

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 02829451.3

A23K 1/16

A23K 1/18

A61K 35/78

A61P 31/04

A61P 33/02

[43] 公开日 2005 年 8 月 3 日

[11] 公开号 CN 1649508A

[22] 申请日 2002.8.13 [21] 申请号 02829451.3

[86] 国际申请 PCT/HU2002/000082 2002.8.13

[87] 国际公布 WO2004/014146 英 2004.2.19

[85] 进入国家阶段日期 2005.2.16

[71] 申请人 梅特·希德弗吉

地址 匈牙利布达佩斯

共同申请人 阿科斯·雷瑟塔

[72] 发明人 梅特·希德弗吉 阿科斯·雷瑟塔

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 李波 刘玥

权利要求书 1 页 说明书 20 页

[54] 发明名称 发酵的麦芽在饲养和兽医实践中的用途

[57] 摘要

本发明涉及发酵的麦芽提取物的新用途，即用于动物饲养和兽医治疗。本发明的主题还涉及含有发酵的麦芽提取物的饲料、营养物、预混合料和兽医制剂。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 将发酵的麦芽提取物作为饲料补充物用于生产饲料，营养物或预混合料的用途。
2. 饲料或营养物，除了常用的饲料成分和营养物成分之外，还包括含量为 0.001-10 重量%的发酵的麦芽提取物。
3. 饲料或营养物预混合料，除了常用的预混合料成分之外，还包括含量为 0.001-50 重量%的发酵的麦芽提取物。
4. 如权利要求 2 或 3 的饲料、营养物或预混合料，它包括麦芽提取物，该麦芽提取物来自于在酿酒酵母存在下在含水培养基中发酵麦芽的过程中所获得的发酵培养液。
5. 用于提高饲养动物的产量的方法，其特征在于，在所述动物的饲料中提供发酵的麦芽提取物作为增产剂，并且用按这种方法获得的饲料饲养所述动物。
6. 如权利要求 5 的方法，其特征在于上述增产剂的使用量为 0.1-6 g/kg 饲料，优选 0.3-3 g/kg 饲料。
7. 如权利要求 5 或 6 的方法，其中，所述饲养动物是牛，马，兔，猪崽，增肥猪，肉仔鸡，下蛋母鸡，火鸡，鹅或鸭。
8. 发酵的麦芽提取物在提高饲养动物产量中的用途。
9. 发酵的麦芽提取物在制备用于预防和/或治疗动物的枝原体感染的制剂中的用途。
10. 发酵的麦芽提取物在制备用于预防和/或治疗动物的感染性炎症，特别是由猪肺炎枝原体导致的肺炎的制剂中的用途。
11. 发酵的麦芽提取物在制备用于预防和/或治疗家禽的球虫病感染的制剂中的用途。
12. 发酵的麦芽提取物在提高接种过的家禽的抗体效价中用途。
13. 发酵的麦芽提取物在预防和/或减少家禽的鸡败血枝原体或关节液枝原体感染和/或球虫病感染中的用途。
14. 发酵的麦芽提取物在预防由猪肺炎枝原体导致的肺炎中的用途。
15. 如权利要求 8 或权利要求 11-13 的用途，其中，所述麦芽提取物是以 0.1-6 g/饲料 kg 的量混入常用饲料中使用的。

发酵的麦芽在饲养和兽医实践中的用途

5 本发明涉及发酵的麦芽提取物的新用途,特别涉及用于饲养和兽医目的。本发明的主题还包括含有发酵的麦芽提取物的饲料、营养物和预混合料。

所述发酵的麦芽提取物(下文称之为 VET-HBM)及其生产披露于 WO 98/08694 中,该文献披露了它的免疫刺激和转移抑制作用(上述文献被收作本文参考)。上面所提到的材料,是通过用酿酒酵母发酵
10 麦芽,然后通过干燥过滤的发酵液生产的。所获得的物质以它的 2,6-二甲氧基-p-苯醌含量为特征,该含量大约为 0.4 mg/g 干物质。

令人吃惊的是,在我们的研究过程中,我们业已发现了 VET-HBM 能够出色地应用于畜牧业和动物饲养。VET-HBM 提供了体重的更快速的增加,并且提高了动物对疾病的抵抗力,尤其是对各种感染性疾病
15 的抵抗力。它特别适用于在大规模生产条件下提高饲养动物的肉的产量,并且改善肉的质量,尤其是适合饲养家禽和猪,与此同时,它提供了饲料的更好的利用(更好的饲料转化率)。

