



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

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

(11)



1-0045123

(51)<sup>7</sup> A23K 50/80; A23K 20/10; A61K 31/33; (13) B  
A61K 31/04; A61K 31/19; A23K 20/00

(21) 1-2017-05335

(22) 31/10/2017

(86) PCT/PE2017/000024 31/10/2017

(87) WO 2018/034577 A2 22/02/2018

(30) 899-2017/DIN 22/05/2017 PE

(45) 25/04/2025 445

(43) 25/02/2020 383A

(71) VITAPRO S.A. (PE)

Av. Argentina 4793, Carmen de la Legua Reynoso, Callao - Peru

(72) MONTALVAN MENA, Brenda Denisse (PE); BOWLER TABOADA, Brenda (PE);  
ESPINOZA PARDO, Carlos Manuel (PE); TENNISON PADOVANI, Jessica Kathya  
Alexandra (PE); ROJAS MELENDEZ, Pablo César (PE).

(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) THỰC PHẨM CHỨA THUỐC DỪNG CHO TÔM BIỂN HOẶC TÔM HE ĐƯỢC  
CHỈ ĐỊNH ĐIỀU TRỊ BỆNH HOẠI TỬ GAN TỤY VI KHUẨN (NHP-B) DO  
CANDIDATUS HEPATOBACTER PENAEI GÂY RA VÀ CÁC BỆNH ĐỒNG  
NHIỄM DO CÁC VIBRIO GÂY BỆNH GÂY RA

(21) 1-2017-05335

(57) Sáng chế đề cập đến thực phẩm chứa thuốc dùng cho động vật thủy sinh ở dạng viên nhỏ, được chỉ định để điều trị bệnh hoại tử gan tụy vi khuẩn (NHP-B) do *Candidatus Hepatobacter penaei* gây ra và các bệnh đồng nhiễm do các vibrio gây bệnh gây ra, khác biệt ở chỗ chế phẩm này chứa oxytetracycline và hỗn hợp ít nhất hai axit được chọn từ axit fumaric, axit benzoic, axit formic, axit axetic, axit propionic, axit orthophosphoric, axit lactic, axit xitric, axit butandioic, axit malic hoặc tổ hợp của chúng.

### **Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập**

Sáng chế đề cập đến thực phẩm chứa thuốc cho động vật thủy sinh, cụ thể hơn là cho tôm (shrimp) biển hoặc tôm he (prawn), được chỉ định điều trị bệnh hoại tử gan tụy vi khuẩn (Bacterial Hepatopancreatic Necrosis - NHP-B) do *Candidatus Hepatobacter penaei* gây ra và các bệnh đồng nhiễm các vibrio gây bệnh gây ra và sáng chế đề cập đến lĩnh vực nuôi trồng thủy sản, cụ thể là thực phẩm được làm thích ứng cho động vật thủy sinh.

### **Tình trạng kỹ thuật của sáng chế**

Bệnh hoại tử gan tụy vi khuẩn (NHP-B) là do nhiễm vi khuẩn alpha-proteobacteria gram âm đa hình nội bào *Candidatus Hepatobacter penaei* gây ra (Frelie et al., 1992; Lightner & Redman, 1994; Lightner et al., 1992; Loy et al., 1996a; Loy et al., 1996b). Loài chủ chính mà vi khuẩn gây hoại tử gan (necrotizing hepatobacteria - NHP-B) có thể gây ra dịch bệnh và tử vong đáng kể *Litopenaeus vannamei* và *Penaeus stylirostris* (Del Rio-Rodriguez et al., 2006; Frelie et al., 1993; Ibarra-Gámez et al., 2007; Lightner & Redman, 1994; Morales-Covarrubias et al., 2011). NHP-B có hai pha riêng biệt: pha ban đầu và pha cấp. Bệnh ở pha cấp có đặc trưng là quan sát thấy các thương tổn bệnh lý trong các lát cắt mô, pha này cũng có thể được chẩn đoán vào ngày thứ 10 sau khi nhiễm bằng cách PCR gan tụy (Morales-Covarrubias, 2010, Morales-Covarrubias et al., 2010; Covarrubias et al., 2012; Vincent & Lotz, 2005). Việc sử dụng kháng sinh oxytetracycline và florfenicol 50% trong mỗi thuốc mỗi 8 giờ trong 10 ngày có thể là phương pháp điều trị tốt nhất chống lại HPN hiện có, đặc biệt nếu bệnh được phát hiện ở pha ban đầu (Frelie et al. al., 1995; Morales-Covarrubias et al., 2012). Tuy nhiên, FDA khuyến nghị khóa điều trị 15 ngày.

*Candidatus hepatobacter penaei* là mầm bệnh nội bào bắt buộc ở *Litopenaeus vannamei*, tôm trắng Pacific, mà có không thể phát triển trong môi trường không có tế bào. Phạm vi địa lý bị giới hạn ở bán cầu tây. Sinh vật gram âm này di động được bằng tám tiên mao nằm ở chồi cơ bản. Vi khuẩn này có hai biến thể hình thái gồm sinh vật có

hình que (0,25 x 0,9  $\mu\text{m}$ ) và sinh vật có hình xoắn (0,25 x 2 đến 3,5  $\mu\text{m}$ ). Phân tích về phát sinh loài, suy ra từ các trình tự rARN 16S và gen gyrA B, cho thấy vi khuẩn này thuộc lớp *Alphaproteobacteria* (Nunan, L. M., Pantoja, C. R., Gomez-Jimenez, S., & Lightner, D. V. (2013). “*Candidatus Hepatobacter penaei*,” một vi khuẩn nội bào gây bệnh đường ruột ở gan tụy của tôm biển *Penaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda), *Applied and Environmental Microbiology*, 79 (4), 1407-1409, <http://doi.org/10.1128/AEM.02425-12>).

Bệnh vibriosis là bệnh do vi khuẩn thuộc chi *Vibrio* gây ra, tạo ra các thương tổn hoại tử ở các mô của sinh vật bị nhiễm. Bệnh này quan trọng đối với các trại nuôi tôm. Tuy nhiên, trong hầu hết các trường hợp, vi khuẩn *Vibrio* được xem là mầm bệnh cơ hội đối với tôm (Soto-Rodriguez, S. A., Gomez-Gil, B., Lozano-Olvera, R., Betancourt-Lozano, M., & Morales-Covarrubias, M. S. (2015), Field and Experimental Evidence of *Vibrio parahaemolyticus* as the Causative Agent of Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease of Cultured Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in Northwestern Mexico, *Applied and Environmental Microbiology*, 81(5), 1689–1699. <http://doi.org/10.1128/AEM.03610-14>).

Cả hai mầm bệnh gây ra những tổn thương đối với gan tụy của tôm, gây hoại tử cơ quan. *Candidatus hepatobacter penaei* xâm nhập vào tế bào gây chết tế bào và phép điều trị duy nhất đã biết là bằng kháng sinh, vì chúng có khả năng xâm nhập vào tế bào và hoạt động dạng vi khuẩn. Mặt khác, các vi khuẩn vibrio là các vi khuẩn ngoại bào mà gây ra thương tổn gan tụy thông qua việc tiết ra các độc tố từ bên ngoài. Các chất kháng sinh thường tạo ra tính kháng ở vibrio, vì vậy đã phát hiện rằng các axit là thích hợp để điều trị.

