

ČESKOSLOVENSKÁ
SOCIALISTICKÁ
REPUBLIKA
(19)



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU 225 458

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

(61)

(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 23 04 82
(21) PV 2899 - 82

(11) (B 1)

(51) Int. Cl.³ A 23 K 1/17

(40) Zveřejněno 24 06 83
(45) Vydáno 15 04 85

(75)
Autor vynálezu

MIČAN PETR MVDr., HUSTOPEČE

(54)

Probiotický přípravek pro zlepšení zdravotního stavu a užitečnosti
hospodářských zvířat

Vynález se týká probiotického přípravku pro individuální aplikaci a pro použití v krmivářském průmyslu ve formě krmných doplňků, premixů a doplňků biofaktorů, který zlepšuje zdravotní stav a užitkovost hospodářských zvířat.

V oblasti krmivářského průmyslu a veterinární medicíny má využívání specificky účinných látek, zlepšujících zdravotní stav a užitkovost hospodářských zvířat, již dlouhou tradici. Úzce souvisí se zaváděním nových velkovýrobních technologií v živočišné výrobě, kde tyto látky velmi progresivně ovlivnily jak ekonomiku, tak i celkovou produkci. K danému účelu byly široce využívány především látky antibiotického charakteru - např. penicilin, streptomycin, chlortetracyklin, zn. bacitracin, později flavomycin, virginiamycin a tylosin. Společnou nevýhodou těchto antibiotických růstových stimulátorů byl relativně rychlý pokles účinnosti v závislosti na čase a rozsahu jejich použití. Dále bylo zjištěno, že v důsledku používání antibiotik v živočišné výrobě dochází k šíření antibioticko-rezistentních bakterií v animálních a následně humánních populacích, které je provázeno ztrátou léčebné účinnosti celé řady terapeutických antibiotik. Rezidua antibiotik v potravinách živočišného původu vyvolávají převitlivělost k antibiotickým léčivům, alergické jevy a další nežádoucí zdravotní problémy. Nelze přehlížet ani negativní ekologické důsledky reziduálních antibiotik v odpadních produktech živočišné výroby.

V posledním desetiletí byla věnována značná pozornost tzv. syntetickým růstově stimulačním látkám a medikačním přípravkům - např. nitrovin, carbadox, olachindex atd. Tyto látky vzhledem k směnu chemickému charakteru dávaly teoretickou naději, že jejich široké použití v živočišné výrobě bude mít trvalejší charakter a nebude provázeno stejnými hygienickými riziky jako v případě antibiotických látek. Nedávný rychlý rozvoj fyzikálně-chemických a biologických metod určování mutagenních, karcinogenních účinků chemických látek však ukázal, že tento chemizační proces v živočišné výrobě je doprovázen potenciálně nebezpečnými zdravotně hygienickými a ekologickými následky než v případě antibiotik. Je prokázáno, že vzrůstající kontaminace potravin

živočišného původu reziduálními chemickými látkami vytváří predispoziční pozadí pro vznik celé škály tzv. civilizačních chorob, včetně zvýšené incidence zhoubných novotvarů. Z uvedených údajů je zřejmé, že příznivých ekonomických výsledků v oblasti živočišné výroby při použití různých typů stimulačních přípravků bylo až dosud dosahováno vždy za cenu určitých zdravotních a hygienických rizik.

Zmíněné nevýhody dřívějších systémů odstraňují probiotické přípravky podle tohoto vynálezu, jejichž růstově stimulační a léčebně preventivní účinek je založen na využití přirozených fyziologických a mikrobiálně ekologických mechanismů organismu zvířat. Podstatu tohoto probiotického přípravku tvoří stabilizované bakteriální kultury zárodků: *Bacillus subtilis*, *Streptococcus faecium*, *Streptococcus faecalis* (subsp. *faecalis*, *liquefaciens*, *zymogenes*, *diacetylactis*), *Streptococcus lactis*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* (subsp. *rhamnosus*, *tolerans*, *alactosus*, *pseudoplantarum*) včetně všech subspecies, variet a kmenů a to buď jednotlivě nebo v libovolné kombinaci. Uvedené kultury jsou vyráběny vždy odděleně stacionární nebo kontinuální, nejlépe však pulzační hloubkovou kultivací a po separaci (nebo centrifugaci) jsou konzervovány lyofilizací, popřípadě i jiným šetrným sušením tak, aby nebyly narušeny vitální a fermentační vlastnosti základních kultur. Výjimku tvoří pouze citované kmeny rodu *Lactobacillus*, kde lze získat probiotickou aktivitu i při použití sušením devitalizovaných kultur. Finálně jsou uvedené stabilizované bakteriální kultury, nebo jejich směsi, zapracovány do vhodných nosičů (například sprayově sušeného mléka, instantního mléka, glukózy, sorbitu, sacharózy, krmné mouky, sojového pudru atd.) a popřípadě navíc ještě obohaceny přísadkou vitamínů a minerálních látek (doplňků biofaktorů). V případech, kdy je použití probiotického přípravku směřováno pro krmivo upravované granulací, je nutné chránit bakteriální kultury vhodnou enkapsulací (např. želatinou). Výsledný probiotický přípravek v koncentrované formě musí obsahovat

