(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2023年6月8日(08.06.2023)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2023/100989 A1

(51) 国際特許分類:
A61K 35/741 (2015.01) *A61P 1/12* (2006.01)
A61K 35/74 (2015.01) *C12N 1/20* (2006.01)

(21) 国際出願番号： PCT/JP2022/044458

(22) 国際出願日： 2022年12月1日(01.12.2022)

(25) 国際出願の言語： 日本語

(26) 国際公開の言語： 日本語

(30) 優先権データ：
特願 2021-196413 2021年12月2日(02.12.2021) JP

(71) 出願人: 国立大学法人東北大学 (**TOHOKU UNIVERSITY**) [JP/JP]; 〒9808577 宮城県仙台市青葉区片平二丁目１番１号 Miyagi (JP). 千葉県農業共済組合 (**CHIBA PREFECTURAL AGRICULTURAL MUTUAL AID ASSOCIATION**) [JP/JP]; 〒2600031 千葉県千葉市中央区新千葉３－２－６農業会館内 Chiba (JP).

(72) 発明者: 野地 智法 (**NOCHI Tomonori**); 〒9808577 宮城県仙台市青葉区片平二丁目１番１号 国立大学法人東北大学内 Miyagi (JP). イスラム ジャヒドゥル (**ISLAM Jahidul**); 〒9808577 宮城県仙台市青葉区片平二丁目１番１号 国立大学法人東北大学内 Miyagi (JP). 田中 秀和 (**TANAKA Hidekazu**); 〒2600031 千葉県千葉市中央区新千葉３－２－６農業会館内 Chiba (JP).

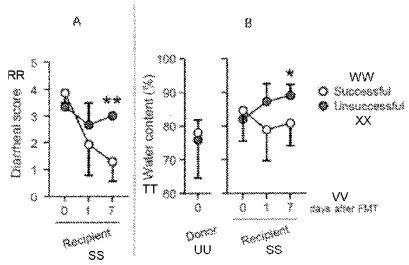
(54) **Title:** THERAPEUTIC AGENT FOR DIARRHEA AND METHOD FOR TREATING BOVINE DIARRHEA

(54) 発明の名称： 下痢治療剤および牛の下痢治療方法

[表1]

AA 配列番号	CC 機関分類No.	BB 細菌 DD 細菌名	
1	1	c__Bacteroidia	EE
2	2	f__Prevotellaceae	FF
3	3	g__Prevotella	GG
4	4	g__Succinispira	HH
5	5	g__Selenomonas	II
6	6	g__Gemmiger	JJ
7	7	g__Odoribacter	KK
8	8	g__Lactobacillus	LL
9	9	o__Lactobacillales	MM
10	10	f__Veillonellaceae	NN
11	11	g__Acidaminococcus	OO
12	12	g__Collinsella	PP
13	13	g__Sporobacter	QQ

[図1]



AA SEQ ID NO:
BB Bacterium
CC Bacterial classification No.
DD Name of bacterium
EE c_Bacteroidia
FF f_Prevotellaceae
GG g_Prevotella
HH g_Succinispira
II g_Selenomonas
JJ g_Gemmiger
KK g_Odoribacter
LL g_Lctobacillus
MM o_Lactobacillales
NN f_Veillonellaceae
OO g_Acidaminococcus
PP g_Collinsella
QQ g_Sporobacter
RR Diarrheal score
SS Recipient
TT Water content (%)
UU Donor
VV days after FMT
WW Successful
XX Unsuccessful

(57) **Abstract:** The present invention addresses the problem of providing a therapeutic agent for diarrhea having improved therapeutic effect on diarrhea and a method for treating bovine diarrhea. This problem can be solved by a therapeutic agent for diarrhea that contains a bacterium, said therapeutic agent for diarrhea containing at least one type of bacterium selected from the group consisting of 13 types of bacteria listed in Bacterial classification Nos. 1-13 in TABLE 1, wherein the 13 types of bacteria listed in Bacterial classification Nos. 1 to 13 contain sequences that respectively have 95% or

WO 2023/100989 A1

［続葉有］

(74) 代理人：松 本　征 二 (MATSUMOTO Seiji); 〒1410031 東京都品川区西五反田１丁目１１番１号 アイオス五反田駅前ビル１００１号 Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能)：AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能)：ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類：

— 国際調査報告（条約第21条(3)）

— 明細書の別個の部分として表した配列リスト（規則5.2(a)）

more sequence identity to DNA sequences encoding the 16S rRNAs represented by SEQ ID NOS: 1-13.

(57) 要約：【課題】下痢の治療効果を向上した下痢治療剤および牛の下痢治療方法を提供することを課題とする。 細菌を含む下痢治療剤であって、該下痢治療剤は、 下記表１に記載の細菌分類Ｎｏ．１～１３に記載の１３種類の細菌からなる群から選択した少なくとも１種の細菌を含み、 前記細菌分類Ｎｏ．１～１３に記載の１３種類の細菌は、それぞれ配列番号１～１３に記載の１６Ｓ ｒＲＮＡをコードするＤＮＡ配列と９５％以上同一の配列を含む 下痢治療剤、 により課題が解決できる。

明　細　書

発明の名称 ： 下痢治療剤および牛の下痢治療方法

技術分野

[0001] 本出願における開示は、下痢治療剤および牛の下痢治療方法に関する。

背景技術

[0002] 難治性下痢症を発症する牛に対し、健常な牛由来の糞便を移植することで、下痢症状を治療する糞便移植（Ｆｅｃａｌ　Ｍｉｃｒｏｂｉｏｔａ　Ｔｒａｎｓｐｌａｎｔａｔｉｏｎ：ＦＭＴ）が知られている。関連する技術として、非特許文献１には、Ｐｏｒｐｈｙｒｏｍｏｎａｄａｃｅａｅ　Ｆａｍｉｌｙの増加がＦＭＴに有用であることが記載されている。

先行技術文献

非特許文献

[0003] 非特許文献1：Ｈ．Ｓ．Ｋｉｍ　ｅｔ　ａｌ．，“Ｌｏｎｇｉｔｕｄｉｎａｌ　ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ　ｏｆ　ｆｅｃａｌ　ｍｉｃｒｏｂｉｏｔａ　ｔｒａｎｓｐｌａｎｔａｔｉｏｎ　ｆｏｒ　ａｍｅｌｉｏｒａｔｉｎｇ　ｃａｌｆ　ｄｉａｒｒｈｅａ　ａｎｄ　ｉｍｐｒｏｖｉｎｇ　ｇｒｏｗｔｈ　ｐｅｒｆｏｒｍａｎｃｅ”，　Ｎａｔ．Ｃｏｍｍｕｎ．１２（１），１－１６（２０２１）

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0004] 牛の下痢治療を成功に導くためには、移植する治療剤（例えば糞便）に含まれる細菌の種類が重要となる。しかしながら、例えば、下痢症状を有する牛に対してどの種類の細菌が有効であるのか、詳しいことは知られていない。そのため、下痢症状の治療に優れた細菌の発見が望まれる。

[0005] 本出願における開示は、上記問題を解決するためになされたものである。本発明者らは鋭意研究を行ったところ、ＦＭＴにおいて糞便を提供するドナーと糞便を移植するレシピエントとの組み合わせについて、成功例と失敗例

をより詳細に分析することで、下痢治療に有用な細菌の種類を新たに見出した。

[0006] すなわち、本出願の開示の目的は、下痢治療剤および牛の下痢治療方法を提供することである。

課題を解決するための手段

[0007] （１）細菌を含む下痢治療剤であって、該下痢治療剤は、

下記表１に記載の細菌分類Ｎｏ．１～１３に記載の１３種類の細菌からなる群から選択した少なくとも１種の細菌を含み、

前記細菌分類Ｎｏ．１～１３に記載の１３種類の細菌は、それぞれ配列番号１～１３に記載の１６Ｓ　ｒＲＮＡをコードするＤＮＡ配列と９５％以上同一の配列を含む

下痢治療剤。

[表1]

配列番号	細菌	
	細菌分類No.	細菌名
1	1	c__Bacteroidia
2	2	f__Prevotellaceae
3	3	g__Prevotella
4	4	g__Succinispira
5	5	g__Selenomonas
6	6	g__Gemmiger
7	7	g__Odoribacter
8	8	g__Lactobacillus
9	9	o__Lactobacillales
10	10	f__Veillonellaceae
11	11	g__Acidaminococcus
12	12	g__Collinsella
13	13	g__Sporobacter

（２）前記細菌が、細菌分類Ｎｏ．１～５、７、１０および１３からなる群から選択した少なくとも１種を含み、且つ、下記表２に示す占有率を有する

上記（１）に記載の下痢治療剤。

[表2]

配列番号	細菌		占有率
	細菌分類No.	細菌名	
1	1	c__Bacteroidia	24.21%以上
2	2	f__Prevotellaceae	4.43%以上
3	3	g__Prevotella	4.77%以上
4	4	g__Succinispira	4.12%以上
5	5	g__Selenomonas	0.09%以上
7	7	g__Odoribacter	0%より大きい
10	10	f__Veillonellaceae	4.86%以上
13	13	g__Sporobacter	0.16%以上

（３）細菌分類Ｎｏ．１３のｇ＿Ｓｐｏｒｏｂａｃｔｅｒを少なくとも含む

上記（１）または（２）に記載の下痢治療剤。

（４）前記細菌分類Ｎｏ．１３のｇ＿Ｓｐｏｒｏｂａｃｔｅｒの占有率が、０．２１％以上である

上記（３）に記載の下痢治療剤。

（５）細菌分類Ｎｏ．５のｇ＿Ｓｅｌｅｎｏｍｏｎａｓを少なくとも含む

上記（１）または（２）に記載の下痢治療剤。

（６）前記細菌分類Ｎｏ．５のｇ＿Ｓｅｌｅｎｏｍｏｎａｓの占有率が、１．７８％以上である

上記（５）に記載の下痢治療剤。

（７）牛の下痢治療の用途に用いられる、上記（１）～（６）の何れか一つに記載の下痢治療剤。

（８）７－Ｍｅｔｈｙｌｇｕａｎｉｎｅ、Ｎ６－Ａｃｅｔｙｌｌｙｓｉｎｅ、Ｔａｕｒｉｎｅ、ＧＡＢＡ、Ａｌａ－Ａｌａ、Ｃｒｅａｔｉｎｅ、Ｎ１－Ａｃｅｔｙｌｓｐｅｒｍｉｄｉｎｅ、および、Ｇｌｕからなる群から選択した少なくとも１種の化合物を含む

上記（１）～（７）の何れか一つに記載の下痢治療剤。

（９）投与後のレシピエントの糞便に含まれる、細菌分類Ｎｏ．５のｇ＿Ｓｅｌｅｎｏｍｏｎａｓ、細菌分類Ｎｏ．１０のｆ＿Ｖｅｉｌｌｏｎｅｌｌａｃｅａｅ、細菌分類Ｎｏ．１１のｇ＿Ａｃｉｄａｍｉｎｏｃｏｃｃｕｓ、および、細菌分類Ｎｏ．１２のｇ＿Ｃｏｌｌｉｎｓｅｌｌａからなる群から選択した少なくとも１種の細菌を増加させる

上記（１）～（８）の何れか一つに記載の下痢治療剤。

（１０）下痢治療剤が凍結乾燥した形態である

上記（１）～（９）の何れか一つに記載の下痢治療剤。

（１１）牛の下痢治療方法であって、該方法は、

上記（１）～（１０）の何れか一つに記載の下痢治療剤を牛の腸管内に投与する工程

を含む、牛の下痢治療方法。

発明の効果

[0008] 本出願で開示する下痢治療剤および牛の下痢治療方法により、下痢の治療効果を向上できる。

図面の簡単な説明

[0009] [図1]図１は、実施例１におけるＦＭＴの結果を示すグラフである。

[図2]図２は、実施例２におけるＦＭＴ実施前（０日）のドナーに含まれる細菌の解析結果を示すグラフである。

[図3]図３は、実施例２におけるＦＭＴ実施前（０日）のレシピエントに含まれる細菌の解析結果を示すグラフである。

[図4]図４は、実施例２におけるＦＭＴ実施後（７日）のレシピエントに含まれる細菌の解析結果を示すグラフである。

[図5A]図５Ａは、実施例３における、成功群のドナーおよびレシピエント（０日、１日後、７日後）から採取した糞便中の全細菌に占める各細菌の相対的存在量、並びに、失敗群のドナーおよびレシピエント（０日、１日後、７日後）から採取した糞便中の全細菌に占める各細菌の相対的存在量を示すグ

ラフである。

[図5B]図５Ｂは、実施例３における、成功群のドナーおよびレシピエント（０日、１日後、７日後）から採取した糞便中の全細菌に占める各細菌の相対的存在量、並びに、失敗群のドナーおよびレシピエント（０日、１日後、７日後）から採取した糞便中の全細菌に占める各細菌の相対的存在量を示すグラフである。

[図6]図６は、実施例４におけるＬＥｆＳｅ解析の結果を示すグラフである。

[図7]図７は、実施例４における、健康な牛、下痢の牛、成功群のドナーおよびレシピエント（０日、１日後、７日後）、並びに、失敗群のドナーおよびレシピエント（０日、１日後、７日後）から採取した糞便中の全細菌に占めるｇ＿Ｓｐｏｒｏｂａｃｔｅｒの相対的存在量を示すグラフである。

[図8]図８は、実施例５におけるＣＥ－ＴＯＦＭＳメタボロミクス解析により解析した代謝産物のＶＩＰ　ｓｃｏｒｅを示すグラフである。

[図9]図９は、実施例６におけるメタゲノム解析の結果の概略を示すグラフである。

[図10]図１０は、実施例６におけるメタゲノム解析の詳細な結果を示すグラフである。

[図11]図１１は、実施例６におけるメタボロミクス解析の詳細な結果を示すグラフである。

発明を実施するための形態

[0010]　以下に、本出願で開示する、下痢治療剤および牛の下痢治療方法について詳しく説明する。なお、本明細書において、数値、数値範囲、及び定性的な表現（例えば、「同一」、「同じ」等の表現）については、当該技術分野において一般的に許容される誤差を含む数値、数値範囲及び性質を示している。

[0011]（下痢治療剤の実施形態）

本出願で開示する下痢治療剤は、下記表３に記載の細菌分類Ｎｏ．１～１３（以下、細菌分類Ｎｏ．は、単に「Ｎｏ．」と記載することがある。）に

記載の１３種類の細菌からなる群から選択した少なくとも１種の細菌を含む。Ｎｏ．１に記載の細菌は、配列番号１に記載の１６Ｓ　ｒＲＮＡをコードするＤＮＡ配列と９５％以上同一の配列を含む。なお、Ｎｏ．１に記載の細菌が含む配列番号１と同一の配列は、９６％以上、９７％以上、９８％以上、９９％以上または１００％であってもよい。Ｎｏ．２に記載の細菌は、配列番号２に記載の１６Ｓ　ｒＲＮＡをコードするＤＮＡ配列と９５％以上同一の配列を含む。なお、Ｎｏ．２に記載の細菌が含む配列番号２と同一の配列は、９６％以上、９７％以上、９８％以上、９９％以上または１００％であってもよい。以下同様に、Ｎｏ．３～１３に記載の細菌は、それぞれ配列番号３～１３に記載の１６Ｓ　ｒＲＮＡをコードするＤＮＡ配列と９５％以上同一の配列を含む。なお、Ｎｏ．３～１３に記載のそれぞれの細菌が含む配列番号３～１３と同一の配列は、９６％以上、９７％以上、９８％以上、９９％以上または１００％であってもよい。Ｎｏ．１～１３に記載の細菌は、下痢治療剤中に少なくとも１種以上含まれていればよく、２種以上、３種以上、４種以上等、複数種類が組み合わせていてもよい。また、Ｎｏ．１～１３に記載の１３種類の細菌すべてが含まれていてもよい。なお、表３において、細菌名の先頭の“ｐ”は門（ｐｈｙｌｕｍ）、“ｃ”は綱（ｃｌａｓｓ）、“ｏ”は目（ｏｒｄｅｒ）、“ｆ”は科（ｆａｍｉｌｙ）、“ｇ”は属（ｇｅｎｕｓ）、を意味する。