Từ tình trạng hiện thời về lĩnh vực này, chưa thể đưa ra các phương pháp điều trị hoặc chế phẩm mà trực tiếp điều trị được các bệnh đồng nhiễm ở tôm đặc biệt do *Candidatus Hepatobacter penaei* và các vi khuẩn gây bệnh gây ra, thay vào đó là các tài liệu sáng chế và bảo hộ khoa học trong đó việc sử dụng Oxytetracycline hoặc một số axit được thực hiện riêng rẽ, để giải quyết các vấn đề mà không liên quan đến đối tượng được đề xuất theo sáng chế.

Tài liệu CN 105614161 đề cập đến chế phẩm thực phẩm dùng cho cá và tôm và phương pháp chế biến, thực phẩm này được chế biến từ 5 g đến 10 g bột đậu tương, 8 g

đến 10 g bột lạc, 6 g đến 8 g hạt tan, 5 g đến 10 g bột cá, 5 g đến 10 g tôm, 1 g đến 2 g canxi hydrophosphat, 3 g đến 8 g đất tảo cát, 0,05 g đến 0,1 g sulphat của đồng, 0,05 g đến 0,08 g kẽm sulfat, 0,01 g đến 0,1 g dầu cá oleum morrhuae, 0,05 g đến 0,1 g nấm men, 0,01 g đến 0,02 g lysin, 0,01 g đến 0,02 g methionin, 0,01 g đến 0,015 g oxytetracycline, 0,2 g đến 0,5 g hydroxytoluen đã butyl hóa, 0,1 g đến 0,2 g axit propionic, 0,1 g đến 0,5 g astaxanthin, 0,1 g đến 0,5 g glyxin betain, 5 g đến 10 g natri alginat, 0,1 g đến 0,5 g hydroxymetyl xenluloza và 8 g đến 10 g hệ vi sinh vật. Thực phẩm này được sử dụng để nuôi cá và tôm.

Theo tài liệu US 20060127453, có tham khảo các được thực phẩm và phương pháp cho ăn đối với các động vật thủy sinh, tài liệu này mô tả cách để sử dụng các hoạt chất sinh học và các vi sinh vật probiotic cho động vật thủy sinh ở dạng hạt rất nhỏ khô hoặc ướt với các thành phần dinh dưỡng chính kết hợp với tinh bột tan và alginat liên kết ngang; các hoạt chất sinh học và các vi sinh vật probiotic có thể gắn kết bởi tinh bột có hàm lượng amyloza cao được nhũ hóa và đưa vào các hạt ở dạng vi hạt.

Tài liệu US 20130156816 mô tả các chế phẩm, phương pháp và kit để sử dụng carotenoid được biến đổi bằng cách oxy hóa khử hoặc thành phần đã phân đoạn của nó, dùng cho nuôi trồng thủy sản.

Tài liệu WO 14205531 mô tả thực phẩm được bổ sung các hoạt chất và tạo vỏ polyme dùng cho nuôi trồng thủy sản, có khả năng làm giảm tỷ lệ rò rỉ thành phần hoạt tính vào nước. Ngoài việc được sử dụng để kiểm soát bệnh mà ảnh hưởng đến động vật trong nuôi trồng thủy sản, bao gồm cá, ếch và cua, thực phẩm này cũng có thể được sử dụng với nồng độ thấp làm tác nhân dự phòng cho các động vật này.

Theo tài liệu CN105995218, sáng chế này mô tả các thành phần dinh dưỡng hữu cơ d-Guangxi trong thức ăn và phương pháp cho ăn trong nuôi cá thủy sản, thức ăn này bao gồm các thành phần sau theo khối lượng: protein PF 30-35, oxytetracycline, như 0,5 -1,5. Ding Gui được đề xuất trong sáng chế về thực phẩm dinh dưỡng phức dùng cho cá và phương pháp cho ăn, chương trình hoàn thiện, công nghệ xử lý giải phóng có kiểm soát, phương pháp chế biến thức ăn dạng vi nang, mà không phân tán trong nước, có thể duy trì hữu hiệu thành phần dinh dưỡng và các nguyên liệu làm lõi thực phẩm được giữ trong các điều kiện dinh dưỡng. Phương pháp nuôi đồng thời sử dụng nhiều nguyên liệu thô trong công nghệ cho ăn và phân bố thích hợp, tạo ra nhiều thành phần dinh dưỡng

bổ sung khác nhau chứa nguyên liệu thô này, việc cho ăn chất dinh dưỡng giàu protein và đầy đủ, ngon, tỷ lệ thực ăn thấp có thể cải thiện khả năng miễn dịch và khả năng chống oxy hóa, tỷ lệ sống sót của Dìng Guiyu.

Tài liệu “*Effect of Organic Acids on the Shrimp Pathogen*” của Mine S, Boopathy R., đề cập đến việc nuôi tôm và việc sản xuất tôm trên thế giới. Luminous vibriosis là bệnh ở tôm mà gây ra những mất mát về kinh tế lớn trong công nghiệp nuôi tôm do tỷ lệ tử vong lớn của tôm khi nhiễm bệnh này. Một số trang trại ở Nam Á sử dụng kháng sinh để kiểm soát loài *Vibrio harveyi*, mầm bệnh gây ra bệnh luminous vibriosis. Tuy nhiên, gần đây đã phát hiện thấy chủng kháng kháng sinh ở nhiều trại nuôi tôm, điều này khiến cho việc phát triển phương pháp thay thế để kiểm soát mầm bệnh là cần thiết. Các axit béo mạch ngắn là các sản phẩm chuyển hóa của sinh vật, và đã được sử dụng làm chất bảo quản trong thời gian dài. Các axit cũng thường được bổ sung vào thức ăn trong chăn nuôi động vật, nhưng không phải trong nuôi trồng thủy sản. Trong nghiên cứu này, tác dụng ức chế sinh trưởng của axit béo mạch ngắn, cụ thể là axit formic, axit axetic, axit propionic và axit butyric ở *V. harveyi*, được nghiên cứu. Trong số bốn axit này, axit formic thể hiện hiệu quả ức chế mạnh nhất tiếp theo là axit axetic, axit propionic và axit butyric. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) 0,035% của axit formic kìm hãm sự phát triển của *V. harveyi*. Cơ chế ức chế chính có thể là tác dụng pH của axit. Đã xác định được rằng giá trị nồng độ hữu hiệu 50 (EC 50) ở 96 giờ ù đối với tất cả các axit là 0,023, 0,041, 0,03 và 0,066% lần lượt cho axit formic, axit axetic, axit propionic và axit butyric. Kết quả của nghiên cứu trong phòng thí nghiệm thúc đẩy việc phối chế thức ăn cho tôm với các axit để phòng trừ nhiễm vibrio trong các trang trại nuôi tôm.