přesně definovaný standardní počet zárodků v rozsahu 100×10^6 až 1.000×10^9 tak, aby bylo možno dosáhnout následného dávkování v rozsahu 10^3 až 10.000×10^6 zárodků v 1 g výsledného krmiva, nebo medikačního probiotického premisu, podle výše požadovaného účinku. Uvedeným postupem získáme monovalentní nebo polyvalentní standardní probiotické přípravky, jejichž vlastnosti splňují všechny požadavky pro průmyslové využití jak v oblasti krmivářského průmyslu (výroba kompletních krmných směsí, krmných premixů, doplňků biofaktorů atd.), tak i pro terapeutické využití ve veterinární medicíně (léčebné a medikační přípravky). Způsobem použití a aplikace se probiotické přípravky nijak podstatně neliší od klasických farmaceutických látek. Proti dříve používaným nestandardním tekutým nebo zasušeným kulturám mokrobů, mají probiotické přípravky podle tohoto vynálezu charakter standardních výrobků, jejichž kvalita je dána přesným počtem deklarovaných zárodků se standardní fermentační a eubiotickou účinností. Skladovatelnost probiotických přípravků je minimálně 6 měsíců (dříve vyráběné bakteriální kultury byly skladovatelné jen několik dnů).

Vlastní mechanismus pozitivního růstově stimulačního a preventivně léčebného účinku probiotických přípravků je založen na poznání, že kvalita mikrobiální biocenózy intestinálního aparátu zvířat má mimořádný význam pro zdraví a somatický vývoj hospitelského makroorganismu. Je známo, že všechny exogenní i indogenní stressové faktory se bezprostředně promítají v kvalitativní skladbě střevní mikroflóry. V případě, kdy zvíře je chováno v optimálních podmínkách a není vystaveno žádným stressům, potom jeho somatický vývoj probíhá rovnoměrně a krmivo je využíváno beze ztrát. Za této situace je střevní mikrobiální biocenóza vyrovnaná a stabilní s převahou makroorganismu symbiotických bakteriálních skupin. Naproti tomu, jakákoliv stressová situace (nutriční nebo zoohygienický stress, zvýšená bakteriální kontaminace prostředí atd.) okamžitě mění kvalitativní skladbu střevní mikroflóry. Prudce klesá kvantum konstruktivních symbiotických mikrobů a paralelně dochází k pomnožení nežádoucích destruktivních, podmíněně patogenních a vyloženě patogenních bakterií, které

irritují střevní výstelku, vyvolávají zánětlivé a toxické reakce a postupně narušují celkový zdravotní stav zvířat. Tato porucha eubiózy střevní mikroflóry se projevuje širokou škálou příznaků. Postižená zvířata růstově zaostávají, špatně konvertují krmivo a definitivně projevují manifestně klinické příznaky onemocnění. Je obecně známo, že zvířata chovaná ve velkovýrobních podmínkách jsou trvale vystaveny určité hladině různých stressů. Podstata růstově stimulačního a profylaktického účinku antibiotických a syntetických krmných přísad a doplňků biofaktorů v krmivech spočívá v jejich primárním vlivu na skladbu střevní mikroflóry. Tyto farmakologické látky svým bakteriostatickým a bakteriocidním účinkem tlumí růst a rozvoj destruktivních mikrobiálních skupin ve střevě a tím vytvářejí podmínky pro pomnožení a převládnutí konstruktivních (symbiotických) bakterií, které následně příznivě ovlivňují jak metabolismus a růst, tak i odolnost zvířat. Podstatou tohoto vynálezu je zjištění, že stejný efekt jako u klasických antibiotických a syntetických chemických aditivních látek lze dosáhnout i opačným způsobem - t.j. přímou dotací intestinálního aparátu zvířat symbiotickým (konstruktivními) bakteriálními kmeny. Přídavek stabilizovaných kultur konstruktivních zárodků, uvedených v předcházející části vynálezu, ve formě probiotického přípravku do krmiva vede k pozitivní kolonizaci intestinálního aparátu zvířat přirozenou symbiotickou mikroflorou, která v rámci mikrobiální biocenózy intestina získává převahu a konkurečním způsobem potlačuje růst a množení nežádoucích destruktivních skupin mikrobů. Tato pozitivní změna složení střevní mikrobiální biocenózy probiotickým přípravkem se sekundárně projevuje nejen zvýšením přírůstků hmotnosti hospodářských zvířat a zlepšenou konverzí živin, ale zejména zvýšenou rezistencí zvířat k celé řadě onemocnění. Z uvedeného je zřejmé, že pomocí probiotického přípravku podle tohoto vynálezu lze přirozeným biologickým mechanismem dosahovat minimálně stejných ekonomických efektů jako při použití klasických farmak, ale navíc při nižších realizačních nákladech a s vyloučením jakýchkoliv zdravotních, hygienických a ekologických rizik.

