(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 114258302 A
(43)申请公布日 2022.03.29

(21)申请号 202080058405.4

(22)申请日 2020.07.31

(30)优先权数据
19305996.1 2019.08.01 EP

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.02.18

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2020/071631 2020.07.31

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/019067 FR 2021.02.04

(71)申请人 法国诗华大药厂
地址 法国利布尔纳

(72)发明人 B•贝舍 C•希门尼斯

(74)专利代理机构 北京世峰知识产权代理有限公司 11713
代理人 王思琪 王建秀

(51)Int.Cl.
A61K 31/7036(2006.01)
A61P 33/02(2006.01)

权利要求书1页 说明书9页 附图3页

(54)发明名称

用于预防和/或治疗隐孢子虫病的兽用组合物

(57)摘要

本发明涉及一种用于预防和/或治疗非人类哺乳动物中的隐孢子虫病的包括巴龙霉素或其药学上可接受的盐的兽用组合物,其中所述组合物以80到140mg/kg/天的巴龙霉素剂量施用于所述非人类哺乳动物,持续3到6天。

CN 114258302 A

1.一种用于预防和/或治疗非人类哺乳动物中的隐孢子虫病的包括巴龙霉素或其药学上可接受的盐的兽用组合物,其中所述组合物以80和140mg/kg/天的巴龙霉素剂量施用于所述非人类哺乳动物,持续3到6天。

2.根据权利要求1所述旨在使用的兽用组合物,其中所述巴龙霉素剂量为84到126mg/kg/天、91到119mg/kg/天,优选98到112mg/kg/天。

3.根据权利要求1或2所述使用的兽用组合物,其中所述巴龙霉素剂量为约105mg/kg/天。

4.根据权利要求1到3中任一项所述使用的兽用组合物,其中所述巴龙霉素的药学上可接受的盐是硫酸盐。

5.一种用于预防和/或治疗非人类哺乳动物中的隐孢子虫病的包括硫酸巴龙霉素的兽用组合物,其中所述组合物以114.3到200mg/kg/天的硫酸巴龙霉素剂量施用于所述非人类哺乳动物,持续3到6天。

6.根据权利要求5所述使用的兽用组合物,其中所述硫酸巴龙霉素剂量为约150mg/kg/天。

7.根据权利要求1到6中任一项所述使用的兽用组合物,其中所述组合物被施用3到5天,优选5天。

8.根据权利要求1到7中任一项所述使用的兽用组合物,其中所述组合物每天施用一次。

9.根据权利要求1到8中任一项所述使用的兽用组合物,其中所述组合物口服施用。

10.根据权利要求1到9中任一项所述使用的兽用组合物,其中所述非人类哺乳动物是牛、猪、山羊或绵羊,优选牛,甚至更优选小牛。

11.根据权利要求1到10中任一项所述使用的兽用组合物,其中所述非人类哺乳动物是新生幼崽或至多21日龄,优选至多14日龄,甚至更优选为2或3日龄或6到13日龄,优选7到10日龄。

12.根据权利要求1到11中任一项所述使用的兽用组合物,其中所述组合物进一步包括至少一种赋形剂。

13.根据权利要求1到12中任一项所述使用的兽用组合物,其中所述组合物是溶液。

14.根据权利要求1到13中任一项所述使用的兽用组合物,其用于减少和/或消除卵囊的排出。

15.根据权利要求1到13中任一项所述使用的兽用组合物,其用于减少和/或消除脱水状态。

16.根据权利要求1到13中任一项所述使用的兽用组合物,其用于治疗和/或预防腹泻。

17.根据权利要求1到13中任一项所述使用的兽用组合物,其用于增加每日增重。

用于预防和/或治疗隐孢子虫病的兽用组合物

[0001] 发明目的

[0002] 本发明涉及兽医领域，并且更具体地涉及抗生素组合物用于治疗非人类哺乳动物、优选幼牛中的隐孢子虫病的用途。

背景技术

[0003] 隐孢子虫病是一种由隐孢子虫属的原生动物引起的人畜共患的世界性疾病，具有重要的医学和经济意义。事实上，隐孢子虫是一种分布广泛的寄生虫，具有很强的繁殖和传播能力。它主要通过直接接触受感染的水、动物或食物来污染哺乳动物、爬行动物、鸟类和鱼类。微小隐孢子虫是最普遍的人畜共患病物种，是造成包含反刍动物在内的大多数哺乳动物的感染以及大部分水源性污染的原因。反刍动物是人类的主要污染源。

[0004] 因此，隐孢子虫病是一项重大的全球公共卫生挑战。据估计，30-50％的五岁以下儿童死亡是由于隐孢子虫病，其被认为是继轮状病毒之后儿童腹泻和死亡的第二大原因。有研究报告，五岁儿童在受到隐孢子虫病影响后出现认知和身体发育的后遗症。

[0005] 在生产动物中，肠道寄生虫隐孢子虫和与其相关联的疾病，即隐孢子虫病，会导致严重的消化障碍，并造成重大经济损失(高发病率、生长迟缓、兽医成本、额外的工作时间)。据估计，在欧洲，20-40％的小牛在出生后2-3周内会受到隐孢子虫病影响。

[0006] 隐孢子虫病的临床表现是非特异性的，但会在21日龄前发生。其表征为或多或少剧烈的急性腹泻、脱水、嗜睡、厌食和腹痛。还观察到体重下降、生长迟缓和发烧。卵囊的排出在出生第4天左右开始，然后在第7天和第8天达到峰值，随后降低。卵囊的感染剂量越大越早，卵囊的排出和腹泻就越严重，持续时间就越长。一方面，证明了卵囊的排出和腹泻之间存在相关性；另一方面，还证明了90天死亡率和与高排出相关联的严重腹泻之间也存在相关性。卵囊确保了疾病的传染和快速传播，它们在环境中具有很强的抵抗力。

