



(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)



1-0035646

(51)⁸ A23K 1/16

(13) B

(21) 1-2017-03501

(22) 13/02/2015

(86) PCT/JP2015/053961 13/02/2015

(87) WO 2016/129100 18/08/2016

(45) 25/05/2023 422

(43) 27/11/2017 356A

(73) 1. YUKA SANGYO CO, LTD. (JP)

1-18, Ebisu 4-chome, Shibuya-ku, Tokyo 1500013, Japan

2. MIE UNIVERSITY (JP)

1577, Kurimamachiya-cho, Tsu-shi, Mie 5148507, Japan

(72) YAMADA, Yutaka (JP); MATSUI, Hiroki (JP).

(74) Công ty TNHH Dương và Trần (DUONG & TRAN CO., LTD)

(54) CHẾ PHẨM LÀM TĂNG VI KHUẨN CÓ LỢI CHO ĐƯỜNG RUỘT ĐỘNG VẬT VÀ PHƯƠNG PHÁP CẢI THIỆN MÔI TRƯỜNG ĐƯỜNG RUỘT CHO GIA SÚC BẰNG CÁCH SỬ DỤNG CHẾ PHẨM NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm làm tăng vi khuẩn có lợi cho đường ruột động vật giúp cải thiện môi trường đường ruột của động vật như gia súc và do đó ngăn ngừa sự xuất hiện của bệnh tật và nâng cao năng suất của gia súc. Chế phẩm làm tăng vi khuẩn có lợi cho đường ruột động vật theo sáng chế chứa ít nhất một axit béo được chọn từ nhóm bao gồm axit caprylic, axit capric, và axit lauric, hoặc muối của chúng.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm làm tăng vi khuẩn có lợi cho đường ruột động vật để làm tăng vi khuẩn có lợi có mặt trong đường ruột của động vật. Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp cải thiện môi trường đường ruột cho gia súc bằng cách sử dụng chế phẩm làm tăng vi khuẩn có lợi cho đường ruột động vật theo sáng chế nhằm mục đích làm tăng vi khuẩn có lợi và làm giảm vi khuẩn có hại trong hệ thực vật đường ruột của gia súc giúp cải thiện môi trường đường ruột của gia súc, do đó đạt được hiệu quả cải thiện và duy trì các chức năng tiêu hóa và sinh lý và chức năng miễn dịch, ngăn ngừa sự xuất hiện của bệnh tật, và cải thiện hiệu quả năng suất của gia súc.

“Động vật” theo sáng chế dùng để chỉ các động vật có xương sống như động vật có vú, các loài chim, bò sát, lưỡng cư, và cá cũng như là, ví dụ, con người, gia súc, động vật linh trưởng (như khỉ và tinh tinh), và các động vật thí nghiệm (như chuột nhà và chuột hoang). "Gia súc" theo sáng chế dùng để chỉ động vật nuôi công nghiệp được thuần hóa hoặc được nuôi bởi con người nhằm mục đích sử dụng các sản phẩm của chúng (như sữa, thịt, và trứng), động vật nuôi với mục đích làm thú cưng hoặc trang trí, và động vật thi đấu và bao gồm, ví dụ như, gia súc, lợn, cừu, dê, ngựa, gia cầm, chó, mèo, các loài chim nhỏ, và cá nuôi.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Gần đây, số lượng gia súc đang ngày càng tăng với quy mô lớn hơn và buộc phải được quản lý theo đàn thay vì quản lý theo từng đơn vị riêng lẻ. Trong hoàn cảnh hiện tại, gia súc chịu nhiều áp lực quản lý khác nhau như chăn nuôi ngắn hạn với mật độ nuôi cao (động vật hoặc chim/diện tích), chuyển sang thức ăn với các chất dinh dưỡng và các dạng khác nhau, nhiệt độ nóng, nhiệt độ lạnh, cai sữa, di chuyển đàn gia súc theo ý muốn của con người ở các trang trại chăn nuôi, và vận chuyển gia súc đường dài. Đặc biệt là vào mùa hè, gia súc bị căng thẳng gia tăng đáng kể do sự gia tăng nhiệt

độ chưa từng có bởi sự nóng lên toàn cầu trong khi sự căng thẳng trong mùa lạnh thì không thay đổi, mà chỉ làm gia tăng các tác động tiêu cực của các yếu tố này đối với gia súc. Kết quả là, các vấn đề lớn là do sự xuất hiện của bệnh tật, sự giảm năng suất như giảm mức tăng trưởng (tăng), và ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm.

Một yếu tố gián tiếp gây căng thẳng làm giảm năng suất của gia súc có thể là các cơ quan nội tạng bị suy yếu như đường tiêu hóa dẫn đến làm giảm lượng thức ăn được đưa vào hoặc giảm đáng kể mức tiêu hóa và hấp thu các thành phần dinh dưỡng, rối loạn hệ thực vật đường ruột, và suy giảm miễn dịch, khiến gia súc dễ mắc các mầm bệnh như vi khuẩn và động vật nguyên sinh. Hệ thực vật đường ruột bao gồm vi khuẩn có lợi và vi khuẩn có hại, và vi khuẩn có lợi bao gồm vi khuẩn thuộc các giống *Lactobacillus* và *Bifidobacterium*, trong khi vi khuẩn có hại bao gồm các vi khuẩn như *Escherichia coli*, vi khuẩn thuộc giống *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, và *Clostridium perfringens*. Cần được xem xét rằng khi sự tăng trưởng cạnh tranh giữa các vi khuẩn có lợi và vi khuẩn có hại này mất cân bằng và khiến cho vi khuẩn có hại chiếm ưu thế trong hệ thực vật đường ruột, điều này làm giảm chức năng miễn dịch và giảm các chức năng tiêu hóa và sinh lý và dẫn đến xuất hiện bệnh tật và làm giảm năng suất vật nuôi.

