolis. Propolis (Ediția a IV-a, revizuită), București, Apimondia, 1990, p. 137-145, unde percolarea s-a efectuat până la epuizarea propolisului de principiile active (1 g propolis, 6...8 ml alcool de 70°), iar soluția extractivă s-a evaporat și s-a efectuat concentrarea la o presiune redusă și la o temperatură sub

55 50°C, ca rezultat randamentul de extract moale a fost de 36,6%. Obținerea extractului alcoolic de polen. Acesta a fost obținut după metoda Gonnet M. (Gonnet M. Însușirile fitoinhibitoare ale unor substanțe produse în colonia de albine. Propolis (Ediția a IV-a, revizuită), București, Apimondia, 1990, p. 94), și anume: s-au luat 20 g polen, s-au extras cu alcool la rece, după care a fost filtrat alcoolul și evaporat, reziduul, diluat cu apă, răcit la 0°C, centrifugat, după

60 care filtrat, ca rezultat 1 cm³ de soluție activă conține 118 mg de substanță uscată. Obținerea extractului de miere. Extractul eterat de miere (1:5) a fost obținut după metoda Gonnet M. (Gonnet M. Însușirile fitoinhibitoare ale unor substanțe produse în colonia de albine. Propolis (Ediția a IV-a, revizuită), București, Apimondia, 1990, p. 94), pe baza fracțiunii acide saponificabile.

Solventul a fost evaporat, extractul a fost centrifugat. Ca rezultat 1 cm³ de soluție apoasă conține 3,3 mg de substanță uscată.

Prepararea remediei. Prepararea remediei imunostimulator (Apifitostimulin) se face în felul următor. Într-o capsulă s-au cântărit extractele: extract de propolis, extract de polen și extract de miere, la care s-a luat o cantitate dublă de propilenglicol, se triturează până la obținerea soluției, care se trece într-un vas gradat de 100 ml, se adaugă treptat solventul peste extractele din capsulă, până când tot produsul este trecut în vasul gradat. Amestecul obținut se lasă în repaus 24 ore, până la depunerea unui slab precipitat, se decantează, soluția se înfiiolează și se sterilizează prin tindalizare pe parcursul a 30 min la 70°C, de 3 ori consecutiv, cu un interval de 24 ore. Preparatul obținut este valabil în decurs de 1 an, iar 1 cm³ de preparat Apifitostimulin conține 25,2...239,1 mg de substanță uscată.

Remediul imunostimulator preparat a fost testat în cadrul Catedrei Biotehnologie în Zootehnie la Universitatea Agrară de Stat din Moldova în anii 2006-2008, pe șoareci și iepuri privind: toxicitatea și inocuitatea (inofensivitatea), microbiologia, studiul antibacterian și alergia.

Aprecierile privind toxicitatea și inocuitatea remediei imunostimulator s-a făcut la iepuri, în decurs de 3 săptămâni s-a administrat remediul intramuscular, în doze de: 0,5, 1,0, 5,0 mg/kg. Rezultatele testării la toxicitate și inocuitate au fost negative.

Aprecierile privind studiul antibacterian al remediei imunostimulator s-a făcut după metoda bacteriologică, și anume metoda microscopică și metoda însămânțărilor pe medii nutritive specifice organizate. Rezultatele testării la microbiologie au arătat sterilitatea remediei obținute.

Testarea antibacteriologică la remediul imunostimulator s-a făcut comparativ cu tulpinile standard existente în laboratorul de microbiologie. Rezultatele testării antibacteriologie au arătat că remediul acționează cu efect antibiotic asupra microorganismelor din colecția laboratorului de bacteriologie: *E. coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella tiphimurium* 89, *E. faecalis* ATCC 8750, *Ps. aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ГИСК 8035.