Trong tài liệu “*Vibrio multiresistant associated with an estuary affected by shrimp farming in northeastern Brazil*” của Rocha Rdos S, Sousa OV, Vieira RH., các vi khuẩn thuộc chi *Vibrio* với khả năng kháng nhiều thuốc trong môi trường nuôi tôm đã trở lại. Do đó, mục đích của nghiên cứu này là đánh giá profin kháng chất kháng vi sinh vật của 70 chủng *Vibrio* được phân lập từ nước và bùn lắng từ Acaraú estuary, Ceará, Brazil. Để đạt được mục đích này, kỹ thuật khuếch tán đĩa được sử dụng với các chất kháng vi sinh vật sau: ampicillin (Amp), aztreonam (Atm), cephalothin (Cef), cefotaxime (Ctx), ceftriaxone (Cro), ciprofloxacin (Cip), chloramphenicol (Clo), florfenicol (Flo), nitrofurantoin (Nit), gentamicin (Gen), oxytetracycline (Otc), tetracycline (Tet), streptomycin (Str), axit nalidixic (Nal) và sulfazotrim (Sut). Tất cả các chủng *Vibrio* đều

kháng ít nhất một chất kháng vi sinh vật, đã xác nhận có 17 profin kháng nhiều thuốc. Tất cả các chủng kháng Otc và Tet đặc trưng bởi tính kháng plasmit. Do đó, các chủng *Vibrio* từ Acaraú estuary có nguy cơ ảnh hưởng đến sức khỏe cộng đồng và môi trường thủy sinh.

Trong tài liệu “*Profile of antimicrobial resistance of Vibrio species isolated from marine shrimp culture environments (Litopenaeus vannamei) in Ceará, Brazil*”, Rebouças RH, của Sousa OV, Lima AS, Vasconcelos FR, từ Carvalho PB, Vieira RH., công nghiệp nuôi tôm ở Braxin có tầm quan trọng kinh tế lớn chủ yếu đối với vùng đông bắc. Tuy nhiên, sự phát triển nhanh chóng của hoạt động này dẫn đến sự xuất hiện của nhiều dịch bệnh đối với tôm nuôi nông nghiệp và, kết quả là, dẫn đến việc sử dụng chất kháng vi sinh vật để giảm thiểu tác dụng bất lợi tiềm tàng lên sản xuất tôm. Việc sử dụng chất kháng sinh không phù hợp trong nuôi trồng thủy sản là một trong số những nguyên nhân gây ra tỷ lệ cao vi khuẩn kháng chất kháng vi sinh vật phân lập được từ môi trường thủy sinh mà nguy hiểm với sinh vật thủy sinh và sức khỏe con người. Có rất ít thông tin về mức kháng chất kháng vi sinh vật của vi khuẩn gây bệnh trong môi trường nuôi tôm. Do đó, nghiên cứu này nhằm mục đích đánh giá profin tính kháng kiểu hình của các vi khuẩn *Vibrio* phân lập từ mẫu nước, từ máy ủ và gan tụy từ tôm biển được nuôi (*L. vannamei*). Thử nghiệm độ mẫn cảm với chất kháng vi sinh vật được tiến hành bằng cách sử dụng phương pháp khuếch tán đĩa chuẩn và nồng độ ức chế tối thiểu (minimum inhibitory concentration - MIC) của oxytetracycline (OTC) đối với các *Vibrio* phân lập kháng được xác định bằng phương pháp pha loãng môi trường lỏng. Kết quả thể hiện tỷ lệ kháng cao đối với lớp ampicillin (45,2%) và tetracycline (38,7%). Florfenicol và nitrofurantoin hữu hiệu 100% chống lại các *Vibrio* phân lập. Trong nghiên cứu này, *Vibrio spp.* kháng OTC thể hiện các giá trị MIC cao hơn 400mg/L và sự có mặt của nước biển không ảnh hưởng đến tính sinh khả dụng của oxytetracycline. Quan sát thấy biểu hiện của phổ kháng nhiều chất kháng vi sinh vật ở 29% số *Vibrio* phân lập. 55% các *Vibrio* phân lập kháng nhiều thuốc bị mất một hoặc nhiều kiểu hình kháng kháng sinh sau quy trình xử lý plasmit kháng. Kháng oxytetracycline là kiểu hình bị mất phổ biến nhất trong số các thể phân lập được xử lý bằng plasmit.

Theo những nội dung trên đây, có thể cho rằng tài liệu CN 105614161 mô tả chế phẩm dùng cho tôm chứa, trong số những thành phần khác, oxytetracycline và axit propionic; tuy nhiên, tài liệu này đề cập đến thực phẩm để nuôi cá và tôm và không đề

cập đến việc điều trị dựa trên các yếu tố này để chữa bệnh; ngoài ra, mặc dù bộc lộ thành phần như vậy, tài liệu này đưa ra các thành phần được sử dụng rất cụ thể và không dự tính về các axit khác như được bộc lộ trong sáng chế. Tài liệu US20060127453, một phần của nó, đề cập đến việc sử dụng oxytetracycline và các chất khác làm hoạt chất sinh học, các polyme để chế biến được thực phẩm trong thức ăn cho động vật thủy sinh, mà không bao gồm axit bất kỳ. Cuối cùng, bài báo khoa học “Effect of organic acids on the shrimp pathogen, *Vibrio harveyi*” mô tả việc sử dụng axit như axit formic, axit axetic, axit propionic và axit butyric trong điều trị *Vibrio harveyi*, nhưng tài liệu này không phát triển chế phẩm thực phẩm hoặc đề cập đến việc sử dụng oxytetracycline kết hợp với ít nhất hai axit để chống lại bệnh đồng nhiễm ở tôm.

Theo cách này, các chế phẩm được viện dẫn trong tài liệu sáng chế, bài báo khoa học này và trong các chế phẩm có trong thực tế không giải quyết được vấn đề cụ thể về điều trị các bệnh đồng nhiễm do mầm bệnh *Candidatus Hepatobacter penaei* và các vibrio gây ra ở tôm.

### **Bản chất kỹ thuật của sáng chế**

Mục đích của sáng chế là giải quyết vấn đề về tỷ lệ tử vong trong nuôi tôm biển hoặc tôm he do NHP và các bệnh đồng nhiễm do vibrio gây ra; bên cạnh việc đề xuất thực phẩm chứa thuốc mà cung cấp dinh dưỡng cho các động vật này trong khi vẫn chống lại được bệnh đồng nhiễm.

Giải pháp cho vấn đề nêu trên được phát triển bởi sáng chế liên quan đến thực phẩm chứa thuốc dùng cho tôm biển hoặc tôm he được chỉ định trong điều trị *Candidatus Hepatobacter penaei* và các bệnh đồng nhiễm do các vibrio gây bệnh gây ra chứa oxytetracycline và hỗn hợp các axit trong liều dinh dưỡng (viên nhỏ); theo cách này, chế phẩm này được kết hợp vào chế độ ăn hàng ngày của chúng, giảm tỷ lệ chết trong môi trường nuôi tôm biển hoặc tôm he do NHP và do nhiễm các vibrio gây bệnh.

Oxytetracycline là dẫn xuất thuộc họ chất kháng sinh, được chiết từ *Streptomyces rimosus*, với hoạt tính kìm hãm vi khuẩn - kháng vi khuẩn trên nhiều vi sinh vật gram dương và gram âm, Chlamydias, Mycoplasma, Rickettsia, v.v. Cơ chế hoạt động của nó tác dụng trên ribosom của vi sinh vật tại đó nó làm biến đổi quá trình tổng hợp protein và ức chế sự sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật, mặc dù chúng có thể hoạt động như là các chất kháng vi khuẩn khi đạt nồng độ cao trong các mô nhất định.



Về phần chúng, các axit thể hiện hai loại tác dụng khác nhau trên vi sinh vật, mặc dù các tác dụng này có liên quan chặt chẽ. Đầu tiên là tác dụng kháng vi sinh vật do tính axit, tức là, bằng cách giảm độ pH ngoại bào. Loại thứ hai, quan trọng hơn trong thực tế, là tác dụng kháng kháng vi sinh vật nhờ dạng không phân ly, mà đi qua thành tế bào, và gây giảm độ pH nội bào.