Các biện pháp đối phó với gia súc bị căng thẳng đã được báo cáo, ví dụ như, phần bổ sung dinh dưỡng cho gia súc chứa triglycerit của axit béo cao và triglycerit của axit béo chuỗi trung bình (Tài liệu sáng chế 1), chế phẩm sữa thay thế cho gia súc non chứa chất béo và dầu thực vật và động vật và các chất xơ trong khẩu phần nhằm mục đích cải thiện tình trạng tiêu chảy/phân lỏng và giảm nhẹ căng thẳng cho gia súc non (Tài liệu sáng chế 2), chế phẩm sữa thay thế cho gia súc non chứa bột sữa gầy và/hoặc bột đậu nành làm thành phần chính và chứa axit béo chuỗi trung bình và muối của chúng (Tài liệu sáng chế 3), và thuốc chứa hỗn hợp axit béo chuỗi trung bình để ngăn ngừa sự nhiễm *Escherichia coli*, v.v. (Tài liệu sáng chế 4).

Tài liệu liên quan đến tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Tài liệu sáng chế

Tài liệu sáng chế 1: Công bố đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế Nhật số 6-153812

Tài liệu sáng chế 2: Công bố đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế Nhật Bản số 10-127232

Tài liệu sáng chế 3: Bằng độc quyền sáng chế Nhật Bản số 2723961

Tài liệu sáng chế 4: Bằng độc quyền sáng chế Nhật Bản số 5259905

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề cần giải quyết của sáng chế

Tuy nhiên, ngay cả khi triglycerit của axit béo cao và triglycerit của axit béo chuỗi trung bình được cung cấp đơn giản hoặc các chất xơ thô được sử dụng đơn giản với nhau, thời gian cần thiết để tiếp sức sống cho gia súc và, do đó, các mầm bệnh có biên độ thời gian để lây nhiễm, mà điều này dẫn đến khó cải thiện sự giảm năng suất. Hơn nữa, vấn đề còn tồn tại ở chỗ mức tăng trưởng đầy đủ, mức cải thiện năng suất như hiệu quả sử dụng thức ăn, và mức cải thiện sự xuất hiện của bệnh tật như tiêu chảy là không được mong đợi trừ khi các chức năng miễn dịch và điều chỉnh sinh học bị giảm do các tình trạng căng thẳng do dinh dưỡng, quản lý chăn nuôi, và môi trường chăn nuôi được cải thiện cùng với sự phục hồi niêm mạc ruột, đặc biệt là, lông mao, v.v.. Ngoài ra, mặc dù có hiệu quả cung cấp dinh dưỡng và hiệu quả ngăn chặn *Escherichia coli* đường ruột, nhưng hỗn hợp axit béo chuỗi trung bình không được biết đến với mục đích ức chế các vi khuẩn có hại khác và tác động đến vi khuẩn có lợi như vi khuẩn bifido (*bifidobacteria*).

Tập trung chú ý vào một loạt các vấn đề được mô tả ở trên, mục đích của sáng chế là giúp cải thiện môi trường đường ruột của động vật như gia súc và đó đó ngăn ngừa sự xuất hiện của bệnh tật và nâng cao năng suất của gia súc.

Theo các nghiên cứu chuyên sâu để giải quyết vấn đề này, các tác giả sáng chế phát hiện ra rằng axit nhất định hoặc muối của nó có thể làm tăng vi khuẩn có lợi và làm giảm vi khuẩn có hại trong hệ thực vật đường ruột của động vật như gia súc giúp

cải thiện môi trường đường ruột và ngăn ngừa xuất hiện bệnh tật và sự giảm năng suất, nhờ đó hoàn thiện sáng chế.

Cụ thể, sáng chế đề xuất chế phẩm làm tăng vi khuẩn có lợi cho đường ruột động vật chứa ít nhất một axit béo được chọn từ nhóm bao gồm axit caprylic, axit capric, và axit lauric, hoặc muối của chúng.

Sáng chế đề xuất phương pháp cải thiện môi trường đường ruột cho gia súc bao gồm việc cung cấp cho gia súc thức ăn chứa từ chế phẩm làm tăng vi khuẩn có lợi cho đường ruột động vật theo sáng chế với hàm lượng 0,1 đến 2% trọng lượng.

Hiệu quả đạt được của sáng chế

Nhiều nhóm vi khuẩn tồn tại trong đường ruột động vật và tạo thành hệ thực vật đường ruột. Chế phẩm làm tăng vi khuẩn có lợi cho đường ruột động vật theo sáng chế có thể làm tăng vi khuẩn có lợi và làm giảm vi khuẩn có hại trong hệ thực vật đường ruột của động vật như gia súc giúp cải thiện môi trường đường ruột của động vật trong hệ thực vật đường ruột chứa vi khuẩn có lợi chiếm ưu thế, do đó ngăn ngừa sự xuất hiện của bệnh tật và nâng cao năng suất của gia súc. Hơn nữa, các thành phần chính, tức là, axit caprylic, axit capric, và axit lauric, là các chất ban đầu có tốc độ hấp thụ và trao đổi chất cực kỳ cao và các chất này cũng có hiệu quả về mức tiêu hóa, theo đó làm tăng sức sống nhanh chóng cho động vật.

Phương pháp cải thiện môi trường đường ruột cho gia súc theo sáng chế có thể giúp cải thiện môi trường đường ruột của gia súc, ngăn ngừa sự xuất hiện của bệnh tật, và nâng cao năng suất của gia súc.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết.

Chế phẩm làm tăng vi khuẩn có lợi cho đường ruột động vật (sau đây còn được gọi tắt là "chế phẩm làm tăng vi khuẩn có lợi") theo sáng chế chứa ít nhất một axit béo được chọn từ nhóm bao gồm axit caprylic, axit capric, và axit lauric, hoặc muối của chúng (sau đây được gọi là "axit béo, v.v."). Chế phẩm làm tăng vi khuẩn có lợi tốt hơn

là chứa hai axit béo được chọn từ nhóm bao gồm axit caprylic, axit capric, và axit lauric, hoặc muối của chúng, và tốt hơn nữa là chứa ba axit béo hoặc muối của chúng.