Aprecierile privind calitatea alergică a remediei imunostimulator s-a făcut la două specii de animale, la șobolani și iepuri, și anume: șobolanilor timp de 3 săptămâni li s-a administrat remediul Apifitostimulin prin picături, în doze de: 0,5...1,0 mg/kg în sacul conjunctival la ochiul stâng, iar la cel drept – soluție izotonică de clorură de sodiu. Rezultatele testării la alergie s-au studiat după reacția conjunctivei la influența preparatului timp de 24 de ore, ea fiind negativă în toate cazurile. În experiența cu iepuri, tot în decurs de 3 săptămâni, s-a administrat remediul intramuscular, în doze de: 0,5; 1,0; 5,0 mg/kg. Rezultatele testării la alergie s-au studiat după reacția conjunctivei și probei intradermice, care au fost negative.

Au fost întreprinse cercetări privind eficacitatea dozelor optime ale remediei (tab. 1, 2, 3). În urma administrării remediei intramuscular în doză de 0,02...0,07 ml/kg de masă corporală la scroafe, iar la purcei intramuscular în doză de 0,5...1,2 ml/kg de masă corporală și la purcei peroral 5,0...10,0 ml/kg de masă corporală arată că are loc sporirea masei vii a corpului la purcei, anume la toate 3 grupe de testare, la purcei în perioada înțărării, 35 zile, masa vie a purceilor în medie pe grup este de 9,3...9,5 kg, comparabil cu grupul martor, care constituie 8,5...8,65 kg, sau cu 9,3...9,5% mai mult.

Exemple de realizare a invenției

Exemplul 1. Influența remediei asupra stării fiziologice a scroafelor și a descendenților obținuți de la ea

Investigațiile au fost efectuate la ferma de porcine din comuna Codreanca, raionul Strășeni, Republica Moldova, la Catedra Biotehnologie în Zootehnie a Universității Agrare de Stat din Moldova și Laboratorul de biochimie al Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova în anul 2006. Au fost supuse experimentului 10 scroafe și 101 purcei. Scroafele, după principiul analogic, au fost împărțite în două grupuri. Primului grup experimental (n=5) (n - numărul de animale) la a 100-a zi de la începutul gestației i s-a prestat dubla administrare a preparatului Apifitostimulin în doză de 0,02...0,07 ml/kg de masă vie, o dată pe zi, cu un interval de 10 zile. Scroafelor din grupul martor (n=5), în aceleași termene, doze și intervale, li s-a administrat remediul pe bază de hidrolizat alcalin al păsturii.

Până la testare, în timpul testării, și anume la 12 zile după a doua administrare, la animalele din ambele grupe, experimental și martor, s-au recoltat probe de sânge și rezultatele sunt indicate în tab. 4.

Descendenții obținuți de la scroafele din ambele grupuri – experimental (n=50) și martor (n=51) – au fost supuși supravegherii permanente. S-au luat în considerare: numărul de descendenți în lot de la fiecare scroafă din ambele grupuri, masa vie a corpului în dinamică începând cu ziua fătării, precum și la cea de-a 7-a zi după înțărare, s-a calculat adaosul zilnic al masei vii a corpului.

Referitor la dereglările gastro-intestinale, respiratorii ale animalelor, care au fost supravegheate zilnic, s-au efectuat investigații asupra unor indici hematologici (tab. 4). Rezultatele arată că concentrația hemoglobinei în sânge la scroafele din grupul experimental înainte de administrarea Apifitostimulinului constituie în medie 105,0±1,49 (g/l). La cea de-a 12-a zi după administrare valoarea numerică a indicelui dat se egalează cu 172,2±8,65 (g/l), deci se înregistrează o sporire cu 67,2 (g/l) sau cu 64,0% (P<0,01).

Conținutul hemoglobinei în grupul martor, în prima zi de administrare, constituie: $94,8 \pm 1,8$ (g/l), iar la sfârșitul experimentului nivelul crește cu $36,5$ (g/l), $131,3 \pm 4,5$ (g/l) sau cu (38,5%), însă el este aproape de 2 ori mai mic comparativ cu grupul experimental ($P < 0,01$).

Numărul eritrocitelor în sânge la scroafele din ambele grupuri s-a mărit. Analiza comparativă denotă că la scroafele din grupul experimental populația eritrocitelor a crescut de la $7,04 \pm 0,04$ (10^{12} celule/l) până la $7,62 \pm 0,03$ (10^{12} celule/l), sau cu (8,24%) ($P < 0,001$), pe când în grupul martor această sporire este de la $6,53 \pm 0,10$ (10^{12} celule/l) până la $6,71 \pm 0,13$ (10^{12} celule/l), sau de 3,2 ori mai mică comparativ cu grupul experimental ($P < 0,05$).

