

PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

310 561

(13) Druh dokumentu: B6

(51) Int. Cl.:

A61K 35/74 (2015.01)

(19)  
ČESKÁ  
REPUBLIKA



ÚŘAD  
PRŮMYSLOVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: 2024-141  
(22) Přihlášeno: 16.04.2024  
(40) Zveřejněno: 03.12.2025  
(Věstník č. 49/2025)  
(47) Uděleno: 23.10.2025  
(24) Oznámení o udělení ve věstníku: 03.12.2025  
(Věstník č. 49/2025)

(56) Relevantní dokumenty:  
MAKI, Joel J., et al. Eggshell and environmental bacteria contribute to the intestinal microbiota of growing chickens. Journal of Animal Science and Biotechnology, 2020, Vol. 11, p. Art. No. 60, ISSN 1674-9782; RYCHLÍK, Ivan, et al. Microbiota of chickens and their environment in commercial production. Avian Diseases, 2023, Vol. 67, No. 1, p. 1-9, ISSN 0005-2086.  
US 2019029230 A1; WO 2024042387 A1.

(73) Majitel patentu:  
Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i.,  
Brno, Medlánky, CZ  
(72) Původce:  
doc. RNDr. Ivan Rychlík, Ph.D., Velešovice, CZ  
MVDr. Marcela Faldynová, Ph.D., Velešovice, CZ  
Ing. Daniela Karasová, Ph.D., Brno, Královo Pole, CZ  
Mgr. Alena Šebková, Brno, Žabovřesky, CZ  
Ing. Hana Přikrylová, Ph.D., Brno, Černá Pole, CZ  
Ing. Hana Havlíčková, Brno, Žabovřesky, CZ  
(74) Zástupce:  
HARBER IP s.r.o., Dukelských hrdinů 567/52,  
170 00 Praha 7, Holešovice

(54) Název vynálezu:  
Bakteriální přípravek pro ošetření prostředí  
líhni a jeho použití

(57) Anotace:  
Předkládané řešení se týká bakteriálního přípravku pro ošetření prostředí líhni, který jako účinnou složku obsahuje směs bakterií *Chryseobacterium indologenes* a *Sphingobacterium multivorum*. Řešení se dále týká použití uvedeného přípravku pro preventivní zlepšení fyziologických vlastností drůbeže, zejména pro prevenci infekcí drůbeže oportunními patogeny vybranými ze skupiny zahrnující *E. coli*, *Clostridium sensu stricto*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Enterobacter* a *Pseudomonas*.

Sekvence nukleotidů / aminokyselin dle ST.26:  
<https://isdv.upv.gov.cz/doc/st26/PV2024-141.xml>  
SHA-1: 00f577696ffd3500c05c783c9ad45ac054136dc0

## Bakteriální přípravek pro ošetření prostředí líhní a jeho použití

### Oblast techniky

5

Předkládaný vynález poskytuje bakteriální přípravek pro potlačení nežádoucí mikroflóry v líhních a následné zlepšení produkčních parametrů drůbeže po naskladnění na farmy.

### 10 Dosavadní stav techniky

Kuřata v komerční produkci se líhnou v líhních a bezprostředně po vylíhnutí jsou tak vystavena bakteriím, které se v prostředí vyskytují. Při líhnutí se v líhních hromadí vaječné skořápky a zbytky biologického materiálu pocházejícího z vajíček po vylíhnutí kuřat. V prostředí líhní je 15 teplota 37 °C a 80% relativní vlhkost vzduchu, což v kombinaci s biologickým materiálem ze zbytků skořápek představuje ideální podmínky pro pomnožení bakterií, kterým jsou pak vystavena kuřata od prvních minut života. Mikrobiální složení v tomto materiálu však není známo a není znám ani vliv této mikroflóry na zdravotní stav kuřat po naskladnění na farmy. V líhních je produkce kuřat vysoce koncentrovaná, což na jedné straně zvyšuje riziko 20 nesprávného rozvoje zdravotního stavu kuřat, ale na druhé straně představuje příležitost, jak v případě vhodného zásahu pozitivně ovlivnit zdravotní stav desítek tisíc kuřat. Přesto na dané téma nejsou dostupné žádné informace a neexistuje žádný mikrobiální preparát, který by se podával v líhních a jehož cílem by sice bylo kuře, ale nepřímo, přes ovlivnění mikroflóry prostředí líhní.