[0012]

[表3]

配列番号	細菌	
	細菌分類No.	細菌名
1	1	c__Bacteroidia
2	2	f__Prevotellaceae
3	3	g__Prevotella
4	4	g__Succinispira
5	5	g__Selenomonas
6	6	g__Gemmiger
7	7	g__Odoribacter
8	8	g__Lactobacillus
9	9	o__Lactobacillales
10	10	f__Veillonellaceae
11	11	g__Acidaminococcus
12	12	g__Collinsella
13	13	g__Sporobacter

[0013] [表4]

配列番号	16S rRNAをコードするDNA配列
1	ATCGTGATTGATTCTGCAGTCGTTTGGTGCTATCAGGTCGAATTCGGTGATTCGTCGTGAGATTGCGTTTCGTGAATTGATGCTTTGTCGGTAATATGTATGATCGTTTCAGTGGTGATACGGCGAGTAGCATTCGTCGTCGTGAGCGTGCGATTCTCATGCTGATCAGTTATTCAGCGGCAGCGTAGAGGTTGAGCGTTATTTGCTTGCTCATCCTGAAGTCAGCAATTTATGCGGAAGAGCCCGCGTGAAGGACGAAGCTTTTGAGCAGGTTGTCCAGTTAATAGTCGACGATCGCCATCAGATTTTGCTGTCG
2	AATCGTGATTTCGATACGCTGCGTGTTTCGAGCTTTCAACGTGATCAGTTTGCGTCGCTCGAGTGAGCTTGCTTCGTGAATTTGCAATTTCTATCGTGATTATCAAGCAATTTCAGTGCTTGCGCGTTACGCGTTACGCGTCGTGAGCGTGCGATTCTCGTCGTTATCGGTAATGATCCGCGCTCGTCTTGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCACCACTCAAAGCTCTTGTTGTTGGGTGATTCGGTCTGATCCGAAGCTACTTACGATTCGAAGGTTATCCCCGCTGCTTTGTCGCTCGCCGTTACTAAGGGAATCCTGTTGCTCCCCACGCTTTCGTGCATGAGCGAAATCAAAGTTTGTGTTCGTCGAGCGTTCGTCTGAACTCAGGTCACTGGCTCACCTTCGGGTGGGCCTTTCTGCGTTTATAGTCACCGTCAAATTGCTTCTATGTCGTAGGTGGGGCCGAAGAACCAGCTCGTCCCGAGATGGGGGAGGCTGTCAAATATCATTCCCGAGTTACAACCCTCGTTGACATCCGAAGGTTAGACGATTACCGTCGTTCGACTTGCATGTGTTAAGCACGCCGCAGCGTAATTATTTCTCCCCATGATGAGCCCATGTTGTGCAAAAAAGCGGTTAGCTCCTTCGGTCCTCCGATCGTTGTCAGAAGTAAGTTGGCCGCAGTGTTATCACTCATGGTTATGGCAGCACTGCATAATTCTCTTACTGTCATGCCATCCGTAAGATGCTTTTCTGTGACTGGTGAGTACTCAACCAAGTCATTCTGAGAATAGTGTATGCGGCGACCGAGTTGCTCTTGCCCGGCGTCAATACGGGATAATACCGCGCCACATAGCAGAACTTTAAAAGTGCTCATCATTGGAAAACGTTCTTCGGGGCGCACGAGATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGCTTGCTCCCTGATGTTAGATCATCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTCAGCGGGGAGGAAGGGAGTAAAGTTAATACCTTTGCTCATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTTGTTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATCTGATACTGGCAAGCTTGAGTCTCGTAGAGGGGGGTAGAATTCCACGTGTAGCAGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAATACCGATGGCGAAGGCAGCCCCCTGGGATGAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATCCACGGAAGTTTTCAGAGATGAGAATGTGCCTTCGGGAACCGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTTCGGCCGGGAACTCAAAGGAGACTGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGCATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTGCGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGGTAGCTTAACCTTCGGGAGGGCGCTTACCACTTTGTGATTCATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAACCGTAGGGGAACCTGCGGTTGGATCACCTCCTTA
3	ATCGTGATTGCAGATCCGCAGTTTGCAGCGTCAGTTGCGCGTCAGTGAGCGCTCGCTTCGCGATTCGACTTTCGCGATATTCGTCAATTCAGCAATTCGCTGCGTGTTACCGTTTGTTAAACCCAATAAATCCGGATAACGTCCTCGGATTACATCGTCGTTATTCGTAATCAGCAGCGTCAGTTTCGCGCGACTTTGTCGTTATTACCGCGGCGCTGCTGGCACGCAGTTAGCCGAATTCGCAGCTTCGCTTAGCTGCTTTCGAACGCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATCCACAGAATCTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAGCTGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTGCCATCATTAAGTTGGGCACTCTAAGGGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAGAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGTGGAGCTAATCCCATAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTTGGTTTTACCCGAAGGTAGTGCGCTAACCGCAAGGAGGCAGCTGTCTAAGGTGGGACAGATGATTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTATCGGAAGGTGCGGCTGGATCACCTCCTTT
4	AATCGTGATTTCGATCAGTCGTCGTTTCGTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTGCCAGCGGTTCGGCCGGGAACTCAAAGGAGACTGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAGAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGTGGAGCTAATCCCATAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTTGGTTTTACCCGAAGGTAGTGCGCTAACCGCAAGGAGGCAGCTGTCTAAGGTGGGACAGATGATTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTATCGGAAGGTGCGGCTGGATCACCTCCTTT
5	ATTCGTGATTCGATCAGCAGCGTTTCGTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTGCCATCATTAAGTTGGGCACTCTAAGGGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAGAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGTGGAGCTAATCCCATAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTTGGTTTTACCCGAAGGTAGTGCGCTAACCGCAAGGAGGCAGCTGTCTAAGGTGGGACAGATGATTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTATCGGAAGGTGCGGCTGGATCACCTCCTTT
6	ATCGTGATTTCGATCAGTCGTTTCGAAGCGTCAGTTGCGTCAGTAAGTGTCGCTTTGTCGCAGTTACTTTCGCGATTCGTCAGCAATTCGCTGCGTGTTACCGTTTGTTAAACCCAATAAATCCGGATAACGTCCTCGGATTACATCGTCGTTATTCGTAATCAGCAGCGTCAGTTTCGCGCGACTTTGTCGTTATTACCGCGGCGCTGCTGGCACGCAGTTAGCCGAATTCGCAGCTTCGCTTAGCTGCTTTCGAACGCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATCCACAGAATCTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAGCTGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTGCCATCATTAAGTTGGGCACTCTAAGGGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAGAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGTGGAGCTAATCCCATAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTTGGTTTTACCCGAAGGTAGTGCGCTAACCGCAAGGAGGCAGCTGTCTAAGGTGGGACAGATGATTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTATCGGAAGGTGCGGCTGGATCACCTCCTTT
7	ATCGTGATTGGCTACGCACGCTCTCGTGCTTCAGGCGTCAGTTACATTCGTGCTAGGCTGGCCTTGGCTATCGGAGCTTCGTAATTTATATCTCATGCGACTTTCACTCTTATTTCGTTCGTCGTCTGTGTCGTGTTCAGCCGAGCTGACGAATTATAGTCGTCTGCCACCAGCTTTAGCGATTAGCTTAATCAATCGCGATCGCTTACGCGTATTAACACGCGCGGTGTCTGCAGCAGCGGTTAGCGAACTGGTCTTCACGCCGGTGGAACAGCGCATCGTTTCACGTCGTTGCGCAGCGATTATTCATCGTTTCGACCCACGTTACCGTACTTGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCACTCTGTCCCCCGAAGGGGAAAGTCTCTTTCGTCCCCGGTTGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCATCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACCGTACTCCCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTCGCACCTGAGCGTCAGTCTTTGTCCAGGGGGCCGCCTTCGCCACCGGTATTCCTCCAGATCTCTACGCATTTCACCGCTACACCTGGAATTCTACCCCCCTCTACAAGACTCTAGCCTGCCAGTTTCGAATGCAGTTCCCAGGTTGAGCCCGGGGCTTTCACATCAGACTTAAAAACCGCCTGCGCGCGCTTTACGCCCAATAATTCCGGACAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGGTGCTTATTCGAAGGTTACCGACCCGAAGGCCTTCATCCCTCACGCGGCGTCGCTGCATCAGGCTTTCGCCCATTGCGGAAAATTCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAGTTCCAGTGTGGCTGGTCATCCTCTCAGACCAGCTAGGGATCGTCGCCTAGGTGAGCCATTACCCCACCTACTAGCTAATCCCATCTGGGCACATCCGATGGCAAGAGGCCCGAAGGCCCCCTCTGCTCCGGTAGTCAACGCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCATCCTTGCGGCCGTACTCCCCAGGCGGTCGACTTAACGCGTTAGCTCCGGAAGCCACGCCTCAAGGGCACAACCTCCAAGTCGACATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTCGCTCCCCACGCTTTCGCTCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCACATCTCTACGCATTTCACCGCTACACATGGAATTCCACTCTCCTCTTCTGCACTCAAGTTCCCCAGTTTCCAATGACCCTCCCCGGTTGAGCCGGGGGCTTTCACATCAGACTTAAGAAACCGCCTGCGAGCCCTTTACGCCCAATAATTCCGGACAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGGTGCTTATTCGAAGGTTACCGACCCGAAGGCCTTCATCCCTCACGCGGCGTCGCTGCATCAGGCTTTGCCCCCAGTGCAATTCCGGTTTGTCCCCCGCTTCGGGGGCAGAGTGCCCACTAATCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCGCCTCGCGCTATTACGCCAGCTGGCGAAAGGGGGATGTGCTGCAAGGCGATTAAGTTGGGTAACGCCAGGGTTTTCCCAGTCACGACGTTGTAAAACGACGGCCAGTGCCAAGCTTGCATGCCTGCAGGTCGACTCTAGAGGATCCCCGGGTACCGAGCTCGAATTCACTGGCCGTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCCTGGCGTTACCCAACTTAATCGCCTTGCAGCACATCCCCCTTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATGGCGCCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTCACACCGCATATGGTGCACTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTCAGAGGTTTTCACCGTCATCACCGAAACGCGCGAGGCAGCAGATCAATTCGCGCGCGAAGGCGAAGCGGCATGCATTTACGTTGACACCATCGAATGGCGCAAAACCTTTCGCGGTATGGCATGATAGCGCCCGGAAGAGAGTCAATTCAGGGTGGTGAATATGAAACCAGTAACGTTATACGATGTCGCAGAGTATGCCGGTGTCTCTTATCAGACCGTTTCCCGCGTGGTGAACCAGGCCAGCCACGTTTCTGCGAAAACGCGGGAAAAAGTGGAAGCGGCGATGGCGGAGCTGAATTACATTCCCAACCGCGTGGCACAACAACTGGCGGGCAAACAGTCGTTGCTGATTGGCGTTGCCACCTCCAGTCTGGCCCTGCACGCGCCGTCGCAAATTGTCGCGGCGATTAAATCTCGCGCCGATCAACTGGGTGCCAGCGTGGTGGTGTCGATGGTAGAACGAAGCGGCGTCGAAGCCTGTAAAGCGGCGGTGCACAATCTTCTCGCGCAACGCGTCAGTGGGCTGATCATTAACTATCCGCTGGATGACCAGGATGCCATTGCTGTGGAAGCTGCCTGCACTAATGTTCCGGCGTTATTTCTTGATGTCTCTGACCAGACACCCATCAACAGTATTATTTTCTCCCATGAAGACGGTACGCGACTGGGCGTGGAGCATCTGGTCGCATTGGGTCACCAGCAAATCGCGCTGTTAGCGGGCCCATTAAGTTCTGTCTCGGCGCGTCTGCGTCTGGCTGGCTGGCATAAATATCTCACTCGCAATCAAATTCAGCCGATAGCGGAACGGGAAGGCGACTGGAGTGCCATGTCCGGTTTTCAACAAACCATGCAAATGCTGAATGAGGGCATCGTTCCCACTGCGATGCTGGTTGCCAACGATCAGATGGCGCTGGGCGCAATGCGCGCCATTACCGAGTCCGGGCTGCGCGTTGGTGCGGATATCTCGGTAGTGGGATACGACGATACCGAAGACAGCTCATGTTATATCCCGCCGTTAACCACCATCAAACAGGATTTTCGCCTGCTGGGGCAAACCAGCGTGGACCGCTTGCTGCAACTCTCTCAGGGCCAGGCGGTGAAGGGCAATCAGCTGTTGCCCGTCTCACTGGTGAAAAGAAAAACCACCCTGGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCCGATTCATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTCACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTAC

[0014] 下痢治療剤は、上記Ｎｏ．１～１３に記載の細菌からなる群から選択した少なくとも１種を含めば特に制限はない。例えば、下痢治療剤は、上記Ｎｏ．１～１３に記載の細菌を多く含むドナーを先ず選別し、選別したドナーから糞便を採取することで得られる。また、選別したドナーまたは健康状態（換言すると下痢の症状を有しない）のドナーから採取した糞便に、別途培養した上記Ｎｏ．１～１３に記載の細菌を添加することで下痢治療剤を作製してもよい。また、下痢治療剤は、採取した糞便を緩衝液や生理食塩水等で希釈して液体として使用してもよいし、凍結乾燥することで粉体としてもよい。

[0015] 下痢治療剤は、ドナーから得られた糞便をベースに作製してもよいし、ドナーの糞便を用いなくてもよい。例えば、上記Ｎｏ．１～１３に記載の細菌から選択した少なくとも１種を培養により増殖し、培養液を下痢治療剤として用いてもよい。また、培養により増殖した細菌を用いる場合は、例えば、凍結乾燥により粉体としてもよい。

[0016] また、ドナーから採取した糞便の使用の有無を問わず、本出願で開示する下痢治療剤は、本出願で開示する効果に影響を与えない範囲で、所望の剤型としてよいし、担体、賦型剤、希釈剤等を含んでいてもよい。下痢治療剤の剤型としては、例えば、液剤、カプセル剤、顆粒剤、丸剤、粉剤、懸濁剤・乳剤、坐剤等が挙げられる。

[0017] 担体、賦型剤、希釈剤は、例えば、ラクトース、デキストロース、シュクロース、ソルビトール、マンニトール、デンプン、ガムアカシア、リン酸カルシウム、アルギネート、トラガカント、ゼラチン、ケイ酸カルシウム、微結晶セルロース、ポリビニルピロリドン、セルロース、水、リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）、シロップ、メチルセルロース、オキシ安息香酸メチルーおよびプロピル、タルク、ステアリン酸マグネシウムおよび鉱油が挙げられる。更に、ビタミン、潤滑剤、湿潤剤、乳化剤および懸濁化剤、保存剤、甘味剤または着香剤を加えてもよい。また、下痢治療薬は、公知の薬剤と組み合わせてもよい。