[0007] 面对这一祸害，对涉及大量分子的各种治疗进行了测试，以确定它们对隐孢子虫病的有效性。例如，一些研究证明，拉沙里菌素对小牛隐孢子虫病的功效。然而，最小有效剂量(3mg/kg/天)非常接近毒性剂量(5mg/kg/天)。它的治疗指数很差，并且其使用会导致频繁和严重的副作用(厌食、心动过速、呼吸急促、厌食、瘫痪和死亡)。因此，这些毒性和危险性，在小于7日龄的小牛身上更加突出，降低了这种分子的实际使用。硝唑尼特，一种噻唑化物(thiazolide)家族分子，也表现出其对小牛隐孢子虫的有效性。另一方面，也观察到与基于硝唑尼特的治疗相关联的频繁持续腹泻和许多副作用，有时甚至是高死亡率。假设这些副作用是由于分子对共生菌群的作用。鉴于这些影响，不建议在生产动物中使用这种分子。

[0008] Aydogdu等人还通过比较其在自然感染微小隐孢子虫的小牛的治疗中的功效研究了另外两种分子，即卤夫酮乳酸盐，一种喹唑啉酮家族衍生物；和巴龙霉素。更具体地，Aydogdu等人已经示出了100μg/kg/天的卤夫酮乳酸盐剂量持续7天以及100mg/kg/天的硫酸巴龙霉素剂量(对应于70mg/kg/天的巴龙霉素剂量(Gabbrocol®))持续7天的治疗功效。然而，测试剂量的这些分子不能完全消除感染，并且因此更适合预防目的。此外，这些至少7天的长时间连续治疗对于兽医或饲养员的应用来说具有相对限制性，并且还可能表现出耐药

性问题。

[0009] 尽管取得了一些有希望的结果,但迄今为止还没有能够持久控制临床征象和寄生虫感染的治疗。某些药物的使用可以减少卵囊的排出和临床征象,但不能完全根除寄生虫。此外,寄生虫感染通常与体重显著下降相关,这会损害牲畜的营养效应和生长。

[0010] 因此,今天仍然需要开发新的有效且非耐药性治疗,其既可以治疗隐孢子虫病,又可以改善与这种寄生虫病相关联的临床征象。

发明内容

[0011] 在本上下文中,发明人提出了一种新的更有效的用于预防和/或治疗非人类哺乳动物中的隐孢子虫病的治疗。更具体地,发明人证明,使用较高剂量,即大于100mg/kg/天的硫酸巴龙霉素(对应于大于70mg/kg/天剂量的巴龙霉素)可以有效和更快地根除寄生虫感染,并且同时迅速改善患隐孢子虫病的非人类哺乳动物的临床征象。除了对使用者的限制较少外,这些持续时间较短的有效治疗还具有降低非人类哺乳动物,特别是来自同一农场的非人类哺乳动物的污染和传播风险的优势。这些持续时间较短的有效治疗还可以限制对巴龙霉素有抗药性的寄生虫的出现。

[0012] 因此,本发明涉及一种旨在用于预防和/或治疗非人类哺乳动物中的隐孢子虫病的包括巴龙霉素或其药学上可接受的盐的兽用组合物,其中所述组合物以80到140mg/kg/天的巴龙霉素剂量施用于所述非人类哺乳动物,持续3到6天。

[0013] 根据本发明的一个具体实施例,所述巴龙霉素剂量为84到126mg/kg/天、91到119mg/kg/天,优选98到112mg/kg/天。根据本发明的一个优选实施例,所述巴龙霉素剂量为大约105mg/kg/天。

[0014] 根据本发明的另一个具体实施例,所述药学上可接受的巴龙霉素盐是硫酸盐。

[0015] 因此,本发明的另一个目的涉及一种旨在用于预防和/或治疗非人类哺乳动物中的隐孢子虫病的包括硫酸巴龙霉素的兽用组合物,其中所述组合物以114.3到200mg/kg/天的硫酸巴龙霉素剂量施用于所述非人类哺乳动物,持续3到6天。根据一个优选实施例,所述硫酸巴龙霉素剂量为大约150mg/kg/天。

[0016] 根据另一个具体实施例,根据本发明使用的组合物被施用3到5天,优选5天。优选地,所述组合物每天施用一次。

[0017] 根据另一个具体实施例,根据本发明使用的组合物口服施用。

[0018] 根据本发明的一个优选实施例,所述非人类哺乳动物是牛、猪、山羊或绵羊,优选牛。根据一个甚至更优选实施例,所述非人类哺乳动物是新生幼崽或至多21日龄,优选至多14日龄,甚至更优选为2或3日龄或6到13日龄,优选7到10日龄。有利地,所述非人类哺乳动物是小牛。

[0019] 根据另一个具体实施例,根据本发明使用的组合物还包括至少一种赋形剂。根据本发明的另一个具体实施例,所述组合物是溶液。

[0020] 本发明的另一个目的涉及本申请中定义的组合物用于减少和/或消除卵囊的排出的用途。本发明的另一个目的涉及本申请中定义的组合物用于减少和/或消除脱水状态的用途。本发明的一个附加目的涉及本申请中定义的组合物用于治疗和/或预防腹泻的用途。本发明的另一个附加目的涉及本申请中定义的组合物用于增加每日增重的用途。

附图说明

[0021] 图1:对照组、75组、100组和150组的粪便评分从Dt0到Dt5的演变。

[0022] 图2:对照组、75组、100组和150组的水合评分从Dt0到Dt5的演变。

[0023] 图3:对照组、75组、100组和150组的平均卵囊数从Dt0到Dt10的演变。

具体实施方式

[0024] 本申请中公开的本发明涉及一种包括巴龙霉素或其药学上可接受的盐中的一种的兽用组合物在用于预防和/或治疗非人类哺乳动物中的隐孢子虫病的每日使用,其巴龙霉素剂量高于现有技术中常用剂量,即大于70mg/kg/天,优选80到140mg/kg/天。本发明还涉及一种本申请中公开的兽用组合物,其用于根除或消除非人类哺乳动物,优选患隐孢子虫病的非人类哺乳动物中的微小隐孢子虫。本发明还涉及一种用于根除或消除微小隐孢子虫的方法,其包括将本申请中公开的兽用组合物施用于非人类哺乳动物,优选患隐孢子虫病的非人类哺乳动物。