Các muối được ưu tiên của các axit béo này là muối canxi và muối magie của nhiều axit béo được mô tả ở trên do các muối này là các thành phần khoáng chất thiết yếu cho gia súc, và hai loại muối này có thể được sử dụng theo cách riêng lẻ hoặc kết hợp với nhau. Các muối kim loại của các axit béo này được ưu tiên hơn trong số các loại chất béo do tính dễ sử dụng và dễ trộn lẫn với thức ăn vì các muối kim loại của các axit béo này là chất rắn ở nhiệt độ thường, và vì sự tác động đến dạ cỏ của động vật nhai lại. Đặc biệt, tốt hơn là sử dụng muối canxi của axit béo hoặc muối magie của axit béo dạng hạt nhỏ hoặc bột-rắn.

Chế phẩm làm tăng vi khuẩn có lợi theo sáng chế có thể áp dụng được cho gia súc như trâu bò, lợn, và gà, và có thể làm giảm vi khuẩn có hại và làm tăng vi khuẩn có lợi trong đường ruột giúp ngăn ngừa dịch bệnh xảy ra, thúc đẩy khả năng duy trì lượng thức ăn được đưa vào và mức tăng trưởng, và duy trì năng suất, trong các khoảng thời gian khi mà gia súc chịu nhiều căng thẳng về quản lý khác nhau như nuôi ngắn hạn với mật độ nuôi cao (động vật hoặc chim/diện tích), chuyển sang thức ăn với các chất dinh dưỡng và các hình thức khác nhau, ví dụ như nhiệt độ nóng, lạnh, việc cai sữa, sự dịch chuyển của đàn gia súc do tác động của con người ở trang trại chăn nuôi, và vận chuyển gia súc đường dài.

Cung cấp thức ăn gia súc chứa chế phẩm làm tăng vi khuẩn có lợi theo sáng chế (sau đây được gọi là thức ăn gia súc theo sáng chế) có thể làm giảm vi khuẩn có hại ví dụ như *Escherichia coli*, giống *Salmonella*, và *Clostridium perfringens*, và có tác động mạnh mẽ đến *Escherichia coli* và *Clostridium perfringens*. Việc cung cấp thức ăn gia súc theo sáng chế có thể làm tăng vi khuẩn có lợi, ví dụ như những vi khuẩn thuộc giống *Lactobacillus* và *Bifidobacterium*.

Chế phẩm làm tăng vi khuẩn có lợi theo sáng chế có thể chứa chất phụ gia đã biết như chất mang và tá dược. Hàm lượng axit béo, v.v. trong chế phẩm làm tăng vi khuẩn có lợi theo sáng chế tốt hơn là lớn hơn hoặc bằng 70% khối lượng, đặc biệt tốt

hơn là lớn hơn hoặc bằng 90% khối lượng, và tốt hơn nữa là lớn hơn hoặc bằng 95% khối lượng. Hàm lượng nhỏ hơn 70% khối lượng có thể không đủ để cải thiện hệ thực vật đường ruột của động vật và không hiệu quả vì các thành phần khác như axit béo chuỗi dài và chất khoáng cũng được sử dụng.

Chế phẩm làm tăng vi khuẩn có lợi và thức ăn gia súc theo sáng chế có thể được sử dụng làm chất phụ gia thực phẩm, dược phẩm, và chất phụ gia cho thức ăn gia súc.

Thức ăn gia súc có thể chứa, ví dụ như, bột ngũ cốc như bột ngô, bột gạo, và cám, các chất vô cơ, các axit amin, protein, vitamin, và chất béo. Ví dụ như, thức ăn gia súc có thể chứa các thành phần được mô tả trong các Bảng tiêu chuẩn về thành phần thức ăn chăn nuôi ở Nhật Bản (2009, do Cơ quan Hành chính Hợp nhất, Tổ chức nghiên cứu nông nghiệp và lương thực Quốc gia) biên tập.

Chế phẩm làm tăng vi khuẩn có lợi và thức ăn gia súc theo sáng chế có thể có các dạng bất kỳ như dạng lỏng, bột nhão, bột, và dạng viên vè nhỏ, và có thể được điều chế theo phương pháp đã biết tùy thuộc vào dạng mong muốn.

Phương pháp cải thiện môi trường đường ruột cho gia súc theo sáng chế được đặc trưng bởi việc cấp cho gia súc thức ăn chứa từ 0,1 đến 2% khối lượng, tốt hơn là từ 0,10 đến 1,5% khối lượng, tốt hơn nữa là từ 0,5 đến 1% khối lượng chế phẩm làm tăng vi khuẩn có lợi theo sáng chế. Nếu lượng cung cấp cho gia súc là thấp hơn 0,1% khối lượng trong thức ăn, thì có thể không đạt được hiệu quả theo sáng chế.

Tần suất cung cấp và lượng cung cấp thức ăn chứa chế phẩm làm tăng vi khuẩn có lợi theo sáng chế khác nhau phụ thuộc vào tính chất vật lý của thức ăn và loại và cân nặng (tuổi) của gia súc, và tần suất cung cấp và lượng cung cấp thức ăn thông thường có thể được sử dụng.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn bằng cách sử dụng các ví dụ; tuy nhiên, các ví dụ này không làm giới hạn sáng chế cũng không làm trệch khỏi tinh thần

của sáng chế.