[0018] 後述する実施例に示すとおり、上記Ｎｏ．１～１３に記載の細菌は、ＦＭＴの失敗群のドナーより、成功群のドナーにより多く含まれていた。したがって、Ｎｏ．１～１３に記載の細菌は、下痢治療剤中の細菌叢に占める割合を多くするほど望ましい。限定されるものではないが、例えば、Ｎｏ．１～５、７、１０および１３に記載の細菌は、以下の占有率が挙げられる。なお、本明細書において「占有率」とは、下痢治療剤に含まれる全細菌数に対する、Ｎｏ．１～５、７、１０および１３に記載のそれぞれの種類の細菌数の割合を意味する。また、占有率は、細菌分類上の同じレベル（例えば、ｃｌａｓｓ、ｏｒｄｅｒ、ｆａｍｉｌｙ、ｇｅｎｕｓ）での比較である。例えば、Ｎｏ．１（ｃ＿Ｂａｃｔｅｒｏｉｄｉａ）の占有率は、全細菌をｃｌａｓｓレベルで分類した際のＮｏ．１（ｃ＿Ｂａｃｔｅｒｏｉｄｉａ）の割合である。同様に、Ｎｏ．２（ｆ＿Ｐｒｅｖｏｔｅｌｌａｃｅａｅｃ）の占有率は全細菌をｆａｍｉｌｙレベルで分類した際のＮｏ．２（ｆ＿Ｐｒｅｖｏｔｅｌｌａｃｅａｅｃ）の割合で、Ｎｏ．３（ｇ＿Ｐｒｅｖｏｔｅｌｌａ）の占有率は全細菌をｇｅｎｕｓレベルで分類した際のＮｏ．３（ｇ＿Ｐｒｅｖｏｔｅｌｌａ）の割合ある。

・Ｎｏ．１（ｃ＿Ｂａｃｔｅｒｏｉｄｉａ）：２４．２１％以上、好ましくは３１．３４％以上、より好ましくは３８．４７％以上。

・Ｎｏ．２（ｆ＿Ｐｒｅｖｏｔｅｌｌａｃｅａｅ）：４．４３％以上、好ましくは１２．６４％以上、より好ましくは２０．８５％以上。

・Ｎｏ．３（ｇ＿Ｐｒｅｖｏｔｅｌｌａ）：４．７７％以上、好ましくは１５．８９％以上、より好ましくは２７．００％以上。

・Ｎｏ．４（ｇ＿Ｓｕｃｃｉｎｉｓｐｉｒａ）：４．１２％以上、好ましくは５．７５％以上、より好ましくは７．４０％以上。

・Ｎｏ．５（ｇ＿Ｓｅｌｅｎｏｍｏｎａｓ）：０．０９％以上、好ましくは１．７８％以上、より好ましくは３．４７％以上。

・Ｎｏ．７（ｇ＿Ｏｄｏｒｉｂａｃｔｅｒ）：０％以上（０より大きい）、好ましくは０．４６％以上、より好ましくは０．９２％以上。

・Ｎｏ．１０（ｆ＿Ｖｅｉｌｌｏｎｅｌｌａｃｅａｅ）：４．８６％以上、好ましくは１０．３２％以上、より好ましくは１５．７８％以上。

・Ｎｏ．１３（ｇ＿Ｓｐｏｒｏｂａｃｔｅｒ）：０．１６％以上、好ましくは０．２１％以上、より好ましくは０．２８％以上。

[0019] また、解析の都合上、Ｎｏ．６、８、９、１１および１２の細菌の占有率の記載は省略するが、Ｎｏ．１～５、７、１０および１３に記載の細菌と同様に好ましい範囲を決定すればよい。

[0020] 後述する実施例に記載のとおり、上記Ｎｏ．１～１３に記載の細菌の中で、Ｎｏ．５のＳｅｌｅｎｏｍｏｎａｓ属およびＮｏ．１３のＳｐｏｒｏｂａｃｔｅｒ属は、特に好ましい細菌と考えられる。したがって、Ｎｏ．５のＳｅｌｅｎｏｍｏｎａｓ属および／またはＮｏ．１３のＳｐｏｒｏｂａｃｔｅｒ属が必ず含まれるように、下痢治療剤を作製してもよい。また、Ｎｏ．５のＳｅｌｅｎｏｍｏｎａｓ属の占有率を１．７８％以上、Ｎｏ．１３のＳｐｏｒｏｂａｃｔｅｒ属の占有率を０．２１％以上としてもよい。

[0021] また、後述する実施例に記載のとおり、成功群と失敗群を比較した場合、成功群に多く含まれる代謝産物（化合物）を特定した。具体的には、７－Ｍｅｔｈｙｌｇｕａｎｉｎｅ、Ｎ６－Ａｃｅｔｙｌｌｙｓｉｎｅ、Ｔａｕｒｉｎｅ、ＧＡＢＡ（γ-アミノ酪酸）、Ａｌａ－Ａｌａ、Ｃｒｅａｔｉｎｅ、Ｎ１－Ａｃｅｔｙｌｓｐｅｒｍｉｄｉｎｅ、Ｇｌｕ（ｇｌｕｔａｍｉｃ ａｃｉｄ）が挙げられる。本出願で開示する下痢治療剤は、必要に応じて、７－Ｍｅｔｈｙｌｇｕａｎｉｎｅ、Ｎ６－Ａｃｅｔｙｌｌｙｓｉｎｅ、Ｔａｕｒｉｎｅ、ＧＡＢＡ（γ-アミノ酪酸）、Ａｌａ－Ａｌａ、Ｃｒｅａｔｉｎｅ、Ｎ１－Ａｃｅｔｙｌｓｐｅｒｍｉｄｉｎｅ、および、Ｇｌｕ（ｇｌｕｔａｍｉｃ ａｃｉｄ）からなる群から選択した少なくとも１種の化合物を含んでもよい。

[0022] 下痢治療剤は、家畜・家禽（例えば、ウシ、ヒツジ、ヤギ、ブタ、ニワトリ）、家庭用ペット（例えば、犬、猫、げっ歯類など）、並びに、競走馬および食用馬を含む任意の動物に有用である。

[0023] 上記のとおり、本出願で開示する下痢治療剤は、Ｎｏ．１～１３に記載の細菌を多く含むことが好ましい。一方、後述する実施例に示す通り、以下の表５Ａおよび表５Ｂに示すＮｏ．１４～６４に記載の細菌は下痢治療剤に含まれる細菌として好ましくない。したがって、Ｎｏ．１４～６４に記載の細菌は、下痢治療剤中の占有率が低いほど好ましい。下痢治療剤がドナーの糞便をベースとする場合は、Ｎｏ．１４～６４に記載の細菌の占有率が低いドナーを選択して糞便を採取すればよい。培養した細菌を用いて下痢治療剤を作製する場合は、Ｎｏ．１４～６４に記載の細菌を使用しなければよい。なお、細菌叢（腸内フローラ）を整えるとの観点でＮｏ．１４～６４に記載の細菌を使用する場合は、下痢治療剤中の占有率が低くなるように調整すればよい。なお、Ｎｏ．１４～６４に記載の細菌の細菌は、少なくとも１種の占有率を低くしてもよいし、２種以上を組み合わせて占有率を低くしてもよい。また、Ｎｏ．１４～６４に記載の細菌は、Ｎｏ．１～１３に記載の細菌と同様、それぞれ配列番号１４～６４に記載の１６Ｓ　ｒＲＮＡをコードするＤＮＡ配列により特定された細菌である。なお、以下の表５Ａおよび表５Ｂには、同じ細菌名に対して異なる細菌分類Ｎｏ．および配列番号が付与されている場合がある（例えば、“ｐ＿Ｔｅｎｅｒｉｃｕｔｅｓ”に対して、Ｎｏ．１６およびＮｏ．２５が付与されている）。しかしながら、以下の表５Ａおよび表５Ｂにおいて、細菌分類Ｎｏ．および配列番号が異なっていても、細菌名が同じであれば同じ種類の細菌である。

[0024]

[表5A]

属番号(Rho)	属名	配列番号	16S rRNA遺伝子をコードするDNA配列
14	c__Chloroflexi	14	
15	g__Thermomicrobium	15	
16	o__Ferruginibacter	16	
17	o__Sphingobacteriales	17	
18	g__OPB31	18	
19	o__Saccharimonadales	19	
20	o__Solirubrobacterales	20	
21	g__Rubrobacter	21	
22	g__Aridibacter	22	
23	g__Lacunisphaera	23	
24	Pseudomonadaceae	24	
25	o__Thermoleophilales	25	
26	g__Lacunisphaera	26	
27	o__Solirubrobacterales	27	
28	o__Solirubrobacterales	28	
29	g__Thermomicrobium	29	
30	o__Solirubrobacterales	30	
31	g__Aridibacter	31	
32	g__Rubrobacter	32	
33	g__Succinivibrio	33	
34	g__Gloeobacter	34	
35	f__S0134_f	35	
36	f__Sphingobacteriaceae	36	
37	o__Bacteroidales	37	
38	o__Acidimicrobiales	38	
39	f__Leptotrichiaceae	39	
40	f__Ruminococcaceae	40	

[表5B]

41	g__Eggerthella	41	
42	g__Anaerostipes	42	
43	g__Roseburia	43	
44	s__Methanobrevibacter_smithii	44	
45	p__Euryarchaeota	45	
46	c__Methanobacteria	46	
47	f__Methanobacteriaceae	47	
48	k__Archaea	48	
49	g__Methanobrevibacter	49	
50	g__Dorea[Eubacterium]	50	
51	f__Bacteroidaceae	51	
52	f__Ruminococcaceae	52	
53	g__Ruminococcus	53	
54	g__Treponema	54	
55	c__Spirochaetes	55	
56	o__Spirochaetales	56	
57	f__TM7	57	
58	g__TM7	58	
59	f__Prevotellaceae	59	
60	g__Faecalibacterium	60	
61	f__Pasteurellaceae	61	
62	g__Prevotella[Bacteroides]	62	
63	f__Enterobacteriaceae	63	
64	o__Enterobacteriales	64	

[0025] （牛の下痢治療方法の実施形態）

本出願で開示する牛の下痢治療方法の実施形態は、上記の下痢治療剤を牛の腸管（例えば、結腸）内に投与する工程を含む。下痢治療剤は、下痢症状を示す牛に、例えば、肛門から投与すればよい。また、下痢治療剤は、経口投与してもよい。

[0026] 以下に実施例を掲げ、本出願で開示する実施形態を具体的に説明するが、この実施例は単に実施形態の説明のためのものである。本出願で開示する発

明の範囲を限定したり、あるいは制限することを表すものではない。

実施例

[0027] ＜実施例１＞

以下に示す手順により、ＦＭＴを実施した。

［動物］

実施例では、千葉県の２０の農場で飼育され、健康な子牛および下痢を伴う子牛の合計１９８頭が使用された。健康な子牛（ｎ＝２０）および難治性下痢に罹患した子牛（ｎ＝２０）が、ＦＭＴのドナーおよびレシピエントとして無作為に選択された。なお、難治性下痢とは、様々な治療を実施しても治癒ができない下痢である。レシピエントの下痢の重症度は、糞便の状態に応じて以下のとおり採点した（Ｄｉａｒｒｈｅａｌ　ｓｃｏｒｅ）。

１＝正常（糞便の形状を保持）。

２＝ソフト（表面を横切る流れがある）。

３＝泥だらけ（液体状）。

４＝重度の下痢（非常に水性）。

[0028] なお、ＦＭＴドナーおよびレシピエントから採取された糞便サンプルは、下痢の原因（すなわち、ウシ白血病ウイルス、ウシウイルス下痢、ロタウイルス、Ｃ．ｐｅｒｆｒｉｎｇｅｎｓ、Ｃ．ｐａｒｖｕｍ、ｃｏｃｃｉｄｉａ、サルモネラ菌、コロナウイルス、病原性大腸菌、線虫）を引き起こすことが多い１０の主要な腸病原体に対して病因性評価を受けた。

[0029] 下痢状態と大腸運動性を推定するために、糞便が含む水分量は、凍結乾燥前後の重量を比較し、次の計算を使用して調べた。

・水分含有量（％）＝１００×（湿式重量－乾燥重量）／湿潤重量

[0030] ［ＦＭＴ手順］

生の糞便（～１００ｇ）が健康なドナーから採取され、２００～２５０ｍｌの滅菌した生理食塩水に懸濁された（下痢治療剤）。医療ガーゼを用いて糞便懸濁液から大きな粒子を濾過し、直ちに難治性下痢に罹患したレシピエントの直腸内に投与した。糞便サンプルは、ドナーからはＦＭＴの日に採取

され、レシピエントからはＦＭＴ実施前（０日目）、ＦＭＴの１日後およびＦＭＴの７日後に採取された。採取した糞便サンプルは、メタゲノム解析のため、Ｓｔｏｏｌ Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ ａｎｄ Ｐｒｅｓｅｒｖａｔｉｏｎ Ｔｕｂｅｓ（Ｎｏｒｇｅｎ）に室温で保存した。本実験は、千葉県農業共済組合幹事会の倫理委員会により交付されたガイドライン（Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ａｎｉｍａｌ Ｗｅｌｆａｒｅ ａｎｄ Ａｎｉｍａｌ Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔ Ｃｏｎｔｒｏｌ）に基づき実施した（承認番号ＣＮＳ１９０９０１およびＣＮＳ１９０９０２）。

[0031] 図１にＦＭＴの結果を示す。ＦＭＴの効果は、下痢スコア、身体の外観、レシピエントから０日目および７日後に採取した糞便に含まれる腸内病原性細菌の状態により総合的に決定した。ＦＭＴを実施した２０頭の子牛の中で、１４頭に治療効果が見られたが（成功群：Ｓｕｃｃｅｓｓｆｕｌ）、６頭には治療効果が見られなかった（失敗群：Ｕｎｓｕｃｃｅｓｓｆｕｌ）。図１Ａは下痢スコア（Ｄｉａｒｒｈｅａｌ ｓｃｏｒｅ）を示しており、成功群ではＦＭＴ1日後に大きな治療効果が見られ、７日後には下痢スコアがほぼ正常値に近くなった。一方、失敗群では、ＦＭＴ1日後にやや治療効果が見られたものの、７日後は０日とほぼ同じ症状に悪化した。また、図１Ｂに示すように、ドナーの糞便中の水分量はほぼ同じであったが、ＦＭＴの失敗群では糞便中の水分量が増加した。

[0032] ＜実施例２＞

図１に示すように、全てのドナーが健康状態であるにもかかわらず、ＦＭＴを実施した約３割のレシピエントでは効果が見られなかった。そのため、成功群のドナーおよびレシピエントの組み合わせ、失敗群のドナーおよびレシピエントの組み合わせに着目し、ＬＥｆＳｅ（Ｌｉｎｅａｒ ｄｉｓｃｒｉｍｉｎａｎｔ ａｎａｌｙｓｉｓ ｅｆｆｅｃｔ ｓｉｚｅ）により、ＦＭＴを成功に導く細菌の種類および失敗に導く細菌の種類の解析を行った。また、ＦＭＴを成功に導く代謝産物および失敗に導く代謝産物の種類の解析を行った。実験手順を以下に記載する。