Tất cả các vi sinh vật có độ pH sinh trưởng tối ưu và chúng không thể tăng sinh ngoài khoảng pH này. Độ pH này chỉ độ pH của môi trường hoặc pH ngoại bào, vì độ pH nội bào cần phải gần với trung tính, ngay cả với độ pH nội bào của vi sinh vật mà sinh trưởng tốt nhất ở độ pH axit (ưa axit).

Theo một khía cạnh chung, sáng chế đề xuất thực phẩm chứa thuốc dùng cho tôm biển hoặc tôm he, cụ thể hơn là dùng cho tôm trắng *Litopenaeus vannamei*, được chỉ định điều trị *Candidatus Hepatobacter penaei* và các bệnh đồng nhiễm do các vibrio gây bệnh gây ra, trong đó thực phẩm chứa thuốc này chứa thức ăn được phối chế với oxytetracycline và ít nhất hai axit vì, như đã nêu, mặc dù việc sử dụng kháng sinh oxytetracycline hiện rất thích hợp để điều trị HPN, các kháng sinh này thường tạo ra tính kháng ở các vibrio. Theo cách này, để điều trị bệnh đồng nhiễm trong đó ngoài NHP-B, giống tôm còn bị tấn công bởi các vibrio, đã thấy rằng cần phải điều trị hoàn toàn các bệnh bằng chế phẩm mà kết hợp thành phần mà có tác dụng trên vibrio như axit.

Dựa trên tài liệu về điều trị NHP-B, đã quyết định sử dụng chất kháng sinh oxytetracycline mà liều được ước lượng có xem xét đến tỷ lệ phân trăm rò rỉ trong dây chuyền sản xuất và nước; các giá trị này thu được sau khi tiến hành thử nghiệm để đánh giá mất mát bằng kỹ thuật như phương pháp phát hiện bằng HPLC (sắc ký lỏng hiệu năng cao). Để điều trị bệnh vibriosis, đã quyết định đánh giá loạt các axit bằng thử nghiệm về nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) trên các chủng vi khuẩn vibrio phân lập được từ đồng ruộng ở Peru và Ecuador. Các phép đánh giá này được thực hiện với các hỗn hợp axit khác nhau đến khi tìm ra tổ hợp hữu hiệu nhất mà ức chế sự sinh trưởng của vi khuẩn ở liều thấp. Sau đó, hỗn hợp các axit này được kết hợp vào chế phẩm cùng với chất kháng sinh và thử nghiệm 50% trên đồng ruộng được tiến hành để đánh giá độ hữu hiệu trong điều trị cả hai bệnh. “Thử nghiệm 50% trên đồng ruộng” nghĩa là thử nghiệm được thực hiện trong hoàn cảnh thực tế, ví dụ, trang trại nuôi tôm, trong đó đã phát hiện

là nồng độ thấp nhất của chế phẩm (oxytetracycline + hỗn hợp các axit) mà ở đó 50% số vi sinh vật gây bệnh được phân lập bị ức chế.

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa thuốc chứa, ngoài oxytetracycline (OTC), ít nhất hai axit từ nhóm: axit fumaric, axit benzoic, axit formic, axit axetic, axit propionic, axit orthophosphoric, axit lactic, axit xitric, axit Butandioic và axit malic.

Các axit nêu trên được sử dụng kết hợp, trong khi chế phẩm được ưu tiên là như sau:

- a) Fumaric 50% và Benzoic 5%
- b) Formic 50% và Propionic 50%
- c) Formic 39,4%, axetic 18,7% và Propionic 9,3%
- d) Formic 28,6%, Propionic 10,5%
- e) Formic 16,1%, Lactic 14,1%, Axetic > 1%, Orthophosphoric 20,5%, xitric > 1%, Propionic > 1% và Fumaric > 1%
- f) Formic 40%, Fumaric 55% và xitric < 5%
- g) Butandioic 10%, Malic 25%, xitric 20%, Lactic 23% và Fumaric 20%.

Trong thử nghiệm sau đây, tác dụng lên khả năng tồn tại của thực phẩm chứa thuốc ở tôm bị nhiễm *Candidatus Hepatobacter penaei* và các vibrio đồng ruột được đánh giá.

Việc đánh giá được tiến hành ở Tumbes trong khoảng 30 ngày vào tháng hai và tháng ba năm 2016 trên tôm trắng, *Litopenaeus vannamei*, với khối lượng sống khoảng 6 gam được nuôi trong 10 hồ với mật độ 40 tôm/m<sup>2</sup>.

Số tôm chết được đếm hằng ngày và phân tích loại trừ được tiến hành về *Candidatus Hepatobacter penaei* hằng tuần bằng phương pháp PCR và số vibrio bằng cách nuôi cấy trên aga TCBS.

### Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1 thể hiện tỷ lệ phần trăm tôm chết trong khi tiến hành thử nghiệm. Có thể quan sát thấy rằng trong các tuần 18 và 25 tháng hai, tỷ lệ phần trăm tôm chết tăng, điều này chỉ ra rằng bệnh đang diễn ra.

Fig. 2 thể hiện tỷ lệ phần trăm tôm nhiễm bệnh vibriosis ở điều kiện cao, đường gạch ngang là tỷ lệ phần trăm tôm có mức vibrio bình thường, hình tròn là tôm có mức vibrio bình thường đến cao, hình tam giác là tôm có mức vibrio cao và màu xám không đánh dấu là tôm nhiễm vibrio nặng. Có thể quan sát thấy rằng trong các tuần 18 và 25 tháng hai, tỷ lệ % tôm nhiễm ở mức cao tăng, có liên quan đến số chết trong ống siphon.

### Mô tả chi tiết sáng chế

Vào ngày 3 tháng ba, thu được kết quả tích cực đối với *Candidatus Hepatobacter penaei* (xem ô có dấu hoa thị trong Fig. 2). Khoảng thời gian sử dụng chế phẩm chứa thuốc được chỉ ra trên Fig. 2.

Từ ngày này, việc sử dụng qua đường miệng thực phẩm chứa thuốc bắt đầu trong khoảng thời gian 15 ngày. Trong giai đoạn này, đã quan sát thấy rằng tỷ lệ phần trăm tôm bị nhiễm vibrio giảm và số tôm chết không tăng, bất kể việc hai bệnh đều được chẩn đoán, nhờ đó chứng tỏ độ hữu hiệu của cả hai phép điều trị chống lại các bệnh này.

Theo khía cạnh thứ hai, sáng chế đề xuất thực phẩm chứa thuốc trong đó mục đích là điều trị *Candidatus Hepatobacter penaei* và các bệnh đồng nhiễm do các vibrio gây bệnh gây ra, trong khi cung cấp thức ăn cân bằng cho tôm biển hoặc tôm he. Để phát triển loại thức ăn này, công thức cơ bản bao gồm các nhu cầu dinh dưỡng được thiết lập cho sự sinh trưởng đầy đủ của loài được cho sử dụng. Thực hiện điều chỉnh thành phần protein và cân bằng năng lượng, sao cho thức ăn có thể đáp ứng nhu cầu dinh dưỡng trước giai đoạn căng thẳng ở tôm.

