

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2021-512855

(P2021-512855A)

(43) 公表日 令和3年5月20日(2021.5.20)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 35/747 (2015.01)</b>	A 6 1 K 35/747	2 B 0 0 5
<b>A 6 1 P 1/04 (2006.01)</b>	A 6 1 P 1/04	2 B 1 5 0
<b>A 6 1 P 13/02 (2006.01)</b>	A 6 1 P 13/02	4 C 0 7 6
<b>A 6 1 P 43/00 (2006.01)</b>	A 6 1 P 43/00 1 7 1	4 C 0 8 7
<b>A 6 1 K 9/14 (2006.01)</b>	A 6 1 K 9/14	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 30 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2020-540482 (P2020-540482)  
 (86) (22) 出願日 平成31年2月5日 (2019.2.5)  
 (85) 翻訳文提出日 令和2年7月21日 (2020.7.21)  
 (86) 国際出願番号 PCT/FI2019/050080  
 (87) 国際公開番号 WO2019/150004  
 (87) 国際公開日 令和1年8月8日 (2019.8.8)  
 (31) 優先権主張番号 20185099  
 (32) 優先日 平成30年2月5日 (2018.2.5)  
 (33) 優先権主張国・地域又は機関  
 フィンランド (FI)

(71) 出願人 517161083  
 ヴェットケアー オイ  
 フィンランド, 2 4 1 0 1 サロ, ピ  
 ー. オー. ボックス 99  
 (74) 代理人 100103816  
 弁理士 風早 信昭  
 (74) 代理人 100120927  
 弁理士 浅野 典子  
 (72) 発明者 ビーズリー, シーア  
 フィンランド, 0 3 2 5 0 オハッカラ  
 , イモランティエ 1 0  
 (72) 発明者 ヤルヴェンパー, エイラ  
 フィンランド, 2 1 4 2 0 リエト,  
 アンナンクヤ 2

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ラクトバシラスを含む健康に有益な組成物及びその調製方法

(57) 【要約】

本発明は、イヌの胃腸及び尿管疾患を治療及び予防するための健康に有益な組成物に関する。本発明はさらに、健康促進組成物の製造方法、ドッグフード、及びイヌの胃腸及び尿管疾患を治療及び予防するための医薬製品又はドッグフード製品の製造のための健康に有益な調製物の使用にも関する。

【選択図】 なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

40～80重量%の調製物Aと20～60重量%の調製物Bを含む組成物であって、前記調製物Aが、凍結乾燥された乳酸菌のイヌ特異的な菌株と少なくとも一種のカルシウム源を含み、前記菌株のうちの少なくとも二種が、ラクトバシラス(Lactobacillus)属に属し、前記カルシウム源が、CaCO<sub>3</sub>として表わすと調製物Aの乾燥重量の20～99重量%の量であり、前記調製物Bが、ビルベリーのベリーの粉末、アロニア属の植物のベリーの粉末、クロスグリのベリーの粉末、クロマメノキのベリーの粉末、ガンコウランのベリーの粉末、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるベリー粉末を10～60重量%、クランベリーのベリーの粉末、赤ブドウのベリーの粉末、コケモモのベリーの粉末、ラズベリーのベリーの粉末、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるベリー粉末を10～60重量%、シーバックソンのベリーの粉末、ザイフリボクのベリーの粉末、クラウドベリーのベリーの粉末、ホッキョクキイチゴ(arctic bramble)のベリーの粉末、ナナカマド属の植物のベリーの粉末、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるベリー粉末を10～30重量%含むことを特徴とする組成物。

10

## 【請求項 2】

組成物が、45～75重量%の調製物Aと25～55重量%の調製物Bを含むことを特徴とする、請求項1に記載の組成物。

## 【請求項 3】

組成物が、50～70重量%の調製物Aと30～50重量%の調製物Bを含むことを特徴とする、請求項1又は2に記載の組成物。

20

## 【請求項 4】

調製物Bが、10～60重量%のビルベリーのベリーの粉末、10～60重量%のクランベリーのベリーの粉末、及び10～30重量%のシーバックソンのベリーの粉末を含むことを特徴とする、請求項1～3のいずれかに記載の組成物。

## 【請求項 5】

組成物が、0.5～10重量%、好ましくは0.5～5重量%の緑茶粉末を含むことを特徴とする、請求項1～4のいずれかに記載の組成物。

## 【請求項 6】

乳酸菌のイヌ特異的な菌株のそれぞれの量が、 $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^{10}$  cfu/gであることを特徴とする、請求項1～5のいずれかに記載の組成物。

30

## 【請求項 7】

乳酸菌のイヌ特異的な菌株のそれぞれの量が、 $5 \times 10^8 \sim 2.5 \times 10^9$  cfu/gであることを特徴とする、請求項1～6のいずれかに記載の組成物。

## 【請求項 8】

カルシウム源の量が、CaCO<sub>3</sub>として表わすと調製物Aの乾燥重量の40～95重量%であることを特徴とする、請求項1～7のいずれかに記載の組成物。

## 【請求項 9】

組成物が、組成物の乾燥重量の0.5～50重量%、好ましくは0.5～20重量%の量でプレバイオティックを含むことを特徴とする、請求項1～8のいずれかに記載の組成物。

40

## 【請求項 10】

組成物が、ラクトバシラス・フェルメンタム(Lactobacillus fermentum)、ラクトバシラス・プランタルム(Lactobacillus plantarum)、ラクトバシラス・ラムノサス(Lactobacillus rhamnosus)、ラクトバシラス・サリヴァリウス(Lactobacillus salivarius)、及びラクトバシラス・ムコサエ(Lactobacillus mucosae)からなる群から選択される、ラクトバシラス属に属する乳酸菌のイヌ特異的な菌株を2種～5種含むことを特徴とする、請求項1～9のいずれかに記載の組成物。

50

## 【請求項 1 1】

前記ラクトバシラス属に属する乳酸菌のイヌ特異的な菌株が、ラクトバシラス・フェルメンタム NCIMB 41636 及びラクトバシラス・プランタルム NCIMB 41638 であることを特徴とする、請求項 1 ~ 10 のいずれかに記載の組成物。

## 【請求項 1 2】

前記ラクトバシラス属に属する乳酸菌のイヌ特異的な菌株が、ラクトバシラス・フェルメンタム NCIMB 41636、ラクトバシラス・プランタルム NCIMB 41638、及びラクトバシラス・ラムノサス NCIMB 41640 であることを特徴とする、請求項 1 ~ 11 のいずれかに記載の組成物。

## 【請求項 1 3】

カルシウム源が、炭酸カルシウム、アスコルビン酸カルシウム、アルギン酸カルシウム、カルシウムステアロイル - 2 - ラクチレート、ソルビン酸カルシウム、ギ酸カルシウム、酢酸カルシウム、プロピオン酸カルシウム、乳酸カルシウム、クエン酸カルシウム、ステアリン酸カルシウム、合成ケイ酸カルシウム、カルシウムテトラヒドロゲン - ジオルトホスフェート、カルシウムヒドロゲン - オルトホスフェート、水酸化カルシウム、酸化カルシウム、ニリン酸ジカルシウム、グルコン酸カルシウム、亜硫酸カルシウム、カルシウムヒドロゲンスルファイト、カルシウムアルミニウムシリケート、ジグルコン酸カルシウム、グアニル酸カルシウム、イノシン酸カルシウム、カルシウム - 5 - リボヌクレオチド、マレイン酸カルシウム、酒石酸カルシウム、カルシウムジナトリウム EDTA、モノ及びジ - カルシウムジホスフェート、(ナトリウム)カルシウムポリホスフェート、塩化カルシウム、フェロシアンカルシウム、オルトリン酸カルシウム、又はこれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする、請求項 1 ~ 12 のいずれかに記載の組成物。

## 【請求項 1 4】

ビルベリーが、ヴァクシニウム・ミルティラス L. (*Vaccinium myrtillus* L.)、ヴァクシニラム・ウリジノサム L. (*Vaccinium uliginosum* L.)、ヴァクシニラム・カエスピトサム Michx. (*Vaccinium caespitosum* Michx.)、ヴァクシニラム・デリシオサム Piper (*Vaccinium deliciosum* Piper)、ヴァクシニラム・メンブランセウム (*Vaccinium membranaceum*)、及びヴァクシニラム・オヴァリフォリウム (*Vaccinium ovalifolium*) からなる群の種から選択され、好ましくはヴァクシニウム・ミルティラスが使用されていることを特徴とする、請求項 1 ~ 13 のいずれかに記載の組成物。

## 【請求項 1 5】

クランベリーが、ヴァクシニウム・エリスロカルパム (*Vaccinium erythrocarpum*)、ヴァクシニウム・マクロカルパム (*Vaccinium macrocarpum*)、ヴァクシニウム・ミクロカルパム (*Vaccinium microcarpum*)、及びヴァクシニウム・オキシココス (*Vaccinium oxycoccos*) からなる群の種から選択され、好ましくは、ヴァクシニウム・オキシココスが使用されていることを特徴とする、請求項 1 ~ 14 のいずれかに記載の組成物。

## 【請求項 1 6】

シーバックソーンが、ヒッポファエ・ゴニオカルパ (*Hippophae gonio carpae*)、ヒッポファエ・ジャイアントセンシス (*Hippophae gyantensis*)、ヒッポファエ・リタンゲンシス (*Hippophae litangensis*)、ヒッポファエ・ニューロカルパ (*Hippophae neurocarpae*)、ヒッポファエ・ラムノイデス (*Hippophae rhamnoides*)、ヒッポファエ・サリシフォリア (*Hippophae salicifolia*)、及びヒッポファエ・チベターナ (*Hippophae tibetana*) からなる群の種から選択され、好ましくはヒッポファエ・ラムノイデスが使用されていることを特徴とする、請求項 1 ~ 15 のいずれかに記載の組成物。

10

20

30

40

50

## 【請求項 17】

前記少なくとも一種のプレバイオティックが、ダイズ粉；オオバコ種子、イナゴマメのさや、アラビアゴム、グアーゴム、カワラケツメイ属の植物、タマリンドの仁、カラヤゴム、トラガカントゴム、キサンタンゴム、ゲランゴム、タラゴム；ベータグルカン、及びその加水分解物；エンバクのオリゴ糖；タガロースなどの単糖、及びその誘導体；ラクトース、ラクツロース、トレハロース、メリビオース、セロビオース、ラフィノース、スタチオース、イソマルトース、イソマルツロースなどの二糖、及びそれらの誘導体；フラクトオリゴ糖、グルコオリゴ糖、ガラクトオリゴ糖、キシロオリゴ糖、ゲンチオオリゴ糖、マルトオリゴ糖、イソマルトオリゴ糖、キトオリゴ糖、マンノオリゴ糖、及びそれらの誘導体；アラビノガラクトタン、ガラクトマンナン、ペクチン、リグニン、ダイズのヘミセルロース、キシラン、プルラン、イヌリン、クズウコン、カンゾウの根、テンサイのバルブ、タピオカ、トウモロコシ、オオムギ、エンバクの抵抗性デンプンなどの多糖及びオリゴ糖、及びそれらの誘導体；マルトデキストリン、シクロデキストリンなどのデキストリン、及びそれらの誘導体；加工されたユーケウマ海草、トチャカ；及びそれらのいかなる組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする、請求項 1～16 のいずれかに記載の組成物。

10

## 【請求項 18】

組成物が、少なくとも一種の賦形剤（好ましくは、二酸化ケイ素、コロイド状の二酸化ケイ素、ケイ酸カルシウム、ケイ酸マグネシウム、三ケイ酸マグネシウム、タルク、ナトリウムアルミニウムシリケート、カリウムアルミニウムシリケート、カルシウムアルミニウムシリケート、ベントナイト、ケイ酸アルミニウム、ステアリン酸マグネシウム）、香料、又は着色剤を含むことを特徴とする、請求項 1～17 のいずれかに記載の組成物。