[0025] 因此,本发明涉及一种用于预防和/或治疗非人类哺乳动物中的隐孢子虫病的包括巴龙霉素或其药学上可接受的盐的兽用组合物,其中所述组合物以80到140mg/kg/天的巴龙霉素剂量施用于所述非人类哺乳动物,持续3到6天。本发明还涉及巴龙霉素或其药学上可接受的盐,其用于预防和/或治疗非人类哺乳动物中的隐孢子虫病,其中所述巴龙霉素或其药学上可接受的盐以80到140mg/kg/天的巴龙霉素剂量施用于所述非人类哺乳动物,持续3到6天。本发明还涉及一种用于治疗非人类哺乳动物中的隐孢子虫病的方法,其包括以80到140mg/kg/天的巴龙霉素剂量施用巴龙霉素或其药学上可接受的盐或包括所述剂量的兽用组合物,在这种非人类哺乳动物中持续3到6天。本发明还涉及巴龙霉素剂量为80到140mg/kg/天的巴龙霉素或其药学上可接受的盐在制备用于治疗非人类哺乳动物中隐孢子虫病的兽用组合物中的用途,其中所述组合物施用于所述非人类哺乳动物,持续3到6天。

[0026] 根据本发明的一个具体实施例,所述巴龙霉素剂量为84到126mg/kg/天、91到119mg/kg/天,优选98到112mg/kg/天。根据一个优选实施例,所述巴龙霉素剂量为大约105mg/kg/天。

[0027] 在本发明的上下文中,术语“治疗(treatment/treating)”在广义上是指疾病、病症或与疾病相关的临床征象的改善、预防、治愈,在这种情况下是指隐孢子虫病,例如腹泻、脱水、一般健康状态、每日增重和行为的改善、预防、治愈。术语“隐孢子虫病的治疗”还指控制,即根除、消除或减少非人类哺乳动物中引起隐孢子虫病的寄生虫,例如微小隐孢子虫。这也意指控制卵囊的排出,即减少或甚至消除在非人类哺乳动物中引起隐孢子虫病的寄生虫,例如微小隐孢子虫的卵囊的排出。

[0028] 在一个具体实施例中,这些表现包含对非人类哺乳动物中隐孢子虫病的治愈性治疗。术语“治愈性治疗”是指使非人类哺乳动物治愈隐孢子虫病的治疗。特别地,被治疗的非人类哺乳动物具有粪便评分、和/或一般健康状态评分、和/或水合评分、和/或最小临床痊愈评分,优选等于0。

[0029] 根据另一个具体实施例,这些表现包含对非人类哺乳动物中隐孢子虫病的预防性治疗。根据第一方面,预防性治疗是指在非人类哺乳动物暴露于或接触引起隐孢子虫病或隐孢子虫病起源处的媒介物之前进行的治疗。因此,预防性治疗可以降低非人类哺乳动物

患隐孢子虫病的风险。因此，术语“治疗”和/或“预防”也可以指保护非人类哺乳动物免受隐孢子虫病或至少一种其病症的侵害。根据第二方面，预防性治疗还指在患隐孢子虫病的非人类哺乳动物中进行的治疗。在患病受试者中进行的治疗可以控制其环境中隐孢子虫病起源处的寄生虫，并降低周围健康受试者感染和污染的风险，从而有助于限制隐孢子虫病的传播。

[0030] 巴龙霉素是一种属于氨基糖苷类的抗生素化合物。其作用于信使RNA的翻译，从而中断蛋白质合成。其抗菌活性主要归因于其与核糖体的不可逆相互作用。巴龙霉素对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌具有广谱活性。因此，巴龙霉素尤其以巴龙霉素硫酸盐(Gabbrovet®，Parofor®)的形式以25-50mg/kg/天的剂量用于治疗猪和反刍动物新生幼崽中由大肠杆菌和沙门氏菌引起的胃肠道感染，持续3-5天。如介绍中所指出的，巴龙霉素也用于治疗小牛中的隐孢子虫病，但在治疗中使用的剂量低于本发明中使用的剂量，并且持续时间更长，至多7天。

[0031] 术语“药学上可接受的盐”是指有机盐和无机盐。无机盐的代表性实例包含盐酸盐、氢溴酸盐、碘酸盐、磺酸盐、硫酸盐和磷酸盐。有机盐的代表性实例包含甲酸盐、乙酸盐、三氯乙酸盐、丙酸盐、苯甲酸盐、肉桂酸盐、富马酸盐、马来酸盐和甲磺酸盐。优选地，所述药学上可接受的盐是硫酸盐。根据一个优选实施例，根据本发明使用的巴龙霉素是硫酸巴龙霉素的形式。

[0032] 根据本发明，巴龙霉素以80到140mg/kg/天的剂量施用于非人类哺乳动物。如本申请中公开的，巴龙霉素剂量对应于每天每千克非人类哺乳动物体重施用的巴龙霉素的重量量。巴龙霉素的重量量对应于巴龙霉素本身的重量量，即不考虑被施用的巴龙霉素形式(如盐形式)。应当理解，本领域技术人员将知道如何根据所用巴龙霉素的形式调整用量。例如，80到140mg/kg/天的巴龙霉素剂量对应于114.3mg/kg/天到200mg/kg/天的硫酸巴龙霉素剂量。80、84、91、98、105、112、119、126和140mg/kg/天的巴龙霉素剂量分别对应于114.3、120、130、140、150、160、170、180和200mg/kg/天的硫酸巴龙霉素剂量。