Bốn loại thức ăn gia súc được điều chế làm thức ăn gia súc được sử dụng trong các ví dụ này, mà là axit caprylic Ca, axit capric Ca, axit lauric Ca, và axit béo hỗn hợp Ca của axit caprylic/axit capric/axit lauric. "Axit béo hỗn hợp Ca của axit caprylic/axit capric/axit lauric" là muối canxi của axit béo hỗn hợp bao gồm axit caprylic:axit capric:axit lauric = 20:20:60 (tỷ lệ theo khối lượng) và là sản phẩm do hãng YUKA SANGYO CO., LTD sản xuất. Tỷ lệ phần trăm các axit béo trong các thức ăn gia súc này được mô tả trong bảng 1.

Bảng 1 - Phần trăm hàm lượng của các axit béo trong thức ăn chăn nuôi được sử dụng trong các ví dụ

Thức ăn chăn nuôi	Phần trăm hàm lượng của các axit béo (%)
Axit caprylic Ca	72,2
Axit capric Ca	75,6
Axit lauric Ca	78,3
Axit béo hỗn hợp Ca của axit caprylic/axit capric/axit lauric	77,3

Các ví dụ từ 1 đến 5, các ví dụ so sánh từ 1 đến 5

Năm trong số 50 con bò sữa Holstein được cung cấp đến mức quá no với nước và thức ăn cơ bản được mô tả trong Bảng 2 được sử dụng cho từng ví dụ và ví dụ so sánh và được cung cấp thức ăn gia súc được mô tả trong các bảng 3 và 4 trong 3 tuần. Sau 3 tuần cung cấp, lấy mẫu phân ở những con bò này và bảo quản lạnh cho đến khi phân tích. Số lượng vi khuẩn trong phân được xác định bằng phương pháp PCR thời gian thực về giống *Bifidobacterium*, *Escherichiacoli*, giống *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, và *Clostridium perfringens*. Các quy trình cụ thể để đạt được số lượng vi khuẩn bao gồm: 1) chiết ADN từ mẫu vật, 2) sử dụng ADN để phân tích bằng từng phương pháp PCR, và 3) định lượng số lượng vi khuẩn trên cơ sở mối quan hệ tỷ lệ giữa lượng các gen và số lượng vi khuẩn. Số lượng vi

khuẩn được tính dưới dạng giá trị tương đối bằng cách giả định rằng số lượng vi khuẩn trước khi cung cấp thức ăn là một. Phương pháp PCR đa môi được sử dụng để phát hiện chín loại vi khuẩn thuộc giống *Lactobacillus* trong phân, tức là, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei-group*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, và *Lactobacillus reuteri*. Việc kiểm nghiệm còn được thực hiện thêm với tỷ lệ mắc bệnh tiêu chảy trong suốt thời gian cung cấp cũng như là năng suất sữa, phần trăm chất béo trong sữa, và phần trăm protein sữa sau ba tuần cho ăn. Kết quả của các ví dụ được mô tả trong các bảng 5, 7, 9, và 10, và kết quả của các ví dụ so sánh được mô tả trong các bảng 6, 8, 9, và 10.

Bảng 2 - Tỷ lệ pha trộn thức ăn cơ bản

Các thành phần	Tỷ lệ pha trộn (% khối lượng)
Rượu chưng cất shochu hòa tan	34,3
Cặn nước tương	15,1
Cỏ linh lăng	15,5
Ngô ủ xilô	10,2
Cỏ blueglass	9,0
Thức ăn tổng hợp bán sẵn trên thị trường	15,0
Hỗn hợp khoáng chất vitamin	0,9

Bảng 3 - Lượng thức ăn gia súc bổ sung vào thức ăn cơ bản

			Các ví dụ		
	Số 1	Số 2	Số 3	Số 4	Số 5
Axit caprylic Ca	1,0%	—	—	0,2%	—
Axit capric Ca	—	0,5%	—	—	—
Axit lauric Ca	—	—	0,1%	0,2%	—
Axit béo hỗn hợp Ca của axit caprylic/axit capric/axit lauric	—	—	—	—	0,5%

Bảng 4

	Các ví dụ so sánh				
	Số 1	Số 2	Số 3	Số 4	Số 5
Axit caprylic Ca	0,05%	—	—	—	—
Axit béo hỗn hợp Ca của axit caprylic/axit capric/axit lauric	—	0,08%	—	—	—
Axit béo dầu cọ Ca	—	—	1%	—	—
Axit béo dầu đậu nành Ca	—	—	—	2%	—
Dầu hạt lanh axit béo Ca	—	—	—	—	1%

Bảng 5

	Giá trị tương đối về số lượng vi khuẩn trong phân				
			Các ví dụ		
	Số 1	Số 2	Số 3	Số 4	Số 5
Giống <i>Bifidobacterium</i>	1,15	1,07	1,02	1,07	1,18
<i>Escherichia coli</i>	0,20	0,56	0,77	0,43	0,16
Giống <i>Salmonella</i>	0,98	0,95	0,97	0,97	0,93
<i>Campylobacter jejuni</i>	1,15	1,14	1,16	1,16	1,13
<i>Clostridium perfringens</i>	0,74	0,83	0,89	0,80	0,70

Bảng 6

	Giá trị tương đối về số lượng vi khuẩn trong phân				
			Các ví dụ so sánh		
	Số 1	Số 2	Số 3	Số 4	Số 5
Giống <i>Bifidobacterium</i>	0,98	0,99	0,99	1,00	1,00
<i>Escherichia coli</i>	1,01	1,03	1,07	0,99	1,02
Giống <i>Salmonella</i>	1,06	1,04	1,10	1,01	1,05
<i>Campylobacter jejuni</i>	1,26	1,20	1,23	1,20	1,17
<i>Clostridium perfringens</i>	1,13	1,07	1,22	1,11	1,10

Bảng 7

	Số lượng động vật có giống <i>Lactobacillus</i> được phát hiện trong các mẫu phân/5 con				
			Các ví dụ		
	Số 1	Số 2	Số 3	Số 4	Số 5
<i>L. acidophilus</i>	0	0	0	0	0
<i>L. casei-group</i>	2	2	1	2	2
<i>L. delbrueckii</i>	0	0	0	0	0
<i>L. gasseri</i>	3	3	2	3	3
<i>L. plantarum</i>	0	0	0	0	0
<i>L. rhamnosus</i>	0	0	0	0	0
<i>L. reuteri</i>	0	0	0	0	0

