

UŽITNÝ VZOR

(11) Číslo dokumentu:

36 298

(13) Druh dokumentu: **U1**

(51) Int. Cl.:

A01K 1/00

(2006.01)

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2022-40063**
(22) Přihlášeno: **08.07.2022**
(47) Zapsáno: **18.08.2022**

(73) Majitel:
Pharmaceutical Biotechnology s.r.o., Praha 2,
Vinohrady, CZ
Výzkumný ústav meliorací a ochrany půdy, v.v.i.,
Praha 5, Zbraslav, CZ
Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Praha 6,
Vokovice, CZ
Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i.,
Brno, Medlánky, CZ

(72) Původce:
MVDr. Martin Faldyna, Ph.D., Velešovice, CZ
Ing. Lenka Levá, Brno, Staré Brno, CZ
MVDr. Zora Smržová, Brno, Řečkovice, CZ
doc. Ing. Jan Vopravil, Ph.D., Příšimasy, Horka,
CZ
Ing. Tomáš Khel, Praha 5, Radotín, CZ
Ing. David Kincl, Praha 6, Řepy, CZ
Robert Tkadlec, Pohořelice, CZ
Mgr. Martina Pavlová, Ph.D., Bordovice, CZ
Ing. Mgr. Pavlína Soukupová, Rybí, CZ
Mgr. Jarmila Havlásková, Ostrava, Poruba, CZ
Hana Černošková, DiS., Tichá, CZ

(74) Zástupce:
HARBER IP s.r.o., Dukelských hrdinů 567/52,
170 00 Praha 7, Holešovice

(54) Název užitého vzoru:
**Přípravek pro zvýšení sorpční kapacity
podestýlky**

Přípravek pro zvýšení sorpční kapacity podestýlky

Oblast techniky

5

Předkládané technické řešení poskytuje kombinovaný přípravek, který zvyšuje sorpční kapacitu podestýlky zvířat, a tím zlepšuje stájové prostředí a snižuje infekční tlak.

10 Dosavadní stav techniky

Zoohygienické podmínky v chovech hospodářských zvířat jsou významným faktorem ovlivňujícím zdravotní stav chovaných zvířat a jejich welfare a tím významně ovlivňují ekonomiku chovu. Mezi zoohygienické parametry patří teplota, vlhkost a proudění vzduchu a jeho chemické složení, osvětlení, hluk a prach a mikrobiální zátěž v chovných místnostech.

15

Zdrojem vzdušné vlhkosti jsou zvířata, úklidové práce, příp. vodní zdroje. Příliš vlhký vzduch zhoršuje kvalitu vdechovaného vzduchu, protože je spojen s vyšším množstvím mikroorganismů. Je-li vzduch příliš vlhký a chladný, dochází u chovaných zvířat k velkým ztrátám tepla, a tím i energie.

20

Amoniak (NH_3) je bezbarvý plyn s výrazným zápachem, který i při nízkých koncentracích dráždí sliznice horních cest dýchacích. Vzniká při rozkladu organických materiálů, zejména bílkovin. Savci vylučují přebytečný dusík ve formě kyseliny močové (sloučenina amoniaku a oxidu uhličitého). Ptáci vylučují přebytečný dusík ve formě močoviny. V důsledku mikrobiálních reakcí v chovech drůbeže se močovina snadno rozpadá a uvolňuje se plynný amoniak.

25

Problematika udržování zootechnických podmínek vhodných pro jednotlivé druhy a kategorie je založena na stavebních a technologických úpravách, průběžném automatickém monitoringu, a/nebo na zootechnických opatřeních. Mezi ně patří např. použití adsorbentů vlhkosti.

30

Podstata technického řešení

35 Předkládané technické řešení poskytuje přípravek pro zvýšení sorpční kapacity podestýlky, který je možno aplikovat přímo do podestýlky, a který kromě snížení nežádoucí vlhkosti pozitivně ovlivňuje mikrobiologické zatížení prostředí, a tím dále zvyšuje welfare zvířat. Přípravek je založený na kombinaci adsorpční složky, plniv, poživ a bakteriální kultury.