猪和家禽的经济上的大规模生产,是决定畜牧业的收益的因素中的重要因素。减少饲料的数量非常重要,因为饲料的价格较高。在最近
20 几十年中,业已在生产的肉类和蛋类的数量和质量指标方面取得了良好结果,上述结果是借助于专业性复合饲料以及借助于使用适当选择的补充物实现的。不过,证实了可以毫无顾虑地添加有效的饲料成分,特别是饲料添加剂(不用担心毒性,抗性)。就是说,证实了它们的效率在经过一定长度的时间之后会减弱,并且从环保以及公众健康角
25 度出发,它们可能会受到反对。因此,本发明的目的是寻找与身体相同的和天然的材料,可将这种材料有效应用于饲养和培育动物。这一目的满足了欧盟反对将抗生素和体外材料用于增产剂领域的要求。

在我们的研究过程中,我们尝试了将上述天然型 VET-HBM 制剂用于肉仔鸡,鹅和火鸡的大规模生产场合,以及在断奶之后的培育之
30 前和增肥过程中用于猪。在我们的实验过程中,证实了具有 VET-HBM 的起始,培育和最终营养物的完成对肉仔鸡,鹅,火鸡和猪的发育具有有利作用,因为它改善了体重的增加和特殊的饲料利用,增强了抵

抗力，同时减少了环境污染。另外，我们发现卵的存活力以及孵化率在鸡群中提高了。另外，我们还发现通常与火鸡育增肥过程中的快速生长相伴随的主动脉裂隙实际上可以消除；这一实现是特别有利的。

5 另外，我们业已研究了 VET-HBM 对通常在家禽养殖场出现的感染的作用，并且吃惊地发现，VET-HBM 能够保护动物免任由枝原体属微生物导致的感染，特别是由鸡败血枝原体和关节液枝原体导致的感染，并且抗由柔嫩艾美虫导致的球虫病，而且能够提高对在家禽中发生的其他感染的抵抗力(例如，传染性粘液囊病)。

10 鸡败血枝原体和关节液枝原体对家禽的污染仍然对养禽业造成重大的经济损失，这种感染的后果是，体重的增加和产蛋量降低，死亡率增加，孵化率降低，在屠宰场中的没收增加等。在呼吸道中导致的上皮损伤，支持了继发细菌感染，因此进一步加大了损失。

15 为了降低经济损失，提出了使用不同的抗生素(例如，tilozine, thiamuline, 诺氟沙星, 英氟沙星等)。不过，在近几年中，不同国家的权威机构希望减少抗生素的使用(例如，包括 tilozine 在内的某些抗生素被禁止用作增产剂)，并且，它们坚持阻止将所述抗生素用于人类用途。由于这种原因，我们业已研究了 VET-HBM 的效果，它们在以前的饲养实验中提供了非常好的结果，能够抗普遍发生的枝原体感染。

20 令人吃惊的是，我们业已发现，与施用 tiamutine 类似，施用 VET-HBM 能阻止枝原体感染的影响，tiamutine 是最知名的抗枝原体抗生素。由于枝原体感染在世界上所有地方的发病率都相当高，这一事实具有重要的经济价值。通过使用 VET-HBM 能够减少由枝原体感染导致的经济损失。当所述抗生素的使用是为了阻止兽医实践和增产时是使用 VET-HBM 特别优选的。

另外，我们业已用猪肺炎枝原体对猪进行了研究，猪肺炎枝原体存在于普通的猪群体中，并且会导致非常重大的经济损失；令人吃惊的是，我们业已发现了 VET-HBM 能够保护猪免任由猪肺炎枝原体导致的肺炎。

30 另外，我们业已研究了 VET-HBM 对由柔嫩艾美虫导致的另一种寄生虫病-球虫病的作用，这种病是在家禽中广泛传播的寄生虫病。在最近几十年中，在世界上所有地方球虫病病例的数量都增加了，因

为大规模的培育方式以最高程度加大了球虫感染的几率。极有可能的是，有 7 个艾美虫属株在球虫病的形成中发挥作用，其中，存在致病株和致病性较弱的株。在导致出血性肠炎和死亡的株中，柔嫩艾美虫会导致阑尾球虫病，它具有重要的作用。因此，我们的研究是用纯的柔嫩艾美虫株感染鸡进行的。

令人吃惊的是，我们业已发现，与对照相比，获得了 VET-HBM 补充的人工感染的鸡的卵囊促排便（oocyst defecation）显著减弱；这意味着破坏了中间体形式，并且在阑尾中造成重大破坏的柔嫩艾美虫不能够发育。因此，VET-HBM 能够保护鸡免受由柔嫩艾美虫导致的严重疾病。