[0033] ［ＰＣＲによる１６Ｓ　ｒＲＮＡ遺伝子の増幅］

ゲノムＤＮＡは、Ｓｔｏｏｌ　ＤＮＡ　Ｉｓｏｌａｔｉｏｎ　Ｋｉｔを用い、メーカーのプロトコルに従って採取した糞便サンプルから抽出した。ＰＣＲは、公知の方法により行った（Ｔ．Ｎｏｃｈｉ　ｅｔ　ａｌ．，“Ｅｌｕｃｉｄａｔｉｏｎ　ｏｆ　ｔｈｅ　Ｅｆｆｅｃｔｓ　ｏｆ　ａ　Ｃｕｒｒｅｎｔ　Ｘ－ＳＣＩＤ　Ｔｈｅｒａｐｙ　ｏｎ　Ｉｎｔｅｓｔｉｎａｌ　Ｌｙｍｐｈｏｉｄ　Ｏｒｇａｎｏｇｅｎｅｓｉｓ　Ｕｓｉｎｇ　ａｎ　Ｉｎ　Ｖｉｖｏ　Ａｎｉｍａｌ　Ｍｏｄｅｌ”，Ｃｅｌｌ．Ｍｏｌ．Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌ．Ｈｅｐａｔｏｌ．，１０（１），８３－１００（２０２０））。

[0034] ［メタゲノム解析と機能予測分析］

逆多重化された生シークエンスは、ＢａｓｅＳｐａｃｅ　Ｓｅｑｕｅｎｃｅ　Ｈｕｂ（Ｉｌｌｕｍｉｎａ）から取得され、シークエンスはＱＩＩＭＥ２（バージョン２０２０．２）を使用して分析された。結合されたシークエンスの品質は、ｑ２－ｄｅｍｕｘ　ｐｌｕｇｉｎを使用してフィルタリングされ、続いてＤＡＤＡ２でノイズ除去され、ＯＴＵがクラスター化され、さらに分析するための機能テーブルが生成された。処理されたシークエンスデータは、９９％の配列類似性でＧｒｅｅｎｇｅｎｅｓリファレンスデータベースに割り当てられ整列された。ＬＥｆＳｅは、特徴表に基づいて、グループの中で最も判別性の高い分類群を決定するために適用された。統計分析と視覚的調査のために、プレーン形式の分類群とメタデータファイルを含むＯＴＵテーブルがｍｉｃｒｏｂｉｏｍｅＡｎａｌｙｓｔを使用して分析された。異なるグループの微生物叢データの機能的可能性は、ＫＥＧＧデータベースとＢｉｏＣｙｃリファレンスデータベースを使用して機能特性を割り当てることによって確立されたＰｉｐｈｉｌｌｉｎを使用した１６Ｓ　ｒＲＮＡデータに基づいて予測された。

[0035] 図２乃至図４に細菌の種類の解析結果を示す。図２はＦＭＴ実施前（０日）のドナーの解析結果、図３はＦＭＴ実施前（０日）のレシピエントの解析

結果、図４はＦＭＴの７日後のレシピエントの解析結果である。図２乃至図４の成功群（Ｓｕｃｃｅｓｓｆｕｌ）において、ＬＤＡスコアが大きいほどＦＭＴ成功を特徴付けている細菌といえる。また、失敗群においても、ＬＤＡスコアが大きいほどＦＭＴ失敗を特徴付けている細菌といえる。なお、図２乃至図４に示す細菌は、ＬＤＡスコアが大きい細菌を特に抽出して例示しており、成功群および失敗群とも全ての細菌を記載しているわけではない。

[0036] 図２に示すように、ＦＭＴの成功群および失敗群のドナーを比較すると、Ｂａｃｔｅｒｏｉｄｉａ網（Ｎｏ．１）、Ｐｒｅｖｏｔｅｌｌａｃｅａｅ科（Ｎｏ．２）、Ｐｒｅｖｏｔｅｌｌａ属（Ｎｏ．３）、Ｓｕｃｃｉｎｉｓｐｉｒａ属（Ｎｏ．４）、Ｓｅｌｅｎｏｍｏｎａｓ属（Ｎｏ．５）、Ｇｅｍｍｉｇｅｒ属（Ｎｏ．６）およびＯｄｏｒｉｂａｃｔｅｒ属（Ｎｏ．７）は、ＬＤＡスコアが大きかった。一方、失敗群では、Ｌａｃｔｏｎｉｆａｃｔｏｒ属（Ｎｏ．２３）、Ａｌｉｓｔｉｐｅｓ属（Ｎｏ．２２）、Ｒｏｓｅｂｕｒｉａ属（Ｎｏ．２１）等は、ＬＤＡスコアが大きかった。なお、失敗群に含まれる細菌の詳細は細菌分類Ｎｏ．１４～２３に記載されている。

[0037] 図３に示すように、ＦＭＴ実施前において、成功群のレシピエントでは、Ｌａｃｔｏｂａｃｉｌｌｕｓ属（Ｎｏ．８）およびＬａｃｔｏｂａｃｉｌｌａｌｅｓ目（Ｎｏ．９）は、ＬＤＡスコアが大きかった。一方、失敗群のレシピエントでは、ＦＭＴ実施前において、Ｒｕｍｉｎｏｃｏｃｃａｃｅａｅ科（Ｎｏ．４０）、Ｌａｃｈｎｏｓｐｉｒａｃｅａｅ科（Ｎｏ．３９）等は、ＬＤＡスコアが大きかった。なお、失敗群に含まれる細菌の詳細は、細菌分類Ｎｏ．２４～４０に記載されている。

[0038] 図４に示すように、ＦＭＴ実施７日後において、成功群のレシピエントでは、Ｖｅｉｌｌｏｎｅｌｌａｃｅａｅ科（Ｎｏ．１０）、Ｓｅｌｅｎｏｍｏｎａｓ属（Ｎｏ．５）、Ａｃｉｄａｍｉｎｏｃｏｃｃｕｓ属（Ｎｏ．１１）、Ｃｏｌｌｉｎｓｅｌｌａ属（Ｎｏ．１２）は、ＬＤＡスコアが大きかった。一方、失敗群のレシピエントでは、ＦＭＴ実施７日後において、ＴＭ７門（Ｎｏ．５８）、Ｆ１６科（Ｎｏ．５７）等は、ＬＤＡスコアが大きかった

。なお、失敗群に含まれる細菌の詳細は、細菌分類Ｎｏ．４１～５８に記載されている。

[0039] 図２乃至図４の結果から、成功群のドナーおよび成功群のレシピエントから、ＦＭＴを成功に導く可能性が高い１３種類の細菌を特定できた。中でも、Ｓｅｌｅｎｏｍｏｎａｓ属（Ｎｏ．５）は、成功群のドナーおよび成功群のレシピエント（Ｄａｙ７）においていずれも高いＬＤＡスコアを示したことから、ＦＭＴを成功に導く可能性が高い細菌として特定できた。下痢治療剤を作製する際に、糞便をベースにした場合は培養したＳｅｌｅｎｏｍｏｎａｓ属（Ｎｏ．５）を添加する、或いは、培養したＳｅｌｅｎｏｍｏｎａｓ属（Ｎｏ．５）を用いる等、Ｓｅｌｅｎｏｍｏｎａｓ属（Ｎｏ．５）は下痢治療剤の作製に有用である。一方、Ｔｅｎｅｒｉｃｕｔｅｓ門（Ｎｏ．１６）およびＳｐｉｒｏｃｈａｅｔｅｓ門（Ｎｏ．２０）は、失敗群のドナーおよび失敗群のレシピエント（Ｄａｙ０）の両方で発見された。したがって、下痢治療剤を作製する際には、含有しない或いは含有量を極力少なくした方が好ましい。また、図４に示す結果から、本出願で開示する下痢治療剤は、投与後のレシピエントの糞便に含まれるＶｅｉｌｌｏｎｅｌｌａｃｅａｅ科（Ｎｏ．１０）、Ｓｅｌｅｎｏｍｏｎａｓ属（Ｎｏ．５）、Ａｃｉｄａｍｉｎｏｃｏｃｃｕｓ属（Ｎｏ．１１）、および、Ｃｏｌｌｉｎｓｅｌｌａ属（Ｎｏ．１２）からなる群から選択した少なくとも１種の細菌を増加させる治療剤ということができる。

[0040] ＜実施例３＞

次に、実施例２で統計解析により得られたＦＭＴを成功に導く１３種類の細菌の一部について、２０症例のＦＭＴで実際に有用であったのか更に詳しく確認をした。図５に、成功群のドナーおよびレシピエント（０日、１日後、７日後）から採取した糞便中の全細菌に占める各細菌の相対的存在量（ｒｅｌａｔｉｖｅ　ａｂｕｎｄａｎｃｅ：縦軸の数値で％）、および、失敗群のドナーおよびレシピエント（０日、１日後、７日後）から採取した糞便中の全細菌に占める各細菌の相対的存在量を示す。なお、図５に示す相対的存

在量は、全細菌の１６Ｓ　ｒＲＮＡのコピー数に対する各細菌のコピー数の割合であって、糞便中の全細菌数に対する各細菌の数の割合（占有率）に相当する。

[0041] 図５から明らかなように、Ｎｏ．１～５、７および１０に記載の細菌は、何れも、失敗群より成功群に多く含まれていた（特にドナーおよびレシピエント７日後）。中でも、Ｓｅｌｅｎｏｍｏｎａｓ属は、成功群のドナーおよびレシピエントに含まれる占有率が、失敗群のドナーおよびレシピエントよりはるかに多かった。また、ドナーに関しては、何れの細菌も成功群に含まれる細菌の占有率の方が、失敗群より大きかった。したがって、下痢治療剤を作製する際には、Ｎｏ．１～５、７および１０の細菌の占有率を大きくすることが好ましい。限定されるものではないが、例えば、（１）失敗群のドナーに含まれる細菌の占有率（平均値）より大きくする、（２）失敗群と成功群の占有率の平均値以上、（３）成功群の占有率の平均値以上、等が考えられる。図５に示す結果を、上記（１）～（３）に基づき計算した数値を以下に記載する。なお、以下の（１）の数値は以上と記載してあるが、小数点３桁以降を切り上げて有効数字を小数点２桁までとしていることから、以下の（１）に記載の数値は以上と記載されているが、失敗群のドナーに含まれる細菌の占有率（平均値）より大きな値である。

[0042] ・Ｎｏ．１（ｃ＿Ｂａｃｔｅｒｏｉｄｉａ）：（１）２４．２１％以上、（２）３１．３４％以上、（３）３８．４７％以上。

・Ｎｏ．２（ｆ＿Ｐｒｅｖｏｔｅｌｌａｃｅａｅ）：（１）４．４３％以上、（２）１２．６４％以上、（３）２０．８５％以上。

・Ｎｏ．３（ｇ＿Ｐｒｅｖｏｔｅｌｌａ）：（１）４．７７％以上、（２）１５．８９％以上、（３）２７．００％以上。

・Ｎｏ．４（ｇ＿Ｓｕｃｃｉｎｉｓｐｉｒａ）：（１）４．１２％以上、（２）５．７５％以上、（３）７．４０％以上。

・Ｎｏ．５（ｇ＿Ｓｅｌｅｎｏｍｏｎａｓ）：（１）０．０９％以上、（２）１．７８％以上、（３）３．４７％以上。

・Ｎｏ．７（ｇ＿Ｏｄｏｒｉｂａｃｔｅｒ）：（１）０％以上（０より大きい）、（２）０．４６％以上、（３）０．９２％以上。

・Ｎｏ．１０（ｆ＿Ｖｅｉｌｌｏｎｅｌｌａｃｅａｅ）：（１）４．８６％以上、（２）１０．３２％以上、（３）１５．７８％以上。

[0043] なお、Ｎｏ．１はｃｌａｓｓ（綱）レベルであるため、別途、ｆａｍｉｌｙ（科）レベル（Ｎｏ．６５、ｆ＿Ｂａｃｔｅｒｏｉｄａｃｅａｅ）およびｇｅｎｕｓ（属）レベル（Ｎｏ．６６、ｇ＿Ｂａｃｔｅｒｏｉｄｅｓ）の解析を行った。解析に用いた１６Ｓ　ｒＲＮＡをコードするＤＮＡ配列を表６に示す。また、図５に、ｆ＿Ｂａｃｔｅｒｏｉｄａｃｅａｅの解析結果（Ｎｏ．１’）、ｇ＿Ｂａｃｔｅｒｏｉｄｅｓの解析結果（Ｎｏ．１’’）を示す。

[0044] 図５のＮｏ．１’およびＮｏ．１’’から明らかなように、Ｎｏ．１（ｃ＿Ｂａｃｔｅｒｏｉｄｉａ）の下位分類であるｆａｍｉｌｙ（科）レベルおよびｇｅｎｕｓ（属）レベルでも、成功群のドナーおよびレシピエントに含まれる占有率が、失敗群のドナーおよびレシピエントより多かった。上記（１）～（３）に基づき計算した占有率の数値を以下に記載する。

・Ｎｏ．１’（ｆ＿Ｂａｃｔｅｒｏｉｄａｃｅａｅ）：（１）１．４８％以上、（２）２．９４％以上、（３）４．４０％以上。

・Ｎｏ．１’’（ｇ＿Ｂａｃｔｅｒｏｉｄｅｓ）：（１）１．４８％以上、（２）２．９４％以上、（３）４．４０％以上。

[0045] [表6]

[illegible]	[illegible]	[illegible]	１６Ｓ ｒＲＮＡをコードするＤＮＡ配列
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

[0046] ＜実施例４＞

上記実施例２および３は、ＦＭＴを実施したドナーおよびレシピエントに基づく統計解析結果である。ＦＭＴを成功に導く細菌を更に探索するため、実施例４では、ＦＭＴを実施したドナー（成功群＋失敗群）およびレシピエ

ント（成功群＋失敗群）に加え、ＦＭＴを実施していない健康な牛（ｎ＝１０９）および下痢の牛（ｎ＝４９）の糞便サンプルを含めて解析を行った。具体的な手順は、実施例２および３と同様である。

[0047] 図６にＬＥｆＳｅ解析の結果を示す。図６に示すように、健康な牛と下痢の牛の比較では、Ｓｐｏｒｏｂａｃｔｅｒ属（Ｎｏ．１３）は、ＬＤＡスコアが大きかった。一方、下痢の牛では、Ｅｎｔｅｒｏｂａｃｔｅｒｉａｃｅａｅ科（Ｎｏ．６４）、Ｅｎｔｅｒｏｂａｃｔｅｒｉａｌｅｓ目（Ｎｏ．６３）等は、ＬＤＡスコアが大きかった。なお、下痢の牛に含まれる細菌の詳細は、細菌分類Ｎｏ．５９～６４に記載されている。

[0048] 次に、Ｓｐｏｒｏｂａｃｔｅｒ属（Ｎｏ．１３）が、実際にＦＭＴを実施したドナーおよびレシピエントに含まれる割合を調べた。図７に結果を示す。ところで、ＦＭＴを成功に導く細菌としては、（１）健康な牛には多く含まれ、下痢の牛では少ない、（２）成功群のドナーには多く含まれ、失敗群のドナーでは少ない、（３）成功群のレシピエント（０日）には非常に少なく（つまり、下痢治療剤を投与する前のレシピエントの占有率が少ない）、失敗群のレシピエント（０日）でも少ない、ことが望ましい。図７から明らかなように、Ｓｐｏｒｏｂａｃｔｅｒ属（Ｎｏ．１３）は実施例３で探索した細菌と比較して糞便中の占有率は必ずしも大きくはないが、上記ＦＭＴを成功に導くのに好ましい条件を全て備えていることから、スーパードナーとして下痢治療剤中に含まれることが望ましい。Ｓｐｏｒｏｂａｃｔｅｒ属（Ｎｏ．１３）を含む場合は、実施例３と同様に計算をすると、下痢治療剤中に以下の割合以上となるように含むことが好ましい。