Bảng 8

	Số lượng động vật có giống <i>Lactobacillus</i> được phát hiện trong các mẫu phân/5 con				
			Các ví dụ so sánh		
	Số 1	Số 2	Số 3	Số 4	Số 5
<i>L. acidophilus</i>	0	0	0	0	0
<i>L. casei-group</i>	0	0	0	0	0
<i>L. delbrueckii</i>	0	0	0	0	0
<i>L. gasseri</i>	0	0	0	0	0
<i>L. plantarum</i>	0	0	0	0	0
<i>L. rhamnosus</i>	0	0	0	0	0
<i>L. reuteri</i>	0	0	0	0	0

Bảng 9

		Tỷ lệ mắc bệnh tiêu chảy (%)
Các ví dụ	Số 1	0 (0/5)
	Số 2	0 (0/5)
	Số 3	20 (1/5)
	Số 4	0 (0/5)
	Số 5	0 (0/5)
Các ví dụ so sánh	Số 1	80 (4/5)
	Số 2	60 (3/5)
	Số 3	80 (4/5)
	Số 4	60 (3/5)
	Số 5	40 (2/5)

Bảng 10

		Sản lượng sữa (kg/ngày)	Tỷ lệ phần trăm chất béo của sữa (%)	Tỷ lệ phần trăm protein của sữa (%)
Các ví dụ	Số 1	39	3,6	3,1
	Số 2	38	3,6	3,1
	Số 3	37	3,7	3,2
	Số 4	38	3,6	3,1
	Số 5	39	3,6	3,1
Các ví dụ so sánh	Số 1	33	3,7	3,1
	Số 2	34	3,6	3,1
	Số 3	34	3,6	3,1
	Số 4	34	3,6	3,1
	Số 5	35	3,6	3,1

Như được minh họa trong bảng 5, trong các mẫu phân bò được cung cấp chế phẩm làm tăng vi khuẩn có lợi thuộc các ví dụ từ 1 đến 5 theo sáng chế, số lượng vi khuẩn của giống *Bifidobacterium* tăng từ 1,02 đến 1,18 lần so với những con bò không được cung cấp thức ăn chứa chế phẩm theo sáng chế; *Escherichia coli* giảm từ 0,77 đến 0,16 lần; và *Clostridium perfringens* giảm từ 0,89 đến 0,70 lần.

Nói cách khác, như được minh họa trong bảng 6, trong các ví dụ so sánh từ 1 đến 5, giống *Bifidobacterium* và *Escherichia coli* không tăng lên hoặc giảm bớt đáng kể, và *Clostridium perfringens* tăng lên đến 1,22 lần. Mặc dù trong các ví dụ từ 1 đến 5, số lượng vi khuẩn thuộc giống *Salmonella* thay đổi từ 0,98 đến 0,93 lần, nhưng mức thay đổi này là không đáng kể, và *Campylobacter jejuni* tăng lên một chút từ 1,13 đến 1,16 lần, giống *Salmonella* và *Campylobacter jejuni* trong các ví dụ so sánh từ 1 đến 5 thay đổi lần lượt từ 1,01 đến 1,10 lần và từ 1,17 đến 1,26 lần, và do đó, cần phải hiểu rằng sự gia tăng số lượng của cả hai loại vi khuẩn này được ngăn chặn trong các ví dụ thực hiện sáng chế.

Như được mô tả trong bảng 7, tỷ lệ các động vật có giống *Lactobacillus* được

phát hiện trong phân ở các ví dụ 1 đến 5 là từ 20% đến 40% đối với nhóm *L. casei* và từ 40% đến 60% đối với *L. gasseri*.

Nói cách khác, như được minh họa trong bảng 8, không có vi khuẩn nào được phát hiện trong các đối tượng theo các ví dụ so sánh từ 1 đến 5.

Như được minh họa trong bảng 9, tỷ lệ mắc bệnh tiêu chảy theo các ví dụ 1 đến 5 là 0 đến 20%.

Nói cách khác, tỷ lệ mắc bệnh tiêu chảy theo các ví dụ so sánh từ 1 đến 5 là 40 đến 80% và cao hơn so với các ví dụ từ 1 đến 5.

Như được minh họa trong bảng 10, năng suất sữa cao từ 37 đến 39 kg/ngày đạt được theo các ví dụ 1 đến 5.

Nói cách khác, trong các ví dụ so sánh từ 1 đến 5, năng suất sữa là 33 đến 35 kg/ngày và thấp hơn so với các ví dụ từ 1 đến 5.

Các ví dụ 6 đến 10, các ví dụ so sánh 6 đến 10

Năm trong số 50 con lợn sữa LWD đã được hiến được cung cấp đến mức quá no với nước và thức ăn cơ bản được mô tả trong Bảng 11 được sử dụng cho mỗi ví dụ và ví dụ so sánh và được cung cấp bằng thức ăn gia súc được mô tả trong các bảng 12 và 13 trong 2 tuần. Sau hai tuần cung cấp, lấy mẫu phân của những con lợn này và bảo quản lạnh cho đến khi phân tích. Số lượng vi khuẩn trong phân được xác định bằng phương pháp PCR thời gian thực về giống *Bifidobacterium*, *Escherichiacoli*, giống *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, và *Clostridium perfringens*. Các quy trình cụ thể để đạt được số lượng vi khuẩn bao gồm: 1) chiết ADN từ mẫu vật, 2) sử dụng ADN để phân tích bằng từng phương pháp PCR, và 3) định lượng số lượng vi khuẩn trên cơ sở mối quan hệ tỷ lệ giữa lượng các gen và số lượng vi khuẩn. Số lượng vi khuẩn được tính dưới dạng giá trị tương đối bằng cách giả định rằng số lượng vi khuẩn của lợn sữa trước khi cung cấp thức ăn là một. Phương pháp PCR đa môi được sử dụng để phát hiện chín loại vi khuẩn thuộc giống *Lactobacillus* trong phân, tức là, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei-group*,