Praktické využití probiotických přípravků podle tohoto vynálezu v oblasti krmivářského průmyslu a veterinární medicíny přináší proti dřívějším systémům následující výhody:

Na rozdíl od klasických farmakologických přípravků (antibiotika, syntetické chem.látky atd.) probiotické přípravky podle tohoto vynálezu jsou ze zdravotně-hygienických hledisek a veterinárních požadavků zcela bezpečné. Jejich použití v praxi není rizikové ani při předávkování a případné neodborné manipulaci.

- a) Při širokém použití probiotických přípravků v praxi nevzniká žádné riziko rezistence ani šíření bakterií rezistentních k humánním a veterinárním léčivům.
- b) Probiotické přípravky nezanechávají v tkáních vykrmovaných zvířat žádná cizorodá rezidua.
- c) Při použití probiotických přípravků neexistuje riziko z předávkování.
- d) Použití probiotických přípravků nevylučuje paralelní použití jiných stimulačních, preventivních a léčebných přísad a doplňků.

Ekonomický přínos z krmivářského nebo léčebného použití probiotických přípravků je přinejmenším ekvivalentní klasickým krmným aditivům a medikačním přísadám (např. flavomycin, virginiamycin, Zn-bacitracin) při podstatně nižších realizačních nákladech.

- a) Účinek probiotických přípravků v oblasti výživy zvířat lze charakterizovat zlepšením denních přírůstků hmotnosti v rozsahu 5-17 % a zvýhodněním konverze krmiv v průměru od 7 do 12 %.
- b) Díky velmi nízkému dávkování je použití probiotických přípravků v krmivářském průmyslu přibližně 10 x až 50 x levnější než u tzv. klasických farmakologických přípravků.
- c) Kvalita masa zvířat vykrmovaných s pomocí probiotických přípravků je po stránce nutriční a biologické hodnoty signifikantně vyšší.

Praktické využití probiotických přípravků v živočišné výrobě průkazně zlepšuje zoohygienické podmínky a ekologii zemědělské prvovýroby.

- a) Probiotické přípravky snižují zátěž prostředí podmíněně patogenními a patogenními zárodky.
- b) Odpadní produkty živočišné výroby při použití probiotických přípravků neobsahují žádné cizorodé produkty, které by porušovaly ekologickou rovnováhu.

Vlastní podstatu vynálezu objasňují příklady přípravy a použití probiotických přípravků, které však neomezují obsah ani rozsah tohoto vynálezu. V příkladech uvádíme jen základní polyvalentní probiotické přípravky charakterizující možnosti využití těchto přípravků v praxi.

Příklad 1

Probiotický přípravek I. (Premix)

složení:

stabilizované kultury zárodků:

Bacillus subtilis (10×10^9 zár./lg)	5,0 kg
Streptococcus faecium (50×10^9 zár./lg)	2,0 kg
Lactobacillus casei (100×10^6 zár./lg)	10,0 kg
Glukóza Čsl.3.(příp.sacharóza)	13,0 kg
Sprayově suš.mléko	ad 1.000,0 kg

1 g probiotického přípravku I. (prémix) obsahuje:

50×10^6 zárodků Bacillus subtilis
100×10^6 zárodků Streptococcus faecium
10^6 zárodků Lactobacillus casei