20

## 【請求項 19】

組成物が、乾燥粉末、顆粒、丸薬、錠剤、カプセル、トローチ剤、水又は他の好適な担体による再構築のための乾燥製品、水性又は油性の溶液又は懸濁液、ゲル、ペースト、エマルジョン、又はシロップの形態であることを特徴とする、請求項 1～18 のいずれかに記載の組成物。

## 【請求項 20】

イヌ用の可食性製品であって、前記製品が、請求項 1～19 のいずれかの組成物を含み、かつドッグフード、特別なドッグフード製品、新鮮な食品、ソーセージ、冷凍食品、乾燥食品ベレット、粗びきの穀物、厚切り、缶詰め食品、シチュー、プレミックス、風味ソース、ビスケット、チューイングスナック、トリーツ、子イヌ用ミルクの代替品、又は発酵製品の中に処方されることを特徴とする可食性製品。

30

## 【請求項 21】

請求項 1～17 のいずれかに記載の組成物の製造方法であって、前記方法が、ラクトバシラス（*Lactobacillus*）属に属する乳酸菌のイヌ特異的な少なくとも二種の菌株を別々に又は一緒に培養して、得られた培養物を凍結乾燥し、得られた培養物と、 $\text{CaCO}_3$  として表わすと調製物 A の乾燥重量の 20～99 重量%の量で存在するカルシウム源と、所望により追加の乳酸菌のイヌ特異的な菌株とを加工して、均質な調製物 A とすることによって、調製物 A を製造する工程、及び

40

40～80 重量%の調製物 A と 20～60 重量%の調製物 B を混合して、組成物を得る工程

を含み、前記調製物 B が、ビルベリーのベリーの粉末、アロニア属の植物のベリーの粉末、クロスグリのベリーの粉末、クロマメノキのベリーの粉末、ガンコウランのベリーの粉末、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるベリー粉末を 10～60 重量%、クランベリーのベリーの粉末、赤ブドウのベリーの粉末、コケモモのベリーの粉末、ラズベリーのベリーの粉末、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるベリー粉末を 10～60 重量%、シーバックソーンのベリーの粉末、ザイフリボクのベリーの粉末、クラウドベリーのベリーの粉末、ホッキョクキイチゴ（*arctic bramble*）のベリーの粉末、ナナカマド属の植物のベリーの粉末、及びこれらの組み合わせからなる群

50

から選択されるベリー粉末を10～30重量%含むことを特徴とする方法。

【請求項22】

調製物Bが、10～60重量%のビルベリーのベリーの粉末、10～60重量%のクランベリーのベリーの粉末、及び10～30重量%のシーバックソーンのベリーの粉末を含むことを特徴とする、請求項21に記載の方法。

【請求項23】

0.5～10重量%、好ましくは0.5～5重量%の緑茶粉末が組成物中に混合されることを特徴とする、請求項21又は22に記載の方法。

【請求項24】

調製物Aと調製物Bが、少なくとも一種の賦形剤（好ましくは、二酸化ケイ素、コロイド状の二酸化ケイ素、ケイ酸カルシウム、ケイ酸マグネシウム、三ケイ酸マグネシウム、タルク、ナトリウムアルミニウムシリケート、カリウムアルミニウムシリケート、カルシウムアルミニウムシリケート、ベントナイト、ケイ酸アルミニウム、ステアリン酸マグネシウム）、香料、又は着色剤と混合されることを特徴とする、請求項21～23のいずれかに記載の方法。

10

【請求項25】

ビルベリーが、ヴァクシニウム・ミルティラス *L.* (*Vaccinium myrtillus L.*)、ヴァクシニラム・ウリジノサム *L.* (*Vaccinium uliginosum L.*)、ヴァクシニラム・カエスピトサム *Michx.* (*Vaccinium caespitosum Michx.*)、ヴァクシニラム・デリシオサム *Piper* (*Vaccinium deliciosum Piper*)、ヴァクシニラム・メンブранаセウム (*Vaccinium membranaceum*)、及びヴァクシニラム・オヴァリフォリウム (*Vaccinium ovalifolium*) からなる群の種から選択され、好ましくはヴァクシニウム・ミルティラスが使用されていることを特徴とする、請求項21～24のいずれかに記載の方法。

20

【請求項26】

クランベリーが、ヴァクシニウム・エリスロカルパム (*Vaccinium erythrocarpum*)、ヴァクシニウム・マクロカルパム (*Vaccinium macrocarpum*)、ヴァクシニウム・ミクロカルパム (*Vaccinium microcarpum*)、及びヴァクシニウム・オキシココス (*Vaccinium oxycoccos*) からなる群の種から選択され、好ましくは、ヴァクシニウム・オキシココスが使用されていることを特徴とする、請求項21～25のいずれかに記載の方法。

30

【請求項27】

シーバックソーンが、ヒッポファエ・ゴニオカルパ (*Hippophae gonio carpae*)、ヒッポファエ・ジャイアントセンシス (*Hippophae gyantensis*)、ヒッポファエ・リタンゲンシス (*Hippophae litangensis*)、ヒッポファエ・ニューロカルパ (*Hippophae neurocarpa*)、ヒッポファエ・ラムノイデス (*Hippophae rhamnoides*)、ヒッポファエ・サリシフォリア (*Hippophae salicifolia*)、及びヒッポファエ・チベターナ (*Hippophae tibetana*) からなる群の種から選択され、好ましくはヒッポファエ・ラムノイデスが使用されていることを特徴とする、請求項21～26のいずれかに記載の方法。

40

【請求項28】

組成物を、粉末、顆粒、丸薬、錠剤、カプセル、トローチ剤、水又は他の好適な担体による再構築のための乾燥製品、水性又は油性の溶液又は懸濁液、ゲル、ペースト、エマルション、又はシロップの形態の経口処方中に、又はドッグフード、特別なドッグフード製品、新鮮な食品、ソーセージ、冷凍食品、乾燥食品ペレット、粗びきの穀物、厚切り、缶詰め食品、シチュー、プレミックス、風味ソース、ビスケット、チューイングスナック、トリーツ、子イヌ用ミルクの代替品、及び発酵製品からなる群から選択されるイヌ用の可食性製品の中に処方する工程をさらに含むことを特徴とする、請求項21～27のいずれ

50

かに記載の方法。

【請求項 29】

イヌの胃腸及び尿管疾患を予防又は治療するための医薬製品又はドッグフード製品を製造するための、請求項 1 ~ 19 のいずれかに記載の健康促進組成物の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、特にイヌにおける胃腸疾患を予防及び / 又は治療するための、及び / 又は胃腸を介して尿管微生物群を改変するための健康に有益な組成物に関する。さらに、本発明は、前記組成物の製造方法、前記組成物を含む製品、及びイヌのための医薬品及び可食性製品の製造のための前記組成物の使用に関する。

10

【背景技術】

【0002】

健康に有益な乳酸菌は、イヌなどの動物の胃腸管における有益な細菌と有害な細菌のバランスを強化するために幅広く使用されている。また、プロバイオティック乳酸菌を含むペットフードは、ネコ及び / 又はイヌの胃腸管及び皮膚及び / 又は外被系の健康を改善すること、及び老化の影響を緩和するか又は低減することが示唆されている。

【0003】

胃腸管及び尿管の疾患は、イヌにおいて極めて一般的である。イヌの胃腸の問題の治療に対する従来のアプローチは、食餌の改善、抗生物質治療、及び特定の抗炎症及び免疫抑制薬に依存している。これらは、単独で又は組み合わせて使用される。イヌの胃腸管及び尿管疾患の多くは、たとえ診断が確実でないか、仮にあったとしても、抗生物質で治療される。この治療は、何回かの更新を伴う数週間の抗生物質治療すら含む。抗生物質に対する抵抗性を有する微生物の問題が増大しているため、プロバイオティック細菌、特に乳酸菌を使用した治療を含む代替治療が、それらの健康に寄与する特性のために示唆されている。

20

【0004】

プロバイオティック乳酸菌の不消化は、GI管の調節、病原性微生物に対する対抗作用、GI及び尿管の微生物群の調節、及び腸の粘膜バリアの維持などの多くの利点を有する。

30

【0005】

Beasley S. ら, (Lactic acid bacteria isolated from canine faeces, Journal of Applied Microbiology, 101 (2006) 131 - 138) は、健康なイヌの糞便からの乳酸菌の単離及び配列決定を開示する。Lactobacillus fermentum, L. mucosae, L. rhamnosus, L. salivarius 及び Weissella confusa の五つの菌株が、イヌの糞便におけるそれらの頻度及び量、増殖密度、酸耐性、及び抗微生物活性に基づいて、候補プロバイオティックとして選択された。

【0006】

Beasley らの研究は、Manninen T. ら (Alteration of the Canine Small-Intestinal Lactic Acid Bacterium Microbiota by Feeding of Potential Probiotics, Applied and Environmental Microbiology, Oct. 2006, p. 6539 - 6543) によって継続され、イヌの空腸キームスに対する上述の5種の候補乳酸菌のプロバイオティック菌株のインビトロ耐性が試験された。これらの菌株は、ドッグフードと混合されて、1日2回を7日間にわたって、永久的に瘻形成されたビーグル犬に供給された。これらの菌株は、供給中、生存しており、かつ空腸キームスの乳酸菌微生物群において優勢であり、腸微生物群を改変する能力を有することが見出された。

40

50

## 【0007】

プロバイオティックの使用に加えて、イヌの胃腸の微生物群を改変するための他のアプローチも開示されている。イヌリンや様々なフルクトオリゴ糖などのオリゴ糖は、胃腸管におけるビフィズス菌及び乳酸菌の増殖に有用であり、*Clostridium perfringens*などの病原性細菌の増殖を減少させることが報告されている。EP0850569B1は、ペットフードとして有用なシリアル製品を開示する。このシリアル製品は、イヌリンの形のプレバイオティックオリゴ糖、及び所望によりプレバイオティックフルクトオリゴ糖を含むゼラチン化されたデンプンマトリックスを含む。このシリアル製品は、ペットの胃腸管において有益な効果を有するとされている。イヌに供給されると、味を改善し、ビフィズス菌の数を増大させ、*C. perfringens*の数を減少させ、糞便のpH及び量を低下させることが報告されている。

10

## 【0008】

他の潜在的に有益な物質と組み合わせられたプロバイオティックも開示されている。WO2007/076534は、所望により一種以上のプロバイオティック及びプレバイオティックと組み合わせられた少なくとも一種の抗酸化剤（ビタミンE、ビタミンC及び/又はβ-カロチンなど）を含む組成物を開示する。好適なプロバイオティックとして、*Bifidobacterium*及び*Lactobacillus*のいくつかの種が例示されており、好適なプレバイオティックとして、オリゴ糖、ガラクトン、及びβ-グルカンが例示されている。この組成物は、炎症性腸疾患の危険性を有する動物の胃腸管における有益な細菌と有害な細菌のバランスを強化するために有用であると述べられており、前記動物には、ヒト、並びにトリ、ウシ、イヌ、ウマ、ネコ、ヤギ、ネズミ、ヒツジ、及びブタが含まれる。