・Ｎｏ．１３（ｇ＿Ｓｐｏｒｏｂａｃｔｅｒ）：（１）０．１６％以上、（２）０．２１％以上、（３）０．２８％以上。

[0049] 以上の結果より、細菌分類Ｎｏ．１～１３に記載の細菌は、ＦＭＴを成功に導くことができ、中でも、Ｓｅｌｅｎｏｍｏｎａｓ属（Ｎｏ．５）およびＳｐｏｒｏｂａｃｔｅｒ属（Ｎｏ．１３）が好ましいことを確認した。したがって、下痢治療剤中にＳｅｌｅｎｏｍｏｎａｓ属（Ｎｏ．５）および／ま

たはＳｐｏｒｏｂａｃｔｅｒ属（Ｎｏ．１３）を多く含めることで、ＦＭＴの治療効果を更に高めることが期待される。なお、Ｓｅｌｅｎｏｍｏｎａｓ属は、コハク酸－プロピオン酸経路への影響を通じてＡＴＰ産生に関与することが知られている。Ｓｅｌｅｎｏｍｏｎａｓ属の存在によるエネルギー代謝の向上が、下痢治療効果に何らかの関与があると想定される。

[0050] ＜実施例５＞

［ＣＥ－ＴＯＦＭＳメタボロミクス解析］

次に、糞便サンプルに含まれる代謝産物の解析を行った。糞便サンプルを使用したメタボロミクス解析は、Ｈｕｍａｎ　Ｍｅｔａｂｏｌｏｍｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、Ｉｎｃで実施された。具体的には、凍結乾燥機（ＴＡＩＴＥＣ）を使用してサンプルを乾燥し、ＣＥ－ＴＯＦＭＳ（Ａｇｉｌｅｎｔ）で分析した。同定された代謝物は、ＣｈｅｍＳｔａｔｉｏｎソフトウェア（Ａｇｉｌｅｎｔ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を使用して、測定したピーク面積を標準（既知の代謝産物）のピーク面積と比較することによって定量化された。

[0051] 図８に、ＣＥ－ＴＯＦＭＳメタボロミクス解析により解析した代謝産物のＶＩＰ　ｓｃｏｒｅを示す。図８の矢印で示す代謝産物は成功群特有の代謝産物であり、矢印で示されていない代謝産物は失敗群特有の代謝産物である。図８の「Ｄｏｎｏｒ０」に示すとおり、成功群のドナーでは、７－ＭｅｔｈｙｌｇｕａｎｉｎｅのＶＩＰ　ｓｃｏｒｅが大きかった。図８の「Ｒｅｃｉｐｉｅｎｔ１」に示すとおり、ＦＭＴ実施１日後において、成功群のレシピエントでは、Ｎ６－Ａｃｅｔｙｌｌｙｓｉｎｅ、Ｔａｕｒｉｎｅ、ＧＡＢＡ（γ-アミノ酪酸）、Ａｌａ－Ａｌａ、Ｃｒｅａｔｉｎｅ、および、Ｎ１－ＡｃｅｔｙｌｓｐｅｒｍｉｄｉｎｅのＶＩＰ　ｓｃｏｒｅが大きかった。また、図８の「Ｒｅｃｉｐｉｅｎｔ７」に示すとおり、ＦＭＴ実施７日後において、成功群のレシピエントでは、Ｇｌｕ（ｇｌｕｔａｍｉｃ　ａｃｉｄ）のＶＩＰ　ｓｃｏｒｅが大きかった。

[0052] 上記代謝産物が、下痢の治療に直接関与するか否かは不明である。しかし

ながら、図８に示す代謝産物が成功群に多く含まれていたことは事実であることから、上記代謝産物から選択した少なくとも１種を下痢治療剤に添加することで、下痢の治療効果が更に高くなることが期待される。

[0053] ＜実施例６＞

［凍結乾燥および凍結した糞便微生物（下痢治療剤）によるＦＭＴの効果の違い］

次に、凍結乾燥した糞便微生物、および、凍結した糞便微生物を用いてＦＭＴを実施した際の効果の違いを確認するため、以下の手順で実験を行った。

１．糞便微生物の調整

（１）健常牛（ドナー）より採取した糞便（２５ｇ）を１２５ｍｌのｃｏｌｄ－ＰＢＳに懸濁した。

（２）ハンドミキサーで２分間攪拌した。

（３）０．５ｍｍポアのナイロンメッシュを用いてろ過した。

（４）多用途密度勾配遠心分離媒体（Ｎｙｃｏｄｅｎｚ）を用いて、３：１（上記（３）のろ過物：Ｎｙｃｏｄｅｎｚ）の割合で調整した。

（５）１０，０００ｇ、４℃、４０分で高速遠心した。

（６）微生物画分を回収（一部をメタゲノム解析用に採取）した。

（７）上記（６）で回収した微生物画分を以下の処理をすることで糞便微生物を作製した。

・－８０℃で保存（凍結糞便微生物）

・凍結乾燥装置（ＴＡＩＴＥＣ社、機種：ＶＤ－５５０Ｒ）を用いて６時間乾燥（凍結乾燥糞便微生物）

[0054] ２．ＦＭＴの実施

上記１．で調整した凍結糞便微生物および凍結乾燥糞便微生物を、１００ｍｌのＰＢＳに懸濁し、下痢発症牛（レシピエント）に経肛門移植した。

[0055] ３．解析

移植直前（Ｄ０）、移植翌日（Ｄ１）、移植１週間後（Ｄ７）のレシピエ

ントより糞便を採取し、実施例２と同様にメタゲノム解析および実施例５と同様にメタボロミクス解析を行った。

[0056] 図９にメタゲノム解析の結果の概略を示す。図９の白抜きの矢印は、移植１週間後のレシピエントの腸内細菌叢のドナーとの一致率を示す。図９から明らかなように、凍結乾燥糞便微生物を用いた場合、凍結糞便微生物を用いた場合よりレシピエントの腸内細菌叢がドナーの腸内細菌叢に変化した割合が約４倍も多かった。ＦＭＴは、レシピエントの腸内細菌叢をドナーの腸内細菌叢に近付けることを目的としている。したがって、凍結糞便微生物と比較して、凍結乾燥糞便微生物はＦＭＴを実施する際には顕著な効果を奏すると言える。

[0057] 図１０にメタゲノム解析の詳細な結果、図１１にメタボロミクス解析の詳細な結果を示す。また、表７に図１０に示すメタゲノム解析のｐ値、表８に図１１のメタボロミクス解析のｐ値を示す。

[0058] [表7]

移植試験	比較（新鮮糞便）	p value
凍結糞便	D vs R0	0.007
	D vs R1	0.003
	D vs R7	0.048
凍結乾燥糞便	D vs R0	0.001
	D vs R1	0.001
	D vs R7	**0.096**
移植試験	**比較（凍結後糞便）**	**p value**
凍結糞便	D vs R0	0.009
	D vs R1	0.006
	D vs R7	0.006
凍結乾燥糞便	D vs R0	0.003
	D vs R1	0.008
	D vs R7	**0.096**

[0059] [表8]

移植試験	比較（新鮮糞便）	p value
凍結糞便	D vs R0	0.0007
	D vs R7	0.0178
凍結乾燥糞便	D vs R0	0.0253
	D vs R7	**0.6719**

[0060] 表７および表８に示すように、凍結乾燥糞便微生物を用いた移植１週間後のレシピエントから採取した糞便のみが、ドナー（新鮮糞便、凍結糞便）と有意差が見られなかった（表７ではｐ値０．０９６、表８ではｐ値０．６７１９。）。換言すると、凍結乾燥糞便微生物を用いた移植１週間後のレシピエントの腸内細菌叢および代謝産物のみが、ドナーの腸内細菌叢および代謝産物と区別がつかない程度にドナーの腸内環境に近づくように変化したことを意味している。

[0061] 以上の結果より、ドナーから採取した糞便微生物を用いてＦＭＴを実施する場合、凍結糞便微生物と比較して、凍結乾燥糞便微生物を用いるとレシピエントの腸内細菌叢および代謝産物に与える効果が顕著に優れていることを確認した。

[0062] また、凍結乾燥糞便微生物は常温保存が可能であることから取り扱いが極めて簡便であるが、凍結糞便微生物は－８０℃等の非常に低温で保管するための設備が必要であり、ＦＭＴを実施する場所が制限されるという問題がある。凍結糞便微生物と比較して、凍結乾燥糞便微生物を用いた場合は、ＦＭＴを実施した際に奏する上記効果に加え、取り扱いの利便性という異質な効果も同時に奏する。

産業上の利用可能性

[0063] 本出願で開示する下痢治療剤を用いることで、牛の下痢を治療できる。したがって、本出願で開示する下痢治療剤は、畜産産業に有用である。

請求の範囲

[請求項1] 細菌を含む下痢治療剤であって、該下痢治療剤は、

下記表１に記載の細菌分類Ｎｏ．１～１３に記載の１３種類の細菌からなる群から選択した少なくとも１種の細菌を含み、

前記細菌分類Ｎｏ．１～１３に記載の１３種類の細菌は、それぞれ配列番号１～１３に記載の１６Ｓ　ｒＲＮＡをコードするＤＮＡ配列と９５％以上同一の配列を含む

下痢治療剤。

[表1]

配列番号	細菌	
	細菌分類No.	細菌名
1	1	c__Bacteroidia
2	2	f__Prevotellaceae
3	3	g__Prevotella
4	4	g__Succinispira
5	5	g__Selenomonas
6	6	g__Gemmiger
7	7	g__Odoribacter
8	8	g__Lactobacillus
9	9	o__Lactobacillales
10	10	f__Veillonellaceae
11	11	g__Acidaminococcus
12	12	g__Collinsella
13	13	g__Sporobacter

[請求項2] 前記細菌が、細菌分類Ｎｏ．１～５、７、１０および１３からなる群から選択した少なくとも１種を含み、且つ、下記表２に示す占有率を有する

請求項１に記載の下痢治療剤。

[表2]

配列番号	細菌		占有率
	細菌分類No.	細菌名	
1	1	c__Bacteroidia	24.21%以上
2	2	f__Prevotellaceae	4.43%以上
3	3	g__Prevotella	4.77%以上
4	4	g__Succinispira	4.12%以上
5	5	g__Selenomonas	0.09%以上
7	7	g__Odoribacter	0%より大きい
10	10	f__Veillonellaceae	4.86%以上
13	13	g__Sporobacter	0.16%以上

[請求項3] 細菌分類Ｎｏ．１３のｇ__Ｓｐｏｒｏｂａｃｔｅｒを少なくとも含む

請求項１に記載の下痢治療剤。

[請求項4] 細菌分類Ｎｏ．１３のｇ__Ｓｐｏｒｏｂａｃｔｅｒを少なくとも含む

請求項２に記載の下痢治療剤。

[請求項5] 前記細菌分類Ｎｏ．１３のｇ__Ｓｐｏｒｏｂａｃｔｅｒの占有率が、０．２１％以上である

請求項４に記載の下痢治療剤。

[請求項6] 細菌分類Ｎｏ．５のｇ__Ｓｅｌｅｎｏｍｏｎａｓを少なくとも含む

請求項１に記載の下痢治療剤。

[請求項7] 細菌分類Ｎｏ．５のｇ__Ｓｅｌｅｎｏｍｏｎａｓを少なくとも含む

請求項２に記載の下痢治療剤。

[請求項8] 前記細菌分類Ｎｏ．５のｇ__Ｓｅｌｅｎｏｍｏｎａｓの占有率が、１．７８％以上である

請求項７に記載の下痢治療剤。

[請求項9] 牛の下痢治療の用途に用いられる、請求項１～８の何れか一項に記載の下痢治療剤。

[請求項10] ７－Ｍｅｔｈｙｌｇｕａｎｉｎｅ、Ｎ６－Ａｃｅｔｙｌｌｙｓｉｎ

ｅ、Ｔａｕｒｉｎｅ、ＧＡＢＡ、Ａｌａ－Ａｌａ、Ｃｒｅａｔｉｎｅ、Ｎ１－Ａｃｅｔｙｌｓｐｅｒｍｉｄｉｎｅ、および、Ｇｌｕからなる群から選択した少なくとも１種の化合物を含む

請求項１～８の何れか一項に記載の下痢治療剤。

[請求項11] 投与後のレシピエントの糞便に含まれる、細菌分類Ｎｏ．５のｇ__Ｓｅｌｅｎｏｍｏｎａｓ、細菌分類Ｎｏ．１０のｆ__Ｖｅｉｌｌｏｎｅｌｌａｃｅａｅ、細菌分類Ｎｏ．１１のｇ__Ａｃｉｄａｍｉｎｏｃｏｃｃｕｓ、および、細菌分類Ｎｏ．１２のｇ__Ｃｏｌｌｉｎｓｅｌａからなる群から選択した少なくとも１種の細菌を増加させる