25

### Podstata vynálezu

V rámci předkládaného vynálezu bylo studováno více než 50 vzorků odpadu ze skořápek, ve kterých bylo sekvenováním části genu pro 16S rRNA stanoveno složení bakteriální flóry. Toto složení bylo korelováno s úhyny kuřat po naskladnění na farmy. Korelační analýza identifikovala jak bakterie s nežádoucí pozitivní korelací se zvýšenými úhyny kuřat v prvních dnech života, tak i bakterie s negativní korelací k úhynům – tedy čím více bylo takových bakterií v odpadu ze skořápek, tím nižší úhyny kuřat byly zaznamenány na farmách. Na tyto bakterie jsme zaměřili 35 kultivaci. Po kultivaci na krevním agaru byly suspektní kolonie identifikovány postupně pomocí hmotnostní spektrometrie (MALDI Biotyper), jehož výsledky byly následně potvrzeny sekvenováním části genu pro 16S rRNA a porovnáním získaných sekvencí s rRNA/ITS databází v GenBank ([https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE\\_TYPE=BlastSearch&LINK\\_](https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome) 40 [\\_LOC=blasthome](https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome)). Na závěr byla u získaných izolátů stanovena sekvence celého genomu.

Na základě uvedených výsledků byl vyvinut přípravek pro potlačení nežádoucí mikroflóry v líhních drůbeže, který jako účinnou složku obsahuje směs bakterií *Chryseobacterium indologenes* a *Sphingobacterium multivorum*. Bakteriální přípravek podle vynálezu má oproti 45 všem podobným, doposud připraveným produktům, tyto technické výhody:

- Obsažené bakterie (*Chryseobacterium indologenes* a *Sphingobacterium multivorum*) se běžně vyskytují v provozech líhní, ale nevyskytují se ve střešní mikroflóře kuřat, prasat nebo člověka.
- 50 – Obě bakterie patří mezi *in vitro* snadno kultivovatelné.
- Obě bakterie lze kultivovat v médiu bez přidavku jakýchkoli produktů živočišného původu.
- Bakterie z přípravku neosídlují trávicí nebo respirační trakt drůbeže, a neovlivňují tak zdravotní stav kuřat.

- Po aplikaci v líhních dva dny před započítáním líhnutí zůstávají obě bakterie v prostředí až do vylihnutí kuřat a kompetují s pomnožením nežádoucích bakterií v prostředí jako je *E. coli*, *Clostridium sensu stricto*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Enterobacter* nebo *Pseudomonas*.
- V reálných hejnech aplikace přípravku snižuje procento konfiskátů na porážce.
- 5 – Přípravek lze použít i v kombinaci s probiotiky pro osídlení trávicího traktu drůbeže.

#### Definice

- 10 BHI bujon (brain heart infusion, BHI) je mozkosrdcový bujón používaný pro kultivaci mikroorganismů.

OD<sub>600nm</sub> je zkratka označující optickou hustotu vzorku měřenou při vlnové délce 600 nm. Běžně se používá v mikrobiologii k odhadu koncentrace bakterií nebo jiných buněk v kapalině.

- 15 Master inokulum neboli matečné inokulum je kultura mikroorganismů pocházející z jedné dávky, zpracovaných společně v jedné operaci takovým způsobem, aby se zajistila stejnorodost a stabilita a nedošlo ke kontaminaci.

- 20 Krevní agar je kultivační půda, která je vhodná pro kultivaci mikroorganismů a umožňuje detekovat různé typy hemolýzy u inokulovaných mikroorganismů.

CFU je zkratka anglického termínu „Colony Forming Units“, tedy jednotky tvořící kolonie, a vyjadřuje počet mikroorganismů ve vzorku v jednotkách CFU/g či CFU/ml.

- 25 Potravinářsky přijatelné rozpouštědlo zahrnuje vodu, fyziologický roztok nebo popřípadě růstové médium pro bakterie.

- 30 Předmětem předkládaného vynálezu je bakteriální přípravek pro potlačení nežádoucí mikroflóry v líhních drůbeže, který jako účinnou složku obsahuje směs bakterií *Chryseobacterium indologenes* a *Sphingobacterium multivorum*. Obě uvedené bakterie lze kultivovat současně, což má pozitivní dopad na případnou průmyslovou výrobu bakteriálního přípravku. Bakteriální přípravek podle vynálezu je vhodný zejména pro podání sprejováním v líhních 2 dny před započítáním líhnutí kuřat, tedy 19. den embryonálního rozvoje. Bakteriální přípravek byl otestován jako bezpečný pro kuřata po sprejové aplikaci.

- 35 Ve výhodném provedení bakteriální přípravek obsahuje jako účinnou složku směs bakterií *Chryseobacterium indologenes* CCM 9369 a *Sphingobacterium multivorum* CCM 9368. Tyto bakteriální kmeny jsou uloženy v České sbírce mikroorganismů (CCM), adresa: Kamenice 5/budova A25, 625 00 Brno, Česká republika. Datum uložení je 16.10.2023 a ukladatelem jsou:  
40 Ivan Rychlík, Martin Faldyna, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 00, Brno. V jednom provedení bakteriální přípravek dále obsahuje kapalný nosič na bázi vody, například růstové médium pro bakterie, zejména BHI bujón. V jednom mililitru bakteriálního přípravku je obsaženo 10<sup>8</sup> až 10<sup>10</sup> CFU každé bakterie.