Rezultatele arată ca concentrația hemoglobinei în sânge la scroafele din grupul experimental după a doua administrare a Apifitostimulinului crește cu $67,2$ (g/l) sau cu 64%, sau aproape de 2 ori mai mult comparativ cu grupul martor, numărul eritrocitelor în sânge la scroafele din grupul experimental a crescut cu $0,58$ (10^{12} /l), pe când în grupul martor această sporire este de 3 ori mai mică. Rezultatele obținute relevă o influență stimulatorie a remediei Apifitostimulin asupra funcției hematopoietice la scroafe.

Conținutul de T-limfocite în sânge la purceii obținuți de la scroafele din grupul experimental alcătuiește $49,4 \pm 1,4\%$, ceea ce demonstrează o creștere comparativ cu grupul martor ($M = 40,75 \pm 2,0$), sau cu $21,1\%$ ($P < 0,01$) (tab. 5).

Numărul de B-limfocite în sânge la purceii din grupul experimental constituie $22,3 \pm 1,7\%$, pe când în grupul martor indicele dat este $15,7 \pm 0,8\%$, deci mai mic cu 42% comparativ cu grupul experimental (tab. 5).

Imunoglobulina-G în sângele purceilor obținuți de la scroafele din grupul experimental constituie $89,5 \pm 32,1$ (mg/dl) comparativ cu $716 \pm 72,9$ (mg/dl) în serul purceilor din grupul martor ($P < 0,05$) (tab. 6).

Imunoglobulina-M, inițial, la purceii de la scroafele supuse experimentului relevă o cantitate de $81,01 \pm 11,2$ (mg/dl), pe când la scroafele din grupul martor alcătuiește $19,0 \pm 6,1$ (mg/dl) ($P < 0,01$).

Imunoglobulina-A la purceii din grupul experimental este de $49,4 \pm 10,7$ (mg/dl) comparativ cu $23,8 \pm 1,25$ (mg/dl) în grupul martor ($P < 0,05$) (tab. 4). Rezultatele obținute relevă că administrarea remediei solicitat la scroafele gestante exercită o acțiune pozitivă nu numai asupra statutului imun la scroafe, dar și asupra descendenților lor.

Dinamica masei vii a corpului, adaosul absolut (kg) pe parcursul experimentului este prezentat în tab. 7. Astfel, masa vie a corpului la purceii fătați de scroafele din grupul experimental constituie în medie pe grup $1,595 \pm 0,027$ (kg), iar la cei obținuți de la scroafele din grupul martor $1,455 \pm 0,04$ (kg), deci cu $0,140$ (kg) sau cu 9,6% mai mare ($P < 0,05$) (tab. 7).

În cea de-a 21-a zi de viață masa vie a purceilor obținuți de la scroafele din grupul experimental este în medie pe grup de $6,817 \pm 0,08$ (kg) comparativ cu $6,238 \pm 0,06$ (kg) în grupul martor, sau cu $0,579$ kg mai mult față de martor.

Adaosul absolut al masei vii a corpului purceilor de la scroafele din grupul experimental la ziua a 21-a de viață este $5,22 \pm 0,03$ (kg), la cei de la scroafele din grupul martor $4,78 \pm 0,04$ (kg) sau cu $0,440$ kg mai mult comparativ cu grupul martor ($P < 0,01$).

În ziua înțărării, la purceii fătați de scroafele din grupul experimental masa vie a corpului în medie pe grup este de $9,305 \pm 0,11$ (kg), pe când la cei din grupul martor de $8,650 \pm 0,12$ (kg) sau cu $0,655$ (kg) mai puțin ($P < 0,001$). Adaosul absolut, pe parcursul perioadei de la naștere până la înțărare, în grupul experimental alcătuiește $7,710 \pm 0,04$ (kg), în grupul martor $7,195 \pm 0,08$ (kg), deci cu $0,515$ (kg) mai mult comparativ cu grupul martor ($P < 0,01$).