除了上述研究之外，我们研究了 VET-HBM 对针对传染性粘液囊病进行接种的鸡的抗体水平的改变(通过 CEVAC-疫苗)。我们业已发现，将 VET-HBM 用在饲料中，能显著增加鸡的抗体生产，同时能提高抗体水平，在鸡培育期间增强 CEVAC 疫苗的作用，为所述动物提供更高程度的保护。

另外，我们业已发现，使用 VET-HBM 能显著降低由应激作用导致的经济损失（例如，热和运输应激）。

根据上述发现，本发明涉及发酵的麦芽提取物作为饲料补充物用于生产动物的饲料、营养物或预混合料的用途。本发明所使用的术语“动物”首先表示所有饲养的动物，如牛，马，猪，家禽，兔，养殖的鱼类；宠物，如狗，猫和其他家养动物；以及动物园动物。本发明的饲料补充物可以被用作饲养动物的增产剂，所述饲养动物优选家禽，如肉仔鸡，母鸡，烤鹅，羽毛鹅，肝鹅，烤鸭，火鸡，以及猪和猪崽。

根据另一方面，本发明涉及饲料、营养物和预混合料，除了已知的饲料，营养物和预混合料成分之外，它含有发酵的麦芽提取物。本发明的饲料和营养物含有的麦芽提取物的量为大约 0.001-10 重量%，优选 0.01-5.0 重量%，最优选 0.3-1.0 重量%。本发明的饲料和营养物预混合料可以含有用量为大约 0.001-50 重量%的麦芽提取物。本发明的制剂能够以如下方式制备：将通过本身已知的方法发酵的麦芽提取物与上述量的固体的、可锻的赋形剂混合，对于预混合料来说，分别与常用维生素和微量成分以及饲料混合。

本发明的 VET-HBM 补充物是分别与起始、培育和最终饲料或营

养物混合使用的，在培育的部分或整个过程中使用。VET-HBM 还可以施用在动物的饮用水中。

根据另一方面，本发明涉及用于提高饲养动物产量的方法。根据这种方法，在所述动物的饲料中添加发酵的麦芽提取物作为增产剂，并且用这种饲料饲养所述动物。上述增产剂的使用量为 0.1-6 g/饲料 kg，
5 优选 0.3-3 g/饲料 kg。

根据另一方面，本发明涉及发酵的麦芽提取物在动物中预防和/或减少枝原体感染，感染性炎症和家禽的球虫病感染，并且提高接种过的家禽的抗体效价的用途。可以将所述发酵的麦芽提取物有利地用于
10 预防鸡败血枝原体或关节液枝原体感染，预防和/或减弱家禽的球虫病感染，以及用于预防由猪肺炎枝原体对猪导致的肺炎。本发明涉及发酵的麦芽提取物在制备用于上述目的制剂中的用途。

本发明的含有发酵的麦芽提取物的兽医制剂可以按照常规方法制备，在所述制备过程中，所述活性成分与一种或多种兽医学上可接受的
15 的辅助材料混合，制成提高动物抵抗力的制剂，制成预防和/或治疗枝原体感染和感染性炎症的制剂，制成预防和/或治疗家禽球虫病感染的制剂，以及制成能提高接种过的家禽的抗体效价值的制剂。

使用通常应用于兽医实践中的辅助材料的所述制剂可以制成片剂，丸剂，胶囊，凝胶或糊剂。所述辅助材料包括明胶，天然糖类如
20 row sugar，乳糖，麦芽糖和葡萄糖，卵磷脂，果胶，环糊精，葡聚糖，聚乙烯吡咯烷酮，聚乙酸乙烯酯，合欢胶，苍耳烷胶，黄芪胶，琼脂-琼脂，藻酸，羧甲基纤维素，羧甲基纤维素钠，羟丙基羧纤维素，羟丙基甲基纤维素或类似的纤维素衍生物，乳化剂，油，脂肪，特别是由饱和脂肪酸衍生的甘油酯或聚甘油酯。

所述制剂中的成分的用量可以改变，并且它取决于各种因素，如接受治疗的动物的个体需要。所施用的剂量尤其取决于要治疗的动物的大小，以及要预防或治疗的疾病的类型。每日的剂量可以单剂施用或
25 分成供一天施用的多剂。