20

## 【0009】

US2005/0175598A1は、哺乳動物（好ましくは、コンパニオンアニマルにおけるイヌ）の一部切除されて洗浄されたGI管からの単離によって得られるプロバイオティックビフィズス菌の使用方法を開示する。この方法は、免疫系の治療、体重及び身体組成のコントロール、尿の健康、皮膚及び外被の疾患、及び老化の治療を含む。前記プロバイオティックは、経口的に、生きたままで、又は生きていない形態で投与されることができ、例えば、粗びきの穀物、及びウェットタイプの動物フードなどの通常の食餌摂取用の組成物へと調製されることができ、又はビスケット、チューイングスナック、トリーツ、粉末、懸濁液、カプセルなどのサプリメントとして使用されることができる。追加の成分として、組成物は、タンパク質、脂肪、炭水化物、プレバイオティック、長鎖脂肪酸、及び亜鉛を含むことができる。プレバイオティックの例は、オリゴ糖、フラクトオリゴ糖、ガラクトオリゴ糖、キシロオリゴ糖、及びデンプンのオリゴ誘導体を含む。

30

## 【0010】

EP1290136B1は、以下の乳酸菌の六つのプロバイオティック菌株を開示する：ネコの*Lactobacillus reuteri* NCC2581, *Lactobacillus reuteri* NCC2592及び*Lactobacillus rhamnosus* NCC2583、及びイヌの*Lactobacillus reuteri* NCC2603, *Lactobacillus reuteri* NCC2613、及び*Lactobacillus acidophilus* NCC2628。また、ドッグフード又はキャットフード組成物中に選択された菌株を組み入れる追加の工程を含むドッグフード又はキャットフード組成物の調製方法も開示されている。好適な細菌種として、*Lactobacillus reuteri*, *L. acidophilus*, *L. animalis*, *L. ruminis*, *L. johnsonii*, *L. casei*, *L. paracasei*, *L. rhamnosus*, *L. fermentum*, *Bifidobacterium* sp., *Enterococcus faecium*、及び*Enterococcus* sp.が例示されている。このペットフードは、ネコ及び/又はイヌの胃腸管及び皮膚及び/又は外被系の健康を改善すること、及び老化の影響を緩和するか又は低減することが意図されている。このペットフードは、細菌種及び/又はそ

40

50

の発酵培地に加えてデンプン源、タンパク質源、及び脂肪源、及びプレバイオティック炭水化物を乾燥ペットフードの重量の約20%未満の量で、並びにペットフードを栄養学的に完全な製品にするためのサプリメントとしての長鎖脂肪酸、ミネラル、及びビタミンを含むことができる。

【0011】

プロバイオティック製品は、通常、安定性が制限されている。そのため、所望の効果が、低減したり、失われたりすることすらある。

【0012】

この技術分野における最近の発展にもかかわらず、改良されたイヌ特異的な健康に有益な組成物であって、幅広いスペクトルのイヌの胃腸及び尿管疾患、及びこれらの疾患から生じる二次的な症状を予防及び治療するために使用されることができ、抗生物質の使用が回避されることすらできる組成物に対する必要性がなおも存在することは明らかである。

10

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0013】

本発明の目的は、特にイヌにおける胃腸疾患及び尿管感染を予防及び/又は治療するための組成物を提供することである。

【0014】

本発明の別の目的は、イヌの胃腸及び尿管の微生物群を健康で安定な微生物群へと調節するための組成物を提供することである。

20

【0015】

本発明のさらに別の目的は、前記組成物の製造方法を提供することである。

【0016】

本発明のさらに別の目的は、イヌのための医薬品及び可食性製品の製造のための前記組成物の使用を提供することである。

【0017】

本発明のさらに別の目的は、前記組成物を含むイヌのための医薬品及び可食性製品の製造方法を提供することである。

【0018】

本発明の組成物の利点は、特に組成物の改善された安定性及び効力において見られることができる。これらは、慢性疾患の長期間治療において、他の治療法又は特別な食餌に対して反応しない疾患において、及び自然な免疫抑制状態を改善するときイヌの健康を維持することにおいて特に有用である。

30

【0019】

本発明の組成物、前記組成物の製造方法、イヌのための医薬品及び可食性製品、及び前記イヌのための医薬品及び可食性製品の製造における組成物の使用が、特許請求の範囲に開示されている。

【0020】

本発明は、イヌの胃腸疾患及び尿管感染、及びそれらから生じる二次症状を防止して治療するために好適な組成物に向けられている。特に、本発明の組成物は、イヌの胃腸及び尿管の微生物群を健康で安定な微生物群へと調節するのに有用である。

40

【0021】

前記組成物は、40~80重量%の調製物Aと20~60重量%の調製物Bを含み、前記調製物Aは、凍結乾燥された乳酸菌のイヌ特異的な菌株と少なくとも一種のカルシウム源を含み、前記菌株のうちの少なくとも二種は、ラクトバシラス(Lactobacillus)属に属し、前記カルシウム源は、CaCO<sub>3</sub>として表わすと調製物Aの乾燥重量の20~99重量%の量であり、前記調製物Bは、ビルベリーのベリーの粉末、アロニア属の植物(aronia)のベリーの粉末、クロスグリのベリーの粉末、クロマメノキ(bog bilberry)のベリーの粉末、ガンコウラン(crowberry)のベリーの粉末、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるベリー粉末を10~60

50

重量%、クランベリーのベリーの粉末、赤ブドウのベリーの粉末、コケモモのベリーの粉末、ラズベリーのベリーの粉末、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるベリー粉末を10~60重量%、シーバックソーン(sea buckthorn)のベリーの粉末、ザイフリボク(saskatoon)のベリーの粉末、クラウドベリー(cloudberry)のベリーの粉末、ホッキョクキイチゴ(arctic bramble)のベリーの粉末、ナナカマド属の植物(sorbus)のベリーの粉末、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるベリー粉末を10~30重量%含む。

#### 【0022】

本発明はまた、前記組成物の製造方法に向けられている。前記方法は、ラクトバシラス(Lactobacillus)属に属する乳酸菌のイヌ特異的な少なくとも二種の菌株を別々に又は一緒に培養して、得られた培養物を凍結乾燥し、得られた培養物と、CaCO<sub>3</sub>として表わすと調製物Aの乾燥重量の20~99重量%の量で存在するカルシウム源と、所望により追加の乳酸菌のイヌ特異的な菌株とを加工して、均質な調製物Aとすることによって、調製物Aを製造する工程、及び

40~80重量%の調製物Aと20~60重量%の調製物Bを混合して、組成物を得る工程

を含み、前記調製物Bが、ビルベリーのベリーの粉末、アロニア属の植物のベリーの粉末、クロスグリのベリーの粉末、クロマメノキのベリーの粉末、ガンコウランのベリーの粉末、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるベリー粉末を10~60重量%、クランベリーのベリーの粉末、赤ブドウのベリーの粉末、コケモモのベリーの粉末、ラズベリーのベリーの粉末、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるベリー粉末を10~60重量%、シーバックソーンのベリーの粉末、ザイフリボクのベリーの粉末、クラウドベリーのベリーの粉末、ホッキョクキイチゴ(arctic bramble)のベリーの粉末、ナナカマド属の植物のベリーの粉末、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるベリー粉末を10~30重量%含む。

#### 【0023】

本発明の組成物は、イヌの胃腸疾患及び尿管感染を防止して治療するために使用されることができ、特に、イヌの胃腸及び尿管の微生物群を健康で安定な微生物群へと調節するために使用されることができ、乾燥粉末として、イヌ用の可食性製品中に混合されて、又は例えば経口投与のための医薬処方(例えば、顆粒、錠剤、チューイングスナック、及びイヌ用の発酵製品)中に処方されることができ。

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0024】

【図1】図1は、実施例2のサンプル1~5の結果を示す。

【図2】図2は、実施例3のサンプル1~5の結果を示す。

#### 【発明を実施するための形態】

#### 【0025】

以下、本発明は、詳細な記述及び実施例によって説明されるが、これらは本発明を限定するものではない。

#### 【0026】

有意に改善された安定性及び効力を有する組成物が本発明によって得られることができ、驚くべきことに見出された。特に、凍結乾燥された乳酸菌の安定性は、有意に改善され、製品の貯蔵寿命が延長されることができ。ビルベリーのベリーの粉末、アロニア属の植物のベリーの粉末、クロスグリのベリーの粉末、クロマメノキのベリーの粉末、ガンコウランのベリーの粉末、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるベリー粉末を10~60重量%、クランベリーのベリーの粉末、赤ブドウのベリーの粉末、コケモモのベリーの粉末、ラズベリーのベリーの粉末、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるベリー粉末を10~60重量%、シーバックソーンのベリーの粉末、ザイフリボクのベリーの粉末、クラウドベリーのベリーの粉末、ホッキョクキイチゴ(arctic bramble)のベリーの粉末、ナナカマド属の植物のベリーの粉末、及びこ

10

20

30

40

50

これらの組み合わせからなる群から選択されるベリー粉末を10～30重量%含むベリー粉末の混合物が、高い量の抗菌性ポリフェノール化合物を含むこと、特に、ビルベリー、クランベリー、及びシーバックソンの組み合わせが、凍結乾燥された乳酸菌の特定の菌株の活性を減少させず又は保護することは、特に驚きであった。また、改善された安定性に加えて、プロバイオティック組成物の効力も改善される。

#### 【0027】

ベリー種の特定の組み合わせは、ポリフェノールの最適な組み合わせを与え、これらがそれぞれ異なる方法で細菌に結合して、それによって望ましくない細菌の細胞壁への付着を防止して阻害する。微生物は移動しやすいので、阻害された細菌を、健康を促進する細菌株（イヌ由来の乳酸菌など）で置換することが必須である、

10

#### 【0028】

ポリフェノールの特定の混合物は、いくつかの望ましくない細菌種（例えば、*Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus sp*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus sp*（コアグラゼ陰性）, *Streptococcus bovis*, グラム陰性桿菌、グラム陽性球菌）、並びに望ましくない微生物群に対する効果を保証する。ポリフェノール混合物は、ビルベリー、アロニア属の植物、クロスグリ、クロマメノキ、ガンコウラン、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるベリーの高いアントシアニン含有量（好ましくは、ビルベリーであり、北欧のビルベリーは、典型的には少なくとも500mg/100g（乾燥重量に基づいて）のアントシアニン含有量を有する）と、クランベリー、赤ブドウ（*Vitis vinifera*（ヨーロッパブドウ））、コケモモ、ラズベリー、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるベリーの高いプロアントシアニジン含有量（好ましくは、クランベリーであり、北欧のクランベリーは、典型的には少なくとも300mg/100g（乾燥重量に基づいて）のプロアントシアニジン含有量を有する）と、シーバックソン、ザイフリボク、クラウドベリー、ホッキョクキイチゴ（*arctic bramble*）、ナナカマド属の植物、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるベリーの高いプロアントシアニジン含有量（好ましくは、シーバックソンであり、北欧のシーバックソン種は、典型的には300～2500mg/100g（乾燥重量に基づいて）のプロアントシアニジン含有量を有する）と、そこに含まれるフラボノイド及びカロチノイドを組み合わせる。シーバックソンのベリーは、極めて特有の味及び香りを有し、イヌによって容易に拒絶される。従って、組成物中のシーバックソンのベリーの量は、低くしてもよい。

20

30

#### 【0029】

##### 組成物

本発明の組成物は、40～80重量%の調製物Aと20～60重量%の調製物Bを含み、前記調製物Aは、凍結乾燥された乳酸菌のイヌ特異的な菌株と少なくとも一種のカルシウム源を含み、前記菌株のうちの少なくとも二種は、ラクトバシラス（*Lactobacillus*）属に属し、前記カルシウム源は、 $CaCO_3$ として表わすと調製物Aの乾燥重量の20～99重量%の量であり、前記調製物Bは、ビルベリーのベリーの粉末、アロニア属の植物のベリーの粉末、クロスグリのベリーの粉末、クロマメノキのベリーの粉末、ガンコウランのベリーの粉末、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるベリー粉末を10～60重量%、クランベリーのベリーの粉末、赤ブドウのベリーの粉末、コケモモのベリーの粉末、ラズベリーのベリーの粉末、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるベリー粉末を10～60重量%、シーバックソンのベリーの粉末、ザイフリボクのベリーの粉末、クラウドベリーのベリーの粉末、ホッキョクキイチゴ（*arctic bramble*）のベリーの粉末、ナナカマド属の植物のベリーの粉末、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるベリー粉末を10～30重量%含む。