Indicii masei corporale au fost determinați și după 7 zile de la înțărare. Ei relevă că masa vie a corpului în grupul martor și cel experimental crește: $8,9 \pm 0,23$ (kg) și $10,0 \pm 0,25$ (kg), respectiv sau cu $1,1$ kg mai mult ($P < 0,05$).

Rezultatele obținute relevă că remediu Apifitostimulin administrat scroafelor gestante exercită o acțiune pozitivă asupra descendenților lor. Purceii obținuți de la scroafele din grupul experimental, cărora li s-au administrat doze duble de Apifitostimulin cu intervalul de 10 zile, mai ușor au suportat factorii stresanți provocați de procesul înțărării. Datorită administrării remediei scroafelor gestante s-a micșorat de 1,95 ori numărul cazurilor de boli gastro-intestinale.

Exemplul 2. Influența remediei asupra indicilor rezistenței nespecifice a organismului scroafelor și descendenților lor

Investigațiile au fost efectuate la ferma de porcine din comuna Codreanca, raionul Strășeni, Republica Moldova, la Catedra Biotehnologie în Zootehnie a Universității Agrare de Stat din Moldova și Laboratorul de biochimie din Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova în anii 2006-2008.

Activitatea bacterică a serului sangvin la cea de-a 12-a zi după a doua administrare la scroafele din grupul experimental s-a mărit cu 16% ($P < 0,001$) comparativ cu investigația de până la administrarea remediei Apifitostimulin, iar la scroafele din grupul martor, cărora li s-a administrat soluție de clorură de sodiu, schimbări nu s-au înregistrat (tab. 8).

Activitatea fagocitară a leucocitelor la scroafele, cărora li s-a administrat Apifitostimulin, relevă o sporire cu 17,4% ($P < 0,002$), pe când în sângele scroafelor din grupul martor practic a rămas fără schimbări (tab. 8).

Indicele activității bactericide a serului sangvin la purceii obținuți de la scroafele din grupul experimental s-a mărit cu 31% ($P < 0,01$) față de grupul martor, aceasta se lămurește prin primirea unui număr maxim de anticorpi de către purcei cu laptele mamelor. Rezultatul arată că indicele mai înalt obținut la purceii de la scroafele din grupul experimental se explică prin proprietățile stimulatorii ale remediului Apifitostimulin (tab. 8).

Activitatea hematologică la purcei la cea de-a 10-a zi denotă că indicele activității bactericide a serului sangvin în ambele grupuri de purcei diminuează cu $49,6 \pm 1,4\%$ în grupul martor, însă trebuie de constatat că indicele activității bactericide a serului sangvin obținut de la scroafele experimentale este cu 37,7% mai mare comparativ cu grupul martor ($P < 0,001$) (tab. 8).

Activitatea fagocitară a leucocitelor la purceii obținuți de la scroafele din grupul experimental constituie $36,4 \pm 1,2\%$, iar la purceii obținuți de la grupul martor $-30,0 \pm 2,0\%$. Rezultatele obținute confirmă că la animale se manifestă o creștere cu 20% ($P < 0,02$) comparativ cu grupul martor (tab. 8).

Activitatea fagocitară a leucocitelor, în ambele grupe: după 10 zile s-a înregistrat diminuare, ceea ce se explică prin particularitățile de vârstă, la grupul experimental cu $29,3 \pm 1,4\%$, iar la grupul martor cu $26,0 \pm 1,1\%$. S-a constatat că la purceii obținuți de la scroafele din grupul experimental sporește rezistența organismului, se normalizează indicii rezistenței celulare și umorale.

Studiind cazurile de patologie, rezultatele obținute de la scroafele din ambele grupe, experimental și martor, arată că administrarea Apifitostimulinului la scroafele gestante a contribuit la diminuarea numărului de cazuri de maladii gastro-intensinale și respiratorii de circa 2 ori în grupul experimental față de martor.