Probiotický přípravek I. (Prémix) je určen pro použití k fortifikaci kompletních krmných směsí v následujícím dávkování:

druh hosp. zvířat	typ kompletní krmné směsi	dávka probiotického přípravku I. na 1.t krmné	Výsledná dotace zárodků na 1 gram krmné směsi		
			B.subtillilis	S.faecium	L.casei
=====					
Selata	Prestartérová směs ČOS 1	12 kg	600x10 ³	1.200x10 ³	12x10 ³
	Startérová směs ČOS 2	10 kg	500x10 ³	1.000x10 ³	10x10 ³
Prasata	Předvýkrmová směs A 1	5 kg	250x10 ³	500x10 ³	5x10 ³
	Výkrmová směs SOL	2 kg	100x10 ³	200x10 ³	2x10 ³
Prasnice	Kompletní směs pro prasnice březí KPB	2 ks	100x10 ³	200x10 ³	2x10 ³
	Kompletní směs pro prasnice kojící KPK	1 kg	50x10 ³	100x10 ³	10 ³
Brojleři	Startérová směs	15 kg	750x10 ³	1.500x10 ³	15x10 ³
	dokrmová směs	10 kg	500x10 ³	1.000x10 ³	10x10 ³
	Směsi pro produkční nosnice(NP)	15 kg	750x10 ³	1.500x10 ³	15x10 ³

Příklad 2

Probiotický přípravek II. (profylaktikum)

Složení:

Stabilizované kultury zárodků:

Bacillus subtilis (10×10^9 zár./lg)	4,0 g
Streptococcus faecium (50×10^9 zár./lg)	2,0 g
Glukóza čsl. 3	10,0 g
Vitamin A	25.000 m.j.
Vitamin D ₃	3.000 m.j.
Sprayově sušené mléko	ad 1.000,0 g

1 g probiotického přípravku obsahuje:

- 40 x 10⁶ zárodků Bacillus subtilis
- 100 x 10⁶ zárodků Streptococcus faecium
- 25 m.j. vitamínu A
- 3 m.j. vitamínu D₃

Probiotický přípravek II je určen k individuálním ošetření mláďat (selat, telat) v období sání a mléčné výživy (prevence průjmových onemocnění, stimulace růstu atd.) v následujícím dávkování:

druh hosp. zvířat	Indikace	dávkování probiot. přípravku II.
Selata	Průjmové onemocnění bakteriální etiologie, coli-toxemie, co-li-sepse, velkovýrobní podmínky	3 - 6g na sele a den
Telata		6 - 10g na tele a den

Příklad 3

Probiotický přípravek III. (Doplňk biofaktorů)

Složení:

Stabilizované kultury zárodků:

Bacillus subtilis (10×10^9 zár./lg)	5.000 ng
Streptococcus faecium (50×10^9 zár./lg)....	3.000 ng
Lactobacillus acidophilus (100×10^6 zár./lg)	10.000 ng
Vitamin A	800 m.j.
Vitamin D ₃	200.000 m.j.
Vitamin E	3.000 ng
Vitamin B ₂	300 ng
Vitamin B ₆	100 ng
Niacin	1.000 ng
Vitamin C	10.000 ng
Pantotenan váp.	50.000 ng
Krmná mouka pšeničná	ad 1 kg

1 g probiotického přípravku III. obsahuje:

50×10^6 zárodků Bacillus subtilis
 150×10^6 zárodků Streptococcus faecium
 10^6 zárodků Lactobacillus acidophilus

Probiotický přípravek III. je určen k inkorporaci (formou doplňku biofaktorů) do kompletních krmných směsí pro selata ČOS 1 a ČAS 2 v 1 % hladině. Tím dosáhneme dotace 500×10^3 zárodků Bacillus subtilis, 1.500×10^3 zárodků Streptococcus faecium a 10^4 zárodků Lactobacillus acidophilus v 1 g výsledné krmné směsi. Analogickým způsobem můžeme ze stabilizovaných kultur bakterií, uvedených v předcházející části vynálezu, připravovat monovalentní, bivalentní, trivalentní i polyvalentní probiotické přípravky sestavené pro specifické podmínky chovu, výživy a léčby různých druhů hospodářských zvířat bez ohledu na to, zda jde o monogastriční polygastriční zvířata.

Předmět vynálezu

Probiotický přípravek pro zlepšení zdravotního stavu a užitkovosti hospodářských zvířat v y z n a č e n ý t í m, že jako účinnou složku obsahuje alespoň jeden ze stabilizovaných kultur bakteriálních kmenů *Bacillus subtilis*, *Streptococcus faecium*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus lactis*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, které jsou finálně smíseny a zapracovány do nosných a živných substrátů jako je sušené mléko, krmná moučka, glukóza, vitamíny, minerální tak, aby výsledný probiotický přípravek obsahoval vždy standardní počet zárodků určitého kmene v 1 g, byl stabilní minimálně 6 měsíců a umožňoval přesné dávkování probiotického přípravku do krmiva, krmné směsi, medikačního prémixu a doplňku biofaktorů v rozsahu 10^3 až 5.000×10^6 zárodků na 1 g výsledného krmiva podle druhu hospodářských zvířat a výše požadovaného produkčního účinku, případně druhu onemocnění.