40

#### 【0030】

好ましい実施形態において、組成物は、45～75重量%の調製物Aと25～55重量

50

%の調製物Bを含む。

別の好ましい実施形態において、組成物は、50～70重量%の調製物Aと30～50重量%の調製物Bを含む。

【0031】

好ましい実施形態において、調製物Bは、10～60重量%のビルベリーのペリーの粉末、10～60重量%のクランベリーのペリーの粉末、及び10～30重量%のシーバックソンのペリーの粉末を含む。

【0032】

所望により、組成物は、0.5～10重量%、好ましくは0.5～5重量%の緑茶粉末を含む。

【0033】

本発明の組成物は、公知の及び未知の病因論の胃腸及び/又は尿管疾患の幅広いスペクトルに患っているイヌ、及びこれらの疾患から由来する二次的症狀に患っているイヌに対して有用な効果を奏する。

【0034】

乳酸菌のイヌ特異的な菌株の量は、健康に有益な効果のために必要な最小量、即ち、 $1 \times 10^6$  cfu/g ~  $1 \times 10^{13}$  cfu/gの範囲であることができる。好ましい実施形態では、効果と経済性の側面から、乳酸菌のイヌ特異的な菌株のそれぞれの量は、調製物Aのグラム当たり $1 \times 10^7$  ~  $1 \times 10^{10}$  cfu/gであり、好ましくは $5 \times 10^8$  ~  $2.5 \times 10^9$  cfu/gである。この濃度は、GI管に対して有益に作用するのに十分な量の前記菌株を構築する。乳酸菌のイヌ特異的な菌株は、調製物A中に凍結乾燥培養物として組み込まれ、従って、発酵培地の残渣を調製物中に持ち込む。これらの残渣は、乳酸菌に対する保護剤として、及び消化後にGI管において細菌に対する初期増殖材料として、それ自体で、又は他の腸内細菌群によって予め発酵されて、作用する。これらの残渣は通常、調製物Aの乾燥重量の15重量%まで、好ましくは5重量%までを占める。好ましくは乳酸菌のイヌ特異的な生きた菌株が使用される。しかし、代替的に、乳酸菌の生きていない、不活性な菌株も使用されることができる。

【0035】

本明細書において、表現「乳酸菌のイヌ特異的な菌株」は、イヌの糞便、イヌの腸又は腸液から単離される乳酸生成細菌、又は、イヌの糞便、イヌの腸又は腸液から単離される乳酸生成細菌の菌株を意味する。有利には、これらの選択された菌株のうちの少なくとも一種が、抗生物質に対して耐性を有する。

【0036】

乳酸菌のイヌ特異的な菌株は、健康なイヌの糞便から様々な乳酸菌のイヌ特異的な菌株を単離して、これらの単離された菌株から、*Lactobacillus* 属に属する少なくとも二種の菌株を選択することによって得ることができる。健康なイヌの糞便からの乳酸菌のイヌ特異的な菌株の単離は、Beasleyら (*Lactic acid bacteria isolated from canine faeces*, *Journal of Applied Microbiology*, 101 (2006) 131-138) によって開示されたようにして行なわれることができる。選択基準は、低pH (pH 1~2) 中での増殖能力、胆汁酸及び酸素に対する耐性、ある特定の抗生物質に対する抵抗性、又はある特定の病原菌 (*Micrococcus luteus*、又は日和見病原菌として認識されている *Enterococcus* 及び *Clostridia* の特定の種) に対する抗微生物活性を含むことができる。好ましくは、選択された細菌は、プロテアーゼ処理によって影響を受けない。このことは、プロテアーゼ抵抗性であるか、又は抗微生物物質が非タンパク質の性質を有することを示す。

【0037】

ある実施形態では、組成物は、ラクトバシラス・フェルメントム (*Lactobacillus fermentum*)、ラクトバシラス・プランタルム (*Lactobacillus plantarum*)、ラクトバシラス・ラムノサス (*Lactobacil*

10

20

30

40

50

illus rhamnosophus)、ラクトバシラス・サリヴァリウス(Lactobacillus salivarius)、及びラクトバシラス・ムコサエ(Lactobacillus mucosae)からなる群から選択される、ラクトバシラス属に属する乳酸菌のイヌ特異的な菌株を2種~5種含む。

【0038】

ある実施形態では、組成物は、ラクトバシラス・フェルメンタム(Lactobacillus fermentum)、ラクトバシラス・プランタルム(Lactobacillus plantarum)、ラクトバシラス・ラムノサス(Lactobacillus rhamnosophus)、ラクトバシラス・サリヴァリウス(Lactobacillus salivarius)、及びラクトバシラス・ムコサエ(Lactobacillus mucosae)からなる群から選択される、ラクトバシラス属に属する、イヌの糞便、イヌの腸又は腸液から単離される乳酸生成細菌の菌株を2種~5種含む。

10

【0039】

ある実施形態では、本発明の組成物は、40~80重量%の調製物Aと20~60重量%の調製物Bを含み、前記調製物Aは、イヌの糞便、イヌの腸又は腸液から単離される乳酸生成細菌の凍結乾燥された菌株と少なくとも一種のカルシウム源を含み、前記菌株のうちの少なくとも二種は、ラクトバシラス(Lactobacillus)属に属し、かつラクトバシラス・フェルメンタムNCIMB 41636、ラクトバシラス・プランタルムNCIMB 41638、及びラクトバシラス・ラムノサスNCIMB 41640からなる群から選択され、前記カルシウム源は、CaCO<sub>3</sub>として表わすと調製物Aの乾燥重量の20~99重量%の量であり、前記調製物Bは、ビルベリーのベリーの粉末、アロニア属の植物のベリーの粉末、クロスグリのベリーの粉末、クロマメノキのベリーの粉末、ガンコウランのベリーの粉末、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるベリー粉末を10~60重量%、クランベリーのベリーの粉末、赤ブドウのベリーの粉末、コケモモのベリーの粉末、ラズベリーのベリーの粉末、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるベリー粉末を10~60重量%、シーバックソンのベリーの粉末、ザイフリボクのベリーの粉末、クラウドベリーのベリーの粉末、ホッキョクキイチゴ(arctic bramble)のベリーの粉末、ナナカマド属の植物のベリーの粉末、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるベリー粉末を10~30重量%含む。

20

30

【0040】

好ましい実施形態では、組成物及び調製物Aは、前記ラクトバシラス属に属する乳酸菌のイヌ特異的な菌株として、ラクトバシラス・フェルメンタムNCIMB 41636及びラクトバシラス・プランタルムNCIMB 41638を含む。

【0041】

別の好ましい実施形態では、組成物及び調製物Aは、前記ラクトバシラス属に属する乳酸菌のイヌ特異的な菌株として、ラクトバシラス・フェルメンタムNCIMB 41636、ラクトバシラス・プランタルムNCIMB 41638、及びラクトバシラス・ラムノサスNCIMB 41640を含む。

【0042】

これらの菌株は、National Collections of Industrial, Food and Marine Bacteria(NCIMB)に2009年6月30日に寄託された。

40

【0043】

所望により、組成物及び調製物Aは、Lactobacillus属に属する以外の他の乳酸菌の追加のイヌ特異的な菌株も含むことができ、例えばPediococcus属に属する菌株(P. acidolacticiなど)、又はWeissella属に属する菌株(W. confusa及びW. cibariaなど)を含むことができる。Lactobacillus属に属する以外の他の乳酸菌の追加のイヌ特異的な菌株の好ましい例は、P. acidolactici NCIMB 41637及びW. confusa NCIMB 41639である。これらの菌株は、National Collect

50

ions of Industrial, Food and Marine Bacteria (NCIMB) に 2009 年 6 月 30 日に寄託された。

【0044】

カルシウム源は、イヌ用の経口処方において使用するのに許容可能ないかなるカルシウム含有物質であることもできる。本発明において有用なカルシウム源の非限定的な例は、炭酸カルシウム、アスコルビン酸カルシウム、アルギン酸カルシウム、カルシウムステアロイル-2-ラクチレート、ソルビン酸カルシウム、ギ酸カルシウム、酢酸カルシウム、プロピオン酸カルシウム、乳酸カルシウム、クエン酸カルシウム、ステアリン酸カルシウム、合成ケイ酸カルシウム、カルシウムテトラヒドロゲン-ジオルトホスフェート、カルシウムヒドロゲン-オルトホスフェート、水酸化カルシウム、酸化カルシウム、ニリン酸ジカルシウム、グルコン酸カルシウム、亜硫酸カルシウム、カルシウムヒドロゲンスルファイト、カルシウムアルミニウムシリケート、ジグルコン酸カルシウム、グアニル酸カルシウム、イノシン酸カルシウム、カルシウム-5-リボヌクレオチド、マレイン酸カルシウム、酒石酸カルシウム、カルシウムジナトリウム EDTA、モノ及びジ-カルシウムジホスフェート、(ナトリウム)カルシウムポリホスフェート、塩化カルシウム、フェロシアンカルシウム、オルトリン酸カルシウム、又はこれらの組み合わせである。

10

【0045】

好ましくは、カルシウム源は、その良く許容されている性質及び吸収性のために、炭酸カルシウムである。それに加えて、炭酸カルシウムは、等価のカルシウム源と比べて費用効果的である。

20

【0046】

カルシウムの吸収は、特にプレバイオティックの存在下で、体の全ミネラル含有量の増大を改善する。カルシウム源の量は、 $CaCO_3$  として表わすと調製物 A の乾燥重量の 20~99 重量%、好ましくは 40~95 重量%、さらに好ましくは 60~90 重量%である。Ca として計算すると、これらの重量範囲はそれぞれ、8~40 重量%、16~38 重量%、及び 24~36 重量%である。

【0047】

調製物 A は、所望により少なくとも一種の追加のプレバイオティックを含むことができる。本明細書では、「プレバイオティック (prebiotics)」という表現は、腸の中の一つ又は限定された数の細菌の増殖及び/又は活動を選択的に刺激することによって宿主に有益な影響を与え、それによって宿主の健康を改善する非消化性の食品/餌成分を意味する。プロバイオティック組成物において有用な好適なプレバイオティックは、ダイズ粉; オオバコ種子、イナゴマメのさや (carob)、アラビアゴム、グアーゴム、カワラケツメイ属の植物 (cassia)、タマリンドの仁、カラヤゴム、トラガカントゴム、キサントランゴム、ゲランゴム、タラゴム; ベータグルカン、及びその加水分解物; エンバクのオリゴ糖; タガロースなどの単糖、及びその誘導体; ラクトース、ラクツロース、トレハロース、メリピオース、セロピオース、ラフィノース、スタチオース、イソマルトース、イソマルツロースなどの二糖、及びそれらの誘導体; フラクトオリゴ糖、グルコオリゴ糖、ガラクトオリゴ糖、キシロオリゴ糖、ゲンチオオリゴ糖、マルトオリゴ糖、イソマルトオリゴ糖、キトオリゴ糖、マンノオリゴ糖、及びそれらの誘導体; アラビノガラクトン、ガラクトマンナン、ペクチン、リグニン、ダイズのヘミセルロース、キシラン、プルラン、イヌリン、クズウコン (arrow root)、カンゾウの根、テンサイのパルプ、タピオカ、トウモロコシ、オオムギ、エンバクの抵抗性デンプンなどの多糖及びオリゴ糖、及びそれらの誘導体; マルトデキストリン、シクロデキストリンなどのデキストリン、及びそれらの誘導体; 加工されたユーケウマ海草 (Eucheuma seaweed)、トチャカ (Irish moss); 及びそれらのいかなる組み合わせを含む。好ましい実施形態では、炭水化物、好ましくはスクロース又はマルトデキストリンが調製物 A 中で使用される。