請求項１～８の何れか一項に記載の下痢治療剤。

[請求項12] 下痢治療剤が凍結乾燥した形態である

請求項１～８の何れか一項に記載の下痢治療剤。

[請求項13] 下痢治療剤が凍結乾燥した形態である

請求項９に記載の下痢治療剤。

[請求項14] 牛の下痢治療方法であって、該方法は、

請求項１～８の何れか一項に記載の下痢治療剤を牛の腸管内に投与する工程

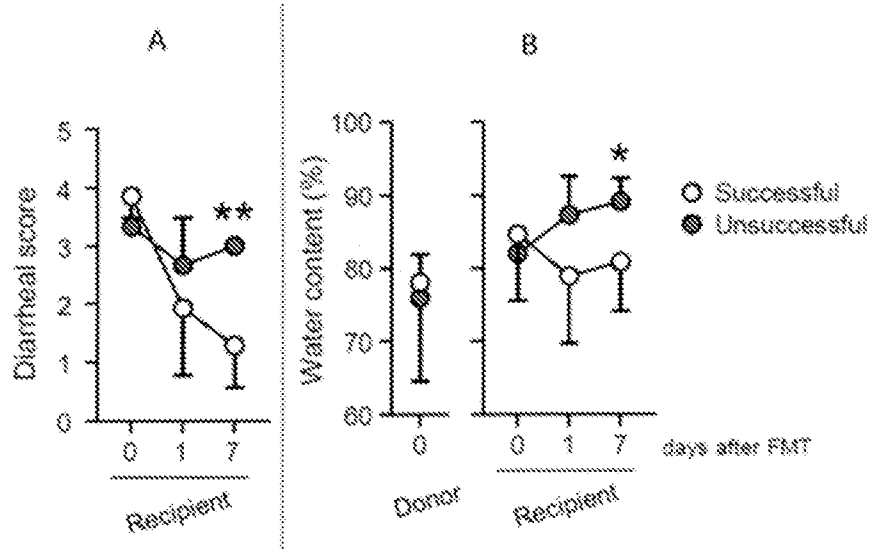
を含む、牛の下痢治療方法。

[請求項15] 牛の下痢治療方法であって、該方法は、

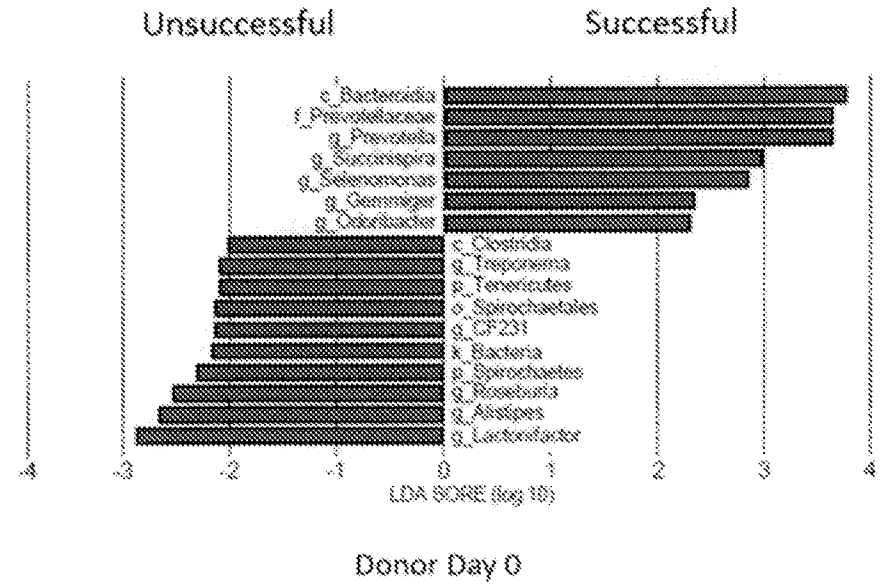
請求項１２に記載の下痢治療剤を牛の腸管内に投与する工程

を含む、牛の下痢治療方法。

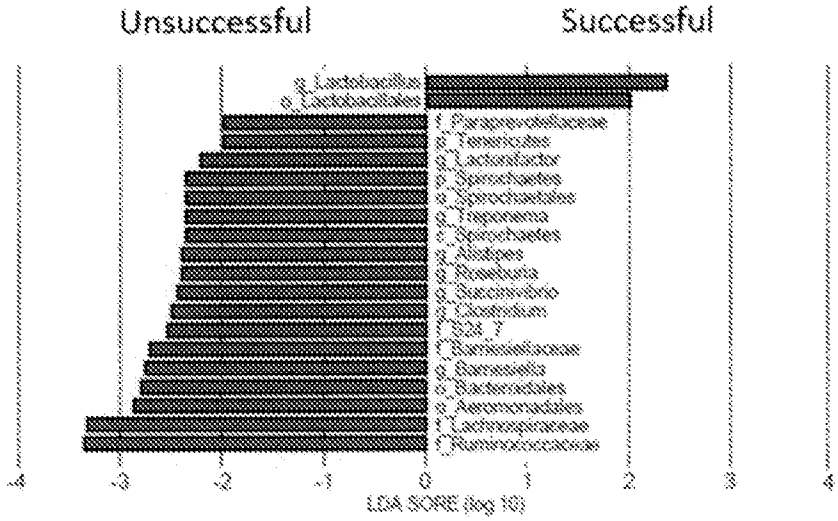
[図1]


A
B
Diarrheal score
Water content (%)
Successful
Unsuccessful
days after FMT
Donor
Recipient
Recipient

[図2]

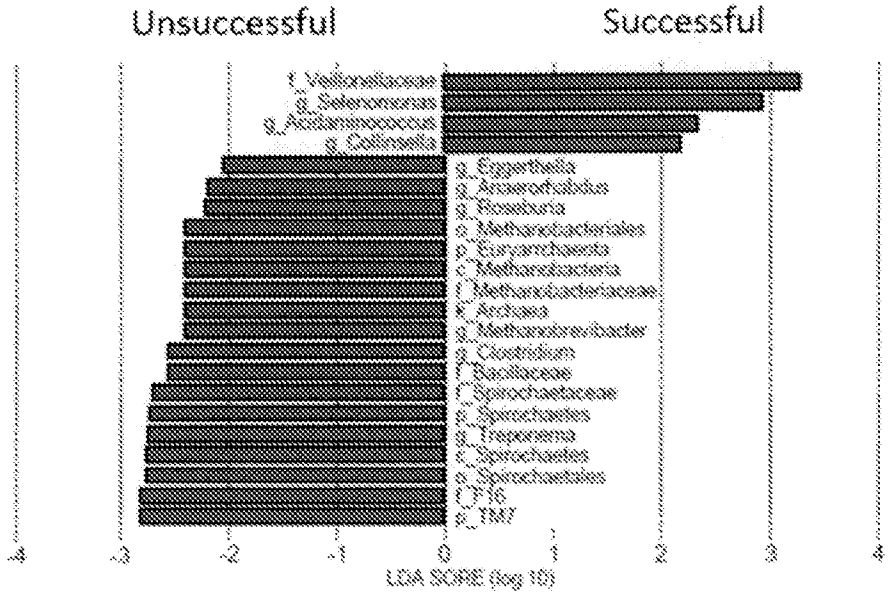

Unsuccessful
Successful
LDA SCORE (log 10)
Donor Day 0

[図3]



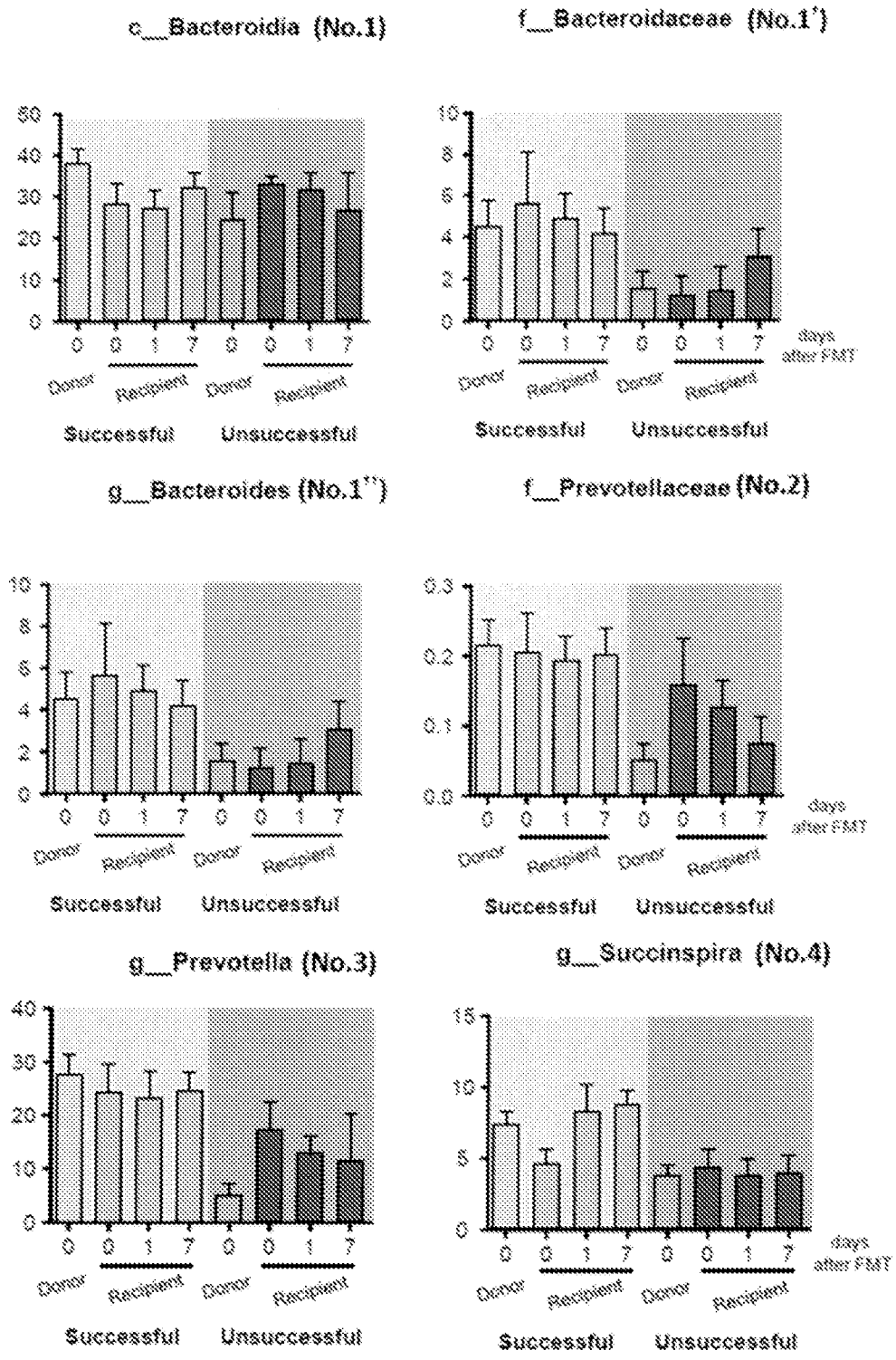
Recipient Day 0

[図4]

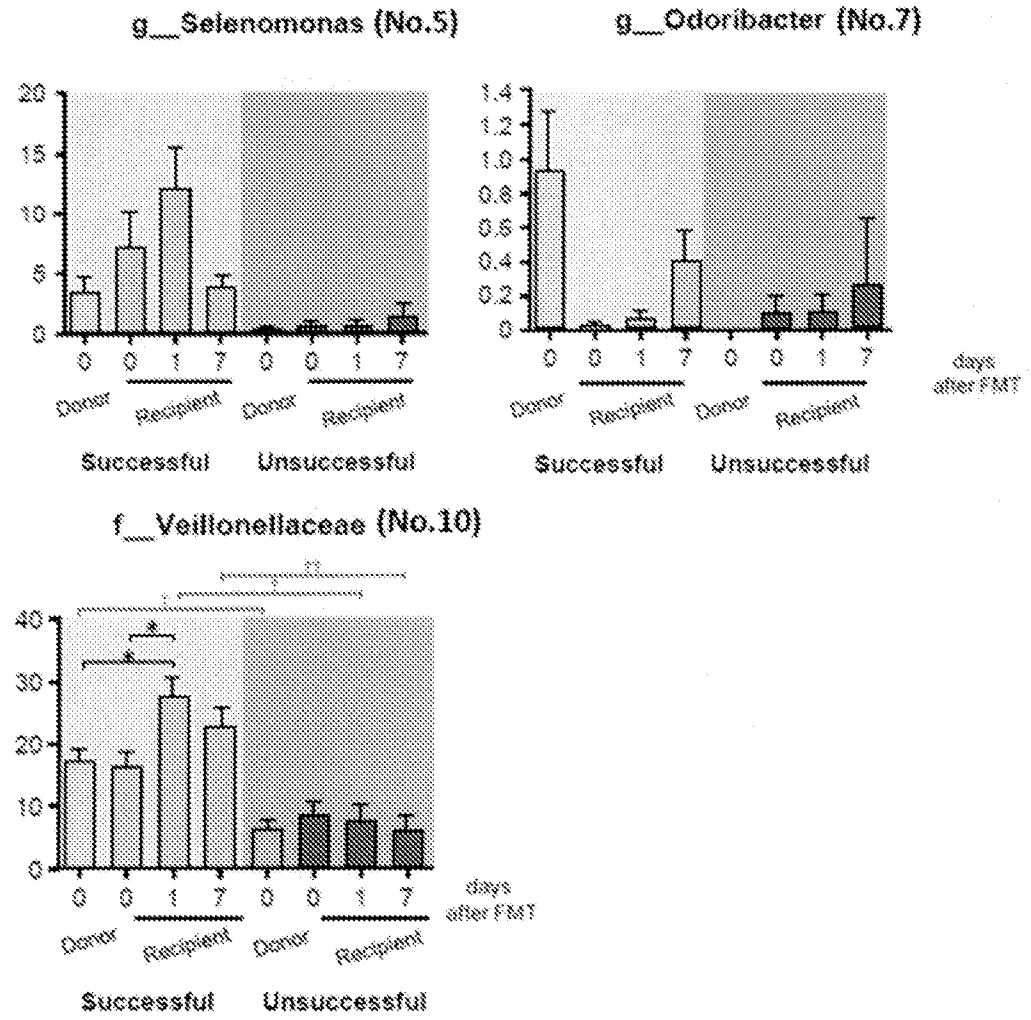


Recipient Day 7

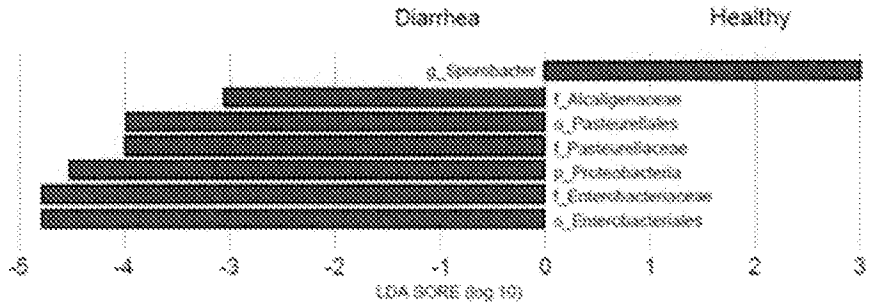
[図5A]


c__Bacteroidia (No.1)
f__Bacteroidaceae (No.1')
g__Bacteroides (No.1'')
f__Prevotellaceae (No.2)
g__Prevotella (No.3)
g__Succinspira (No.4)
days after FMT
Donor
Recipient
Successful
Unsuccessful

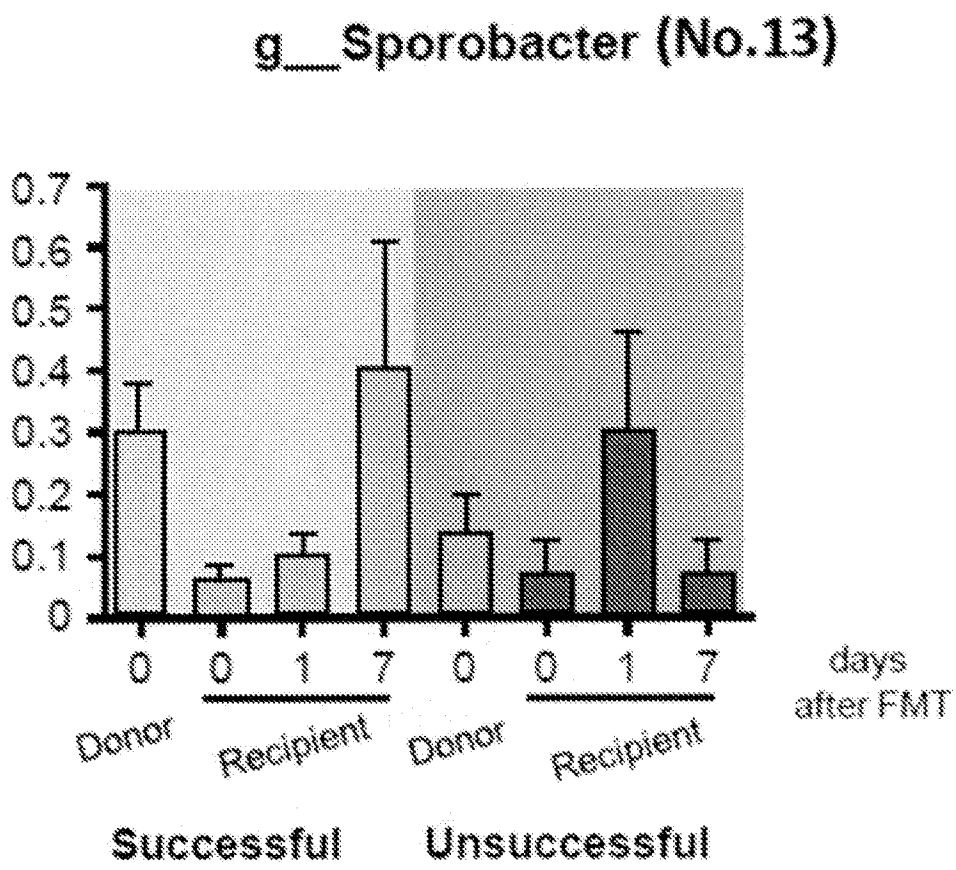
[図5B]


g__Selenomonas (No.5)
g__Odoribacter (No.7)
f__Veillonellaceae (No.10)
Donor
Recipient
Donor
Recipient
days after FMT
Successful
Unsuccessful