- 45 Předmětem předkládaného vynálezu je dále formulace pro sprejovou aplikaci obsahující bakteriální přípravek podle vynálezu a alespoň jedno potravinářsky přijatelné rozpouštědlo. Bylo zjištěno, že bakterie z přípravku vytěsňují z prostředí líhni nežádoucí bakterie jako je *E. coli*, *Clostridium sensu stricto*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Enterobacter* nebo *Pseudomonas*, snižují jejich zastoupení v líhních, a tedy expozici čerstvě vylihnutých kuřat těmto bakteriím. Uvedené bakterie sice nejsou považovány za bezprostředně patogenní, ale expozice právě vylihnutých kuřat bez rozvinutého imunitního systému těmto oportunně patogenním bakteriím může vést k nežádoucím reakcím spojeným s defekty, které jsou poté hodnoceny jako důvody pro konfiskaci na porážce.
- 50

Formulace pro sprejovou aplikaci pro ošetření líhni tedy obsahuje výše popsaný bakteriální přípravek a kapalný nosič na bázi vody. Kapalným nosičem může být voda nebo fyziologický roztok nebo růstové médium pro bakterie, s výhodou sestávající z peptonu ze sójových bobů, kyselého hydrolyzáta sójových proteinů a kvasnicového extraktu a produktů fermentace bakterií z této směsi. Bakteriální formulace pro sprejovou aplikaci obsahuje alespoň  $10^8$  CFU na mililitr tekuté formulace každé z obou obsažených bakterií. Obsažené bakterie *Chryseobacterium indologenes* a *Sphingobacterium multivorum* v líhních růstově kompetují s ostatními bakteriemi jako je *E. coli*, *Clostridium sensu stricto*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Enterobacter* nebo *Pseudomonas* a v konečném důsledku snižují expozici vylíhnutých kuřat těmto nežádoucím bakteriím.

### Objasnění výkresů

Obrázek 1. Složení mikroflóry v odpadu ze skořápek. Jednotlivé sloupcové grafy ukazují složení mikroflóry nebo zastoupení vybraných rodů v jednotlivých vzorcích odpadu skořápek. Mezi nejběžnější bakteriální rody a druhy v odpadu ze skořápek patří *Chryseobacterium*, *E. coli*, *Clostridium sensu stricto*, *Enterococcus* a *Pseudomonas*. Mezi *Chryseobacterium*, *E. coli* a *Pseudomonas* byl vzájemně negativní vztah – pokud se ve vzorcích vyskytlo *Chryseobacterium* nebo *Sphingobacterium*, *E. coli* a *Pseudomonas* byly velmi nízce zastoupeny. To vedlo k hypotéze o aktivní kolonizaci líhni *Chryseobacterium* a *Sphingobacterium*, a omezení multiplikace nežádoucích druhů.

Obrázek 2. Korelace mezi bakteriemi ve skořápkách a následnými úhyny kuřat po naskladnění na farmy. Korelace mezi zastoupením jednotlivých bakterií v odpadu ze skořápek a úhyny 7., 14., 21. a 28. den výkrmu. Pokud v odpadu ze skořápek dominovalo *Chryseobacterium indologenes* a *Sphingobacterium multivorum*, v hejnech byly zaznamenány snížené úhyny kuřat. Naopak pokud v tomto materiálu byly ve zvýšené míře zastoupeny rody *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Enterococcus* a *Enterobacter*, v hejnech poté byly zaznamenány zvýšené úhyny.

Obrázek 3. Vliv ošetření bakteriálním přípravkem na procento srážek na porážce. Ošetření přípravkem signifikantně snižovalo procento srážek na porážce.