30

40

【0048】

プレバイオティックは、代謝、及び GI 管の中の乳酸菌の増殖を促進し、腸の既存の微

50

生物群を好ましい微生物群に変化させる。プレバイオティックの量は、調製物 A 中、0.5 ~ 50 重量%、好ましくは 0.5 ~ 20 重量%である。

【0049】

調製物 B は、ビルベリーのベリーの粉末、アロニア属の植物のベリーの粉末、クロスグリのベリーの粉末、クロマメノキのベリーの粉末、ガンコウランのベリーの粉末、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるベリー粉末を 10 ~ 60 重量%、クランベリーのベリーの粉末、赤ブドウのベリーの粉末、コケモモのベリーの粉末、ラズベリーのベリーの粉末、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるベリー粉末を 10 ~ 60 重量%、シーバックソンのベリーの粉末、ザイフリボクのベリーの粉末、クラウドベリーのベリーの粉末、ホッキョクキイチゴ (*arctic bramble*) のベリーの粉末、ナナカマド属の植物のベリーの粉末、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるベリー粉末を 10 ~ 30 重量%含む。

10

【0050】

好ましい実施形態では、調製物 B は、10 ~ 60 重量%のビルベリーのベリーの粉末、10 ~ 60 重量%のクランベリーのベリーの粉末、及び 10 ~ 30 重量%のシーバックソンのベリーの粉末を含む。好ましくは、調製物 B は、30 ~ 50 重量%のビルベリーのベリーの粉末、30 ~ 50 重量%のクランベリーのベリーの粉末、及び 15 ~ 25 重量%のシーバックソンのベリーの粉末を含む。

【0051】

所望により、組成物は、0.5 ~ 10 重量%、好ましくは 0.5 ~ 5 重量%の緑茶粉末を含む。

20

【0052】

ビルベリーのベリーの粉末の平均粒子サイズは、90 重量%が 2 mm 未満であり、好ましくは 90 重量%が 1.5 mm 未満であり、特に好ましくは、90 重量%が 1 mm 未満である。

【0053】

クランベリーのベリーの粉末の平均粒子サイズは、90 重量%が 2 mm 未満であり、好ましくは 90 重量%が 1.5 mm 未満であり、特に好ましくは、90 重量%が 1 mm 未満である。

【0054】

シーバックソンのベリーの粉末の平均粒子サイズは、90 重量%が 2 mm 未満であり、好ましくは 90 重量%が 1.5 mm 未満であり、特に好ましくは、90 重量%が 1 mm 未満である。

30

【0055】

ビルベリーは、ヴァクシニウム・ミルティラス *L.* (*Vaccinium myrtillus L.*)、ヴァクシニラム・ウリジノサム *L.* (*Vaccinium uliginosum L.*)、ヴァクシニラム・カエスピトサム *Michx.* (*Vaccinium caespitosum Michx.*)、ヴァクシニラム・デリシオサム *Piper* (*Vaccinium deliciosum Piper*)、ヴァクシニラム・メンブランセウム (*Vaccinium membranaceum*)、及びヴァクシニラム・オヴァリフォリウム (*Vaccinium ovalifolium*) からなる群の種から選択されることができる。好ましくは、北欧のビルベリー (ヴァクシニウム・ミルティラス) がその高いプロアントシアニジン含有量のために使用される。

40

【0056】

クランベリーは、ヴァクシニウム・エリスロカルパム (*Vaccinium erythrocarpum*)、ヴァクシニウム・マクロカルパム (*Vaccinium macrocarpum*)、ヴァクシニウム・ミクロカルパム (*Vaccinium microcarpum*)、及びヴァクシニウム・オキシコックス (*Vaccinium oxycoccos*) からなる群の種から選択されることができる。好ましくは、北欧のクランベリー (ヴァクシニウム・オキシコックス) がその高いアントシアニン含有量のために使

50

用される。

【0057】

シーバックソーンは、ヒッポファエ・ゴニオカルパ (*Hippophae gonio carpae*)、ヒッポファエ・ジャイアントセンシス (*Hippophae gyant sensis*)、ヒッポファエ・リタンゲンシス (*Hippophae litangensis*)、ヒッポファエ・ニューロカルパ (*Hippophae neurocarpa*)、ヒッポファエ・ラムノイデス (*Hippophae rhamnoides*)、ヒッポファエ・サリシフォリア (*Hippophae salicifolia*)、及びヒッポファエ・チベターナ (*Hippophae tibetana*) からなる群の種から選択されることができる。好ましくは、普通のシーバックソーン (ヒッポファエ・ラムノイデス) がその高いプロアントシアニジン含有量、及びそこに含まれるフラボノイド及びカロチノイドのために使用される。

10

【0058】

調製物 B は、2 ~ 15 重量%、好ましくは 3 ~ 10 重量%、特に好ましくは 3 ~ 8 重量%の没食子酸として規定されたポリフェノール化合物を含む。

【0059】

調製物 B は、追加的に繊維を、通常は 20 ~ 60 重量%の量で含む。

【0060】

調製物 B のベリー粉末は、プレバイオティックとしても作用する。そのため、調製物 A の中に追加のプレバイオティックを添加することは任意である。

20

【0061】

調製物 B は、乾燥されたビルベリーのベリーから粉砕によって得られたビルベリーのベリーの粉末と、乾燥されたクランベリーのベリーから粉砕によって得られたクランベリーのベリーの粉末と、乾燥されたシーバックソーンのベリーから粉砕によって得られたシーバックソーンのベリーの粉末とを混合することによって得られる。

【0062】

追加的に、組成物は、少なくとも一種の賦形剤 (例えば、二酸化ケイ素、コロイド状の二酸化ケイ素、ケイ酸カルシウム、ケイ酸マグネシウム、三ケイ酸マグネシウム、タルク、ナトリウムアルミニウムシリケート、カリウムアルミニウムシリケート、カルシウムアルミニウムシリケート、ベントナイト、ケイ酸アルミニウム、ステアリン酸マグネシウム、香料、又は着色剤) を含むことができる。好ましい実施形態では、二酸化ケイ素が改良された流動性を与えるために使用される。通常、賦形剤は、組成物の乾燥重量の 0 ~ 5 重量%、好ましくは 0.1 ~ 3 重量%、特に好ましくは 0.5 ~ 2 重量%の量で存在する。

30

【0063】

理論にしばられることは望まないが、本発明の組成物の利点は、乳酸菌のイヌ特異的な菌株と、カルシウムと、特定のベリーの粉末の特定の組み合わせに由来すると考えられる。ラクトバシラス属は、安全であり、腸にコロニー形成することができることが示されており、従って、長い洗い流し期間を有し、治療対象の患者の腸に既に存在する有益な細菌のコロニー形成に寄与することが示されている。高い Ca 含有量は、たぶん腸の上皮の間質に影響を与えることによって管腔の安定性に正の効果を生み出し、身体から腸への体液の漏出を減少させる。特定の選択されたベリーの粉末は、イヌの尿管への有害な細菌の付着を阻害して防止することに対して正の効果を生ずる。ベリー粉末に含まれる繊維は、健康に有益な腸内細菌群と共に、炎症性腸疾患、胃潰瘍、結腸ガンなどを防止するなどの胃腸の健康に対して影響を与えることがまた証明されている。ベリー粉末は、組成物中でプレバイオティックとして作用し、乳酸菌が摂取された後に腸にコロニー形成する能力にも寄与する。それらは、選択された腸内細菌群を変化させ、発酵によって尿管の細菌群も変化させ、有害な細菌を減少又は破壊させ、従ってプロバイオティックの効果を確実にする。それらはまた、カルシウム吸収の促進剤としても作用し、大便からの過剰の液体と結合する。

40

【0064】

50

### 組成物の製造方法

本発明の組成物は、調製物 A と、調製物 B と、任意選択的な成分とを組み合わせることによって製造されることができる。

#### 【0065】

前記方法は、ラクトバシラス (*Lactobacillus*) 属に属する乳酸菌のイヌ特異的な少なくとも二種の菌株を別々に又は一緒に培養して、得られた培養物を凍結乾燥し、得られた培養物と、 $\text{CaCO}_3$  として表わすと調製物 A の乾燥重量の 20 ~ 99 重量%の量で存在するカルシウム源と、所望により追加の乳酸菌のイヌ特異的な菌株とを加工して、均質な調製物 A とすることによって、調製物 A を製造する工程、及び

40 ~ 80 重量%の調製物 A と 20 ~ 60 重量%の調製物 B を混合して、組成物を得る工程

を含み、前記調製物 B は、ビルベリーのベリーの粉末、アロニア属の植物のベリーの粉末、クロスグリのベリーの粉末、クロマメノキのベリーの粉末、ガンコウランのベリーの粉末、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるベリー粉末を 10 ~ 60 重量%、クランベリーのベリーの粉末、赤ブドウのベリーの粉末、コケモモのベリーの粉末、ラズベリーのベリーの粉末、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるベリー粉末を 10 ~ 60 重量%、シーバックソンのベリーの粉末、ザイフリボクのベリーの粉末、クラウドベリーのベリーの粉末、ホッキョクキイチゴ (*arctic bramble*) のベリーの粉末、ナナカマド属の植物のベリーの粉末、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるベリー粉末を 10 ~ 30 重量%含む。

#### 【0066】

好ましくは、10 ~ 60 重量%のビルベリーのベリーの粉末、10 ~ 60 重量%のクランベリーのベリーの粉末、及び 10 ~ 30 重量%のシーバックソンのベリーの粉末を含む調製物 B が使用される。

#### 【0067】

所望により、追加的に 0.5 ~ 10 重量%、好ましくは 0.5 ~ 5 重量%の緑茶粉末が組成物中に混合される。

#### 【0068】

一つの実施形態では、前記方法は、イヌの糞便、イヌの腸又は腸液から単離される乳酸生成細菌の少なくとも二種の菌株であって、ラクトバシラス・フェルメンタム NCIMB

41636、ラクトバシラス・プランタルム NCIMB 41638、及びラクトバシラス・ラムノサス NCIMB 41640 からなる群から選択される菌株を別々に又は一緒に培養して、得られた培養物を凍結乾燥し、得られた培養物と、 $\text{CaCO}_3$  として表わすと調製物 A の乾燥重量の 20 ~ 99 重量%の量で存在するカルシウム源と、所望により追加の乳酸菌のイヌ特異的な菌株とを加工して、均質な調製物 A とすることによって、調製物 A を製造する工程、及び

40 ~ 80 重量%の調製物 A と 20 ~ 60 重量%の調製物 B を混合して、組成物を得る工程

を含み、前記調製物 B は、ビルベリーのベリーの粉末、アロニア属の植物のベリーの粉末、クロスグリのベリーの粉末、クロマメノキのベリーの粉末、ガンコウランのベリーの粉末、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるベリー粉末を 10 ~ 60 重量%、クランベリーのベリーの粉末、赤ブドウのベリーの粉末、コケモモのベリーの粉末、ラズベリーのベリーの粉末、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるベリー粉末を 10 ~ 60 重量%、シーバックソンのベリーの粉末、ザイフリボクのベリーの粉末、クラウドベリーのベリーの粉末、ホッキョクキイチゴ (*arctic bramble*) のベリーの粉末、ナナカマド属の植物のベリーの粉末、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるベリー粉末を 10 ~ 30 重量%含む。

#### 【0069】

前記方法は、ラクトバシラス (*Lactobacillus*) 属に属する乳酸菌のイヌ特異的な少なくとも二種の菌株を別々に又は一緒に培養して、得られた培養物を凍結乾燥