[0033] 因此，本发明还涉及一种旨在用于预防和/或治疗非人类哺乳动物中的隐孢子虫病的包括硫酸巴龙霉素的兽用组合物，其中所述组合物以114.3到200mg/kg/天，优选120到200mg/kg/天、120到180mg/kg/天、130到170mg/kg/天、140到160mg/kg/天的硫酸巴龙霉素剂量施用于所述非人类哺乳动物，持续3到6天。优选地，所述硫酸巴龙霉素剂量为大约150mg/kg/天。

[0034] 术语“大约”将被本领域技术人员理解并且可以根据其使用的上下文在一定程度上变化。虽然此术语的某些用法对于本领域技术人员来说根据上下文并不清楚，但“大约”是指特定术语的正负20％，优选正负10％。

[0035] 巴龙霉素或其药学上可接受的盐或包括它们的组合物可以以本文指定的剂量施用于非人类哺乳动物，持续1到6天、1到5天、2到6天、2到5天、3到6天和3到5天。在本发明的上下文中，如上定义的施用X到Y天是指施用最少X天，最多Y天。换言之，治疗至少应用X天，至多应用Y天。因此，施用1到6天是指施用至少1天，至多6天，即1、2、3、4、5或6天。然后在第6天施用后停止治疗。

[0036] 更具体地，以本申请中指定的剂量将巴龙霉素或其药学上可接受的盐或包括它们的组合物施用于非人类哺乳动物，持续3到6天。因此，巴龙霉素或其药学上可接受的盐中的

一种在时间T0(Dt0)施用于非人类哺乳动物,然后在一天或24小时后的时间T1(Dt1)再次施用。因此,从T0开始每天重复治疗,持续3到6天,即持续3、4、5或6天,优选持续3到5天。根据本发明的一个优选实施例,巴龙霉素或其药学上可接受的盐中的一种或包括它们的组合物被施用3天、4天、优选5天。

[0037] 巴龙霉素或其药学上可接受的盐可以一天一次或数次施用,优选一天一次。根据本发明的一个优选实施例,巴龙霉素或其药学上可接受的盐中的一种或包括它们的组合物每天施用一次,持续3到6天、持续3到5天、持续3天、持续4天、优选持续5天。

[0038] 本发明中使用的兽药组合物可以通过本领域技术人员已知的任何施用途径施用,例如口服或肠胃外施用,包含静脉内、肌肉内和皮下注射。根据本发明的一个优选实施例,所述组合物口服施用。在口服施用的情况下,所述组合物可以直接施用于非人类哺乳动物或与食物混合施用。

[0039] 根据一个具体实施例,本申请中公开的组合物还包括赋形剂。术语"赋形剂"是指存在于组合物中的任何成分,其本身对隐孢子虫病没有活性,并且被非人类哺乳动物很好地耐受,即不会引起副作用。作为赋形剂的实例,可以提及但不限于本领域技术人员已知的所有兽用赋形剂,特别是那些属于溶剂、增溶剂、表面活性剂、抗氧化剂、增稠剂、防腐剂和消泡剂类别的赋形剂。

[0040] 根据本发明的一个优选实施例,所述至少一种赋形剂选自无水胶态二氧化硅、葡萄糖一水合物、苯甲醇、焦亚硫酸钠和依地酸二钠。

[0041] 本发明中使用的兽药组合物可以以本领域技术人员已知的任何形式调配。例如,组合物可以是液体形式,优选溶液或乳液形式。组合物也可以是固体形式,优选凝胶、糊剂、粉末、片剂、胶囊、颗粒、囊片或丸剂形式。显然,本领域技术人员将知道如何根据所考虑的调配物和施用途径来调整赋形剂的比例和性质。根据本发明的一个具体实施例,所述组合物是粉末或溶液。根据本发明的一个优选实施例,所述组合物是溶液。

[0042] 本发明适用于治疗任何动物,更具体地适用于治疗任何非人类哺乳动物。根据本发明的一个具体实施例,所述非人类哺乳动物是牛、猪、山羊或绵羊,优选牛,有利地是小牛。根据本发明的一个甚至更具体实施例,所述非人类哺乳动物是新生幼崽或至多21日龄,优选至多14日龄。根据一个优选实施例,所述非人类哺乳动物为2或3日龄。根据另一个优选实施例,所述非人类哺乳动物为6到13日龄,优选7到10日龄。根据本发明的一个甚至更优选实施例,所述非人类哺乳动物是牛或小牛新生幼崽或至多4日龄,优选2或3日龄的小牛。根据本发明的另一个甚至更优选实施例,所述非人类哺乳动物是牛或至多14日龄,优选6到13天日龄,甚至更优选7到10日龄的小牛。

[0043] 本发明的一个优选目的是一种旨在用于预防和/或治疗牛隐孢子虫病的包括硫酸巴龙霉素或其药学上可接受的盐中的一种的兽用组合物,其中所述组合物以114.3到200mg/kg/天的硫酸巴龙霉素剂量口服施用于所述牛,优选120到200mg/kg/天、120到180mg/kg/天、130到170mg/kg/天、140到160mg/kg/天、甚至更优选约150mg/kg/天,持续3到6天,优选持续3到5天,以甚至更优选持续5天的方式。

[0044] 本发明的一个附加目的涉及一种用于本申请中公开的用途的兽用组合物,其用于减少和/或消除卵囊的排出。本发明还涉及一种用于本申请中公开的用途的兽用组合物,其用于减少和/或消除脱水状态。本发明还涉及一种用于本申请中公开的用途的兽用组合物,