### Příklady uskutečnění vynálezu

**Příklad 1:** Identifikace a izolace vhodných bakteriálních druhů specifických pro mikroflóru v odpadu ze skořápek

Při návrhu bakteriálního přípravku podle předloženého vynálezu byly izolací DNA, PCR přes část genu pro 16S rRNA a následným sekvenováním vzniklých PCR produktů identifikovány bakterie v odpadu vaječných skořápek. Korelační analýza mezi mikrobiálním složením a úhyny kuřat po naskladnění na farmy vedla k identifikaci bakteriálních druhů, které korelovaly s nízkými úhyny kuřat na farmách (obr. 1 a 2). Na takové druhy byla zaměřena následná kultivace, která byla prováděna ze vzorků skořápek odebraných v líhních kuřat nařazených ve sterilním fyziologickém roztoku o pH 7,5 při 25 °C. Jednotlivá ředění byla vyseta na krevní agar (komerčně dostupný např. od Biovendor a.s.) a inkubace probíhala aerobně po dobu 72 hodin při 37 °C. Z narostlých kolonií byl alikvot resuspendován v 1,0 ml BHI bujonu (komerčně dostupný např. od Sigma-Aldrich) s 10% glycerolem a zamražen při -70 °C pro další použití. Z jiného alikvotu byla izolována DNA, která byla využita pro stanovení kompletní sekvence bakteriální DNA a následnou druhovou identifikaci. Se znalostí celogenomové sekvence byly identifikovány geny specifické pro každou z uvedených bakterií a na ně byly zacíleny SybrGreen real-time PCR pro detekci a kvantifikaci cílových bakterií v libovolném typu vzorků s využitím následujících primerů:

| Cílová bakterie                     | forward primer                            | reverse primer                            |
|-------------------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------|
| <i>Chryseobacterium indologenes</i> | ggtcattttgtattgctctggtg<br>(SEQ ID NO. 1) | gtttcagattttcgtcctttggc<br>(SEQ ID NO. 2) |
| <i>Sphingobacterium multivorum</i>  | cgtgaaaccacatccagcac<br>(SEQ ID NO. 3)    | gcgtctatcccagtagagcg<br>(SEQ ID NO. 4)    |

Jednotlivé izolované kmeny bakterií byly identifikovány i dle sekvence genu pro 16S rRNA. Ta je pro bakterie používané v dalších testech následující:

5 *Chryseobacterium indologenes* CCM 9369

CATACAATGGAGAGTTTGATCCTGGCTCAGGATGAACGCTAGCGGGAGGCCTAACA  
CATGCAAGCCGAGCGGTAGAGATCTTTCGGGATCTTGAGAGCGGCGTACGGGTGCG  
GAACACGTGTGCAACCTGCCTTTATCTGGGGGATAGCCTTTCGAAAGGAAGATTAAT  
ACCCCATATATGTTGGATGGCATCATTCGACATTGAAAACCTCCGGTGGATAGAGAT  
GGGCACGCGCAAGATTAGATAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGTCTGCGATCT  
TTAGGGGGCCTGAGAGGGTGATCCCCACACTGGTACTGAGACACGGACCAGACTC  
CTACGGGAGGCAGCAGTGAGGAATATTGGACAATGGGTGAGAGCCTGATCCAGCCA  
TCCCGCGTGAAGGACGACGGCCCTATGGGTTGTAACTTCTTTTGTATAGGGATAAA  
CCTACTCTCGTGAGAGTAGCTGAAGGTACTATACGAATAAGCACCGGCTAACTCCGT  
GCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTATCCGGATTTATTGGGTTTA  
AAGGGTCCGTAGGCGGATCTGTAAGTCAGTGGTGAAATCTCACAGCTTAACTGTGA  
AACTGCCATTGATACTGCAGGTCTTGAGTGTTGTTGAAGTAGCTGGAATAAGTAGTG  
TAGCGGTGAAATGCATAGATATTACTTAGAACACCAATTGCGAAGGCAGGTTACTA  
AGCAACAACCTGACGCTGATGGACGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACC  
CTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGCTAACTCGTTTTTGGGCTTTCGGGTTTCAGAGA  
CTAAGCGAAAGTGATAAGTTAGCCACCTGGGGAGTACGAACGCAAGTTTGAACTC  
AAAGGAATTGACGGGGGCCCCGACAAAGCGGTGGATTATGTGGTTTAATTCGATGAT  
ACGCGAGGAACCTTACCAAGGCTTAAATGGGAAATGACAGGTTTAGAAATAGACTT  
TTCTTCGGACATTTTTCAAGGTGCTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGCCGTGAGGTGT  
TAGGTTAAGTCCTGCAACGAGCGCAACCCCTGTCACTAGTTGCCATCATTAAAGTTGG  
GGACTCTAGTGAGACTGCCTACGCAAGTAGAGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAAT  
CATCACGGCCCTTACGCCTTGGGCCACACACGTAATACAATGGCCGGTACAGAGGG  
CAGCTACACAGCGATGTGATGCAAATCTCGAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGAG  
TCTGCAACTCGACTCTATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGCATCAGCCATGGCG  
CGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCAAGCCATGGAAGTCTGGG  
GTACCTGAAGTCGGTGACCGTAACAGGAGCTGCCTAGGGTAAAACAGGTAAGTAGG  
GCTAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTACCGGAAGGTGCGGCTGGAACATCTCATTTTA  
G (SEQ ID NO. 5)