10

20

30

40

50

し、得られた培養物と、 $\text{CaCO}_3$ として表わすと調製物Aの乾燥重量の20～99重量%の量で存在するカルシウム源とを、好適には混合によって加工して、均質な調製物Aとすることによって、調製物Aを製造する工程、及び40～80重量%の調製物Aと20～60重量%の調製物Bを混合して、組成物を得る工程を含み、前記調製物Bは、10～60重量%のビルベリーのベリーの粉末、10～60重量%のクランベリーのベリーの粉末、及び10～30重量%のシーバックソーンのベリーの粉末を含む。

【0070】

乳酸菌の菌株、カルシウム源及びそれらの量、ビルベリーのベリーの粉末、クランベリーのベリーの粉末、及びシーバックソーンのベリーの粉末、及びそれらの量は、上述のようにして選択される。

10

【0071】

調製物Bは、乾燥されたビルベリーのベリー、アロニア属の植物のベリー、クロスグリのベリー、クロマメノキのベリー、ガンコウランのベリー、及びこれらの組み合わせから粉砕によって得られたベリーの粉末と、乾燥されたクランベリーのベリー、赤ブドウのベリーの、コケモモのベリー、ラズベリーのベリー、及びこれらの組み合わせから粉砕によって得られたベリーの粉末と、乾燥されたシーバックソーンのベリー、ザイフリボクのベリー、クラウドベリーのベリー、ホッキョクキイチゴ(*arctic bramble*)のベリー、ナナカマド属の植物のベリー、及びこれらの組み合わせから粉砕によって得られたベリーの粉末とを混合することによって得られる。乾燥されたベリーは、新鮮なベリーから凍結乾燥などのいかなる好適な方法を使用して乾燥させることによって得られることができる。好適には、乾燥されたベリーは、90重量%が2mm未満であり、好ましくは90重量%が1.5mm未満であり、特に好ましくは、90重量%が1mm未満である平均粒子サイズに粉砕される。乾燥されたベリーの粉砕は、微細粉末製品を与えることができるいかなる好適な粉砕装置を使用しても行なわれることができる。

20

【0072】

調製物Aの製造において、乳酸菌のイヌ特異的な菌株は、別々に又は一緒に、少なくとも炭素源及び窒素源を含む液体培地中で培養される。好適な炭素源の例は、グルコース、デキストロース、及びホエイであるが、これらに限定されない。これらは、単独で又は組み合わせて使用されることができる。好適な窒素源の例は、ダイズ粉、ペプトン、カゼインの加水分解物、肉抽出物、及び酵母抽出物、乾燥酵母、非特異的なタンパク質含有源(例えば、ファーマメディア(*farmamedia*))であるが、これらに限定されない。これらは、単独で又は組み合わせて使用されることができる。乳酸菌のイヌ特異的な菌株は、酸素の制限された存在下で、攪拌なしで又はおだやかな攪拌ありで、最大細胞密度に到達するまで培養される。それよりさらに培養を継続しても、細胞死の増大をもたらすだけである。培地のpHは、3.5～7、好ましくは4～6である。温度は25～37、好ましくは30±2であることができる。このようにして、少なくとも $1 \times 10^9$  cfu/mlの細胞密度が得られることができる。

30

【0073】

培養された細胞は、遠心分離、濾過、又はデカンテーションを含むがこれらに限定されないいかなる方法によっても培地から分離される。発酵培地から分離された細胞は、所望により水、生理的食塩水(0.9% NaCl)又はいかなる好適な緩衝液によって洗浄される。得られた湿潤状態の細胞塊は、凍結乾燥によって乾燥される。水吸収を促進するため、プロバイオティックの安定性を改善しつつ乾燥において有用ないくつかの薬剤がある。それらの例は、スクロース、マルトデキストリン、デンプン、又は他の炭水化物であるが、これらに限定されない。

40

【0074】

いくつかの補助的な物質が、発酵において使用されることができる。それらは、発酵による乳酸菌の増殖を促進するために添加されることができ、その微量の存在は、最終的な組成物にとっても有利である。可能な物質の例は、一連の消泡剤(例えば、オイルベースの薬剤、シリコーンベースの材料、ストルクトール(*structol*)、及びポリプロ

50

ピレン又はポリエチレングリコール)であるが、これらに限定されない。

【0075】

得られた培養物及びカルシウム源を均質な調製物へと加工することは、以下の作業をいかなる順序で含むこともできる：凍結乾燥、遠心分離、濾過、乾燥、混合、混練、押し出し、造粒、圧縮、カプセル化、フィルムコーティング、及び制御された放出性の処方中への埋め込み又は封入。

【0076】

ある実施形態では、少なくとも一種のプレバイオティックの第一の量が、乳酸菌のイヌ特異的な菌株の培養培地中に組み込まれ、得られた培養物は、所望により組み合わせられて、洗浄され、凍結乾燥される。それらは続いてカルシウム源、及び所望により少なくとも一種のプレバイオティックの第二の量と混合される。表現「第一の量」は、プレバイオティックの全量のうちの0~100重量%の範囲のいかなる部分をも意味する。「第一の量」は通常、0.001~30重量%であり、好ましくは調製物の乾燥重量の15重量%までである。表現「第二の量」は、前記第一の量として組み込まれなかったプレバイオティックの全量の残りの部分を意味する。プレバイオティックの第一の量を既に培養培地に組み込むことによって、その部分的に発酵された残渣は、選択された加工ステップに依存して調製物Aの中に残り、従って菌株のコロニー形成を促進する容易に利用可能な材料を与える。

10

【0077】

所望により、少なくとも一種の賦形剤が調製物A及び調製物Bと混合される。賦形剤は、二酸化ケイ素、コロイド状の二酸化ケイ素、ケイ酸カルシウム、ケイ酸マグネシウム、三ケイ酸マグネシウム、タルク、ナトリウムアルミニウムシリケート、カリウムアルミニウムシリケート、カルシウムアルミニウムシリケート、ベントナイト、ケイ酸アルミニウム、ステアリン酸マグネシウム、香料、及び着色剤からなる群から選択される。少なくとも一種の賦形剤が調製物A及び調製物Bの混合物に添加される。好ましい実施形態では、二酸化ケイ素が改良された流動性を与えるために使用される。通常、賦形剤は、組成物の乾燥重量の0~5重量%、好ましくは0.1~3重量%、特に好ましくは0.5~2重量%の量で存在する。

20

【0078】

本発明の方法は、組成物を、粉末、顆粒、丸薬、錠剤、カプセル、トローチ剤、水又は他の好適な担体による再構築のための乾燥製品、水性又は油性の溶液又は懸濁液、ゲル、ペースト、エマルジョン、又はシロップの形態の経口処方中に処方する工程をさらに含むことができる。処方することは、従来技術によって行なうことができ、例えば好適な公知の結合剤、希釈剤、錠剤化剤、潤滑剤、崩壊剤、湿潤剤、懸濁剤、乳化剤、非水性キャリア、保存剤、香料又は染料を賦形剤及びキャリアとして使用して、“Remington: The Science及びPractice of Pharmacy”, Lippincott, Williams及びWilkins Ed., Dec. 2000に記載されているようにして行なうことができる。

30

【0079】

ある実施形態では、組成物は、当該技術分野では周知の方法(混合、発酵など)を使用して、ドッグフード、特別なドッグフード製品、新鮮な食品、ソーセージ、冷凍食品、乾燥食品ペレット、粗びきの穀物(kibbles)、厚切り(chunks)、缶詰め食品、シチュー、プレミックス、風味ソース、ビスケット、チューイングスナック、トリーツ(treats)、子イヌ用ミルクの代替品、及び発酵製品からなる群から選択されるイヌ用の可食性製品の中に、従来成分と共に処方されることができる。

40

【0080】

本発明の組成物は、以下の例示的な範囲内の一日摂取量を与えるような用量で使用されることができる。

各プロバイオティック菌株： $2 \times 10^6 \sim 2 \times 10^{10}$  cfu/kg/日、好ましくは $1 \times 10^8 \sim 5 \times 10^8$  cfu/kg/日。

50

カルシウム：40～198mg/kg/日、好ましくは80～190mg/kg/日（炭酸カルシウムとして表して）。

プレバイオティック：1～100mg/kg/日、好ましくは1～40mg/kg/日

【0081】

本発明の組成物は、15kg未満の体重を有するイヌ（<15kgのイヌの範囲、通常は小型犬品種）に対して、<15kgのイヌ当たり0.5～8g、好ましくは4～6gの一日用量として投与されることが好適である。前記用量は、調製物B（ベリーの粉末の混合物）の0.15～2.4g、好ましくは1.2～1.8gをそれぞれ与える。

【0082】

本発明の組成物は、15～30kgの範囲の体重を有するイヌ（15～30kgのイヌの範囲、通常は中型犬品種）に対して、15～30kgのイヌ当たり8～15g、好ましくは12～14gの一日用量として投与されることが好適である。前記用量は、調製物B（ベリーの粉末の混合物）の2.4～4.5g、好ましくは3.6～4.2gをそれぞれ与える。

【0083】

本発明の組成物は、30kgより重い体重を有するイヌ（>30kgのイヌの範囲、通常は大型犬品種）に対して、>30kgのイヌ当たり15～30g、好ましくは15～25gの一日用量として投与されることが好適である。前記用量は、調製物B（ベリーの粉末の混合物）の4.5～9g、好ましくは4.5～7.5gをそれぞれ与える。

【0084】

所望により、追加の乳酸菌のイヌ特異的な菌株、従来の賦形剤、及びキャリアが組成物中で使用されることができる。

【0085】

本発明の組成物中の乳酸菌は、イヌに由来しており、しかも公知のベリーの粉末及び食品/飼料として許容可能なカルシウム源のみが組成物中で使用されているので、副作用は予測されない。通常、本発明の組成物は、5～10日間摂取される。しかし、イヌは、より長い期間（例えば30日間）の摂取から利益を受けることができる。

【0086】

その安全性のため、本発明の組成物は、慢性の胃腸及び/又は尿管疾患を治療する場合に特に有用である。慢性疾患では、プロバイオティック調製物は、実質的に長い期間、例えば数ヶ月にわたって連続的に、又は間欠的に投与されることができる。

【0087】

好ましくは、本発明の組成物は、イヌの体重に基づいてイヌのために必要な量で、例えば計量スプーンを使用して容易に処方されることができる。好ましい形態の例は、乾燥粉末及び顆粒を含む。

【0088】

本発明の組成物は、すぐに使用できるイヌ用の食品（例えば、新鮮なドッグフード、犬用ソーセージ、冷凍ドッグフード、缶詰めのドッグフード、乾燥食品ペレット、粗びきの穀物、厚切り、シチュー、トリーツ、又はプレミックス）中に組み込まれることもできる。この場合、イヌ用の食品中の調製物の量は、一回分の食事、又はその一部、又は食事の全てが、本発明の組成物を含むイヌ用の食品によって置換されるように調節される。

【0089】

本発明の組成物は、別個の包装（例えば小袋）中に与えられることもできる。この別個の包装は、イヌ用の食品の包装に取り付けられて、摂取前にイヌ用の食品と混合される。本発明の組成物はまた、イヌ用の特別な製品（例えば、風味ソース、ビスケット、チューイングスナック、トリーツ、子イヌ用ミルクの代替品、カプセル、又は発酵製品）の中に組み込まれることもできる。

【0090】

発酵製品の場合、製品は、水又はミルク、香料、発酵のための技術的な細菌菌株、顆粒

10

20

30

40

50

、及び凝乳、サワーミルク、ヨーグルト、及び他の発酵製品中で使用される他の従来の成分を含むことができる。

【0091】

子イヌ用ミルクの代替品の場合、本発明の組成物は、従来の子イヌ用ミルクの代替品の中にすぐに使用できる製品として組み込まれるか、又は本発明の組成物は、別個に、例えば小袋中に与えられて、使用する直前に子イヌ用ミルクの代替品と混合されるか、又は本発明の組成物は、乾燥された粉末の子イヌ用ミルクの代替品のプレミックス中に組み込まれて、使用前に水、ミルク、又は他の好適な液体で回復されることができる。