Lactobacillus delbrueckii, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, và *Lactobacillus reuteri*. Tỷ lệ mắc bệnh tiêu chảy trong suốt thời gian cung cấp thức ăn được kiểm nghiệm, và hiệu quả sử dụng thức ăn được tính từ lượng thức ăn được đưa vào trong hai tuần cung cấp và trọng lượng cơ thể. Kết quả của các ví dụ được mô tả trong các bảng 14, 16, 18, và 19, và kết quả của các ví dụ so sánh được mô tả trong các bảng 15, 17, 18, và 19.

Bảng 11 - Tỷ lệ pha trộn thức ăn cơ bản

Các thành phần	Tỷ lệ pha trộn (%)
Ngô	55,2
Milo	20,0
Cám gạo đã khử chất béo	16,0
Bột cá	6,0
Hỗn hợp khoáng chất vitamin	2,8

Bảng 12

			Các ví dụ		
	Số 6	Số 7	Số 8	Số 9	Số 10
Axit caprylic Ca	—	0,2%	—	0,1%	—
Axit capric Ca	1,0%	0,2%	0,2%	0,1%	—
Axit lauric Ca	—	—	0,2%	0,1%	—
Axit béo hỗn hợp Ca của axit caprylic/axit capric/axit lauric	—	—	—	—	0,5%

Bảng 13

			Các ví dụ so sánh		
	Số 6	Số 7	Số 8	Số 9	Số 10
Axit capric Ca	0,05%	—	—	—	—
Axit lauric Ca	—	0,08%	—	—	—
Axit béo từ dầu đậu nành Ca	—	—	2%	—	—
Axit béo từ dầu hạt cải Ca	—	—	—	3%	—
Axit béo từ dầu cám gạo Ca	—	—	—	—	5%

Bảng 14

	Giá trị tương đối về số lượng vi khuẩn trong các mẫu phân				
			Các ví dụ		
	Số 6	Số 7	Số 8	Số 9	Số 10
Giống <i>Bifidobacterium</i>	1,32	1,26	1,16	1,30	1,35
<i>Escherichia coli</i>	0,33	0,52	0,79	0,43	0,26
Giống <i>Salmonella</i>	0,31	0,66	0,84	0,56	0,21
<i>Campylobacter jejuni</i>	0,64	0,72	0,88	0,82	0,60
<i>Clostridium perfringens</i>	0,70	0,77	0,89	0,80	0,66

Bảng 15

	Giá trị tương đối về số lượng vi khuẩn trong các mẫu phân				
			Các ví dụ so sánh		
	Số 6	Số 7	Số 8	Số 9	Số 10
Giống <i>Bifidobacterium</i>	0,98	0,99	1,00	0,98	0,93
<i>Escherichia coli</i>	1,03	1,05	1,13	1,00	1,11
Giống <i>Salmonella</i>	1,08	1,05	1,14	1,08	1,16
<i>Campylobacter jejuni</i>	1,15	1,16	1,27	1,20	1,16
<i>Clostridium perfringens</i>	1,10	1,08	1,29	1,25	1,25

Bảng 16

	Số lượng động vật có giống <i>Lactobacillus</i> được phát hiện trong phân/5 con				
			Các ví dụ		
	Số 6	Số 7	Số 8	Số 9	Số 10
<i>L. acidophilus</i>	3	3	2	3	3
<i>L. casei-group</i>	0	0	0	0	0
<i>L. delbrueckii</i>	3	3	1	3	4
<i>L. gasseri</i>	4	3	3	4	4
<i>L. plantarum</i>	0	0	0	0	0
<i>L. rhamnosus</i>	3	3	2	3	3
<i>L. reuteri</i>	0	0	0	0	0

Bảng 17

	Số lượng động vật có giống <i>Lactobacillus</i> được phát hiện trong phân/5 con				
			Các ví dụ so sánh		
	Số 6	Số 7	Số 8	Số 9	Số 10
<i>L. acidophilus</i>	0	1	0	0	0
<i>L. casei-group</i>	0	0	0	0	0
<i>L. delbrueckii</i>	1	1	0	0	0
<i>L. gasseri</i>	1	1	0	0	0
<i>L. plantarum</i>	0	0	0	0	0
<i>L. rhamnosus</i>	0	1	0	0	0
<i>L. reuteri</i>	0	0	0	0	0

Bảng 18

		Tỷ lệ mắc bệnh tiêu chảy (%)
Các ví dụ	Số 6	0 (0/5)
	Số 7	0 (0/5)
	Số 8	20 (1/5)
	Số 9	0 (0/5)
	Số 10	0 (0/5)
Các ví dụ so sánh	Số 6	40 (2/5)
	Số 7	40 (2/5)
	Số 8	80 (4/5)
	Số 9	80 (4/5)
	Số 10	80 (4/5)

Bảng 19

		Hiệu quả sử dụng thức ăn
Các ví dụ	Số 6	0,84
	Số 7	0,82
	Số 8	0,81
	Số 9	0,82
	Số 10	0,84
Các ví dụ so sánh	Số 6	0,79
	Số 7	0,78
	Số 8	0,77
	Số 9	0,79
	Số 10	0,77

Như được minh họa trong bảng 14, theo các ví dụ 6 đến 10, giống *Bifidobacterium* trong phân tăng từ 1,16 đến 1,35 lần, trong khi *Escherichia coli*, giống *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, và *Clostridium perfringens* giảm lần lượt từ 0,79 đến 0,26 lần, 0,84 đến 0,21 lần, 0,88 đến 0,60 lần, và 0,89 đến 0,66 lần.