其用于治疗和/或预防腹泻。本发明还涉及一种用于本申请中公开的用途的兽用组合物，其用于增加每日增重。

[0045] 另一个附加目的涉及一种用于减少和/或消除卵囊的排出的方法，其包括以80到140mg/kg/天的巴龙霉素剂量施用含有巴龙霉素或其药学上可接受的盐的兽用组合物，在患隐孢子虫病的非人类哺乳动物中持续3到6天。另一个目的还涉及一种用于减少和/或消除脱水状态的方法，其包括以80到140mg/kg/天的巴龙霉素剂量施用含有巴龙霉素或其药学上可接受的盐中的一种的兽用组合物，在患隐孢子虫病的非人类哺乳动物中持续3到6天。另一个目的还涉及一种用于治疗和/或预防腹泻的方法，其包括以80到140mg/kg/天的巴龙霉素剂量施用含有巴龙霉素或其药学上可接受的盐中的一种的兽用组合物，在患隐孢子虫病的非人类哺乳动物中持续3到6天。又一个目的涉及一种用于增加患隐孢子虫病的非人类哺乳动物的每日增重的方法，其包括以80到140mg/kg/天的巴龙霉素剂量施用含有巴龙霉素或其药学上可接受的盐中的一种的兽用组合物，在所述非人类哺乳动物中持续3到6天。

[0046] 通过阅读以下实例，本发明的其它方面和优点将变得显而易见，并且这些实例应被认为是说明性的而不是限制性的。

[0047] 实例

[0048] 材料与方法

[0049] 组合物

[0050] 本研究中使用的组合物是含有200mg/mL硫酸巴龙霉素(相当于140mg/mL巴龙霉素)的口服溶液。从这种200mg/mL硫酸巴龙霉素的口服溶液中获得75、100和150mg/kg的硫酸巴龙霉素的不同剂量。

[0051] 治疗

[0052] 35头2到4日龄的小牛接种大约10^6个微小隐孢子虫的孢子化卵囊。然后将小牛分为以下4组，并在Dt0(第0天)在以下条件下进行治疗：

[0053] -9头小牛，未经治疗(对照组)；

[0054] -9头小牛，用75mg/kg/天的硫酸巴龙霉素治疗5天(75组)；

[0055] -9头小牛，用100mg/kg/天的硫酸巴龙霉素治疗5天(100组)；和

[0056] -9头小牛，用150mg/kg/天的硫酸巴龙霉素治疗5天(150组)。

[0057] 结果

[0058] 1.临床征象

[0059] 腹泻(粪便评分)

[0060] 在Dt0分析粪便的稠度，然后每天两次直到Dt5(早餐前和下午)。根据以下观察结果打出0到2分：

[0061] -0分：正常粪便

[0062] -1分：腹泻

[0063] -2分：水样腹泻(无粪便)

[0064] 图1中的结果示出，从治疗开始后的第一天开始，与对照组、75组和100组相比，150组的粪便评分更低。

[0065] 下面表1中的结果描述了治疗期间每组的粪便评分。治疗5天后，150组获得了更好

(即更低)的粪便评分。

[0066] 表1：

[0067]

粪便评分 天数	统计	组 对照 (N=9)	75 (N=9)	100 (N=8)	150 (N=9)
Dt0,0	Avg. (+/-SD)	1.78 (+/-0.44)	1.89 (+/-0.33)	1.88 (+/-0.35)	1.78 (+/-0.44)
	Min; Max	1.00; 2.00	1.00; 2.00	1.00; 2.00	1.00; 2.00
Dt0,5	Avg. (+/-SD)	2.00 (+/-0.00)	1.44 (+/-0.73)	1.75 (+/-0.46)	1.78 (+/-0.44)
	Min; Max	2.00; 2.00	0.00; 2.00	1.00; 2.00	1.00; 2.00
Dt1	Avg. (+/-SD)	1.56 (+/-0.73)	1.11 (+/-0.60)	1.13 (+/-0.83)	1.00 (+/-0.71)
	Min; Max	0.00; 2.00	0.00; 2.00	0.00; 2.00	0.00; 2.00
Dt1,5	Avg. (+/-SD)	1.56 (+/-0.53)	1.44 (+/-0.88)	1.00 (+/-0.76)	0.78 (+/-0.97)
	Min; Max	1.00; 2.00	0.00; 2.00	0.00; 2.00	0.00; 2.00
Dt2	Avg. (+/-SD)	1.78 (+/-0.44)	1.44 (+/-0.73)	0.88 (+/-0.83)	0.67 (+/-0.87)
	Min; Max	1.00; 2.00	0.00; 2.00	0.00; 2.00	0.00; 2.00
Dt2,5	Avg. (+/-SD)	1.67 (+/-0.50)	0.89 (+/-0.78)	1.00 (+/-0.93)	0.67 (+/-0.87)
	Min; Max	1.00; 2.00	0.00; 2.00	0.00; 2.00	0.00; 2.00
Dt3	Avg. (+/-SD)	1.44 (+/-0.53)	0.67 (+/-0.71)	1.25 (+/-0.71)	0.00 (+/-0.00)
	Min; Max	1.00; 2.00	0.00; 2.00	0.00; 2.00	0.00; 0.00
Dt3,5	Avg. (+/-SD)	1.22 (+/-0.44)	0.44 (+/-0.53)	0.75 (+/-0.46)	0.00 (+/-0.00)
	Min; Max	1.00; 2.00	0.00; 1.00	0.00; 1.00	0.00; 0.00
Dt4	Avg. (+/-SD)	1.44 (+/-0.73)	0.78 (+/-0.67)	0.50 (+/-0.53)	0.44 (+/-0.53)
	Min; Max	0.00; 2.00	0.00; 2.00	0.00; 1.00	0.00; 1.00
Dt4,5	Avg. (+/-SD)	1.00 (+/-0.71)	0.67 (+/-0.50)	0.75 (+/-0.89)	0.22 (+/-0.44)
	Min; Max	0.00; 2.00	0.00; 1.00	0.00; 2.00	0.00; 1.00
Dt5	Avg. (+/-SD)	1.33 (+/-0.50)	0.33 (+/-0.50)	0.25 (+/-0.46)	0.11 (+/-0.33)
	Min; Max	1.00; 2.00	0.00; 1.00	0.00; 1.00	0.00; 1.00

[0068] Avg.：平均值

[0069] 一般健康状态评分

[0070] 在Dt0观察小牛的一般健康状态，然后每天两次直到Dt5(早餐前和下午)。根据以下观察结果打出0到3分：

[0071] -0分：小牛警觉且活跃

[0072] -1分：小牛中度精神萎靡(耳朵下垂，对刺激稍不敏感)