Trong số các thành phần để điều chế thực phẩm chứa thuốc là: bột hạt dầu xay thô (25-35%), bột thành phần có nguồn gốc từ biển (15-25%), sản phẩm phụ của ngũ cốc (2-10%), lúa mỳ (14-24%), dầu có nguồn gốc từ biển (1-3%), dầu thực vật (1-3%), canxi cacbonat (0,0-1,5%), natri clorua (0,5-1,5%), oxytetracycline TM 700 (0,9%), hỗn hợp các vitamin và khoáng chất trộn sẵn (0,3%), axit (0,2%), kali phosphat (0,05-0,2%) và natri phosphat (0,05-0,2%).

Thực phẩm chứa thuốc đã nêu sau khi phân tích dinh dưỡng là chế phẩm được đảm bảo như sau: Protein tối thiểu 35%, chất béo tối thiểu 5%, chất xơ tối thiểu 3%, độ ẩm tối đa 12%, chất tro tối đa 10%.

Chế phẩm này được cung cấp ở các định dạng (kích cỡ) khác nhau theo giai đoạn nuôi tôm trong khoảng thời gian cho ăn 14 ngày, để có khoảng thời gian sau đó không dùng thuốc trước khi thu hoạch vào 30 ngày.

Thực phẩm chứa thuốc chứa oxytetracycline và ít nhất hai axit được chọn từ nhóm gồm: axit fumaric, axit benzoic, axit formic, axit axetic, axit propionic, axit orthophosphoric, axit lactic, axit citric, axit butandioic và axit malic, và ở dạng viên nhỏ.

Các viên nhỏ là các viên nén vô trùng nhỏ có hình dạng và kích cỡ thích hợp và đảm bảo giải phóng hoạt chất trong khoảng thời gian dài. Việc gia công viên nhỏ bằng cách ép viên là quy trình trong đó các thành phần hữu cơ còn lại được chuyển thành các phần nguyên liệu ngon hơn và dễ tiêu hóa hơn đối với động vật.

Đối với viên nhỏ chứa hoạt chất bên trong, nên đưa hoạt chất cơ bản vào trong thực phẩm được chế biến trong dây chuyền sản xuất cân bằng.

Đối với viên nhỏ chứa hoạt chất bên ngoài, hoạt chất cơ bản hoặc HCl dạng bột được phun và/hoặc trộn với dầu cá và bao lên viên nhỏ, theo tỷ lệ 1 L dầu trên 40 Kg thức ăn; viên này được dùng cho mục đích giải phóng có kiểm soát hoạt chất, lớp bao có thể được đưa lên viên nhỏ, sự giải phóng hoạt chất diễn ra bằng cách hòa tan lớp bao hoặc khuếch tán hoạt chất đã pha loãng, các viên nhỏ này có thể được tạo vỏ để bảo vệ hoạt chất và cải thiện việc thao tác với chúng.

Ưu điểm của thực phẩm dạng viên nhỏ là: ít lãng phí thức ăn, tăng tỷ trọng (tỷ trọng riêng) của thực phẩm, khả năng tiêu hóa tinh bột và protein cao hơn, động vật ít lựa chọn thức ăn, ít tách rời các hạt hơn trong thiết bị cho ăn, giảm nguy cơ mắc bệnh, cải thiện năng suất động vật, giảm việc cho ăn chọn lọc, các đặc tính thao tác với nguyên liệu tốt hơn, tiêu diệt sinh vật gây hại.

Quy trình tạo viên nhỏ bao gồm kết tụ các hạt nhỏ của hỗn hợp, trong các bộ phận dài hoặc ép chặt bằng quy trình cơ học kết hợp với độ ẩm, nhiệt và áp suất; tất cả điều này cải thiện các đặc tính của thức ăn động vật nuôi (Behnke K., 2001). Quy trình trong dây chuyền sản xuất bắt đầu bằng việc nghiền các thành phần hữu cơ để chuyển chúng thành các bột đồng nhất, mà sau đó được phối chế hoặc trộn với các chất dinh dưỡng, mà cũng là tự nhiên và có giá trị tự nhiên cao. Các bột này trải qua quy trình tạo viên nhỏ trong máy tạo viên. Tạo viên nhỏ là quy trình ướt có gia nhiệt, nhiệt độ mà sản phẩm

đạt tới là 82 đến 88°C, với độ ẩm 15,5-17% trong 30 đến 45 giây. Bằng cách sử dụng nhiệt thực hiện được việc gelatin hóa các tinh bột và đạt được độ hấp thu các chất dinh dưỡng cao hơn, ngoài ra, một số mầm bệnh mà có thể nhiễm vào sản phẩm cũng giảm, trong khi đó độ ẩm làm cho trơn hơn, làm mềm và gelatin hóa tinh bột. Khi thực phẩm đã được tạo điều kiện độ ẩm và nhiệt độ, việc ép diễn ra trong nền gọi là khuôn, có cỡ miệng giống với khuôn mà tạo ra viên nhỏ có đường kính nhất định, trong khu độ dài sẽ phụ thuộc vào việc hiệu chuẩn lưới cắt mà thực hiện việc cắt các hạt dài. Khi tiến hành tạo viên nhỏ, đảm bảo rằng các thành phần đã trộn trước đó được nén thành dạng viên nén mà cải thiện khả năng chấp nhận và sử dụng nó bởi động vật. Cuối cùng, các viên nhỏ được để cho mát và chuyển sang giai đoạn đóng gói trong đó nhân viên kiểm tra các túi đảm bảo chúng được khâu kín, với ngày sản xuất và ngày hết hạn. Điều này cũng đảm bảo giữ được tính thống nhất của sản phẩm và đảm bảo rằng nó không bị thay đổi để chắc chắn rằng chất lượng được duy trì đến khi sản phẩm này đến tay khách hàng trực tiếp. Các sản phẩm/sản phẩm phụ thu được được thu nhận dưới dạng viên nhỏ thành phẩm mà đích đến của nó là thức ăn động vật.

Theo thực tiễn thông thường, các chất phụ trợ kháng vi khuẩn trong đất được đưa vào ở dạng viên nhỏ chứa hoạt chất bên ngoài, bằng cách tẩm trong hỗn hợp với các chất kết dính hoặc dầu thương mại. Nhược điểm của phương pháp này là ở chỗ các chất phụ trợ này tan trong nước, do đó tỷ lệ rò rỉ là cao và lên tới 80% hỗn hợp bị thất thoát trong 60 phút (xem bảng 1). Chế phẩm chứa thuốc thức ăn chứa các chất phụ trợ dạng viên nhỏ chứa hoạt chất bên trong trong ví dụ này, khi chúng được đưa vào trong quá trình sản xuất. Điều này làm giảm độ rò rỉ các chất phụ trợ vào nước.