Exemplul 3. Influența remediului în urma administrării la nou-născuți privind indicele rezistenței specifice, funcției hematopoietice și masei corporale

Investigațiile au fost efectuate la ferma de porcine din comuna Codreanca, raionul Strășeni, Republica Moldova, la Catedra Biotehnologie în Zootehnie a Universității Agrare de Stat din Moldova și Laboratorul de biochimie din Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova în anii 2006-2008. Au fost organizate 3 grupe de purcei a câte 5 în fiecare, unde animalelor din grupul I – în ziua a 3-a și a 10-a după naștere, le-au fost administrate câte $0,5 \dots 1,2$ ml/kg masă vie a corpului de remediu Apifitostimulin intramuscular, din grupul al II-lea – remediu Apifitostimulin le-a fost administrat peroral în doză de $5,0 \dots 10,0$ ml/kg masă vie a corpului și în grupul al III-lea – martor, s-a administrat soluție fiziologică. Condițiile de întreținere și alimentație au fost adecvate cerințelor și analoage pentru toate loturile.

Influența remediului Apifitostimulin asupra metabolismului indicilor hematologici, masei vii a corpului la purceii sugaci (tab. 9) s-a determinat după concentrația hemoglobinei, unde în grupul I – a crescut cu $47,0$ g/l, sau $45,9\%$ ($P < 0,001$), indicele de hemoglobină a crescut cu $3,4$ (g/l) (tab. 6) comparativ cu grupul martor, în grupul al II-lea – a crescut cu $32,7$ g/l sau cu $32,2\%$ ($P < 0,01$), deci nivelul indicelui este mai mare de 2 ori comparativ cu grupul martor.

Numărul eritrocitelor în I grup sporește cu $0,51$ (10^{12} celule/l), sau cu $12,3\%$ ($P < 0,001$), în grupul al II-lea – experimental, cu $0,63$ (10^{12} celule/l) sau cu $15,5\%$ ($P < 0,001$). Rezultatele obținute confirmă că administrarea dublă a Apifitostimulinului purceilor stimulează funcția hematopoietică (tab. 9).

Influența remediului asupra rezistenței naturale la purcei – s-a constatat că remediu stimulează atât imunitatea celulară, cât și cea umorală.

Activitatea bacterică, după administrarea dublă a serului sangvin la purcei, unde în I grup constituia $78,2 \pm 4,6\%$, arată o creștere a indicelui nominalizat cu 34% comparativ cu grupul martor, în grupul al II-lea, experimental, constituia $76,7 \pm 3,96\%$, depășind indicele purceilor din grupul martor cu $31,6\%$.

Activitatea fagocitară a leucocitelor, după administrarea dublă a remediului, la purceii din grupul I – experimental alcătuia $37,8 \pm 3,4\%$, mai mult cu 76% față de indicele din grupul martor, în grupul al II-lea – experimental, alcătuia $34,6\%$, cu $61,7\%$ mai mult față de grupul martor. Rezultatele obținute confirmă că Apifitostimulinul administrat purceilor intramuscular în grupul I și *per os* grupului al II-lea arată o activitate stimulatorie atât asupra imunității celulare, cât și a celei umorale.

Masa vie a corpului: la administrarea preparatului Apifitostimulin la purceii din grupul I, experimental, sporește cu $5,22$ kg, sau cu $11,3\%$ mai mult comparativ cu grupul martor: $4,69 \pm 0,2$, și în grupul al II-lea constituie $5,12$ kg, respectiv cu $9,2\%$ mai mult față de grupul martor. Rezultatele obținute confirmă că Apifitostimulinul administrat purceilor exercită o influență pozitivă privind sporirea masei vii a corpului.