【0092】

カプセルの場合、本発明の組成物は、例えば粉末又は懸濁液の形態で、従来のハード又はソフトカプセル（例えばゼラチンカプセル）中に充填されることができる。

10

【0093】

イヌ用の風味ソース、ビスケット、チューイングスナック、又はトリーツの場合、本発明の組成物は、例えば混合又はコーティングによって、すぐに使用できる製品として、風味ソース、ビスケット、チューイングスナック、又はトリーツの中に組み込まれることができる。

【0094】

本発明の組成物は、様々なイヌの胃腸疾患及び尿管感染を予防及び治療するために有用であり、特にイヌの胃腸及び尿管の微生物群を健康で安定な微生物群へと調節するために有用である。カルシウムとポリフェノールの組み合わせは、漏出腸症候群及び病原菌の付着を阻害する。カルシウムは、腸内の堅固な結合を増強し、腸からの細菌の漏出を阻害する。ポリフェノールは、細菌の付着を防止する。健康を促進する乳酸菌（LAB）は、腸の微生物群を調節して、内在性LABが増殖することを可能にする。

20

【0095】

ある実施形態では、本発明の組成物は、イヌの胃腸疾患を予防及び治療するために使用される。

【0096】

ある実施形態では、本発明の組成物は、イヌの尿管疾患を予防及び治療するために使用される。

【0097】

本発明の組成物は、小腸及び尿管に関連する疾患を治療するのに特に有用である。かかる疾患の例は、ウイルス及び細菌感染、抗生物質応答性の腸疾患（ARE）、刺激性腸症候群（IBS）、及び炎症性腸疾患（IBD）である。それに加えて、プロバイオティック *L. salivarius* は、GI管中の病原体を片付けることが示されている。そのため、家族中での無症状の病原体キャリアとしてペットのイヌが作用する危険性が減少される。家族のメンバー（例えば小さな子供）は、ペットから病原体の感染を受けることがあることがよく知られている。本発明の組成物を使用してイヌにおける病原体を減少させることによって、この危険性が減少されることができる。

30

【0098】

本発明の組成物は、他の治療に応答しない胃腸疾患を治療するのに特に有用である。

40

【0099】

本発明の組成物は、未知のもしくは複数の原因によって生じる胃腸疾患、又は変化するもしくは複合的な徴候を有する胃腸疾患を治療するためにも有用である。それは、単独で、又は薬物療法と同時に、ある種の抗生物質と共に使用されることができる。本発明のプロバイオティック調製物を、胃腸の問題を生じることが知られている薬物療法と同時に使用することは、特に有益である。

【0100】

好ましい実施形態の他の例は、ストレスの多い状況（例えば、交配シーズン、交尾、妊娠、分娩、授乳、乳離れ、及び新生児と母親の別離）の前及び最中における使用である。妊娠したメスは、特に免疫系の増強、ストレスに関連する徴候の予防、及び分娩後の感染

50

の予防において、本発明の組成物から利益を得るだろう。

【0101】

新生児及び子イヌは、本発明の組成物から特にGI管における天然の微生物相互作用の増強、免疫系の増強、アレルギーの抑制、及び餌を固形食品に変更したときの子イヌの下痢の回避を通して利益を得るだろう。

【0102】

成体のイヌは、本発明の組成物から、特に抗生物質に関連する下痢などの胃腸状態の治療及び予防、アレルギーの予防、耳、皮膚、生殖器、及び尿管の感染などの感染症の予防、口腔及び歯科衛生の維持、及びストレスに関連する徴候の予防を通して利益を得るだろう。

10

【0103】

老齢のイヌは、本発明の組成物から特にGI管における天然の微生物相互作用の増強、免疫系の増強、及び疾患に対する抵抗性の維持、ストレスに関連する徴候の予防、及び耳、皮膚、生殖器、及び尿管の感染などの感染症の予防を通して利益を得るだろう。

【0104】

本発明の健康に有益な組成物はまた、自動車や電車や飛行機で旅行するとき、引越しのとき、食餌を変更するとき、動物病院を訪問するとき、及び外科手術のために入院する前/入院中、及び狩猟及びコンテストのとき、並びに暖かくて湿気のある季節、又は水泳をするイヌにとって、胃腸疾患を予防するためにも有用であることが見出されている。本発明の健康に有益な組成物は、過酷なトレーニング、コンテスト、及び休養期間中のイヌのGI管の健康バランスを維持する。

20

【0105】

本発明の組成物の使用から利益を得ることができる一次及び二次疾患の非限定的な例は、炎症性疾患、免疫不全、炎症性腸疾患、刺激性腸症候群、ガン（特に、胃腸及び免疫系のガン）、下痢を含む疾患、抗生物質に関連する下痢、虫垂炎、自己免疫疾患、多発性硬化症、アルツハイマー病、アミロイド症、関節リウマチ、リウマチ、関節の可動性、糖尿病、インスリン抵抗性、細菌、ウイルス及び真菌感染、歯周病、口腔の疾患、尿生殖器疾患、手術に関連する外傷、手術によって誘発される転移性の疾患、敗血症、体重減少、体重増加、過剰の脂肪組織の蓄積、食欲不振、発熱の制御、カヘキシー、傷の治療、潰瘍、腸バリア感染、アレルギー、喘息、呼吸器疾患、循環器疾患、冠状心臓疾患、貧血、血液凝固系の疾患、腎臓の疾患、中枢神経系の疾患、肝臓の疾患、虚血、栄養障害、骨粗しょう症、内分泌腺の疾患、上皮の疾患、及びフルンケル症を含む。好ましいものは、胃腸管及び/又は尿管の治療であり、これは、下痢の治療又は予防、免疫系の制御（好ましくは、自己免疫疾患及び炎症の治療又は予防）、皮膚及び/又は外被系の健康の維持又は改善（好ましくは、皮膚のアトピー疾患の治療又は予防）、爪の健康の維持及び改善、老化の影響（精神の認識力及び活動レベルを含む）の緩和又は低減、及び感染中及び感染後の体重減少の予防を含む。

30

【実施例】

【0106】

実施例1：組成物の製造  
乳酸菌菌株の選択

40

*Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*及び*Lactobacillus rhamnosus*は、Beasleyら、2006年に記載されたようにして、健康なイヌの糞便から単離された。これらの菌株は、この論文ではそれぞれLAB8 (*L. fermentum*), LAB9 (*L. plantarum*、以前は*L. salivarius*として同定されていた)及びLAB11 (*L. rhamnosus*)として言及されている。ここでは、これらの菌株は、それらの受託番号NCIMB 41636, NCIMB 41638及びNCIM 41640によって言及される。これらの細菌は、低pH (pH1)で生存することができることが証明されており、イヌの空腸からの収集後に培養されることができ (Beasly

50

eyら 2006; Manninenら, 2006)。これらの菌株は、既に存在する腸の微生物群を変化させ、既に存在する宿主特異的な乳酸菌の生存を促進する。抗微生物活性と関連する腸の改変は、これらの菌株のプロバイオティックとしての性質を増強する。この特徴のため、これらの菌株は、セファロsporinなどの抗生物質と同時に、抗生物質によって誘発される下痢を低減するために与えられることができる。

#### 【0107】

調製物 A

培養条件

Lactobacillus fermentum NCIMB 41636, Lactobacillus plantarum NCIMB 41638及びLactobacillus rhamnosus NCIMB 41640は、新しく調製された寒天プレート培養物又は凍結された培養物のストックから、20%のグリセロールを添加したMRS (De Man, Rogosa & Sharpe) 培地に別々に接種された。この培地は、10g/lのペプトン (Bacto Peptone, Becton Dickinson)、8g/lの肉抽出物 (Organotechnie)、4g/lの酵母抽出物 (DSM Food Specialties)、20g/lのデキストロース、2.6g/lの $K_2HPO_4 \times 3H_2O$ 、5g/lの $CH_3COONa \times 3H_2O$ 、2g/lのクエン酸トリアンモニウム、0.2g/lの $MgSO_4 \times 7H_2O$ 、及び0.04g/lの $MnSO_4 \times 1H_2O$ を含む。培養は、16~18時間、30℃で、攪拌なしで継続された。

10

20

#### 【0108】

得られた培養培地は、1%の移転率で500Lの発酵培地に播種するために使用された。製造培地は、以下の表1に示される。

#### 【0109】

表1

成分	g/L
グルコース(デキストロース)	24
ダイズ粉 7B	30
酵母抽出物	10
$K_2HPO_4$	2.5
酢酸ナトリウム三水和物	7.5
$MnSO_4 \times 1H_2O$	0.1

30

#### 【0110】

消泡剤として、シリコーンベースの薬剤が使用された。発酵は、30℃で通気なしで、かつ最小限の攪拌ありで1日間実行された。10のOD600値 (Lactobacillus fermentum NCIMB 41636, Lactobacillus plantarum NCIMB 41638及びLactobacillus rhamnosus NCIMB 41640のそれぞれについて $6.0 \times 10^9$ 、 $4.0 \times 10^9$ 及び $4.0 \times 10^9$  cfu/mlに相当する) に到達した後、細胞は、分離器 (Setital SE 12 X) によって回収された。500Lの発酵培養から得られたそれぞれのLactobacillus菌株の湿潤している細胞塊は、マルトデキストリンを添加された水で洗浄され、3日間凍結乾燥された (Hetosicc Freeze Dryer CD 15-1)。cfu/mgの値を考慮すると、Lactobacillus fermentum NCIMB 41636, Lactobacillus plantarum NCIMB 41638及びLactobacillus rhamnosus NCIMB 41640のそれぞれについての凍結乾燥後の収率は、90.1%、47.1%、及び45.6%であった。洗浄後の発酵培地の残渣は、少量のダイズ

40

50

粉（例えば 1 ~ 5 g / l）を含んでいたが、他の残渣は、培養培地中の十分に可溶性の成分であるとして見出されなかった。

【0111】

CaCO<sub>3</sub> 及びプロバイオティック（マルトデキストリン）が、凍結乾燥されたプロバイオティック（*Lactobacillus fermentum* NCIMB 41636, *Lactobacillus plantarum* NCIMB 41638 及び *Lactobacillus rhamnosus* NCIMB 41640）に添加されて、調製物 A が得られた。

【0112】

調製物 B

調製物 B（Refinie（登録商標））は、40 重量%のビルベリー（*Vaccinium myrtillus*）のベリーの粉末、40 重量%のクランベリー（*Vaccinium oxycoccos*）のベリーの粉末、及び 20 重量%のシーバックソーン（*Hippophae rhamnoides*）のベリーの粉末を混合することによって得られた。調製物 B は、4.1 ~ 4.4 重量%のポリフェノール化合物を含有していた。調製物 A、調製物 B、及び SiO<sub>2</sub> が混合されて、組成物が得られた。組成物 1 ~ 3 の例を、以下の表 2 に示す。

【0113】

表 2

	凍結乾燥された 乳酸菌 (LAB)	マルトデキスト リン	調製物 A 中の CaCO <sub>3</sub> g/重量%	調製物 B	SiO <sub>2</sub>
1	290 g	-	400 g/ 57 %	300 g	10 g
2	203 g	87* g	400 g/ 51 %	300 g	10 g
3	90 g	-	400 g/ 80 %	500 g	10 g