**Bảng 1.** Tỷ lệ phần trăm rò rỉ vào nước của thực phẩm chứa thuốc và thức ăn chứa các chất phụ gia dạng viên nhỏ chứa hoạt chất bên ngoài

|                                                     | 15 phút | 30 phút | 60 phút |
|-----------------------------------------------------|---------|---------|---------|
| Thực phẩm chứa thuốc                                | 7%      | 8%      | 14%     |
| Chất phụ gia dạng viên nhỏ chứa hoạt chất bên ngoài | 57%     | 63%     | 84%     |

Giống như ưu điểm của dạng dược phẩm này (viên nhỏ), viên nhỏ chứa hoạt chất bên trong hoặc viên nhỏ chứa hoạt chất bên ngoài đều có lợi và sau khi quan sát trên bảng 1 thấy rằng dạng viên nhỏ chứa hoạt chất bên ngoài có một số khiếm khuyết về mặt rò rỉ các chất phụ gia kháng vi khuẩn, thì thuận tiện để kiểm soát sự rò rỉ này bằng quy trình để phát triển các thử nghiệm về chế phẩm chứa thuốc, mà được thực hiện theo cách sau:

#### Triển khai

- Cân 5 kg thức ăn cân bằng cho tôm biển chứa 35% protein, định dạng 2,5 x 7 mm (nền) không phun
- Cân 100 g dầu (chiếm 2,0% khối lượng thức ăn) và 50 mL lexithin
- Cân 45 g thành phần hoạt tính (chất kháng sinh).
- Đun nóng dầu và lexithin đến 45°C, duy trì nhiệt độ này.
- Bỏ sung chất kháng sinh và lắc để tạo ra hỗn hợp đồng nhất.
- Phun 5 kg thức ăn cân bằng, trong bình phun của dây chuyền sản xuất quy mô thử nghiệm; thông số phun sẽ giống như các thông số thường áp dụng.
- Lấy 10 mẫu mỗi mẫu 100g và đặc chúng vào rây (mắt lưới = 1 mm) và nhúng trong nước sạch mà trong đó đã bổ sung muối (natri clorua) với lượng 35 ppt.
- Mỗi phép điều trị được lặp lại hai lần.
- Lượng nước, mẫu và thời gian được thể hiện trên bảng 2.

Bảng 2:

| Mẫu số           | 1   | 2   | 3   | 4   | 5   |
|------------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| Thời gian (phút) | 0   | 15  | 30  | 60  | 120 |
| Mẫu (g)          | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Nước (ml)        | 0   | 500 | 500 | 500 | 500 |

- Cuối thời gian phải duy trì trong nước đã định (đánh số 2 đến 5), lấy mẫu ra khỏi nước và để chúng khô trong thời gian 10 - 15 giờ ở 50°C (thời gian trong nước ngắn hơn, thời gian làm khô tương ứng cũng ngắn hơn).

- Xác định độ ẩm của mẫu (1 - 5), độ ẩm cần không lớn hơn 10%; đóng gói mẫu, nhận dạng chúng một cách chính xác và gửi đến nhà cung cấp florfenicol để định lượng thành phần hoạt tính tương ứng.

- Nhận dạng các mẫu như được thể hiện trên bảng 3.

Bảng 3:

| Mê        | Thời gian trong nước (phút) | 2 dầu : 1 lexithin          |
|-----------|-----------------------------|-----------------------------|
| 101214201 | 0                           | 100 mL dầu + 50 mL lexithin |
| 101214202 | 0                           |                             |
| 101214203 | 15                          |                             |
| 101214204 | 15                          |                             |
| 101214205 | 30                          |                             |
| 101214206 | 30                          |                             |
| 101214207 | 60                          |                             |
| 101214208 | 60                          |                             |
| 101214209 | 120                         |                             |
| 101214210 | 120                         |                             |

- Gửi mẫu đến văn phòng ở Lima, để định lượng chất kháng sinh trong từng mẫu.

Việc xác định độ rõ ràng của các chất phụ gia trong cả hai phương pháp cho phép biết được độ mất mát do việc dùng chung sản phẩm và bổ sung chúng trong quá trình phối chế, sao cho liều trong cả viên nhỏ chứa hoạt chất bên trong và viên nhỏ chứa hoạt chất bên ngoài đều được tôm tiếp nhận đầy đủ.

Do đó, thực phẩm chứa thuốc theo sáng chế nhằm và chứng tỏ khả năng phòng trừ các bệnh đồng nhiễm HPN-B và các vibrio gây bệnh ở tôm hoặc tôm he, có sử dụng chế phẩm thực phẩm, oxytetracycline và tổ hợp các axit ở dạng viên nhỏ, trong đó việc nghiên cứu tổ hợp ít nhất hai axit tạo ra sự hữu hiệu lớn hơn cho sản phẩm và được chứng tỏ bằng các tổ hợp được ưu tiên.

Như đã đề cập trên đây, sáng chế bao gồm thực phẩm chứa thuốc được chế biến từ sản phẩm phụ của lúa mì, bột mì, bột cá, bánh đậu tương, dầu cá, gluten ngô, lexithin đậu tương, bột bí, chất chống nấm, thành phần bổ sung vitamin và khoáng chất, natri clorua, axit và oxytetracycline; được bao nang trong liều dinh dưỡng (viên nhỏ). Để xác

định thành phần lựa chọn tốt nhất về axit, các tác giả sáng chế đã làm việc dựa trên thử nghiệm về nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của chất kháng vi khuẩn, mà được tiến hành trên nhiều chủng vi khuẩn vibrio phân lập được từ đồng ruộng ở Peru và Ecuador. Sử dụng hỗn hợp các axit khác nhau như axit fumaric, axit benzoic, axit formic, axit axetic, axit propionic, axit orthophosphoric, axit lactic, axit xitric, axit butandioic và axit malic, thu các nồng độ ức chế sinh trưởng cụ thể đối với các vi khuẩn này và các tác giả sáng chế chọn ra tổ hợp mà thể hiện hiệu quả ở nồng độ thấp. Việc này được thực hiện như nhau và với tần số mỗi tháng một lần, theo cách sao cho độ hữu hiệu của hỗn hợp axit được chọn và các lựa chọn khác được kiểm tra song song. Các điều chỉnh đã thực hiện đối với công thức dựa trên các kết quả này được thực hiện trên dữ liệu thu được từ những thử nghiệm này.

#### Ví dụ thực hiện sáng chế

Thức ăn được thử nghiệm tại trung tâm thử nghiệm của các tác giả sáng chế, cho ra những kết quả như sau:

##### Ví dụ 1

Thử nghiệm về nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) được theo dõi, có tham chiếu đến 10 mẫu chạy song song, chất kháng sinh, tổ hợp M1 và M2; M1 là hỗn hợp 50% axit fumaric và 5% axit benzoic và tổ hợp M2 bao gồm 50% axit formic và 50% axit propionic, có dữ liệu kết quả được thể hiện trên bảng 4:

Bảng 4

| Mẫu | Oxytetracycline | M1    | M2    |
|-----|-----------------|-------|-------|
| 1   | 0,250           | 0,500 | 0,125 |
| 2   | 0,125           | 0,250 | 0,250 |
| 3   | 0,125           | 0,250 | 0,500 |
| 4   | 1,000           | 0,500 | 1,500 |
| 5   | 0,125           | 0,500 | 0,250 |
| 6   | 0,125           | 0,250 | 0,250 |
| 7   | 0,125           | 0,250 | 0,250 |
| 8   | 0,250           | 0,500 | 0,500 |
| 9   | 0,125           | 0,250 | 0,125 |



|            |       |       |       |
|------------|-------|-------|-------|
| 10         | 0,125 | 0,500 | 0,250 |
| Trung bình | 0,237 | 0,375 | 0,400 |

Dữ liệu thu được thể hiện tỷ lệ phần trăm trung bình nồng độ của chất kháng sinh(oxytetracycline) = 0,237, và của hỗn hợp M1 = 0,375 nhỏ hơn M2 = 0,400; do đó, giá trị thấp hơn chỉ ra độ hữu hiệu của tổ hợp trong việc loại trừ chủng này và trong trường hợp này đó là tổ hợp M1.