Nói cách khác, như được minh họa trong bảng 15, theo các ví dụ so sánh 6 đến 10, giống *Bifidobacterium* thay đổi từ 0,93 đến 1,00 lần, sự thay đổi này là không đáng kể, và *Escherichia coli*, giống *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, và *Clostridium perfringens* tăng lần lượt từ 1,00 đến 1,11 lần, 1,05 đến 1,16 lần, 1,15 đến 1,27 lần, và 1,08 đến 1,29 lần.

Như được mô tả trong bảng 16, tỷ lệ (tỷ lệ phát hiện) các con vật có giống *Lactobacillus* được phát hiện trong phân theo các ví dụ 6 đến 10 là 40% đến 60% đối với *L. acidophilus*, 20% đến 80% đối với *L. delbrueckii*, 60% đến 80% đối với *L. gasseri*, và 40% đến 60% đối với *L. rhamnosus*.

Nói cách khác, như được minh họa trong bảng 17, theo các ví dụ so sánh 6 đến

10, tỷ lệ phát hiện giảm còn 0% đến 20% đối với *L. acidophilus*, 0% đến 20% đối với *L. delbrueckii*, 0% đến 20% đối với *L. gasseri*, và 0% đến 20% đối với *L. rhamnosus*, và không phát hiện vi khuẩn khác.

Như được minh họa trong bảng 18, tỷ lệ mắc bệnh tiêu chảy theo các ví dụ 6 đến 10 là 0 đến 20%.

Nói cách khác, tỷ lệ mắc bệnh tiêu chảy theo các ví dụ so sánh 6 đến 10 là 40 đến 80% và cao hơn so với các ví dụ 6 đến 10.

Như được minh họa trong bảng 19, hiệu quả sử dụng thức ăn cao từ 0,81 đến 0,84 đạt được ở các ví dụ 6 đến 10.

Nói cách khác, theo các ví dụ so sánh 6 đến 10, hiệu quả sử dụng thức ăn là 0,77 đến 0,79 và thấp hơn so với các ví dụ 6 đến 10.

Các ví dụ 11 đến 15, các ví dụ so sánh 11 đến 15

Một trăm trong trong số 1000 con gà thịt ba tuần tuổi được cung cấp đến mức quá no với nước và thức ăn cơ bản được mô tả trong bảng 20 được sử dụng cho từng ví dụ và ví dụ so sánh và được cung cấp bằng thức ăn gia súc được mô tả trong các bảng 21 và 22 trong năm tuần. Sau năm tuần cung cấp, lấy mẫu phân từ năm con gà thịt cho từng phần và bảo quản lạnh cho đến khi phân tích. Số lượng vi khuẩn trong phân được xác định bằng phương pháp PCR thời gian thực cho giống *Bifidobacterium*, *Escherichiacoli*, giống *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, và *Clostridium perfringens*. Quy trình cụ thể để đạt được số lượng vi khuẩn bao gồm: 1) chiết ADN từ mẫu vật, 2) sử dụng ADN để phân tích bằng mỗi phương pháp PCR, và 3) định lượng số lượng vi khuẩn trên cơ sở mối quan hệ tỷ lệ giữa lượng các gen và số lượng vi khuẩn. Số lượng vi khuẩn được tính dưới dạng giá trị tương đối bằng cách giả định rằng số lượng vi khuẩn của một con gà thịt trước khi cho ăn là một. Phương pháp PCR đã được sử dụng để phát hiện chín loại vi khuẩn thuộc giống *Lactobacillus* trong phân, tức là, *Lactobacillus acidophilus*, nhóm *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, và *Lactobacillus reuteri*. Tỷ

lệ tăng sau năm tuần được cung cấp thức ăn được kiểm nghiệm. Kết quả của các ví dụ được mô tả trong các bảng 23, 25, và 27, và kết quả của các ví dụ so sánh được mô tả trong các bảng 24, 26, và 27.

Bảng 20 - Tỷ lệ pha trộn thức ăn cơ bản

Các thành phần	Tỷ lệ pha trộn (%)
Milo	48,3
Lúa mạch	30,0
Bánh đậu nành	10,5
Bột cá	8,0
Hỗn hợp khoáng chất vitamin	3,2

Bảng 21

			Các ví dụ		
	Số 11	Số 12	Số 13	Số 14	Số 15
axit caprylic Ca	1,0%	0,2%	0,2%	—	—
axit capric Ca	—	—	0,2%	—	—
axit lauric Ca	—	0,2%	0,2%	—	—
axit béo hỗn hợp Ca của axit caprylic/axit capric/axit lauric	—	—	—	1,0%	0,1%

Bảng 22

			Các ví dụ so sánh		
	Số 11	Số 12	Số 13	Số 14	Số 15
Axit caprylic Ca	0,09%	—	—	—	—
Axit béo hỗn hợp Ca của axit caprylic/axit capric/axit lauric	—	0,05%	—	—	—

Axit stearic Ca	—	—	1%	—	—
Axit palmitic Ca	—	—	—	5%	—
Axit oleic Ca	—	—	—	—	3%

Bảng 23

	Giá trị tương đối về số lượng vi khuẩn trong các mẫu phân				
			Các ví dụ		
	Số 11	Số 12	Số 13	Số 14	Số 15
Giống <i>Bifidobacterium</i>	1,24	1,20	1,22	1,31	1,16
<i>Escherichia coli</i>	0,42	0,58	0,50	0,40	0,77
Giống <i>Salmonella</i>	0,35	0,44	0,38	0,23	0,68
<i>Campylobacter jejuni</i>	0,64	0,75	0,67	0,63	0,80
<i>Clostridium perfringens</i>	0,70	0,80	0,73	0,64	0,85