[0073] -2分：小牛精神萎靡(耳朵和头部下垂，对站立没有兴趣)

[0074] -3分：小腿躺下(无法站立)

[0075] 下面表2中的结果描述了治疗期间每组小牛的一般健康状态的演变。从治疗开始后的第一个12小时开始，150组获得了更好的一般健康状态评分。

[0076] 表2：

[0077]

一般健康状态		组			
天数	统计	对照 (N=9)	75 (N=9)	100 (N=8)	150 (N=9)
Dt0	Avg. (+/-SD)	0.44 (+/-0.53)	0.56 (+/-0.73)	0.75 (+/-0.46)	0.00 (+/-0.00)
	Min; Max	0.00; 1.00	0.00; 2.00	0.00; 1.00	0.00; 0.00
Dt0,5	Avg. (+/-SD)	0.44 (+/-0.53)	0.89 (+/-1.05)	0.50 (+/-0.53)	0.00 (+/-0.00)
	Min; Max	0.00; 1.00	0.00; 3.00	0.00; 1.00	0.00; 0.00
Dt1	Avg. (+/-SD)	0.33 (+/-0.50)	0.44 (+/-0.53)	0.38 (+/-0.52)	0.22 (+/-0.44)
	Min; Max	0.00; 1.00	0.00; 1.00	0.00; 1.00	0.00; 1.00
Dt1,5	Avg. (+/-SD)	0.56 (+/-0.53)	0.22 (+/-0.44)	0.25 (+/-0.46)	0.33 (+/-0.50)
	Min; Max	0.00; 1.00	0.00; 1.00	0.00; 1.00	0.00; 1.00
Dt2	Avg. (+/-SD)	0.78 (+/-0.44)	0.22 (+/-0.44)	0.50 (+/-0.53)	0.00 (+/-0.00)
	Min; Max	0.00; 1.00	0.00; 1.00	0.00; 1.00	0.00; 0.00
Dt2,5	Avg. (+/-SD)	0.56 (+/-0.53)	0.22 (+/-0.44)	0.50 (+/-0.53)	0.00 (+/-0.00)
	Min; Max	0.00; 1.00	0.00; 1.00	0.00; 1.00	0.00; 0.00
Dt3	Avg. (+/-SD)	0.67 (+/-0.50)	0.11 (+/-0.33)	0.00 (+/-0.00)	0.00 (+/-0.00)
	Min; Max	0.00; 1.00	0.00; 1.00	0.00; 0.00	0.00; 0.00
Dt3,5	Avg. (+/-SD)	0.56 (+/-0.73)	0.00 (+/-0.00)	0.13 (+/-0.35)	0.00 (+/-0.00)
	Min; Max	0.00; 2.00	0.00; 0.00	0.00; 1.00	0.00; 0.00
Dt4	Avg. (+/-SD)	0.67 (+/-0.71)	0.11 (+/-0.33)	0.00 (+/-0.00)	0.00 (+/-0.00)
	Min; Max	0.00; 2.00	0.00; 1.00	0.00; 0.00	0.00; 0.00
Dt4,5	Avg. (+/-SD)	0.56 (+/-0.53)	0.00 (+/-0.00)	0.00 (+/-0.00)	0.00 (+/-0.00)
	Min; Max	0.00; 1.00	0.00; 0.00	0.00; 0.00	0.00; 0.00
Dt5	Avg. (+/-SD)	0.44 (+/-0.53)	0.22 (+/-0.44)	0.00 (+/-0.00)	0.00 (+/-0.00)
	Min; Max	0.00; 1.00	0.00; 1.00	0.00; 0.00	0.00; 0.00

[0078] Avg.:平均值

[0079] 水合评分

[0080] 从Dt0到Dt5,每天早餐前测量一次水合评分。根据以下观察结果打出0到3分:

[0081] -0分:水合状态正常,皮肤褶皱<1秒

[0082] -1分:轻度脱水,眼睛轻微凹陷,皮肤褶皱≤2秒

[0083] -2分:中度脱水,眼睛凹陷,口鼻干燥,皮肤褶皱>2秒且<5秒

[0084] -3分:重度脱水,重度眼球内陷,皮肤褶皱>5秒

[0085] 图2中的结果示出,与对照组、75组和100组相比,150组的水合评分更低(即,水合更好)。

[0086] 临床治愈率

[0087] 根据上述临床数据计算临床治愈率,以确定测试剂量的功效。当小牛的粪便评分为0、一般健康状态评分为0、水合评分为0时,则被认为已治愈。

[0088] 下面表3中的结果描述了治疗期间每组小牛的临床治愈率的演变。观察到在治疗期间150组的临床治愈率更好。

[0089] 表3:

[0090]

临床治愈率		组			
天数	统计	对照 (N=9)	75 (N=9)	100 (N=8)	150 (N=9)
Dt0	n(%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
Dt0,5	n(%)	0 (0.0%)	1 (11.1%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
Dt1	n(%)	0 (0.0%)	1 (11.1%)	1 (12.5%)	1 (11.1%)
Dt1,5	n(%)	0 (0.0%)	1 (11.1%)	0 (0.0%)	1 (11.1%)
Dt2	n(%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	2 (22.2%)
Dt2,5	n(%)	0 (0.0%)	1 (11.1%)	0 (0.0%)	2 (22.2%)
Dt3	n(%)	0 (0.0%)	2 (22.2%)	0 (0.0%)	2 (22.2%)
Dt3,5	n(%)	0 (0.0%)	5 (55.6%)	1 (12.5%)	9 (100.0%)
Dt4	n(%)	1 (11.1%)	3 (33.3%)	4 (50.0%)	5 (55.6%)
Dt4,5	n(%)	2 (22.2%)	3 (33.3%)	3 (37.5%)	7 (77.8%)
Dt5	n(%)	**0 (0.0%)**	**4 (44.4%)**	**5 (62.5%)**	**8 (88.9%)**