#### Ví dụ 2

Đối với phương án được ưu tiên thứ hai, 10 mẫu cũng được lấy và độ hữu hiệu của các tổ hợp M1 (50% axit fumaric và 5% axit benzoic), M2 (50% axit formic và 50% axit propionic) và M3 (39,4% axit formic, 18,7% axit axetic và 9,3% axit propionic) cho ra các dữ liệu trên bảng 5:

Bảng 5

| Mẫu        | Oxytetracycline | M1    | M2    | M3    |
|------------|-----------------|-------|-------|-------|
| 1          | 0,250           | 0,250 | 0,250 | 0,250 |
| 2          | 0,125           | 0,125 | 0,250 | 0,250 |
| 3          | 0,125           | 0,250 | 0,125 | 0,250 |
| 4          | 0,250           | 0,125 | 0,250 | 0,500 |
| 5          | 0,125           | 0,125 | 0,250 | 0,500 |
| 6          | 0,250           | 0,125 | 0,250 | 0,500 |
| 7          | 0,125           | 0,125 | 0,250 | 0,125 |
| 8          | 0,500           | 0,250 | 0,250 | 0,500 |
| 9          | 0,500           | 0,125 | 0,250 | 0,500 |
| 10         | 2,000           | 0,125 | 0,250 | 0,500 |
| Trung bình | 0,425           | 0,162 | 0,237 | 0,387 |

Các giá trị trung bình nồng độ đối với M1 là 0,162, đối với M2 là 0,237 và đối với M3 là 0,387; trong đó giá trị nhỏ hơn là của tổ hợp M1 tiếp theo là M2 và M3; do đó, tổ hợp M1 là hữu hiệu nhất để ức chế chủng này.

## Ví dụ 3

Đối với phương án được ưu tiên của ví dụ 3, các tác giả sáng chế có 4 tổ hợp axit là: M1 (50% axit fumaric và 5% axit benzoic), M3 (39,4% axit formic, 20,6% amoni format, 18,7% axit axetic và 9,3% axit propionic), M4 (28,6% axit formic, 10,5% axit propionic, 20,4% amoni format và 10,4% amoni propionat) và M5 (20,5% axit orthophosphoric, 16,1% axit formic, 14,1% axit lactic, axit axetic > 1%, axit xitric > 1%, axit propionic > 1% và axit fumaric > 1 %); cho ra các kết quả trên bảng 6:

Bảng 6

| Mẫu        | Oxytetracycline | M1    | M3    | M4    | M5    |
|------------|-----------------|-------|-------|-------|-------|
| 1          | 0,125           | 0,250 | 1,000 | 0,500 | 0,500 |
| 2          | 0,125           | 0,250 | 1,000 | 0,500 | 1,000 |
| 3          | 0,125           | 0,250 | 1,000 | 0,500 | 0,500 |
| 4          | 0,125           | 0,250 | 1,000 | 0,500 | 0,500 |
| 5          | 0,125           | 0,250 | 1,000 | 0,500 | 0,500 |
| 6          | 0,250           | 0,250 | 1,000 | 0,500 | 0,500 |
| 7          | 0,125           | 0,250 | 1,000 | 0,500 | 0,500 |
| 8          | 0,125           | 0,250 | 0,500 | 0,500 | 0,500 |
| 9          | 0,125           | 0,250 | 1,000 | 0,250 | 0,500 |
| 10         | 0,125           | 0,250 | 1,000 | 0,500 | 0,500 |
| Trung bình | 0,137           | 0,250 | 0,950 | 0,475 | 0,550 |

Từ phép phân tích này, các tác giả sáng chế có được nồng độ trung bình đối với oxytetracycline là 0,137, đối với các tổ hợp theo trật tự nồng độ trung bình tăng dần M1 = 0,250, M3 = 0,950, M4 = 0,475 và M5 = 0,550, từ dữ liệu thu được có thể kết luận rằng M1 có giá trị trung bình thấp nhất và có độ hữu hiệu cao nhất trong ức chế chủng này.

## Ví dụ 4

Theo phương án được ưu tiên cuối cùng, 10 mẫu được phân tích bằng cách so sánh độ hữu hiệu của các tổ hợp M1 (50% axit fumaric và 5% axit benzoic), M4 (28,6% axit formic, 10,5% axit propionic, 20,4% amoni format và 10,4% amoni propionat) và M7

(10% axit butandioic, 25% axit malic, 20% axit xitric, 23% axit lactic và 20% axit fumaric), thu được kết quả trên bảng 7:

Bảng 7

| Mẫu        | Oxytetracycline | M1    | M4    | M7    |
|------------|-----------------|-------|-------|-------|
| 1          | 0,125           | 0,125 | 0,250 | 1,000 |
| 2          | 0,125           | 0,125 | 0,125 | 1,000 |
| 3          | 0,125           | 0,125 | 0,250 | 1,000 |
| 4          | 0,125           | 0,125 | 0,250 | 1,000 |
| 5          | 0,125           | 0,125 | 0,250 | 1,000 |
| 6          | 0,125           | 0,125 | 0,125 | 1,000 |
| 7          | 0,125           | 0,250 | 0,500 | 2,000 |
| 8          | 0,125           | 0,250 | 0,500 | 2,000 |
| 9          | 0,125           | 0,125 | 0,125 | 1,000 |
| 10         | 0,125           | 0,063 | 0,125 | 1,000 |
| Trung bình | 0,125           | 0,143 | 0,250 | 1,200 |

Từ những lần chạy được thực hiện, thu được các tỷ lệ phần trăm nồng độ trung bình sau đây đối với chất kháng sinh (oxytetracycline) = 0,125 và đối với các tổ hợp, theo trật tự tăng dần: M1 = 0,143, M4 = 0,250 và M7 = 1,200; từ các tỷ lệ phần trăm trung bình thu được, tổ hợp M1 có giá trị thấp nhất vẫn là hiệu quả nhất trong ức chế chủng này.

Từ các thử nghiệm trên đây, có thể kết luận rằng tổ hợp M1, gồm 50% axit fumaric và 5% axit benzoic, là tổ hợp hữu hiệu nhất trong việc chống lại chủng này; tiếp theo là tổ hợp M4 (28,6% axit formic, 10,5% axit propionic, 20,4% amoni format và 10,4% amoni propionat), M2 (50% axit formic và 50% of axit propionic), M3 (39,4% axit formic, 20,6% amoni format, 18,7% axit axetic và 9,3% axit propionic) và M5 (20,5% axit orthophosphoric, 16,1% axit formic, 14,1% axit lactic, axit axetic > 1%, axit xitric > 1%, axit propionic > 1% và axit fumaric > 1%).

Sản phẩm được sản xuất theo sáng chế có thể được sử dụng để điều trị cho tôm biển hoặc tôm he mắc bệnh hoại tử gan tụy vi khuẩn (NHP-B) do *Candidatus hepatobacter penaei* gây ra và các bệnh đồng nhiễm do các vibrio gây bệnh gây ra.