在下面的实施例中将对本发明作进一步说明，不过，这些实施例不
30 被理解为限定性的。

实施例

在下面的实施例中使用的 VET-HBM, 是按照以下方法制备的, 该方法大体上相当于 WO 99/08694 的实施例 2 的方法。

5 将 300 kg 麦芽研磨成面粉质地 (根据匈牙利的标准), 并且将 100 kg 的酵母(酿酒酵母)放入 5 m³ 的发酵罐中, 并且加入饮用水, 直到体积为 4000 l。发酵时间为 18 小时, 在此期间, 连续通气(0.5 l 空气/l 发酵的液体/分钟)并且缓慢搅拌(30 转/分钟)。为了抑制起泡沫, 向该混合物中添加 1 l/m³ 的向日葵油。在发酵之后, 停止通气和搅拌, 并且首先在螺旋倾析器中分离发酵的液体, 然后在分离器中分离, 最后在磨制分离器中分离。

10

级份 1 的制备。

对发酵液进行积聚过滤, 并且通过显微镜检查锐度。过滤的发酵液实际上不含有细胞, 这意味着在每 10 个观察点中最多出现 1 个酵母细胞。所得到的发酵液含有数量百分比为大约 1.5 重量%的干材料, 在真空冷凝器中, 在 40-50 °C 下对该发酵液进行蒸发, 并且在取消真空之后, 在大气压下蒸煮大约 15 分钟。此后测定该溶液的干材料含量, 并且首先将麦芽糖糊精溶解在热水中, 然后冷却, 再将它添加到所述溶液中, 使该溶液的干物质含量为大约 30 重量%。此后, 在剪切喷嘴旋转干燥器中对该溶液进行喷雾干燥, 其中, 输出空气的温度为大约 90 °C。所得到的粉末形式的最终产物含有 60 重量%的本发明的发酵的植物材料, 和 40 重量%的麦芽糖糊精。通过 HPLC 测定的二甲氧基-p-苯醌含量为 0.15 mg/g 干材料 ± 20%。

15

20

级份 2 的制备。

25 在螺旋倾析器上分离的具有 25-27 重量% 的干材料的生物物质以 1: 1 的比例在精细研磨的薄片状玉米载体上在流化干燥设备中干燥, 并且通过造粒将它的颗粒大小调整到 0.2-0.8 mm。

25

最终产品的制备

30 在 Lodge 系统的匀浆器中混合级份 1 和级份 2, 并且仔细地匀化。用这种方法获得的 2, 6-二甲氧基-p-苯醌含量为 0.11 mg/g 干材料 ± 20%。

30

实施例 1

将 32600 只 1 日龄的肉仔鸡 (Shaver Starbo) 用于饲养实验, 将这些鸡分成三个组。对照组 "K" 由 16300 只肉仔鸡组成, 两个实验实验组 ("I" 和 "II") 由 8150-8150 只肉仔鸡组成。所述饲料的内部含量相当于当时培育阶段的规定必须值。将 VET-HBM 标准化制剂与实验组 "I" 和 "II" 的动物的起始, 培育和最终营养物以 3 g/饲料 kg 的用量混合。

对照 "K" 组和实验 "II" 组的动物, 在 3-5 天时间内在饮用水中添加英氟沙星 [Avian Pathol. 19, 511-522 (1990)], 以便预防细菌感染。实验组 "I" 的动物不接受英氟沙星, 并且不采用任何其他鸡培育中常用的医学治疗。为了预防传染性粘液囊病, 将 CEVAC 疫苗 (Phylaxia, Budapest, Hungary) 与所述动物的饮用水混合, 所有三个组都使用这种疫苗。

供料系统是自动控制的, 并且与两个能容纳 10-10 吨饲料的槽连接。饲料的改变是逐步进行的。鸡窝是分布成 6 cm 厚度的大约 120 m³ 的干松木屑, 相当于每一次更换鸡窝时大约 100 吨肥料。通风是通过 44 台装有调速器的通风机解决的; 通风机的容量分别为 10000 m³/小时。

结果

1. 通过数字和百分比评估死亡:

在所述肉仔鸡饲养实验中, 孵化不足以及异常炎热的夏季温度 (热休克) 导致比通常情况 (5.3%) 更高的死亡率。在所述实验中, 对照组的死亡率为 5.57% (913), 在实验组 "I" 中的死亡率为 4.9% (400), 在实验组 "II" 中死亡率为 4.04% (330)。

因此, 根据所述死亡率可以发现, 在预防热休克方面, VET-HBM 能够对所述动物提供显著的帮助。

2. 通过百分比评估每周的体重增加:

在所述饲养过程中, 与对照相比, 在通过 VET-HBM 辅助材料获得的实验动物的每一种情况下, 分配到每一个培育周中的体重增加都较大。在下面的表 1 中示出了每周的重量测定结果和每周相对对照的

重量增加百分比。

表 1: 每周测定的鸡体重的结果

培育周数	"K" 组 (g)	"I" 组 (g)	体重 增加 (%)	"II" 组 (g)	体重 增加 (%)
1.	150	153	102,0	157	104,66
2.	372	375	100,8	379	101,88
3.	736	740	100,5	749	101,76
4.	1232	1276	103,57	1288	104,54
5.	1580	1589	100,56	1597	101,07
6.	1953	2001	102,45	2055	105,22

5

3.增肥形成指标的评估:

从下面的表 2 中可以看出, 在实验结束时, 获得了 VET-HBM 辅助材料的动物的体重增加超过了对照组的增加值, 在 "I" 组比对照多 2.45%, 在 "II" 组比对照多 5.22% 。

10 相反, 实验组的饲料单位利用率(饲料转化率)比没有获得辅助材料的 "K" 组的对照动物低。实验组 "I" 比对照组低大约 12% (1.85 kg/kg), 实验组 "II" 比对照组低大约 (1.84 kg/kg)。

表 2: 在大规模培育肉仔鸡过程中 VET-HBM 的作用

测量值	对照组"K"	实验组"I"	实验组"II"
动物的起始数量 (100%)	n = 16300	n = 8150	n = 8150
起始平均体重 (kg)	0.055 总计: 896.5	0.053 总计: 431.9	0.052 总计: 423.8
动物的最终数量, 占 起始数量的百分比	n = 15370 94.00%	n = 7750 95.09%	n = 7820 95.95%
最终总体重 (kg)	30017.6	15507.7	16070.1
最终平均体重(kg) , 占对照的百分比	1.953 100%	2.001 102.45%	2.055 105.22%
总饲料消耗 (kg)	61154.3	27890.1	28789.2
饲料转化率 (kg/kg) , 占对照的百 分比	2.10 100%	1.85 88.1% (-11.9)	1.84 87.6% (-12.4)

另外, 产出肉仔鸡的最终期限缩短了 1 周时间, 并且屠宰实验证实了瘦肉量, 特别是鸡胸肉和鸡腿肉量增加。

- 5 应当强调的是, 在实验组"I"中取消了在常规培育技术中一直采用的药物治疗, 并且所述动物只接受 VET-HBM。尽管存在这一事实, 所述肉仔鸡被证实了与接受常规培育技术和补充的 VET-HBM 的实验组"II"的成员具有相同的抗性。

- 10 粪便的稠度发生了改变, 腹泻病例的数量减少, 并且同窝动物的一致性改善了, 因为排出了较硬的粪便。从环保角度来看, 它具有重大作用, 因为必须改变大量的鸡窝, 而不是更罕见地改变鸡窝, 这一事实导致了材料和人力的节省。

在以 0.3 g/饲料 kg 的用量使用 VET-HBM 时, 我们获得了类似的结果。

15

实施例 2

在大规模生产场合下的猪圈中, 将三组 35 日龄的断奶的肉猪崽用于实验, 所有组中都是 50-50。在大约 60 天的饲养预实验过程中, 将 3

g VET- HBM 与 1 千克动物饲料混合。对照组的动物用直到本生产之前一直是用常规的饲料饲养。不过，两组实验动物从 35 日龄开始一直到 92 日龄都食用含有 VET- HBM 辅助材料的饲料。

在断奶时，将所述动物的同窝崽分成两组，其中的第一组是对照组 "A"，而第二组是实验动物的 "B" 组和 "C" 组，因此，消除了遗传学因素。在本实验中，所有三组动物都具有混合的性别。在饲养过程中，采用了生产中常用的培育，饲养和饮水技术。从 35 日龄开始直到 95 日龄，所述猪崽食用 Starter 猪崽营养物。所述饲料的配料是通过 Big Dutchman MC44-V03 系统的供料装置完成的。每天的饲料消耗是通过 LCD SCAN 型的供料计算机记录的。在所述实验过程中，记录了对照和实验组的以下数据：

- 动物的起始数量和最终数量，
 - 在实验开始时动物的体重，
 - 每一组所消耗的饲料，
 - 动物的卫生和临床状态的变化，以及偶然发生的疾病和死亡的原因，
 - 结束时的平均个体体重，以及总体重（分别称重，活体重量）。
- 结果如表 3 所示。