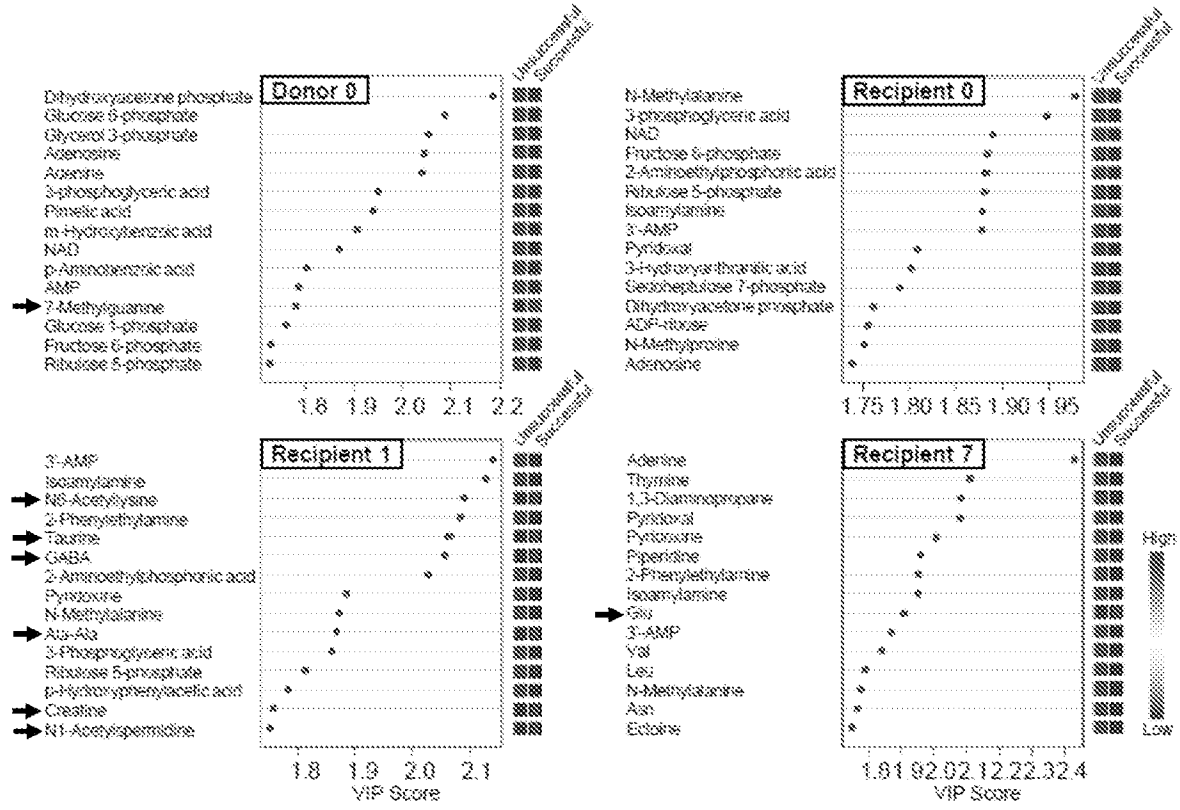
[図6]


Diarrhea
Healthy
LDA SCORE (log 10)

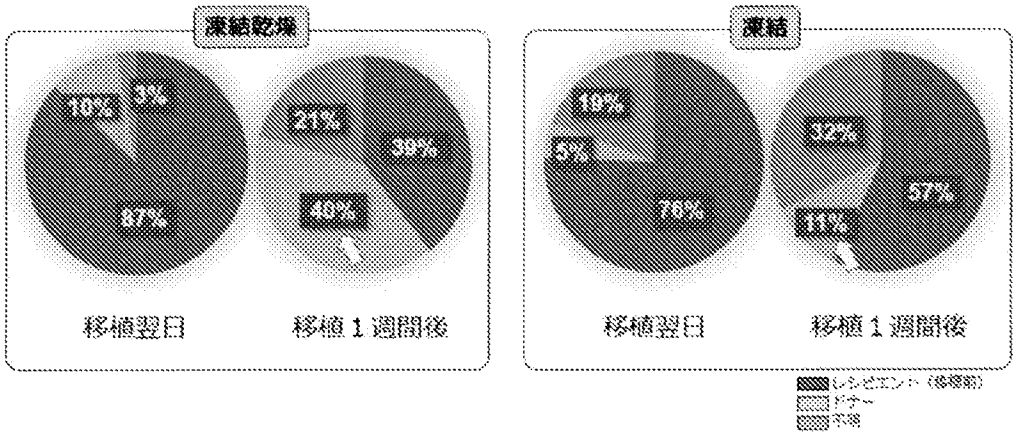
[図7]


g__Sporobacter (No.13)
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
0 0 1 7 0 0 1 7
days after FMT
Donor
Recipient
Donor
Recipient
Successful
Unsuccessful

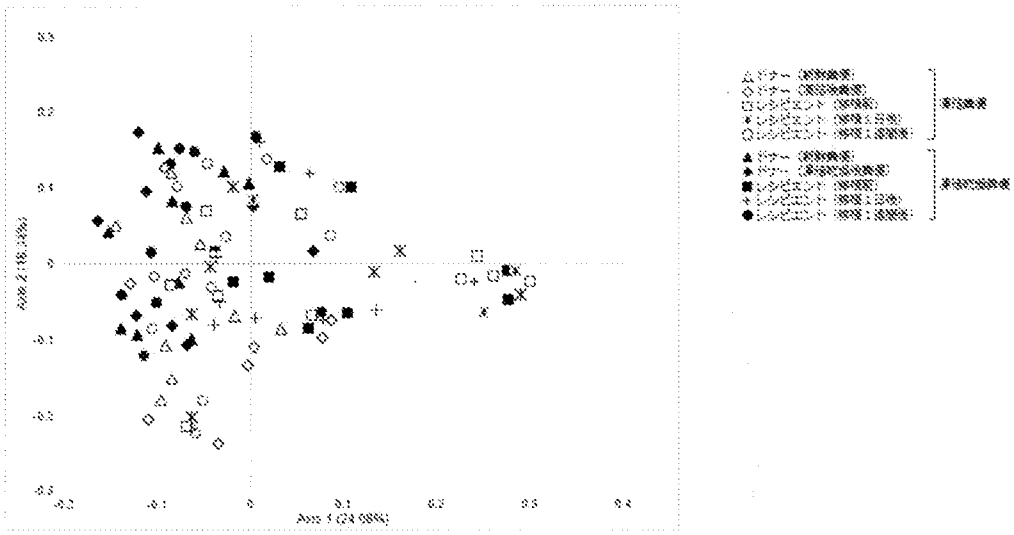
[図8]


Donor 0
Dihydroxyacetone phosphate
Glucose 6-phosphate
Glycerol 3-phosphate
Adenosine
Adenine
3-phosphoglyceric acid
Pimelic acid
m-Hydroxybenzoic acid
NAD
p-Aminobenzoic acid
AMP
7-Methylguanine
Glucose 1-phosphate
Fructose 6-phosphate
Ribulose 5-phosphate
1.8 1.9 2.0 2.1 2.2
Recipient 0
N-Methylalanine
3-phosphoglycerric acid
NAD
Fructose 6-phosphate
2-Aminoethylphosphonic acid
Ribulose 5-phosphate
Isoamylamine
3'-AMP
Pyridoxal
3-Hydroxyanthranilic acid
Sedoheptulose 7-phosphate
Dihydroxyacetone phosphate
ADP-ribose
N-Methylproline
Adenosine
1.75 1.80 1.85 1.90 1.95
Recipient 1
3'-AMP
Isoamylamine
N6-Acetyllysine
2-Phenylethylamine
Taurine
GABA
2-Aminoethylphosphonic acid
Pyridoxine
N-Methylalanine
Ala-Ala
3-Phosphoglyceric acid
Ribulose 5-phosphate
p-Hydroxyphenylacetic acid
Creatine
N1-Acetylspermidine
1.8 1.9 2.0 2.1
VIP Score
Recipient 7
Adenine
Thymine
1,3-Diaminopropane
Pyridoxal
Pyridoxine
Piperidine
2-Phenylethylamine
Isoamylamine
Glu
3'-AMP
Val
Leu
N-Methylalanine
Asn
Ectoine
1.61 92.02.12.22.32.4
VIP Score
High
Low
Unsuccessful
Successful

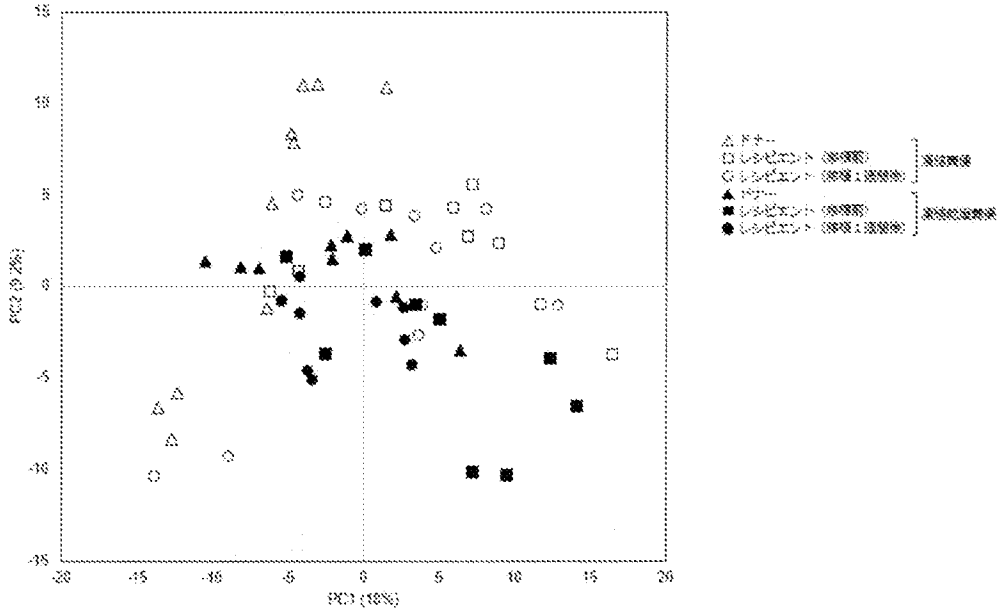
[図9]



[図10]



[図11]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2022/044458

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 35/741(2015.01)i; ***A61K 35/74***(2015.01)i; ***A61P 1/12***(2006.01)i; ***C12N 1/20***(2006.01)i
FI: A61K35/741 ZNA; A61K35/74 A; A61P1/12; C12N1/20 E

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K35/741; A61K35/74; A61P1/12; C12N1/20

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2023
Registered utility model specifications of Japan 1996-2023
Published registered utility model applications of Japan 1994-2023

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2020/150672 A2 (MARS, INCORPORATED) 23 July 2020 (2020-07-23) SEQ ID NO: 198, 33, 54	1-2, 4-5, 7-10, 12-15
A	田中秀和 ほか, 難治性下痢症子牛に対する糞便微生物移植（Fecal Microbiota Transplantation : FMT）の有効性の検討, 家畜感染症学会誌, 2020, vol. 9, no. 4, pp. 93-103, (TANAKA, Hidekazu et al. Review of effectiveness Fecal Microbiota Transplantation (FMT) in Calf with the refractory Diarrhea. The journal of farm animal in infectious disease.) abstract	1-2, 4-5, 7-10, 12-15
A	谷水優江 ほか, 子牛の難治性下痢症に対する糞便微生物移植効果の検証, 家畜診療, 01 September 2021, no. 699, pp. 497-504, (TANIMIZU, Masae et al. Verification of the effectiveness of fecal microbiota transplantation in calves with intractable diarrhea. Journal of livestock medicine.) abstract	1-2, 4-5, 7-10, 12-15
A	WO 2020/150712 A1 (MARS, INCORPORATED) 23 July 2020 (2020-07-23) SEQ ID NO: 160	1-2, 4-5, 7-10, 12-15
A	WO 2021/183701 A1 (FEDERATION BIO INC.) 16 September 2021 (2021-09-16) SEQ ID NO: 362	1-2, 4-5, 7-10, 12-15

☑ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
13 February 2023	**28 February 2023**
Name and mailing address of the ISA/JP **Japan Patent Office (ISA/JP)** **3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915** **Japan**	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2022/044458

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2020-530493 A (FINCH THERAPEUTICS, INC.) 22 October 2020 (2020-10-22) SEQ ID NO: 897	1-2, 4-5, 7-10, 12-15
A	LEO, S. et al. The intestinal microbiota predisposes to traveler's diarrhea and to the carriage of multidrug-resistant Enterobacteriaceae after traveling to tropical regions. GUT MICROBES. 2019, vol. 10, no. 5, pp. 631-641 fig. 1, p. 636, right column, first paragraph	1-2, 4-5, 7-10, 12-15
A	POP, M. et al. Individual-specific changes in the human gut microbiota after challenge with enterotoxigenic Escherichia coli and subsequent ciprofloxacin treatment. BMC Genomics. 2016, vol. 17, no. 1, 440, 11 pages p. 7, paragraphs from left column to right column	1-2, 4-5, 7-10, 12-15
P, X	杉山顕太郎　ほか, 子牛下痢症に対する糞便微生物移植(FMT)の治療効果に寄与する因子の探索, 家畜診療, 01 February 2022, no. 704, pp. 111-112, (SUGIYAMA, Kentaro et al. Journal of livestock medicine.), non-official translation (Exploration of factors contributing to the therapeutic effect of fecal microbial transplantation (FMT) for calf diarrhea) p. 112, sections "results", "reviews"	1-5, 9-15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2022/044458

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
   a. ☑ forming part of the international application as filed:
      ☑ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
      ☐ on paper or in the form of an image file.
   b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
   c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
      ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).
      ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

The “form of an Annex C/ST.25 text file” is replaced with the “form of ST.26.”

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2022/044458

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

The number of the international application set forth in claims 1-15 is 8.

(Invention 1) Invention identified by selecting bacterial classification No. 1, No. 2, No. 3, or No. 7 in claim 1, and parts referring to the invention in claim 1 among claims 2, 4-5, 7-10, and 12-15

Claim 1 is an invention in which the invention-specifying matters are expressed as options (bacterial classification Nos. 1-13).