### **YÊU CẦU BẢO HỘ**

1. Thực phẩm chứa thuốc, khác biệt ở chỗ thực phẩm này chứa bột hạt dầu xay thô 25-35%, bột có nguồn gốc từ biển 15-25%, sản phẩm phụ của ngũ cốc 2-10%, lúa mỳ 14-24%, dầu có nguồn gốc từ biển 1-3%, dầu thực vật 1-3%, canxi cacbonat 0,0-1,5%, natri clorua 0,5-1,5%, oxytetracycline 0,9%, hỗn hợp các vitamin và khoáng chất trộn trước 0,3%, các axit 0,2%, kali phosphat 0,05-0,2% và natri phosphat 0,05-0,2%.
2. Thực phẩm chứa thuốc theo điểm 1, khác biệt ở chỗ thực phẩm này ở dạng viên nhỏ.
3. Thực phẩm chứa thuốc theo điểm 2, khác biệt ở chỗ thực phẩm này ở dạng viên nhỏ chứa hoạt chất bên trong.
4. Thực phẩm chứa thuốc theo điểm 2, khác biệt ở chỗ thực phẩm này ở dạng viên nhỏ chứa hoạt chất bên ngoài.

1/2

# TỶ LỆ PHẦN TRĂM TÔM CHẾT TRONG ỐNG SIPHON

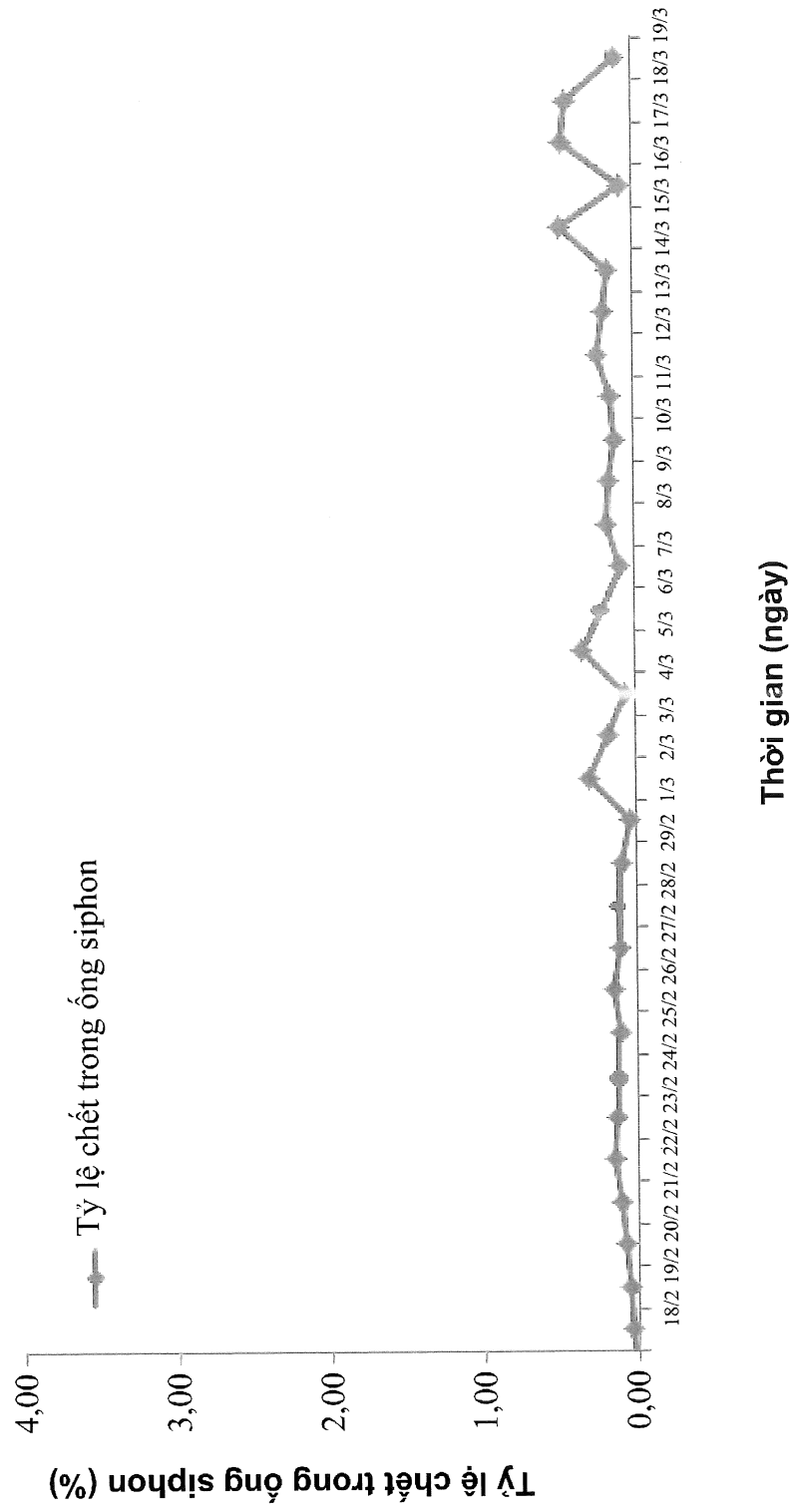


FIG. 1

2/2

Tỷ lệ phần trăm tôm nhiễm Vibrio và các trường hợp dương tính với *Candidatus Hepatobacter penaei* (\*)

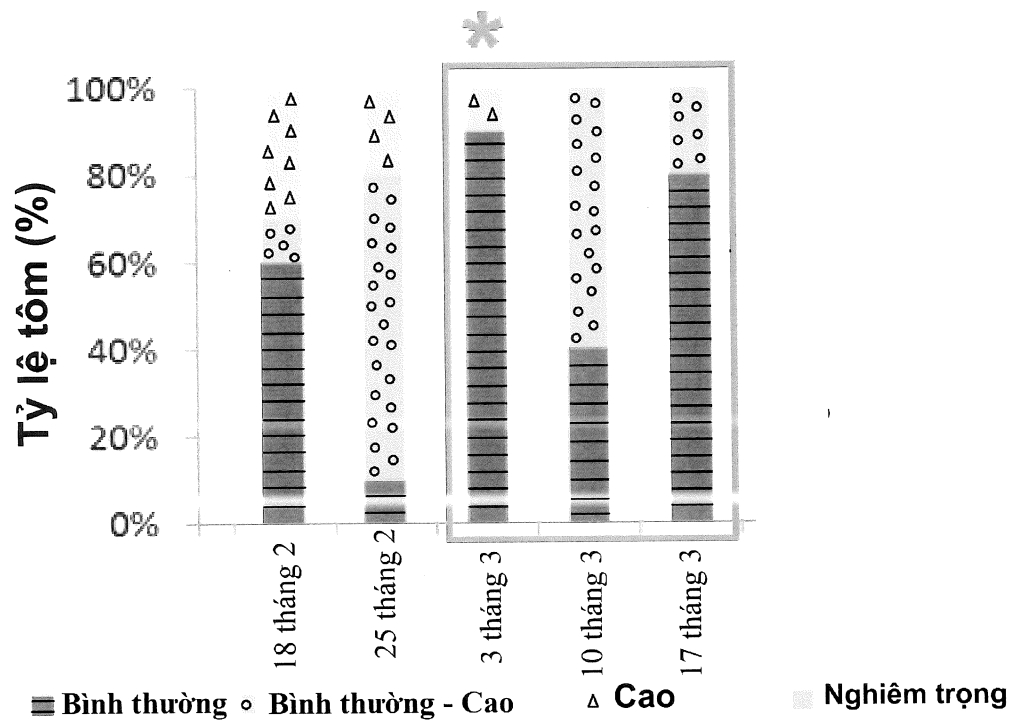


FIG. 2