表 3: VET-HBM 对饲养猪崽的影响

测量值	对照组"A"	实验组"B"	实验组"C"
动物的起始数量 (100%)	n = 50	n = 50	n = 50
起始平均体重 (kg)	12.26 总计: 613	12.04 总计: 602	12.05 总计: 602.5
动物的最终数量, 占 起始数量的百分比	n = 47 94%	n = 49 98%	n = 50 100%
最终总体重 (kg)	1385.5	1523.9	1613.0
最终平均体重 (kg), 占对照的百分 比	29.48 100%	31.10 105.4%	32.26 109.43%
总饲料消耗 (kg)	1637.7	1843.8	1930.0
饲料转化率 (kg/kg), 占对照的 百分比	2.12 100%	2.00 94.33% (-5.67)	1.91 90.09% (-9.91)

从表 3 中可以看出, 用 VET-HBM 补充猪崽的饲料, 降低了死亡水平。对于 35-92 日龄的猪崽来说, 添加了 VET-HBM 的饲料, 能影响所述动物的体重增加, 即“B”组的猪崽的体重超过了对照动物 5.4% (31.10 kg), 而“C”组的猪崽的体重超过对照动物 9.43% (32.26 kg)。

饲料转化率 (饲料的单位利用率)比没有得到补充物的对照动物 (“A”)低, 即“B”组的动物比对照动物低 5.67%, “C”组的动物比对照动物低 9.91%。

粪便的稠度改变了, 在实验组的所有猪崽中都没有发生腹泻。同窝崽的一致性一直好于对照组的动物, 因为排泄了坚硬的粪便。

实施例 3

根据上述有利的结果, VET-HBM 的施用一直持续到增肥过程结束。从第 95 天开始, 所述猪在增肥过程中食用增肥营养物, 直到屠宰当天 (在 172 天期间)。在这种情况下, 所述饲料同样含有 3 g VET-HBM。结果如表 4 所示。

从表 4 中可以看出,直到增肥过程结束都没有出现死亡。所述猪的最终体重高于对照的体重(108 kg),即“B”组比对照高 1.8% (110 kg),“C”组比对照高 5.5% (114 kg)。

与对照组动物比,实验组动物的饲料转化率(饲料的单位利用率)较低,即分别低 10.9 和 15.2%。粪便的稠度发生了改变,在实验动物中没有发生腹泻。不过,对于对照动物来说,存在发生腹泻的猪。

表 4: VET-HBM 对培育增肥猪的影响

测量值	对照组 "A"	实验组 "B"	实验组 "C"
动物的起始数量 (100%)	n = 47	n = 49	n = 50
起始平均体重 (kg)	29.48 总计: 1385.56	31.10 总计: 1523.9	32.26 总计: 1613
动物的最终数量,占起始数量的百分比	n = 47 100%	n = 49 100%	n = 50 100%
最终总体重 (kg)	5076	5390	5700
最终平均体重 (kg), 占对照的百分比	108 100%	110 101.8% (+1.8)	114 105.5% (+5.5)
总饲料消耗 (kg)	12213.9	11404.7	11484.4
饲料转化率 (kg/kg), 占对照的百分比	3.31 100%	2.95 89.1% (-10.9)	2.81 84.8% (-15.2)

10 实施例 4

在大规模生产烤鹅的情况下进行了饲养实验,并且研究了 VET-HBM 的作用。将 250-250 只一级的刚孵化出来的混合性别的幼鹅用于实验,其中的一个组构成了实验组,而另一个组构成了对照组。所述饲料的内部含量参数相当于当前培育期所规定的必须值。在实验组中,将 VET-HBM 辅助材料以 0.3 g/饲料 kg 与所述动物的起始、培育和增肥营养物质混合。

所述动物的圈舍相当于鹅饲养的当前规定(禽类的数量: 8 只

/m²)。从圈养后第3天开始直到第14天,将室温从32℃逐渐降低到20-22℃。在预培育过程中,用人工光照补充天然光照。在预饲养过程中(4周),动物对水的摄取是通过尖形饮水装置完成的,然后通过管状饮水装置随意饮水。

5 在所述实验过程中,在这两组中纪录了以下参数:

- 动物的起始数量和最终数量,
- 临床状态,
- 死亡损失,同样表明了死亡的原因,
- 在28-55日龄时的个体体重,以及
- 10 -在28-55天期间的饲料转化率。