\* = プロバイオティックス混合物中で

【0114】

実施例 2 : + 6 の温度での組成物に対する安定性試験

以下の表 3 には、凍結乾燥された LAB 菌株混合物（サンプル 1）の乳酸菌の安定性試験の結果、実施例 1 に開示された調製物 A（サンプル 6）の乳酸菌の安定性試験の結果、凍結乾燥された LAB を含む、実施例 1 に開示された組成物 1（サンプル 5）の乳酸菌の安定性試験の結果、マイクロカプセル化された LAB 菌株の混合物（サンプル 2）の乳酸菌の安定性試験の結果、実施例 1 に開示された調製物 A であるが、マイクロカプセル化された LAB 菌株の混合物を含むもの（サンプル 3）の乳酸菌の安定性試験の結果、及び実施例 1 に開示された組成物 1 であるが、マイクロカプセル化された LAB 菌株の混合物を含むもの（サンプル 4）の乳酸菌の安定性試験の結果を示す。マイクロカプセル化された LAB 菌株の混合物は、凍結乾燥されていない、マイクロカプセル化された形態の乳酸菌を含む。試験は、+ 6 の温度で 6 ヶ月間、実行された。サンプル 1 ~ 5 の結果は、図 1 でグラフとして表わされている。

【0115】

10

20

30

40

表 3

サンプル	0ヶ月	2ヶ月、 +6℃	4ヶ月、 +6℃	6ヶ月、 +6℃
1.凍結乾燥されたLAB 菌株の混合物	5.10E+09	6.30E+09	5.10E+09	7.10E+09
6.凍結乾燥されたLAB を含む調製物A	1.3E+08	1.0E+08	na	*
5.調製物A、凍結乾燥 されたLAB、及び調 製物Bを含む組成物	2.30E+09	1.80E+09	3.50E+09	5.80E+09
2.マイクロカプセル化された LAB菌株の混合物	2.80E+07	1.70E+07	1.60E+07	1.70E+07
3.マイクロカプセル化 されたLABを含む 調製物A	7.90E+06	4.30E+06	3.60E+06	3.40E+06
4.調製物A、マイクロカ プセル化されたLAB、 及び調製物Bを含む 組成物	1.10E+07	4.50E+06	5.60E+06	4.10E+06

\* 結果は、2018年の3月に利用可能となるだろう。

## 【 0 1 1 6 】

これらの結果から、調製物 B は、本発明の組成物における凍結乾燥された乳酸菌の安定性を + 6 で有意に増大させたこと、及び安定性のこの増大は、マイクロカプセル化された L A B を含む組成物よりも有利に良好であったことがわかる。

## 【 0 1 1 7 】

実施例 3 : R T での組成物に対する安定性試験

以下の表 4 には、凍結乾燥された L A B 菌株混合物 ( サンプル 1 ) の乳酸菌の安定性試験の結果、実施例 1 に開示された調製物 A ( サンプル 6 ) の乳酸菌の安定性試験の結果、凍結乾燥された L A B を含む、実施例 1 に開示された組成物 1 ( サンプル 5 ) の乳酸菌の安定性試験の結果、マイクロカプセル化された L A B 菌株の混合物 ( サンプル 2 ) の乳酸菌の安定性試験の結果、実施例 1 に開示された調製物 A であるが、マイクロカプセル化された L A B 菌株の混合物を含むもの ( サンプル 3 ) の乳酸菌の安定性試験の結果、及び実施例 1 に開示された組成物 1 であるが、マイクロカプセル化された L A B 菌株の混合物を含むもの ( サンプル 4 ) の乳酸菌の安定性試験の結果を示す。マイクロカプセル化された L A B 菌株の混合物は、凍結乾燥されていない、マイクロカプセル化された形態の乳酸菌を含む。試験は、R T ( 2 0 + 1 ) の温度で 6 ヶ月間、実行された。サンプル 1 ~ 5 の結果は、図 2 でグラフとして表わされている。

## 【 0 1 1 8 】

10

20

30

40

表 4

サンプル	0ヶ月	2ヶ月、 RT	4ヶ月、 RT	6ヶ月、 RT
1.凍結乾燥されたLAB 菌株の混合物	5.10E+09	3.20E+09	3.40E+10	1.30E+09
5.調製物A、凍結乾燥 されたLAB、及び調 製物Bを含む組成物	2.30E+09	4.50E+08	1.00E+09	4.30E+08
2.マイクロカプセル化された LAB菌株の混合物	2.80E+07	6.40E+06	3.60E+06	1.30E+06
3.マイクロカプセル化 されたLABを含む 調製物A	7.90E+06	2.80E+07	3.80E+05	2.00E+04
4.調製物A、マイクロカ プセル化されたLAB、 及び調製物Bを含む 組成物	1.10E+07	1.60E+06	1.90E+05	2.70E+04

10

20

## 【 0 1 1 9 】

これらの結果から、調製物Bは、本発明の組成物における凍結乾燥された乳酸菌の安定性をRTで有意に増大させたこと、及び安定性のこの増大は、マイクロカプセル化されたLABを含む組成物よりも有利に良好であったことがわかる。

【 図 1 】

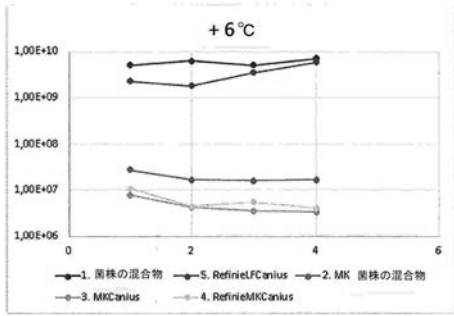


Fig. 1

【 図 2 】

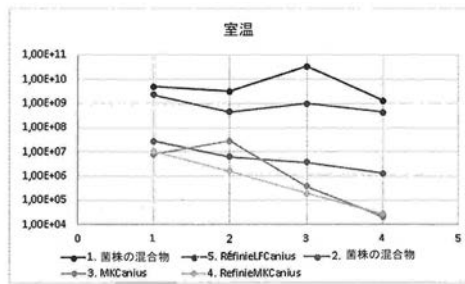


Fig. 2

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/FI2019/050080
---

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
INV. A61K35/747	A61K33/06	A61K36/185
A61K36/82	A61K47/36	A61P1/00
A61K36/45	A61K36/73	A61P13/00
ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, EMBASE, BIOSIS		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2011/018547 A1 (VETCARE OY [FI]; BEASLEY SHEA [FI] ET AL.) 17 February 2011 (2011-02-17) page 7, line 11 - page 15, line 8 page 18, line 1 - page 20, line 2; claims 1-16	1-29
Y	PUUPPONEN-PIMIA R ET AL: "Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries", JOURNAL OF APPLIED MICROBIOLOGY, WILEY-BLACKWELL PUBLISHING LTD, GB, vol. 90, no. 4, 1 April 2001 (2001-04-01), pages 494-507, XP002567236, ISSN: 1364-5072, DOI: 10.1046/J.1365-2672.2001.01271.X Discussion; page 498, column 2, paragraph 4; table 6	1-29
	----- -/--	
<input checked="" type="checkbox"/>	Further documents are listed in the continuation of Box C.	<input checked="" type="checkbox"/>
		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	
25 April 2019	06/05/2019	
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer  Markopoulos, Etyxia	

1

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/FI2019/050080

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2016/193306 A1 (RABOVSKY ALEXANDER B [US] ET AL) 7 July 2016 (2016-07-07) paragraphs [0104], [0145], [0146], [0157], [0166], [0180], [0214], [0225], [0226], [0323]; example 5a -----	1-29
Y	US 2016/192689 A1 (HORN GREGORY T [US]) 7 July 2016 (2016-07-07) paragraphs [0046], [0185], [0201] - [0203], [0230], [0346], [0394], [0405] -----	1-29
A	Anonymous: "HEALTHY FOREST BERRIES", 2 January 2018 (2018-01-02), XP055583335, Retrieved from the Internet: URL:https://web.archive.org/web/20180102035730if/http://www.arcticbilberry.fi:80/binary/file/-/fid/120 [retrieved on 2019-04-25] the whole document -----	1-29

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No

PCT/FI2019/050080

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2011018547 A1	17-02-2011	CA 2770625 A1	17-02-2011
		EP 2464362 A1	20-06-2012
		FI 20095836 A	13-02-2011
		US 2012201796 A1	09-08-2012
		WO 2011018547 A1	17-02-2011
US 2016193306 A1	07-07-2016	AU 2016204819 A1	20-07-2017
		CA 2972606 A1	07-07-2016
		CN 107404927 A	28-11-2017
		EP 3240555 A1	08-11-2017
		JP 2018505866 A	01-03-2018
		KR 20170102932 A	12-09-2017
		SG 11201705415Y A	30-08-2017
		TW 201632087 A	16-09-2016
		US 2016193306 A1	07-07-2016
		WO 2016109856 A1	07-07-2016
US 2016192689 A1	07-07-2016	EP 3027058 A1	08-06-2016
		US 2016192689 A1	07-07-2016
		WO 2015017625 A1	05-02-2015

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 9/16 (2006.01)	A 6 1 K 9/16	
A 6 1 K 9/20 (2006.01)	A 6 1 K 9/20	
A 6 1 K 9/48 (2006.01)	A 6 1 K 9/48	
A 6 1 K 9/08 (2006.01)	A 6 1 K 9/08	
A 6 1 K 9/10 (2006.01)	A 6 1 K 9/10	
A 6 1 K 9/107 (2006.01)	A 6 1 K 9/107	
A 6 1 K 47/02 (2006.01)	A 6 1 K 47/02	
A 6 1 K 47/44 (2017.01)	A 6 1 K 47/44	
A 6 1 K 47/22 (2006.01)	A 6 1 K 47/22	
A 6 1 K 47/36 (2006.01)	A 6 1 K 47/36	
A 6 1 K 47/12 (2006.01)	A 6 1 K 47/12	
A 6 1 K 47/26 (2006.01)	A 6 1 K 47/26	
A 6 1 K 47/38 (2006.01)	A 6 1 K 47/38	
A 6 1 K 47/40 (2006.01)	A 6 1 K 47/40	
A 2 3 K 50/40 (2016.01)	A 2 3 K 50/40	
A 2 3 K 10/16 (2016.01)	A 2 3 K 10/16	
A 2 3 K 10/30 (2016.01)	A 2 3 K 10/30	
A 2 3 K 20/22 (2016.01)	A 2 3 K 20/22	
A 2 3 K 10/18 (2016.01)	A 2 3 K 10/18	

(81)指定国・地域 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, T J, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, R O, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, G T, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, 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, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT

(72)発明者 マキネン, ヤルッコ  
フィンランド, 00791 ヘルシンキ, ピーエル 2, ルオノンヴァラケスクス (ルー  
ク)

(72)発明者 トゥパセラ, トゥオモ  
フィンランド, 21450 タルヴァスヨキ, ハルカティエ 17

(72)発明者 ヒイデンホヴィ, ヤーコ  
フィンランド, 30420 フォルッサ, ホンカティエ 13

(72)発明者 ヘイノネン, カレヴィ  
フィンランド, 04840 ハウトヤルヴィ, プイストランティエ 1

F ターム(参考) 2B005 AA05 AA07

2B150 AA06 AB10 AC06 AE02 AE13 AE19 BD06 BD10 CE25 DD17  
DD18 DD26 DD45 DH04

4C076 AA12 AA14 AA16 AA17 AA22 AA30 AA31 AA36 AA49 AA53  
BB01 CC16 CC17 DD24 DD25 DD26 DD27 DD28 DD29 DD30  
DD35 DD41 DD42 DD43 DD49 DD59 DD67 DD69 EE30 EE31  
EE36 EE39 EE58

4C087 AA01 AA02 AA03 BC56 CA09 MA02 MA05 MA17 MA22 MA23  
MA28 MA35 MA37 MA41 MA43 MA52 NA10 NA14 ZA66 ZA81  
ZC61