[0091] 2.卵囊数

[0092] 从Dt0到Dt10,每天早上收集粪便样本。通过使用Meridian Diagnostics的Merifluor®试剂进行测试,对微小隐孢子虫卵囊进行定量分析。

[0093] 图3中的结果示出,与对照组、75组和100组相比,150组的样本中存在的卵囊数要低得多。因此,这表明150组排出的卵囊比对照组、75组和100组少。

[0094] 3.体重

[0095] 还计算了从Dt0到Dt21每组小牛平均每日增重。此每日增重的平均值如下面表4所示。观察到在治疗期间150组的每日增重更好。

[0096] 表4:

[0097]

		组			
参数	统计	对照 (N=9)	75 (N=9)	100 (N=8)	150 (N=9)
每日增重(kg)	Avg. (+/-SD)	0.53 (+/-0.16)	0.56 (+/-0.19)	0.56 (+/-0.13)	0.67 (+/-0.06)
	Min; Max	0.18; 0.77	0.15; 0.81	0.3; 0.69	0.58; 0.77

[0098] 研究结论

[0099] 上述实例表明,包括以150mg/kg/天的硫酸巴龙霉素剂量(或105mg/kg/天的巴龙霉素)进行施用的治疗可以在接种了微小隐孢子虫卵囊的小牛中改善临床征象(腹泻、一般健康状态、水合),减少卵囊的排出,并增加每日增重。因此,发明人惊奇地证明,以80到140mg/kg/天的巴龙霉素剂量使用巴龙霉素或其药学上可接受的盐中的一种,持续3到6天,可以完全、更有效、更快地治疗隐孢子虫病以及与这种疾病相关联的临床征象。

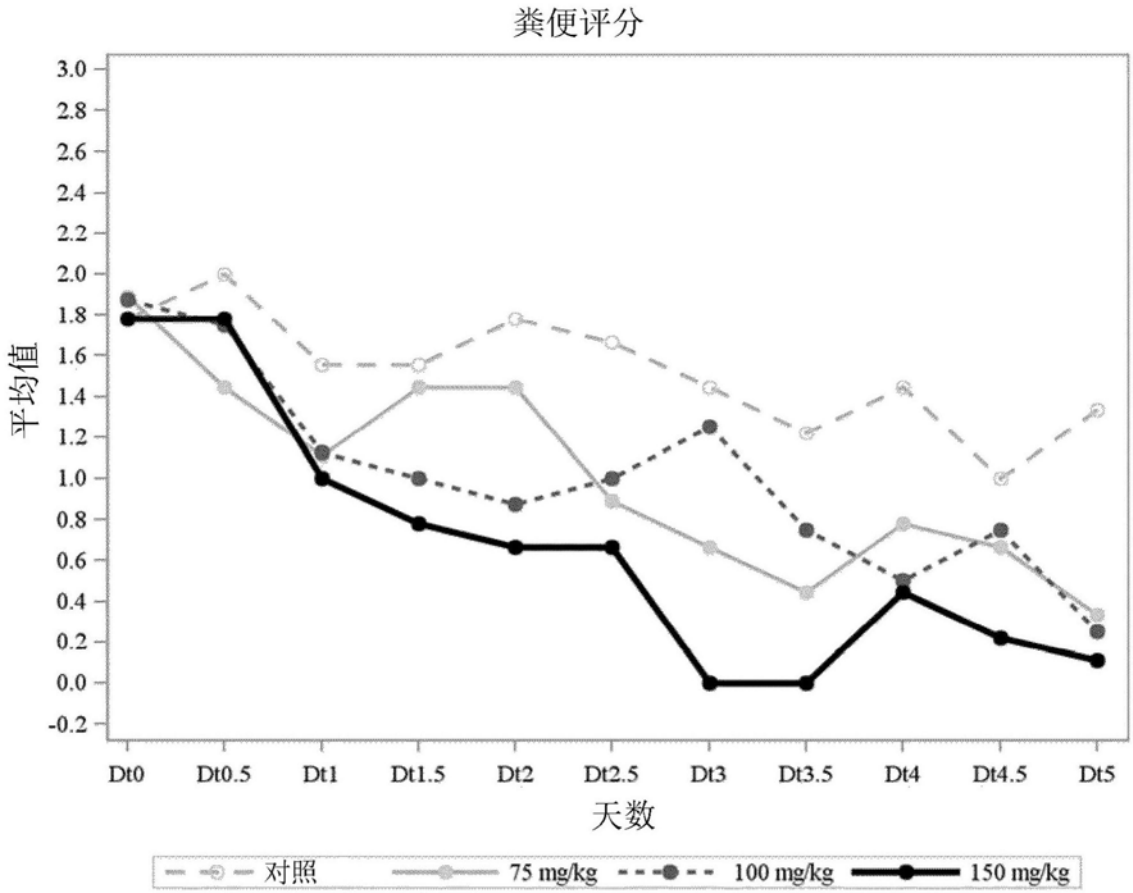

粪便评分
平均值
3.0
2.8
2.6
2.4
2.2
2.0
1.8
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-0.2
Dt0
Dt0.5
Dt1
Dt1.5
Dt2
Dt2.5
Dt3
Dt3.5
Dt4
Dt4.5
Dt5
天数
对照
75 mg/kg
100 mg/kg
150 mg/kg