10 *Sphingobacterium multivorum* CCM 9368

ATGGAGAGTTTGATCCTGGCTCAGGATGAACGCTAGCGGCAGGCCTAATACATGCA  
 AGTCGGACGGGATCCATCGGAGAGCTTGCTCGAAGATGGTGAGAGTGGCGCACGGG  
 TCGTAACGCGTGAGCAACCTACCTCTATCAGGGGGATAGCCTCTCGAAAGAGAGA  
 TTAACACCGCATAACATCAACAGTTCGCATGTTGCGTTGATTAAATATTTATAGGAT  
 AGAGATGGGCTCGCGTGACATTAGCTAGTTGGTAGGGTAACGGCCTACCAAGGCGA  
 CGATGTCTAGGGGCTCTGAGAGGAGAATCCCCCACACTGGTACTGAGACACGGACC  
 AGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAAGGAATATTGGTCAATGGGCGGAAGCCTGAAC  
 CAGCCATGCCGCGTGCAGGATGACTGCCCTATGGGTTGTAACTGCTTTTGTCCAGG  
 AATAAACCTAAATACGTGTATTTAGCTGAATGTACTGGAAGAATAAGGATCGGCTA  
 ACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGATCCGAGCGTTATCCGGATTTATTG  
 GGTTTAAAGGGTGCGTAGGCGGCCTATTAAGTCAGGGGTGAAATACGGTGGCTCAA  
 CCATCGCAGTGCCTTTGATACTGATGGGCTTGAATCCATTTGAAGTGGGCGGAATAA  
 GACAAGTAGCGGTGAAATGCATAGATATGTCTTAGAACTCCGATTGCGAAGGCAGC  
 TACTAAGCTGGTATTGACGCTGATGCACGAAAGCGTGGGGATCGAACAGGATTAG  
 ATACCTGGTAGTCCACGCCCTAAACGATGATAACTCGATGTTGGCGATAGACAGCC  
 AGCGTCCCAGCGAAAGCGTTAAGTTATCCACCTGGGGAGTACGCCCCGAAGGGTGA  
 AACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGAGGAGCATGTGGTTTAATTG  
 ATGATACGCGAGGAACCTTACCCGGGCTTGAAAGTTAGTGAAGAGTGCAGAGACGC  
 ACTCGTCTTCGGGACACGAACTAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGCCGT  
 GAGGTGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATGTTTAGTTGCCAGCATG  
 TCATGGTGGGGACTCTAAACAGACTGCCTGTGCAAACAGAGAGGAAGGTGGGGACG  
 ACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGTCCGGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGT  
 ACAGCGGGCAGCTACATAGCAATATGATGCTAATCTCTAAAAGCCATTACAGTTTCG  
 GATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTTGGATTTCGCTAGTAATCGCGTATCAG  
 CAATGACGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCAAGCCATGA  
 AAGTTGGGGGTACCTAAAGCATGTTACCGCAAGGAGCGTGTTAGGGTAAAACCGAT  
 AATTGGGGCTAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTACCGGAAGGTGCGGCTGGAATACCT  
 CCTTT (SEQ ID NO. 6)

## **Příklad 2:** Příprava bakteriálního přípravku

- 5 Čisté kultury obou výše uvedených izolátů (*Chryseobacterium indologenes* a *Sphingobacterium multivorum*) se skladují v BHI médiu (komerčně dostupný např. od Sigma-Aldrich) s 10% glycerolem při -70 °C. Při pomnožení se jednotlivé kultury vysejí na krevní agar (komerčně dostupný např. od Biovendor a.s.) a kultivují se 36 hodin při 37 °C. Poté se jednotlivé kultury samostatně resuspendují v 5 ml BHI média s 10% glycerolem do  $OD_{600nm} = 1$ , což odpovídá
- 10 koncentraci  $1 \times 10^9$  CFU/ml. Následně se pětimililitrové objemy obou kultur smíchají a rozplní do jednomililitrových master inokulí. V případě přípravy probiotické směsi se 1 ml master inokula použije k zaočkování 3 litrů kultivační půdy a inkubuje se aerobně v médiu bez živočišných proteinů (pepton ze sojových bobů (enzymatický digestát), kyselý hydrolyzát sójového proteinu, kvasnicový extrakt) při 37 °C po dobu 36 hodin. Výsledná koncentrace fermentátu dosahuje
- 15 hodnot  $1 \times 10^8$  CFU/ml. Po kultivaci se fermentát *Ch. indologenes* a *S. multivorum* centrifuguje při 5000g a 20 °C po dobu 20 min. Po odstranění supernatantu se peleta resuspenduje v 30 ml BHI média s 10% glycerolem a zamrazí se při -70 °C. Výsledný přípravek tedy obsahuje  $1 \times 10^{10}$  CFU/ml a jedna dávka přípravku o objemu 30 ml je dostačující na ošetření jedné dolíhne s 30 000 vejci.