40 Přípravek podle technického řešení obsahuje 2 až 5 % hmotn. kultury *Bacillus coagulans*; 5 až 10 % hmotn. adsorbentů vybraných ze skupiny polyakrylát sodný, polyakrylát draselný, alginát sodný, alginát draselný, želatina, guarová guma a jejich směsi; 85 až 93 % hmotn. plniv a poživ vybraných ze skupiny isomalt, maltodextrin, mikrokrytalická celulóza a jejich směsi.

45 Přípravek může dále obsahovat další látky zlepšující formulovatelnost nebo aplikovatelnost výrobku, např. kluzné látky jako je stearan hořečnatý v množství do 2 % hmotn.

S výhodou je ve výrobku obsažena kultura komerčně dostupného kmene bakterie *Bacillus coagulans* MTCC 5856, který je komerčně dostupný.

50

Ve výhodném provedení přípravek obsahuje:

35 až 40 % hmotn. isomaltu,

35 až 40 % hmotn. maltodextrinu,

10 až 15 % hmotn. mikrokrytalické celulózy,

55 3 až 5 % hmotn. kultury *Bacillus coagulans*,

- 2 až 4 % hmotn. polyakrylátu sodného,
 2 až 4 % hmotn. alginátu sodného,
 0,5 až 2 % hmotn. želatiny,
 0,5 až 2 % hmotn. guarové gumy,
 5 0,5 až 2 % hmotn. stearanu hořečnatého.

Přípravek může být připraven například metodou suché granulační enkapsulace, přičemž se *Bacillus coagulans* enkapsuluje do absorbčního materiálu.

- 10 Přípravek lze přímo přidávat do podestýlky v chovech zvířat pro snížení nežádoucí vlhkosti a zvýšení welfare zvířat.

Objasnění výkresů

15

Obrázek 1: Inhibice růstu *Escherichia coli* supernatantem bakteriální kultury *Bacillus coagulans* při použití 5 různých objemů supernatantu (1 = 10 µl; 2 = 5 µl; 3 = 2,5 µl; 4 = 1 µl; 5 = 0,5 µl).

- 20 Obrázek 2: Koncentrace amoniaku (v ppm) v ovzduší místnosti kontrolní (přerušovaná čára) a pokusné (tečkovaná čára). (D12 = 12. den, D21 = 21. den, D42 = 42. den).

Příklady uskutečnění technického řešení

- 25 Příklad 1 *Charakterizace a bezpečnost bakteriální kultury*

Komerčně dostupný kmen bakterie *Bacillus coagulans* MTCC 5856 zakoupen od komerčního dodavatele. U tohoto kmene *Bacillus coagulans* byly detekovány výsledky biochemických testů a identifikována enzymatická aktivita:

30

| Substrát | Výsledek | Substrát | Výsledek | Substrát | Výsledek |
|--------------------|----------|------------|----------|-------------|----------|
| Kontrola | - | GALactosa | + | MELibiosa | + |
| GLYcerol | - | GLUcosa | + | Sacharoza | + |
| ERYthritol | - | FRUctosa | + | TREhalosa | + |
| D-ARAbinosa | - | MaNnosA | + | INUlin | - |
| L-ARAbinosa | - | SorBosA | - | MeLeZitosa | - |
| RIBosa | - | ESCulin | + | RAFfinosa | + |
| D-XYLosa | - | SALicin | + | Škrob | - |
| L-XYLosa | - | CELlobiosa | + | GLYkoGen | - |
| ADOnitol | - | MALtosa | + | XyLiTol | - |
| β-Methyl-D-Xylosid | - | LACtosa | + | GENTIobiosa | + |

| Enzym | Výsledek | Enzym | Výsledek | Enzym | Výsledek |
|---------------------|----------|--------------------|----------|-----------------|----------|
| Kontrola | - | Cystin arylamidáza | ++ | β-galaktosidáza | + |
| Alkalická fosfatáza | - | Trysin | - | β-glukoronidáza | - |
| Esteráza | + | α-chymotrypsin | - | α-glukosidáza | ++ |

| | | | | | |
|--------------------|-----|-----------------------------|----|----------------------------|-----|
| Esteráza-lipáza | - | Kyselá fosfatáza | + | β-glukosidáza | ++ |
| Lipáza | - | Naphtol-AS-Bifosfohydroláza | ++ | N-acetyl-β-glukosaminidáza | +++ |
| Leucin arylamidáza | +++ | α-galaktosidáza | - | α-mannosidáza | - |
| Valin aryamidáza | +++ | | | | |