结果如表5所示。

从所获得的结果中可以看出,在鹅饲养过程中,补充了发酵的麦芽提取物的营养物能够非常有效的利用。

15

表5.在烤鹅培育过程中 VET-HBM 的作用

测量值	对照组	实验组
动物的起始数量 (100%)	n = 250	n = 250
起始平均体重 (kg)	0.087 总计: 21.75	0.087 总计: 21.75
动物的最终数量, 占对照的百分比	n = 238 95.2%	n = 241 96.4% (+1.2%)
最终的总体重(kg)	1193.33	1265.00
在第28天的平均体重(kg), 占对照的百分比	2.030 100%	2.167 106.74 (+6.74)
在第55天的平均体重(kg), 占对照的百分比	5.014 100%	5.249 104.68% (+4.68)
第28天的饲料转化率 (kg/kg), 占对照的百分比	2.52 100%	1.59 94.09% (-5.91)
第55天的饲料转化率 (kg/kg), 占对照的百分比饲料转化率	2.78 100%	2.52 90.65% (-9.35%)

与对照动物相比，实验动物的临床状态没有表现出任何偏差。与对照组的 4.8% 的值相比，在持续了 8 周时间的预培育阶段实验组的死亡率降低到 3.6%。与对照组相比，实验组表现出体重的显著增加。直到第 28 天，实验组的体重增加一直比对照组高 6.7%，而在第 55 天，实验组烤鹅的体重超过对照组动物的体重 4.7%。

实验组的饲料利用显著改善。与对照组相比，实验组的饲料转化率(单位利用率)更好，即在前 28 比对照组低 5.9%，而直到生命的第 55 天比对照组低 9.35%。

10

实施例 5

在大规模生产条件下对肉仔火鸡进行饲养实验，并且研究了喂食补加 VET-HBM 的饲料的作用。

所述实验是用分成四组的 1 日龄的幼火鸡进行的。在对照组中包括 9300 只母火鸡(A)和 8700 只公火鸡(C)，而在实验组中包括 9600 只母火鸡(C)和 9100 只公火鸡(D)，并且达到了肉用类型(BIG-6)。在 B 和 D 组的动物的饲料中，每千克饲料添加 0,3 g VET- HBM。

该实验是在大型火鸡养殖场进行的，其中，将被称为 BIG-6 (Gigant) (起源地: Nádudvar, Hungary)的 1 日龄的肉用杂交火鸡引入上述组。所有四组的饲养密度相同(4 只动物/m²)。在采用厚垫培育技术的建造结构中，室温，通风和湿度，是按照技术规定确保与当前年龄相当的。所述肉仔火鸡的饲料分别是常用于火鸡培育和增肥的起始、培育和最终火鸡营养物[并且它们是根据匈牙利饲料代码的规定(1990)配制的]; 在实验组 B 和 D 中，在每千克饲料中补加 0.3 g VET-HBM。

所述动物接受起始营养物，直到它们的生命的第 56 天，从它们的生命的第 57 天到 112 天食用培育营养物，并且从它们的生命的第 113 天直到增肥结束食用最终营养物。为了预防和治疗细菌感染，在所有四个组中都采用了常用于火鸡增肥的 Lincospectin。

在该实验过程中，在对照组和实验组纪录了以下数据：

- 最初的和最终的动物数量，
- 死亡损失，还标明了死亡原因，
- 在实验开始时的体重和在实验结束时的体重，

- 健康，临床状态发生的变化，
- 在培育过程中的技术错误，以及
- 饲料利用数据。

5 所获得的结果如表 6 所示。

表 6.在火鸡增肥过程中 VET-HBM 的作用

测量值	母鸡		公鸡	
	对照(A)	实验(B)	对照(C)	实验(D)
动物的起始数量	n = 9300	n = 9600	n = 8700	n = 9100
起始总体重 (kg)	586	595	539	564
起始平均体重 (kg)	0.063	0.062	0.062	0.062
动物的最终数量，占对照的百分比	n = 8804 94.66%	n = 9307 96.94% (+2.28%)	n = 8192 94.16%	n = 8714 95.75% (+1.58%)
最终总体重	77823	91581	138772	161906
最终平均体重，占对照的百分比	8.76 100%	9.84 112.32%	16.94	18.58 109.68%
饲料转化率 (kg 饲料/kg 重量增加)，占对照的百分比	3.27 100%	3.07 93.88% (-6.12)	3.24 100%	3.05 94.13 (-5.87)