20

## **Příklad 3:** Vliv ošetření bakteriálním přípravkem na procento srážek na porážce.

- Devatenáctý den embryonálního vývoje se bakteriální přípravek obsahující minimálně  $10^{10}$  CFU/ml naředí 100x ve sterilním fyziologickém roztoku a sprejováním se aplikuje do prostředí
- 25 líhne. Celkem bylo porovnáno 13 hejn po ošetření bakteriálním přípravkem (celkem 487 700

kuřat) s 5 kontrolními hejny (207 800 kuřat). Ošetření bakteriálním přípravkem signifikantně snižovalo procento srážek na porážce (obr. 3).

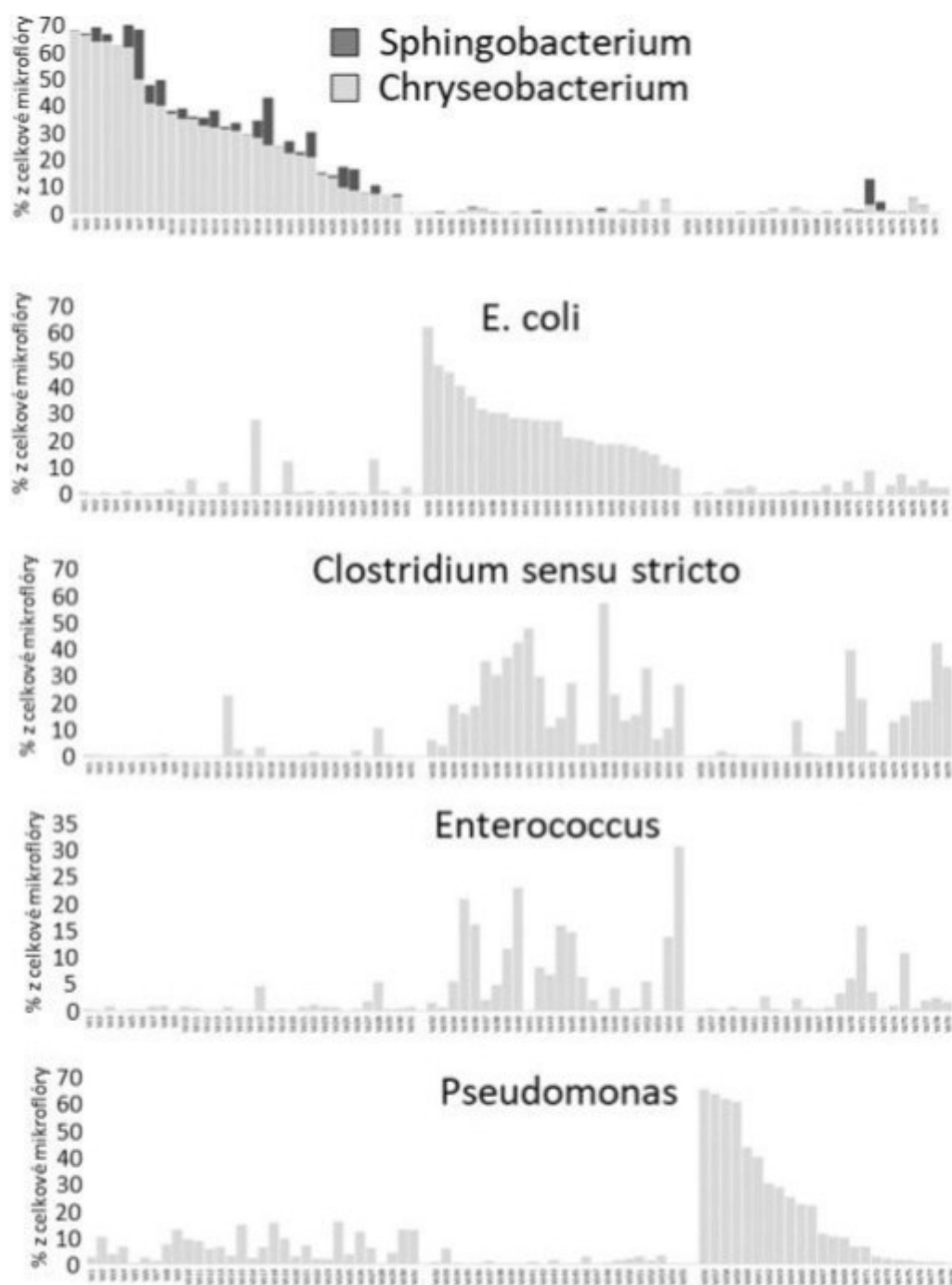
#### Závěry

- 5 Bakterie *Chryseobacterium indologenes* a *Sphingobacterium multivorum* z bakteriálního přípravku podle předloženého vynálezu osídlují prostředí líhni, ve kterém kompetují s nežádoucí mikroflórou. Přípravek se s výhodou aplikuje sprejováním v líhni 19. den embryonálního vývoje. Přípravek nevykazuje žádné negativní účinky, po jeho podání nebyly zaznamenány žádné úhyny
- 10 drůbeže a bakterie z přípravku drůbež nekolonizují. Proto se dá přípravek podle předloženého vynálezu s výhodou použít jako přípravek zlepšující celkový zdravotní stav drůbeže po vylíhnutí, a to nepřímo přes ochranu prostředí v líhních. Výsledný efekt se projeví nižším procentem srážek drůbeže na porážce po ukončení výkrmu.