Antibakteriální účinky *Bacillus coagulans* byly testovány metodou velikosti inhibičních zón při použití 5 různých objemů supernatantu bakteriální kultury – 10,0 μl; 5,0 μl; 2,5 μl; 1,0 μl a 0,5 μl. Supernatant byl získán anaerobní kultivací bakterie v Man-Rogosa-Sharpeově bujónu po dobu 24 hodin. Jako patogenní bakterie byl vybrán sbírkový kmen *Escherichia coli* CCM4517. Výsledky jsou znázorněny na obr. 1.

Bezpečnost bakteriálního kmene byla ověřena v podmínkách *in vivo*. V experimentu byly vytvořeny 3 skupiny prasat po 6 kusech, přitom byla chována vždy 3 selata v jednom kotci. Prasata byla produkčním hybridem založeným na plemeni bílé ušlechtilé, ve váze 40 až 50 kg a pocházela z chovu s dobrou epidemiologickou situací – chov prostý onemocněním vyvolaného virem prasečího reprodukčního a respiračního syndromu (PRRSV) a aktinobacilové pleuropneumonie. První skupině byla perorálně aplikována nízká dávka bakterie *Bacillus coagulans* (2×10^6 CFU ve 2 ml). Druhá skupině byla aplikována vysoká dávka bakterií *Bacillus coagulans* (2×10^9 CFU ve 2 ml). Kontrolní skupině byl perorálně aplikován pouze PBS bez bakterií. Pro zajištění dobré kolonizace střev touto bakterií byla prasatům stejná dávka aplikována ještě jednou po 24 hodinách.

Sledovanými parametry byly:

- 1) Celkový zdravotní stav, příp. výskyt průjmů. Po celou dobu sledování nebyl ani alterován klinický stav zvířat, ani se nevyskytly průjmy.
- 2) Živá hmotnost zvířat, z nich vypočítané denní přírůstky hmotnosti. Průměrné přírůstky byly 0,748 kg/den a nebyly rozdíly mezi skupinami.
- 3) Spotřeba krmiva a z toho vypočtena konverze živin. Průměrná konverze byly 2,23 kg/kg přírůstku a nebyly rozdíly mezi skupinami.
- 4) Hematologické parametry stanovené v plné krvi na hematologickém analyzátoru: leukocyty, erytrocyty, hemoglobin, hematokrit. Diferenciální rozpočet byl stanoven odečtem 200 buněk z krevního nátěru barveného Pappenheimovou panoptickou barvicí technikou (May-Grünwald a Giemsa-Romanowski).

Z výsledků je patrné, že aplikací testované bakteriální kultury nedošlo k alteraci žádného z analyzovaných parametrů.

Příklad 2 Příprava přípravku

Přípravek byl připraven metodou suché granulační enkapsulace (kompaktace). Všechny složky byly smíseny a podrobeny kompaktaci. Tím se bakteriální kultura enkapsulovala do ostatních složek přípravku.

Složení přípravku:

- 39 % hmotn. isomalt
- 36 % hmotn. maltodextrin
- 13 % hmotn. mikrokrystalická celulóza
- 4 % hmotn. kultury *B. coagulans* (600 mld CFU)

- 2,5 % hmotn. akrylát sodný
- 2,5 % hmotn. alginát sodný
- 1 % hmotn. želatina
- 1 % hmotn. guaranová guma
- 5 1 % hmotn. stearan hořečnatý

Přípravek byl testován na viabilitu kmene v interakci s absorpčními látkami. Pro testování byla použita komerčně dostupná podestýlka fa ProBioBed s.r.o. Sterilní dřevěné hobliny, bezprašné a dobře savé. Na hoblinovou podestýlku byl v laboratoři aplikován přípravek. Podestýlka s přípravkem byla uzavřena do hliníkového sáčku, aby bylo zamezeno přístupu vlhkosti. Sáček byl umístěn v laboratoři při pokojové teplotě a v měsíčních intervalech byla měřena koncentrace CFU/g podestýlky. Výsledky potvrdily, že viabilita probiotického organismu v přípravku v hoblinové podestýlce se v průběhu 7 měsíců s časem neměnila.