MD 3952 C2 2009.08.31

7

Tabelul 1

Influența remediului asupra masei corporale la purceii
obținuți de la scroafele din grupul experimental

Extract de propolis, % mas.	Extract de polen, % mas.	Extract de miere, % mas.	Propilenglicol, % mas.	Numărul de animale	Doza /ml/kg/ masă vie la scroafe	Masa vie la purceii înțărcați (kg)
5,0	3,0	3,0	89,0	5	0,07	8,90
10,0	5,0	5,0	80,0	5	0,06	8,90
20,0	10,0	10,0	60,0	5	0,05	9,305
25,0	25,0	20,0	30,0	5	0,02	8,80
M A R T O R				5		8,65

5

Tabelul 2

Influența remediului asupra masei corporale la purceii
cărora li s-a administrat preparatul intramuscular

Extract de propolis, % mas.	Extract de polen, % mas.	Extract de miere, % mas.	Propilenglicol, % mas.	Numărul de animale	Doza /ml/kg/ masă vie la purcei	Masa vie la purceii înțărcați (kg)
5,0	3,0	3,0	89,0	5	1,2	8,900
10,0	5,0	5,0	80,0	5	1,0	8,900
20,0	10,0	10,0	60,0	5	0,7	9,470
25,0	25,0	20,0	30,0	5	0,5	8,800
M A R T O R				5		8,650

10

Tabelul 3

Influența remediului asupra masei corporale la purceii
cărora li s-a administrat preparatul peroral

Extract de propolis, % mas.	Extract de polen, % mas.	Extract de miere, % mas.	Propilenglicol, % mas.	Numărul de animale	Doza /ml/kg/ masă vie la purcei	Masa vie la purceii înțărcați (kg)
5,0	3,0	3,0	89,0	5	5,0	8,600
10,0	5,0	5,0	80,0	5	6,0	8,900
20,0	10,0	10,0	60,0	5	8,0	9,300
25,0	25,0	20,0	30,0	5	10,0	9,000
M A R T O R				5		8,510

15

MD 3952 C2 2009.08.31

8

Tabelul 4

Indicii hematologici la scroafele cu dubla administrare a Apifitostimulinului

Specificare	Loturile	Perioada de cercetare	Indicii statistici	
			M±m	P
Hemoglobina (g/l)	Experimental	până la administrare	105,0±1,49	P<0,001
		la a 12-a zi după administrare	172,2±8,65	
	Martor	până la administrare	94,8±1,8	P<0,01
		la a 12-a zi după administrare	131,3±4,5	
Eritrocitele (10 ¹² celule/l)	Experimental	până la administrare	7,04±0,04	P<0,01
		la a 12-a zi după administrare	7,62±0,03	
	Martor	până la administrare	6,53±0,1	P<0,05
		la a 12-a zi după administrare	6,71±0,13	
Hematocite, %	Experimental	până la administrare	35,0±2,5	P<0,01
		la a 12-a zi după administrare	51,8±1,29	
	Martor	până la administrare	38,2±1,35	P<0,01
		la a 12-a zi după administrare	42,0±1,54	

5

Tabelul 5

Indicii conținutului de T și B-limfocite în sânge la purceii obținuți de la scroafele din grupul martor și experimental (%)

Specificare	Gr u p e l e		Autenticitate
	Martor (n=5)	Experiment (n=10)	
T-limfocite	40,75±2,0	49,4±1,4	P<0,001
B-limfocite	15,7±0,8	22,3±1,7	P<0,01

10

n – numărul de animale

Tabelul 6

Indicii imunității umorale la purceii obținuți de la scroafele cu administrarea remediului

15

Specificare	Gr u p e l e		Autenticitate
	Martor (n=5)	Experiment (n=10)	
Imunoglobulina – G (mg/dl)	716±72,9	891,5±32,1	P<0,05
Imunoglobulina – M (mg/dl)	19,0±6,02	82,01±11,2	P<0,001
Imunoglobulina – A (mg/dl)	23,8±1,25	49,9±10,7	P<0,05

n – numărul de animale

Tabelul 7

Dinamica masei vii a corpului (kg) descendenților obținuți de la scroafele, cărora li s-a administrat Apifitostimulinul

Specificare	Lotul martor	Lotul experimental	Valoarea procentuală față de martor (%)	P
	Indicii statistici $M \pm m$	Indicii statistici $M \pm m$		
Masa vie a corpului unui purcel la naștere (kg)	1,455 $\pm$ 0,04	1,595 $\pm$ 0,04	109,6	P<0,05
Masa vie a corpului la 12 zile (kg)	6,238 $\pm$ 0,06	6,817 $\pm$ 0,08	109	P<0,01
Masa vie a corpului la înțarcare (35 zile) (kg)	8,650 $\pm$ 0,12	9,305 $\pm$ 0,11	107,6	P<0,001
Masa vie a corpului unui purcel peste 7 zile de la înțarcare (kg)	8,900 $\pm$ 0,23	10,1 $\pm$ 0,25	108	P<0,05