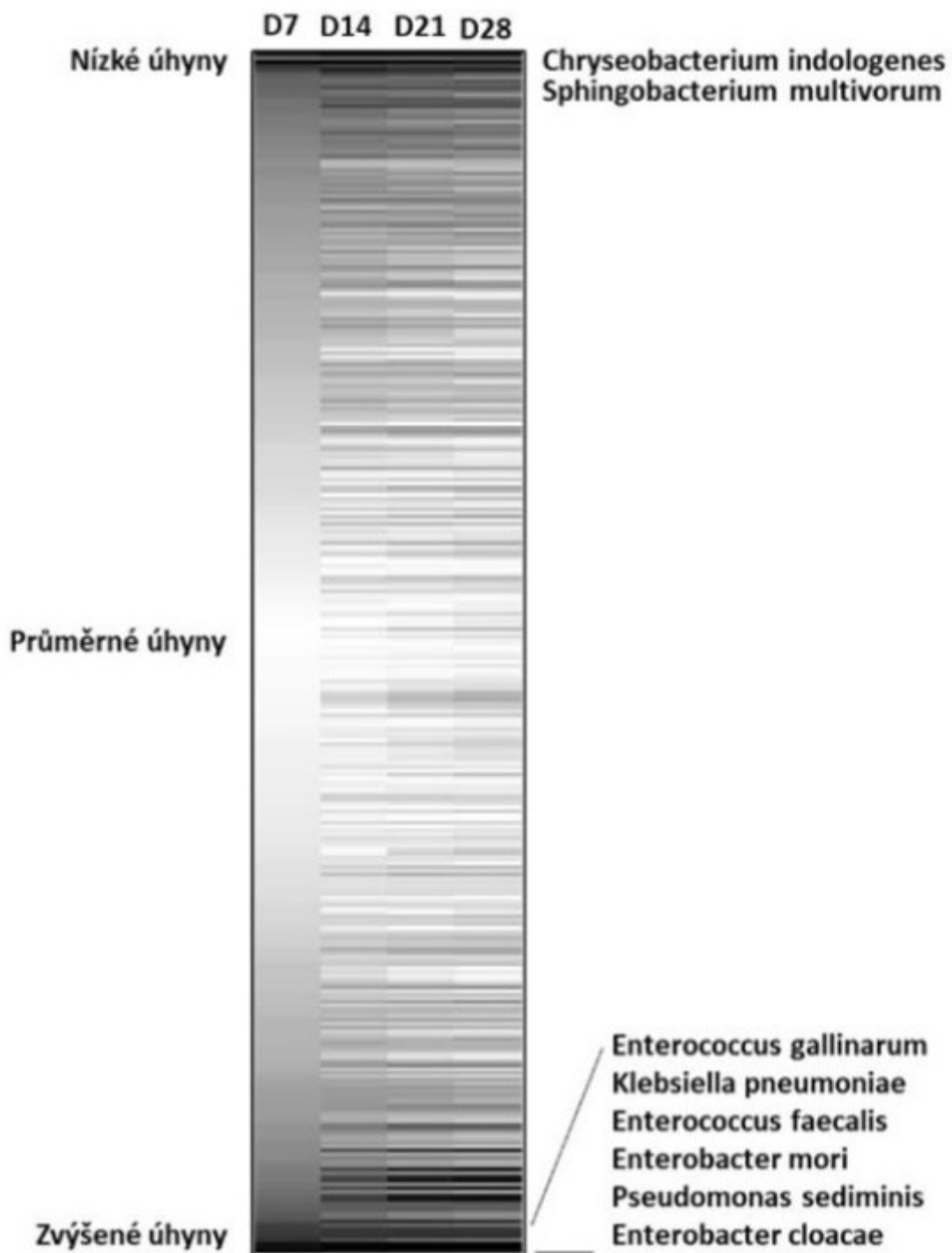
## PATENTOVÉ NÁROKY

1. Přípravek pro ošetření prostředí líhní, **vyznačující se tím**, že jako účinnou složku obsahuje směs bakterií *Chryseobacterium indologenes* a *Sphingobacterium multivorum*.
- 5 2. Přípravek podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že obsahuje jako účinnou složku směs bakterií *Chryseobacterium indologenes* CCM 9369 a *Sphingobacterium multivorum* CCM 9368.
3. Přípravek podle nároku 1 nebo 2, **vyznačující se tím**, že dále obsahuje kapalný nosič na bázi vody, s výhodou růstové médium pro bakterie.
- 10 4. Přípravek podle nároku 1, 2 nebo 3, **vyznačující se tím**, že obsahuje  $10^8$  až  $10^{10}$  CFU každé bakterie v jednom mililitru přípravku.