Bảng 24

	Giá trị tương đối về số lượng vi khuẩn trong các mẫu phân				
			Các ví dụ so sánh		
	Số 11	Số 12	Số 13	Số 14	Số 15
Giống <i>Bifidobacterium</i>	1,01	1,00	0,99	0,98	0,98
<i>Escherichia coli</i>	1,02	1,07	1,11	1,05	0,99
Giống <i>Salmonella</i>	1,04	1,04	1,11	1,09	1,09
<i>Campylobacter jejuni</i>	1,16	1,11	1,09	1,08	1,00
<i>Clostridium perfringens</i>	1,05	1,00	1,03	0,99	1,10

Bảng 25

	Số lượng động vật có giống <i>Lactobacillus</i> được phát hiện trong phân/5 con gà thịt				
			Các ví dụ		
	Số 11	Số 12	Số 13	Số 14	Số 15
<i>L. acidophilus</i>	2	3	2	2	3
<i>L. casei-group</i>	0	0	0	0	0
<i>L. delbrueckii</i>	3	3	2	2	3
<i>L. gasseri</i>	3	4	3	2	4
<i>L. plantarum</i>	0	0	0	0	0
<i>L. rhamnosus</i>	4	2	3	3	3
<i>L. reuteri</i>	0	0	0	0	0

Bảng 26

	Số lượng động vật có giống <i>Lactobacillus</i> được phát hiện trong phân/5 con gà thịt				
			Các ví dụ so sánh		
	Số 11	Số 12	Số 13	Số 14	Số 15
<i>L. acidophilus</i>	0	0	0	0	0
<i>L. casei-group</i>	0	0	0	0	0
<i>L. delbrueckii</i>	0	0	0	1	0
<i>L. gasseri</i>	0	0	1	0	0
<i>L. plantarum</i>	0	0	0	0	0
<i>L. rhamnosus</i>	0	0	0	0	0
<i>L. reuteri</i>	0	0	0	0	0

Bảng 27

		Tỷ lệ tăng (%)
Các ví dụ	Số 11	100
	Số 12	99
	Số 13	100
	Số 14	100
	Số 15	99
Các ví dụ so sánh	Số 11	97
	Số 12	96
	Số 13	96
	Số 14	95
	Số 15	95

Như được minh họa trong bảng 23, theo các ví dụ từ 11 đến 15, giống *Bifidobacterium* trong phân tăng từ 1,16 đến 1,31 lần, trong khi *Escherichia coli*, giống *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, và *Clostridium perfringens* giảm lần lượt từ 0,77 đến 0,40, 0,68 đến 0,23, 0,80 đến 0,63, và 0,85 đến 0,64 lần.

Nói cách khác, như được minh họa trong bảng 24, theo các ví dụ so sánh từ 11 đến 15, giống *Bifidobacterium* thay đổi từ 0,98 đến 1,01 lần, sự thay đổi này là không đáng kể, và *Escherichia coli*, giống *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, và *Clostridium perfringens* thay đổi không đáng kể hoặc tăng lần lượt từ 0,99 đến 1,11, 1,04 đến 1,11, 1,00 đến 1,16, và 0,99 đến 1,10 lần.

Như được mô tả trong bảng 25, tỷ lệ (tỷ lệ phát hiện) gà thịt có giống *Lactobacillus* được phát hiện trong phân theo các ví dụ 11 đến 15 là 40% đến 60% đối với *L. acidophilus*, 40% đến 60% đối với *L. delbrueckii*, 40% đến 80% đối với *L. gasseri*, và 40% đến 80% đối với *L. rhamnosus*.

Nói cách khác, như được minh họa trong bảng 26, ở các ví dụ so sánh từ 11

đến 15, tỷ lệ phát hiện thấp từ 0% đến 20% đối với *L. delbrueckii* và 0% đến 20% đối với *L. gasseri*, và không phát hiện vi khuẩn khác.

Như được minh họa trong bảng 27, tỷ lệ tăng theo các ví dụ 11 đến 15 là từ 99 đến 100%.

Nói cách khác, tỷ lệ tăng theo các ví dụ so sánh từ 11 đến 15 là từ 95 đến 97% và thấp hơn so với các ví dụ 11 đến 15.

Chế phẩm làm tăng vi khuẩn có lợi cho đường ruột động vật theo sáng chế có thể làm tăng vi khuẩn có lợi và làm giảm vi khuẩn có hại có mặt trong đường ruột của động vật giúp cải thiện môi trường đường ruột của động vật và do đó có thể được sử dụng làm chất phụ gia thực phẩm, dược phẩm, và chất phụ gia cho thức ăn chăn nuôi. Cụ thể là, việc cung cấp cho vật nuôi thức ăn chứa một lượng nhất định chế phẩm làm tăng vi khuẩn có lợi cho đường ruột động vật theo sáng chế có thể làm tăng vi khuẩn có lợi và làm giảm vi khuẩn có hại trong hệ thực vật đường ruột của vật nuôi giúp cải thiện môi trường đường ruột của vật nuôi, do đó ngăn ngừa sự xuất hiện của bệnh tật và nâng cao năng suất của vật nuôi.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm làm tăng vi khuẩn có lợi cho đường ruột động vật chứa các axit béo hoặc các muối của axit caprylic, axit capric, và axit lauric, với tỷ lệ khối lượng của axit caprylic:axit capric:axit lauric = 20:20:60.
2. Chế phẩm làm tăng vi khuẩn có lợi cho đường ruột động vật theo điểm 1, trong đó muối của axit béo là muối canxi.
3. Chế phẩm làm tăng vi khuẩn có lợi cho đường ruột động vật theo điểm 1 hoặc 2, trong đó vi khuẩn có lợi cho đường ruột là vi khuẩn thuộc giống *Bifidobacterium*.
4. Phương pháp cải thiện môi trường đường ruột cho gia súc bao gồm việc cung cấp cho vật nuôi thức ăn chứa từ 0,1 đến 2% trọng lượng chế phẩm làm tăng vi khuẩn có lợi cho đường ruột động vật theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3.