5

Tabelul 8

Influența remediei asupra indicilor imunității celulare și umorale la scroafe și descendenți

Specificare	Loturile	Scroafe		Descendenți	
		până la administrare	la a 12-a zi după administrare	3 zile după naștere	După 10 zile de administrare
Activitatea bactericidă a serului sangvin, %	Martor	77,2 $\pm$ 1,2	78,3 $\pm$ 1,4	51,3 $\pm$ 2,6	36,2 $\pm$ 1,4
	Experimental	76,8 $\pm$ 0,65	89,2 $\pm$ 2,2	67,3 $\pm$ 2,4	49,6 $\pm$ 1,9
Activitatea fagocitară a leucocitelor, %	Martor	49,0 $\pm$ 2,1	48,9 $\pm$ 1,3	30,0 $\pm$ 2,0	26,0 $\pm$ 1,1
	Experimental	48,3 $\pm$ 1,0	56,7 $\pm$ 2,4	36,4 $\pm$ 1,2	29,3 $\pm$ 1,4

10

Tabelul 9

Evaluarea unor indici hematologici la purcei (n=5)

Specificare	Loturile (grupe)	Perioada	Indicii statistici			P
			$M \pm m$	Lim.	Td	
1	2	3	4	5	6	7
Hemoglobina (g/l)	Experimentul I	până la administrare	102,5 $\pm$ 1,15	100,9...105,0	12,8	<0,001
		după administrare	149,5 $\pm$ 3,5	142,8...159,6		
	Experimentul II	până la administrare	101,6 $\pm$ 5,6	84,0...113,4	4,5	<0,01
		după administrare	134,3 $\pm$ 4,2	126,0...142,8		
	Martor	inceputul experimentului	94,5 $\pm$ 5,4	84,0...109,2	2,1	<0,05
		sfârșitul experimentului	108 $\pm$ 3,7	96,6...117,6		
Eritrocitele ($10^{12}/l$)	Experimentul I	până la administrare	4,14 $\pm$ 0,06	4,04...4,37	7,9	<0,001
		după administrare	4,65 $\pm$ 0,05	4,51...4,79		
	Experimentul II	până la administrare	4,07 $\pm$ 0,04	4,00...4,20	15,7	<0,001
		după administrare	4,70 $\pm$ 0,01	4,66...4,83		
	Martor	inceputul experimentului	3,53 $\pm$ 0,02	3,48...3,59	0,56	<0,6
		sfârșitul experimentului	3,98 $\pm$ 0,04	3,84...4,10		
Hematocritul (%)	Experimentul I	până la administrare	22,4 $\pm$ 0,8	20,0...24,0	5,3	<0,01
		după administrare	27,2 $\pm$ 0,5	26,0...8,0		
	Experimentul II	până la administrare	20,8 $\pm$ 0,8	20,0...24,0	4,0	<0,01
		după administrare	26,4 $\pm$ 1,2	24,0...28,0		
	Martor	inceputul experimentului	19,0 $\pm$ 0,5	18,0...20,0	10,3	<0,001
		sfârșitul experimentului	25,2 $\pm$ 0,4	24,0...26,0		

Lim – variația indicilor individuali ai animalelor;
n – numărul de animale.