15 Příklad 3 *Ověření vlivu preparátu na zootechnické parametry*

Experiment byl realizován na chovu brojlerové drůbeže plemene ROSS. Zvířata byla chována ve dvou rozměrově i technologicky stejných místnostech na podestýlce založené na dřevěných hoblinách, do které bylo v pokusné skupině přidáno 10 váhových % přípravku podle Příkladu 2. Zvířata byla krmena komerčně dostupnou krmnou směsí pro brojlerovou drůbež BR1 a následně směsí BR2.

Sledovanými parametry byly:

- 25 (1) pravidelná denní kontrola zdravotního stavu zvířat, příp. úhynů;
- (2) parametry chovatelské - živá hmotnost zvířat den 1, den 21 a den 42, spotřeby krmiva a konverze živin;
- 30 (3) parametry zoohygienické – vlhkost a teplota vzduchu, množství vzdušného amoniaku;
- (4) na konci výkrmu laboratorní vyšetření – hematologické a biochemické parametry.

Během celého průběhu sledování nebyla pozorována žádná alterace celkového zdravotního stavu. Úhyny dosáhly hodnoty 4 % u skupiny kontrolní a 5 % u skupiny pokusné.

Zvážením zvířat byl zjištěn statisticky významný vliv přídavku preparátu na průměrnou hmotnost. Zvířata v kontrolní skupině byla den 21 o cca 50 gramů (843 g vs. 892 g) a den 42 o cca 80 gramů (2620 g vs. 2700 g) lehčí než ve skupině pokusné. S tím byla také spojena lepší konverze živin v pokusné skupině – 1,527 kg/kg vs. 1,549 kg/kg.

Přídavek přípravku měl také vliv na zoohygienické parametry v chovných prostorách. Teplota vzduchu byla po celou dobu sledování stejná. Nicméně vlhkost vzduchu byla v místnosti s přídavkem preparátu v průměru o 0,2 % nižší. Největší vliv měl přídavek na množství amoniaku. Průměrná koncentrace byla $7,39 \pm 3,25$ ppm v místnosti kontrolní a $5,58 \pm 2,91$ ppm v místnosti pokusné ($p \leq 0,01$).

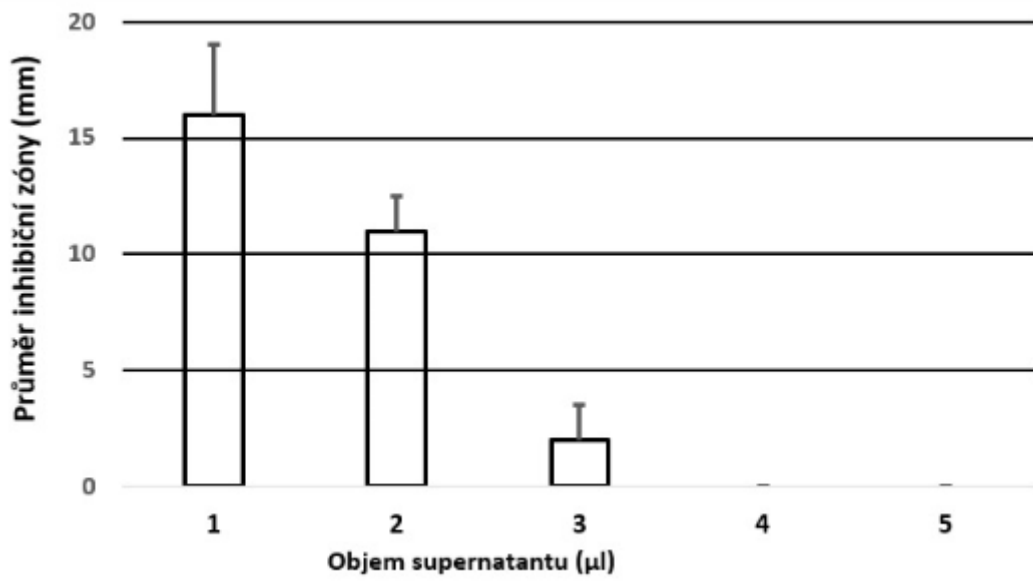
Na konci sledování byly 10 brojlerům z každé skupiny analyzovány ve vzorcích krve celkové počty červených a bílých krvinek, hematokrit, hemoglobin a diferenciální počty bílých krvinek (heterofilní, eosinofilní a bazofilní granulocyty, lymfocyty a monocyty). Všechny hodnoty se pohybovaly v rozmezích fyziologických hodnot a nebyly rozdíly mezi skupinami. Byly také kvantifikovány vybrané biochemické parametry – albumin, glukóza, triglyceridy, trifosfát, cholesterol, bilirubin, kreatinin, gama-glutaryltransferáza, alaninaminotransferáza, aspartátaminotransferáza, alkalická fosfatáza. Také zde nebyly nalezeny rozdíly mezi skupinami.