The invention identified by selecting the first option in claim 1 has the special technical feature of a "therapeutic agent for diarrhea containing bacteria of the bacterial classification No. 1," and is thus classified as invention 1.

The inventions identified by selecting the bacterial classifications No.2, No.3 and No.7 that are the options in claim 1 are classified as invention 1 because the Prevotellaceae family of No.2, the Prevotella genus of No.3 and the Odoribacter genus of No.7 are all included in the Bacteroidia class of the bacterial classification No.1.

(Invention 2) Invention identified by selecting bacterial classification No. 4 in claim 1 and parts referring to the invention in claim 1 among claims 9-10 and 12-15
(Invention 3) Invention identified by selecting bacterial classification Nos. 5 and 10 in claim 1, parts referring to the invention in claim 1 among claims 6, 9-10 and 12-15, and invention identified by selecting bacterial classification Nos. 5 and 10 in claim 11
(Invention 4) Invention identified by selecting bacterial classification No. 6 in claim 1 and parts referring to the invention in claim 1 among claims 9-10 and 12-15
(Invention 5) Invention identified by selecting bacterial classification Nos. 8 and 9 in claim 1 and parts referring to the invention in claim 1 among claims 9-10 and 12-15
(Invention 6) Invention identified by selecting bacterial classification No. 11 in claim 1, parts referring to the invention in claim 1 among claims 9-10 and 12-15, and invention identified by selecting bacterial classification No. 11 in claim 11
(Invention 7) Invention identified by selecting bacterial classification No. 12 in claim 1, parts referring to the invention in claim 1 among claims 9-10 and 12-15, and invention identified by selecting bacterial classification No. 12 in claim 11
(Invention 8) Invention identified by selecting bacterial classification No. 13 in claim 1 and parts referring to the invention in claim 1 among claims 3, 9-10 and 12-15

The invention identified by selecting the bacterial classification No. 4 in claim 1 shares, with claim 1 classified as invention 1, the common technical feature of a "therapeutic agent for diarrhea containing bacteria." However, said technical feature does not make a contribution over the prior art in light of the disclosure of documents A-C, and thus cannot be said to be a special technical feature. Furthermore, there are no other same or corresponding special technical features between these inventions.

In addition, the invention identified by selecting the bacterial classification No. 4 in claim 1 is not dependent on claim 1. In addition, the invention identified by selecting the bacterial classification No. 4 in claim 1 is not substantially identical or equivalent to any of the claims classified as invention 1.

Therefore, the invention identified by selecting the bacterial classification No. 4 in claim 1 cannot be classified as invention 1.

In addition, the invention identified by selecting the bacterial classification No. 4 in claim 1 has the special technical feature of a "therapeutic agent for diarrhea containing bacteria of the bacterial classification No. 4," and is thus classified as invention 2.

The same also applies to inventions 4 and 6-8.

With respect to invention 3, the Selenomonas genus of the bacterial classification No. 5 is included in the Veillonellaceae family of the bacterial classification No. 10, and thus the invention identified by selecting the bacterial classification No. 5 or No. 10 in claim 1 is classified as invention 3.

With respect to invention 5, the Lactobacillus genus of the bacterial classification No. 8 is included in the Lactobacillales order of the bacterial classification No. 9, and thus the invention identified by selecting the bacterial classification No. 8 or No. 9 in claim 1 is classified as invention 5.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2022/044458

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

Document A: 田中秀和 ほか, 難治性下痢症子牛に対する糞便微生物移植（Fecal Microbiota Transplantation : FMT）の有効性の検討, 家畜感染症学会誌, 2020, vol. 9, no. 4, pp. 93-103, (TANAKA, Hidekazu et al. Review of effectiveness Fecal Microbiota Transplantation (FMT) in Calf with the refractory Diarrhea. The journal of farm animal in infectious disease.)
Document B: JP 2009-102292 A (CHIBA PREFECTURE) 14 May 2009 (2009-05-14) claims, examples, paragraph [0020] (Family: none)
Document C: JP 2014-113137 A (CALPIS CO LTD) 26 June 2014 (2014-06-26) claims, examples & US 2015/0283187 A1 claims, examples & WO 2014/077365 A1 & EP 2923704 A1 & CN 104797265 A

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☑ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: **(Invention 1) Invention identified by selecting bacterial classification No. 1, No. 2, No. 3, or No. 7 in claim 1, and parts referring to the invention in claim 1 among claims 2, 4-5, 7-10, and 12-15**

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2022/044458

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
WO 2020/150672 A2	23 July 2020	US 2022/0117265 A1 SEQ ID NO: 198, 33, 54 EP 3911170 A2 CN 114025620 A	
WO 2020/150712 A1	23 July 2020	US 2022/0119864 A1 SEQ ID NO: 160 EP 3911767 A1 CN 114072528 A	
WO 2021/183701 A1	16 September 2021	(Family: none)	
JP 2020-530493 A	22 October 2020	US 2020/0093870 A1 SEQ ID NO: 897 WO 2019/032572 A1 EP 3665181 A1 KR 10-2020-0037851 A CN 111328331 A	

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2022/044458

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

A61K 35/741(2015.01)i; A61K 35/74(2015.01)i; A61P 1/12(2006.01)i; C12N 1/20(2006.01)i
FI: A61K35/741 ZNA; A61K35/74 A; A61P1/12; C12N1/20 E

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

A61K35/741; A61K35/74; A61P1/12; C12N1/20

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２０２３年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０２３年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０２３年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー*	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
A	WO 2020/150672 A2 (MARS, INCORPORATED) 23.07.2020 (2020-07-23) 配列番号 198, 33, 54	1-2, 4-5, 7-10, 12-15
A	田中秀和　ほか，難治性下痢症子牛に対する糞便微生物移植（Fecal Microbiota Transplantation : FMT）の有効性の検討，家畜感染症学会誌，2020，Vol. 9，No. 4，pp. 93-103 要約	1-2, 4-5, 7-10, 12-15
A	谷水優江　ほか，子牛の難治性下痢症に対する糞便微生物移植効果の検証，家畜診療，2021.09.01，No. 699，pp. 497-504 要約	1-2, 4-5, 7-10, 12-15
A	WO 2020/150712 A1 (MARS, INCORPORATED) 23.07.2020 (2020-07-23) 配列番号１６０	1-2, 4-5, 7-10, 12-15
A	WO 2021/183701 A1 (FEDERATION BIO INC.) 16.09.2021 (2021-09-16) 配列番号３６２	1-2, 4-5, 7-10, 12-15
A	JP 2020-530493 A（フィンチ セラピューティクス、インコーポレイテッド．）22.10.2020 (2020-10-22) 配列番号８９７	1-2, 4-5, 7-10, 12-15

☑ Ｃ欄の続きにも文献が列挙されている。

☑ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー
“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
“&” 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
13.02.2023	28.02.2023

名称及びあて先
日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

権限のある職員（特許庁審査官）
原口　美和 4U 3844

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C.　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー*	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
A	LEO, S. et al., The intestinal microbiota predisposes to traveler's diarrhea and to the carriage of multidrug-resistant Enterobacteriaceae after traveling to tropical regions, GUT MICROBES, 2019, Vol. 10, No. 5, pp. 631-641 図１、第６３６頁右欄第１段落	1-2, 4-5, 7-10, 12-15
A	POP, M. et al., Individual-specific changes in the human gut microbiota after challenge with enterotoxigenic Escherichia coli and subsequent ciprofloxacin treatment, BMC Genomics, 2016, Vol. 17, No. 1, 440, 11 pages 第７頁左欄から右欄にわたる段落	1-2, 4-5, 7-10, 12-15
P, X	杉山顕太郎　ほか，子牛下痢症に対する糞便微生物移植(FMT)の治療効果に寄与する因子の探索，家畜診療，2022.02.01, No. 704, pp. 111-112 第１１２頁の「成績」及び「考察」の項	1-5, 9-15

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2022/044458

第Ⅰ欄　　ヌクレオチド又はアミノ酸配列（第１ページの１．ｃの続き）

1. この国際出願で開示されたヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下の配列表に基づき国際調査を行った。

a. ☑ 出願時における国際出願の一部を構成する配列表
　☑ 附属書C/ST.25テキストファイル形式
　☐ 紙形式又はイメージファイル形式

b. ☐ 国際出願とともに、ＰＣＴ規則13の3.1(a)に基づき国際調査のためにのみ提出された、附属書C/ST.25テキストファイル形式の配列表

c. ☐ 国際出願日後に、国際調査のためにのみ提出された配列表
　☐ 附属書C/ST.25テキストファイル形式(ＰＣＴ規則13の3.1(a))
　☐ 紙形式又はイメージファイル形式（ＰＣＴ規則13の3.1(b)及びＰＣＴ実施細則第713号）

2. ☐ さらに、複数の版の配列表又は配列表の写しが提出され、変更後の配列表又は追加の写しに記載された情報が、出願時における配列表と同一である旨、又は出願時における国際出願の開示の範囲を超えない旨の陳述書の提出があった。

3. 補足意見:

上記「附属書 C/ST.25 テキストファイル形式」は「ST.26 形式」と読み替える。

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2022/044458

第Ⅲ欄　　発明の単一性が欠如しているときの意見（第１ページの３の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

請求項１－１５に記載されている国際出願の数は、８である。

（発明１）請求項１の細菌分類Ｎｏ．１、Ｎｏ．２、Ｎｏ．３又はＮｏ．７を選択して把握される発明、及び、請求項２、４－５、７－１０、１２－１５のうち請求項１の前記発明を引用する部分

請求項１は、発明特定事項が選択肢（細菌分類Ｎｏ．１～１３）で表現された発明である。
請求項１の最初の選択肢を選択して把握される発明は、[細菌分類Ｎｏ．１の細菌を含む下痢治療剤。]という特別な技術的特徴を有しているので、発明１に区分する。
請求項１の選択肢である細菌分類Ｎｏ．２、Ｎｏ．３、Ｎｏ．７を選択して把握される発明について、Ｎｏ．２のＰｒｅｖｏｔｅｌｌａｃｅａｅ科、Ｎｏ．３のＰｒｅｖｏｔｅｌｌａ属、Ｎｏ．７のＯｄｏｒｉｂａｃｔｅｒ属は、いずれも細菌分類Ｎｏ．１のＢａｃｔｅｒｏｉｄｉａ綱に含まれるので、発明１に区分する。

（発明２）請求項１の細菌分類Ｎｏ．４を選択して把握される発明、及び、請求項９－１０、１２－１５のうち請求項１の前記発明を引用する部分
（発明３）請求項１の細菌分類Ｎｏ．５、Ｎｏ．１０を選択して把握される発明、請求項６、９－１０、１２－１５のうち請求項１の前記発明を引用する部分、及び、請求項１１の細菌分類Ｎｏ．５、Ｎｏ．１０を選択して把握される発明
（発明４）請求項１の細菌分類Ｎｏ．６を選択して把握される発明、及び、請求項９－１０、１２－１５のうち請求項１の前記発明を引用する部分
（発明５）請求項１の細菌分類Ｎｏ．８、Ｎｏ．９を選択して把握される発明、及び、請求項９－１０、１２－１５のうち請求項１の前記発明を引用する部分
（発明６）請求項１の細菌分類Ｎｏ．１１を選択して把握される発明、請求項９－１０、１２－１５のうち請求項１の前記発明を引用する部分、及び、請求項１１の細菌分類Ｎｏ．１１を選択して把握される発明
（発明７）請求項１の細菌分類Ｎｏ．１２を選択して把握される発明、請求項９－１０、１２－１５のうち請求項１の前記発明を引用する部分、及び、請求項１１の細菌分類Ｎｏ．１２を選択して把握される発明
（発明８）請求項１の細菌分類Ｎｏ．１３を選択して把握される発明、及び、請求項３、９－１０、１２－１５のうち請求項１の前記発明を引用する部分

請求項１の細菌分類Ｎｏ．４を選択して把握される発明は、発明１に区分された請求項１と、[細菌を含む下痢治療剤。]という共通の技術的特徴を有している。しかしながら、当該技術的特徴は、文献Ａ－文献Ｃの開示内容に照らして、先行技術に対する貢献をもたらすものではないから、当該技術的特徴は、特別な技術的特徴であるとはいえない。また、これらの発明の間には、他に同一の又は対応する特別な技術的特徴は存在しない。
さらに、請求項１の細菌分類Ｎｏ．４を選択して把握される発明は、請求項１の従属請求項ではない。また、請求項１の細菌分類Ｎｏ．４を選択して把握される発明は、発明１に区分されたいずれの請求項に対しても実質同一又はそれに準ずる関係にはない。
したがって、請求項１の細菌分類Ｎｏ．４を選択して把握される発明は発明１に区分できない。
そして、請求項１の細菌分類Ｎｏ．４を選択して把握される発明は、[細菌分類Ｎｏ．４の細菌を含む下痢治療剤。]という特別な技術的特徴を有しているので、発明２に区分する。

発明４、発明６－８についても同様である。

発明３について、細菌分類Ｎｏ．５のＳｅｌｅｎｏｍｏｎａｓ属は、細菌分類Ｎｏ．１０のＶｅｉｌｌｏｎｅｌｌａｃｅａｅ科に含まれるものであるから、請求項１の細菌分類Ｎｏ．５又はＮｏ．１０を選択して把握される発明を発明３に区分する。

発明５について、細菌分類Ｎｏ．８のＬａｃｔｏｂａｃｉｌｌｕｓ属は、細菌分類Ｎｏ．９のＬａｃｔｏｂａｃｉｌｌａｌｅｓ目に含まれるものであるから、請求項１の細菌分類Ｎｏ．８又はＮｏ．９を選択して把握される発明を発明５に区分する。

文献Ａ：田中秀和　ほか,難治性下痢症子牛に対する糞便微生物移植（Fecal Microbiota Transplantation : FMT）の有効性の検討,家畜感染症学会誌, 2020, Vol. 9, No. 4, pp. 93-103

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2022/044458

第Ⅲ欄　　発明の単一性が欠如しているときの意見（第１ページの３の続き）

文献Ｂ：JP 2009-102292 A（千葉県）14.05.2009(2009-05-14) 特許請求の範囲、実施例、 [0020]（ファミリーなし）
文献Ｃ：JP 2014-113137 A（カルピス株式会社）26.06.2014(2014-06-26) 特許請求の範囲、実施例& US 2015/0283187 A1 Claims, Examples & WO 2014/077365 A1 & EP 2923704 A1& CN 104797265 A

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。

2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。

3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。

4. ☑ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。（発明１）請求項１の細菌分類Ｎｏ．１、Ｎｏ．２、Ｎｏ．３又はＮｏ．７を選択して把握される発明、及び、請求項２、４－５、７－１０、１２－１５のうち請求項１の前記発明を引用する部分

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

☐ 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。

☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。

☐ 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号
PCT/JP2022/044458

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
WO 2020/150672 A2	23.07.2020	US 2022/0117265 A1 配列番号 198, 33, 54 EP 3911170 A2 CN 114025620 A	
WO 2020/150712 A1	23.07.2020	US 2022/0119864 A1 配列番号１６０ EP 3911767 A1 CN 114072528 A	
WO 2021/183701 A1	16.09.2021	（ファミリーなし）	
JP 2020-530493 A	22.10.2020	US 2020/0093870 A1 配列番号８９７ WO 2019/032572 A1 EP 3665181 A1 KR 10-2020-0037851 A CN 111328331 A	