5. Formulace pro sprejovou aplikaci, **vyznačující se tím**, že obsahuje přípravek podle kteréhokoliv z nároků 1 až 4 a dále kapalný nosič na bázi vody, s výhodou vybraný ze skupiny zahrnující vodu nebo fyziologický roztok, přičemž obsah každé bakterie v jednom mililitru formulace je alespoň  $10^7$  CFU.
- 15 6. Formulace podle nároku 5, **vyznačující se tím**, že obsahuje od  $10^8$  do  $10^9$  CFU každé bakterie v jednom mililitru formulace.
7. Přípravek podle kteréhokoliv z nároků 1 až 4 nebo formulace podle nároku 5 nebo 6 pro použití pro preventivní zlepšení fyziologických vlastností drůbeže.
- 20 8. Přípravek podle kteréhokoliv z nároků 1 až 2 nebo formulace podle nároku 5 nebo 6 pro použití pro prevenci infekcí drůbeže oportunními patogeny vybranými ze skupiny zahrnující *E. coli*, *Clostridium sensu stricto*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Enterobacter* a *Pseudomonas*.

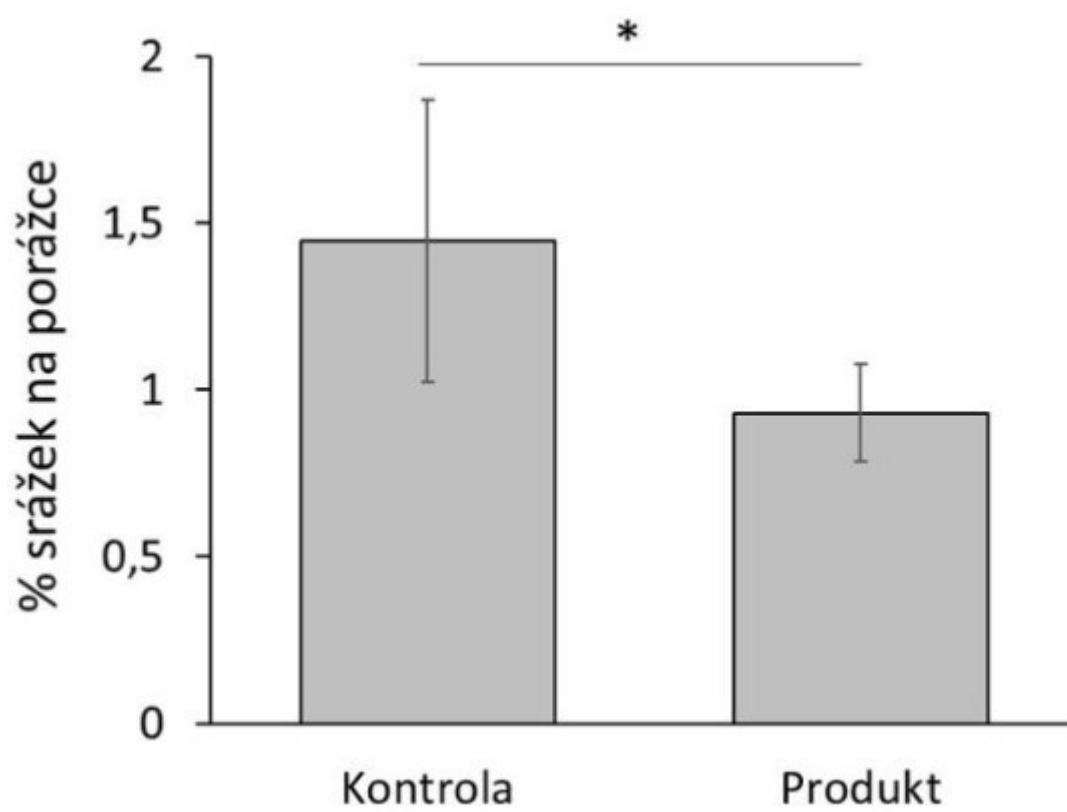
3 výkresy



Obr. 1



Obr. 2



Obr. 3