图1

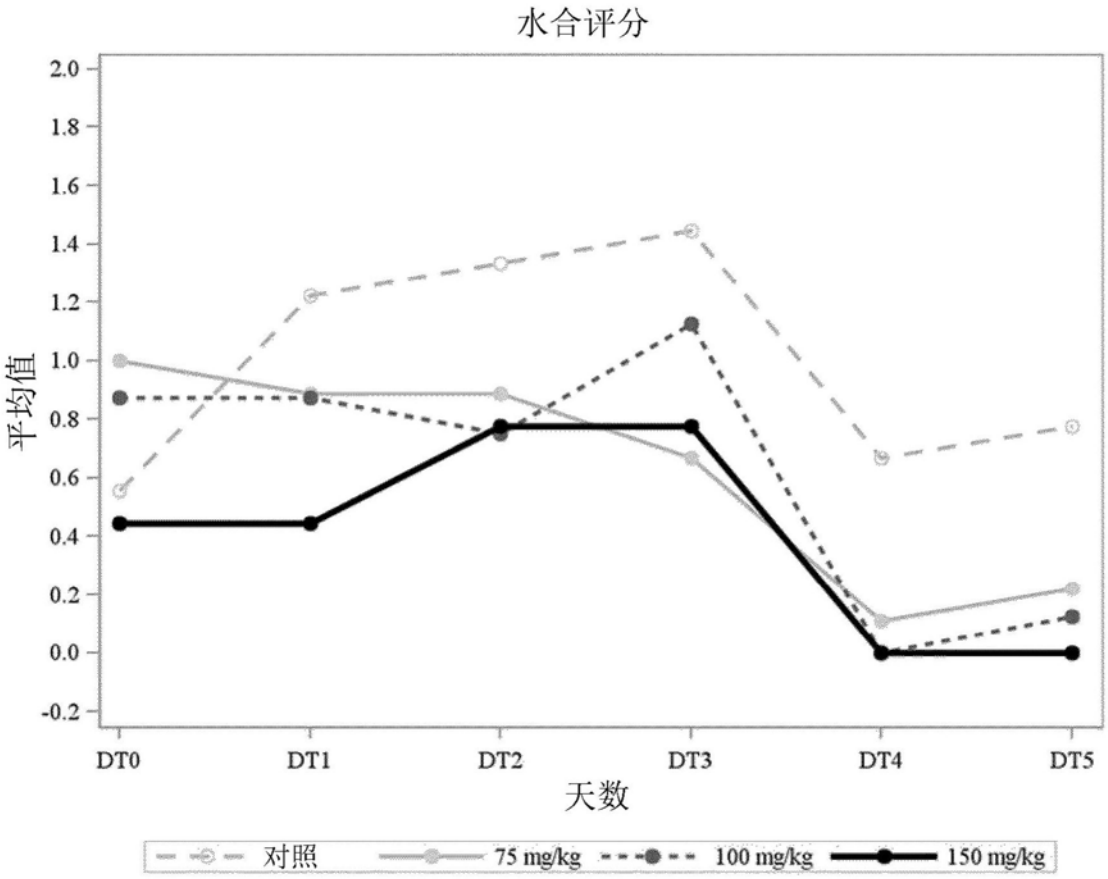

水合评分
2.0
1.8
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-0.2
平均值
DT0
DT1
DT2
DT3
DT4
DT5
天数
对照
75 mg/kg
100 mg/kg
150 mg/kg

图2

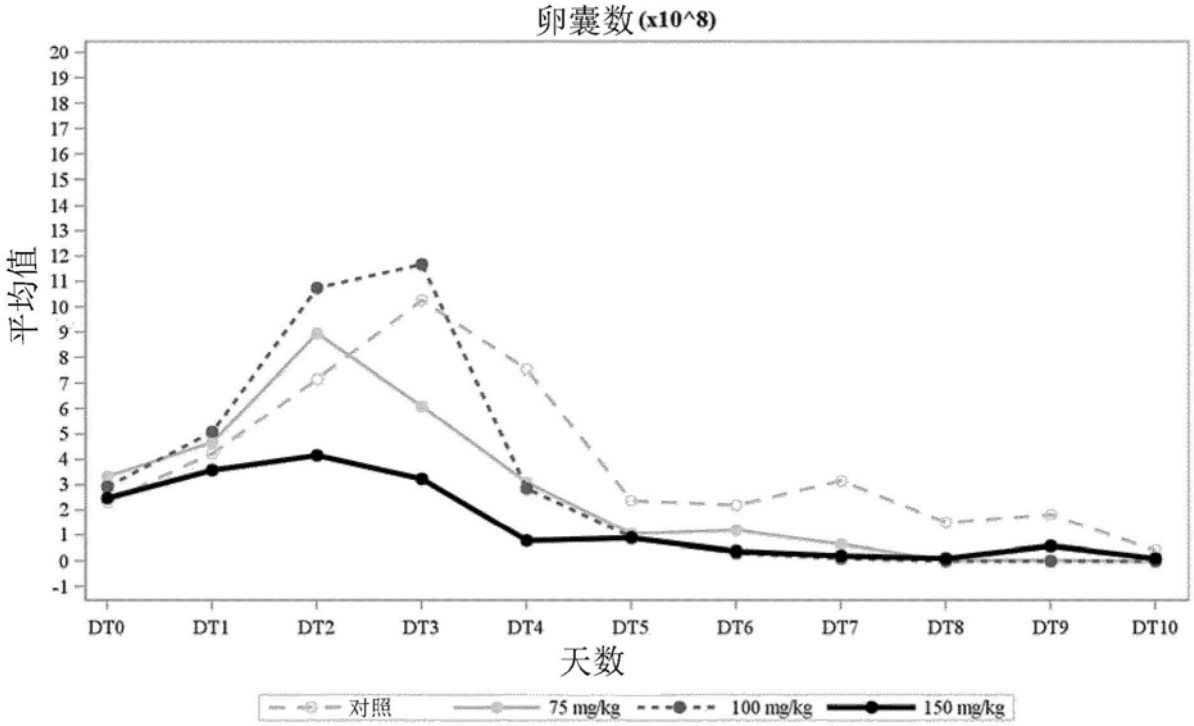

卵囊数 (x10^8)
平均值
20
19
18
17
16
15
14
13
12
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
-1
DT0
DT1
DT2
DT3
DT4
DT5
DT6
DT7
DT8
DT9
DT10
天数
对照
75 mg/kg
100 mg/kg
150 mg/kg

图3