NÁROKY NA OCHRANU

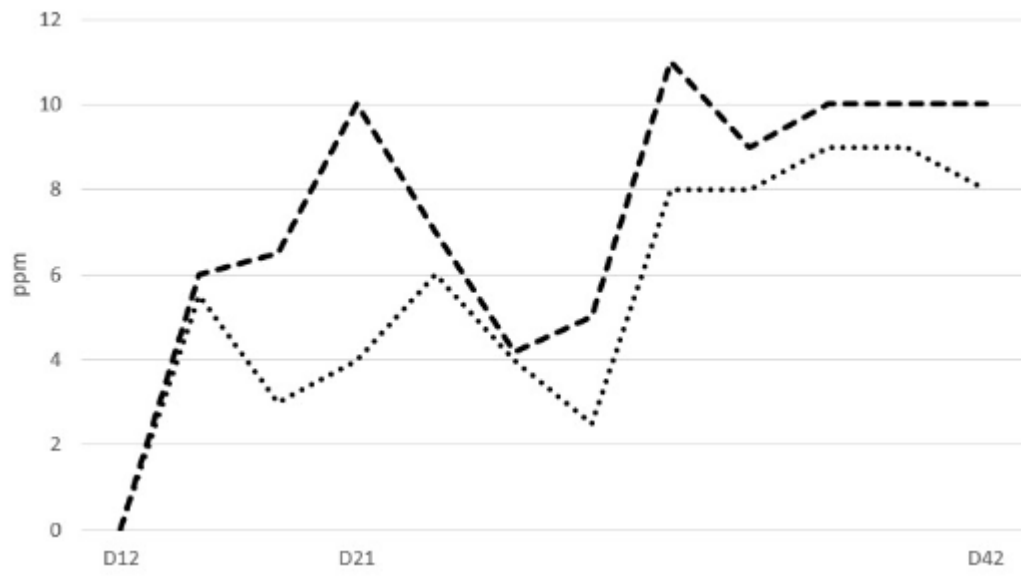
- 5 1. Přípravek pro zvýšení sorpční kapacity podestýlky, **vyznačující se tím**, že obsahuje 2 až 5 % hmotn. kultury *Bacillus coagulans*; 5 až 10 % hmotn. absorbentů vybraných ze skupiny polyakrylát sodný, polyakrylát draselný, alginát sodný, alginát draselný, želatina, guarová guma a jejich směsi; 85 až 93 % hmotn. plniv a pojiv vybraných ze skupiny isomalt, maltodextrin, mikrokrytalická celulóza a jejich směsi.
2. Přípravek podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že kulturou *Bacillus coagulans* je kultura kmene *Bacillus coagulans* MTCC 5856.
- 10 3. Přípravek podle nároku 1 nebo 2, **vyznačující se tím**, že přípravek obsahuje:
- 35 až 40 % hmotn. isomaltu,
- 35 až 40 % hmotn. maltodextrinu,
- 10 až 15 % hmotn. mikrokrytalické celulózy,
- 3 až 5 % hmotn. kultury *Bacillus coagulans*,
- 15 2 až 4 % hmotn. polyakrylátu sodného,
- 2 až 4 % hmotn. alginátu sodného,
- 0,5 až 2 % hmotn. želatiny,
- 0,5 až 2 % hmotn. guarové gumy,
- 0,5 až 2 % hmotn. stearanu hořečnatého.

20

2 výkresy



Obr. 1



Obr. 2