(57) Revendicări:

- 5 1. Remediu imunostimulator, **caracterizat prin aceea că** conține extracte alcoolice de propolis și de polen, soluție apoasă a extractului eteric de miere pe baza fracțiunii acide saponificabile și propilenglicol în următorul raport al componentelor, % mas.:
- | | |
|--|----------|
| extract alcoolic de propolis | 5...25 |
| extract alcoolic de polen | 3...25 |
| soluție apoasă a extractului eteric de miere pe baza fracțiunii acide saponificabile | 3...20 |
| propilenglicol | 30...89, |
- 10 cu concentrația substanțelor uscate de 25,1...239,1 mg/ml.
- 15 2. Metodă de imunostimulare la porcine care include administrarea remediului imunostimulator, **caracterizată prin aceea că** remediul indicat în revendicarea 1 se administrează la scroafe intramuscular în doză de 0,02...0,07 ml/kg de masă vie de două ori: la a 100-a zi de la începutul gestației și peste 10 zile după prima administrare.
- 20 3. Metodă de imunostimulare la porcine care include administrarea remediului imunostimulator, **caracterizată prin aceea că** remediul indicat în revendicarea 1 se administrează la purceii nou-născuți intramuscular în doză de 0,5...1,2 ml/kg de masă vie, ori peroral, în doză de 5,0...10,0 ml/kg de masă vie în ziua a treia și a zecea de la naștere.

25

(56) Referințe bibliografice:

1. MD 889 C2 1997.12.31
2. Михайченко В., Красочко П. Апистимулин – новый препарат для апитерапии и ветеринарии. Пчеловодство, 2004, №4, с. 53

Șef Secție:

COLESNIC Inesa

Examinator:

BANTAȘ Valentina

Redactor:

CANȚER Svetlana

RAPORT DE DOCUMENTARE

(21) Nr. depozit: a 2009 0027	(85) Data fazei naționale PCT:
(22) Data depozit: 2009.03.04	(86) Cerere internațională PCT:
Prioritatea invocată : (31) nr.: (32) data : (33) țara : (51) : Int. Cl.: A61K 9/08 (2006.01) A61K 47/06 (2006.01) A61P 3/04 (2006.01) A23L 1/076 (2006.01) A23L 1/08 (2006.01) Alți indici de clasificare: (54) Titlul : Remediu și metodă de imunostimulare la porcine (71) Solicitantul : USATENCO Victor, MD; ȚURCANU Ștefan, MD; DONICA Natalia, MD; IACHIMOVA Tatiana, MD Termeni caracteristici : a) limba română: remediu pe bază produselor apicole, extract alcoolic din propolis, extract alcoolic de pollen, extract apos de miere de albine, scroafe, purcei nou-născuți b) limba engleză: sow, piglets, pollen, propolis, honey	
I. Minimul de documente consultate (sistema clasificării și indici de clasificare Int. Cl.)	
Int. Cl.	
II. Literatura tehnico-științifică consultată adăugător la minim de documentație (autori, titluri, editura, țara și data publicării)	
III. Baze de date electronice consultate (denumirea BD și termen de documentare)	
ФИПС ESPACE ВИНТИ (Медицина) 1998-2009 nigma.ru	

IV. Documente considerate ca relevante		
Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A	http://zdorovja.com.ua/content/view/3075/248/ 2008	1
A	CN 1895498 A 2007.01.17	1
A	RU 2282455 C1 2006.08.27	1
A	MD 889 C2 1997.12.31	2
A	Михайченко В., Красочко П. Апистимулин – новый препарат для апитерапии и ветеринарии. Пчеловодство, 2004, №46 с. 53	1, 2
A	MD 890 G2 1997.12.31	1, 2
☐ Documentele următoare sunt indicate în rubrica IV		☐ Informația referitoare la brevete paralele se anexează
* categoriile speciale ale documentelor consultate:		P - document publicat înainte de data depozit, dar după data priorității invocate
A - document care definește stadiul anterior general		T - document publicat după data depozitului sau a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a pune în evidență principiul sau teoria pe care se bazează invenția
E - document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta data		X - document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă când documentul este luat de unul singur
L - document care poate pune în discuție data priorității invocate sau poate contribui la determinarea datei publicării altor divulgări sau pentru un motiv expres (se va indica motivul)		Y - document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă când documentul este asociat cu unul sau mai multe alte documente de aceeași natură, aceasta combinație fiind evidentă pentru o persoană de specialitate
O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expunere sau orice altă divulgare		& - document care face parte din aceeași familie de documente
Data finalizării documentării 2009.04.28		
Examinatorul Bantaș Valentina		