与对照动物相比，实验动物的临床状态没有表现出任何异常。对照组的动物有更多的动物死亡，分别为 2.28%和 1.58%。

10 在实验结束时，两个实验组的体重增加更多，即 B 组比对照组多增加 12.32% ， C 组比对照组多增加 9.68%。

两个实验组的饲料转化率同样更好；与对照组相比，B 组和 D 组的饲料转化率分别比对照组低 6.12% 和 5.87%。

15 应当强调的是，作为一种显著优点，在火鸡增肥过程中主动脉裂隙和因为这种裂隙而死亡，通常是由于快速生长而发生的，这一事实因为使用 VET-HBM 而不再存在。

实施例 6. 对鸡败血枝原体作用的研究

所述研究是用没有关节液枝原体感染的肉用型 Arbor Acres 鸡进行的。所述动物没有关节液枝原体，是借助于鸡败血枝原体和关节液枝原体抗原(Intervet International B. V. m.; Boxmeer, The Netherlands) 5 通过系统血清学筛选检查证实的。另外，通过 ELISA-测验检验所述动物，该测验基于单克隆抗体，并且使用了 MYGA 检测试剂盒 (Diagnostikum Kft; Budapest, Hungary)和 MYSA 试剂盒(Svanova, Uppsala, Sweden) [Czifra, Gy. 等: Avian Dis. 37, 680-688 (1993)]。 10 所述血清学检查得到了阴性结果。另外，通过产生所述实验动物的相同的孵化，尝试了从 20 只 1 日龄小鸡的鼻腔，气管和气囊中分离枝原体，使用了培养基 B [Erno H. , 和 Stipkovits, L.: Acta Vet. Scand. 14, 436-449 (1973)]和 Frey's 培养基[Frey, M. C.等: Am. J. Vet. Res. 29, 2164- 2171 (1968)]。该培养同样得到了阴性结果。

15 将 120 只动物用于所述实验，将这些动物以相同的数量(30-30 只动物)分成 4 组，使 4 组的平均体重在斯氏 t 检验中彼此没有偏差。

为了感染实验动物，采用了鸡败血枝原体 № 1226，所述细菌事先在培养基 B 中扩增了 24 小时。细菌的含量为 9.5×10^8 pfu/ml (pfu = 噬斑形成单位)。

20 按以下方法处理和感染实验组:

将第 1 组放入 200 升的盒子中，该盒子与外界隔绝，向其中喷洒 10 ml 无菌培养基 B，然后将所述动物放在该盒子中 20 分钟时间。然后，将该组放入独立的房间，并且不对这些动物进行任何处理。这一组被视为阴性对照。

25 将第 2 组放入相同的盒子中，在该盒子中喷洒 10 ml 鸡败血枝原体培养液，然后将所述动物放在该盒子中 20 分钟时间，然后将该组放入独立房间中，并且不对这些动物作任何处理；该组被视为对照组，用于监测感染。

30 以与第 2 组相同的方式感染第 3 组，然后在放入第三个房间之后，在实验过程中给这些动物喂食含有浓度为 3 g/kg 的 VET-HBM 的鸡培育营养物。

以与第 2 组相同的方式感染第 4 组，在放入第四个房间之后，在实

验过程中给这些动物食用含有 200 mg/kg tiamutine (Biochemie GmbH, Kundl, Austria)的营养物。

为了判断所述治疗的效果,研究了以下参数:临床症状,体重改变,饲料转化率;除了它们的病理学、组织学和血清学检查之外,还进行了枝原体再分离。在它们的评估过程中,获得了以下结果。

结果

1.临床检查

每天研究临床症状和可能的死亡。在处理过的动物(第3组和第4组)中没有任何临床症状,而在感染的、未处理过的组中,从第6天开始出现了呼吸道症状,另外,在第7和第9天还出现了1-1死亡。

2. 体重增加

与对照组、未处理过的组以及两个处理组,感染的未处理过的组的体重增加在统计学上明显更低。与此同时,在两个处理组中,体重增加与对照组程度相同。

3. 饲料转化率

在感染的未处理过的组中饲料转化率提高了 0.45 kg/kg,而在处理组和对照组中保持相同水平。

4. 病理学检查

在该实验结束时,对所有动物进行病理学解剖检查,检查鸡败血枝原体感染所特有的气囊和腹膜炎特征。

在第1组中,所有动物都是阴性的,而在第2组中所有动物都表现出不同严重程度的气囊和腹膜感染。在处理过的第3组和第4组中,显著发生的病理学改变更少出现,并且它们的严重程度与第2组的动物相比明显更轻。分别用 VET-HBM 和 tiamutine 处理过的组的结果彼此没有差别。

5.组织学检查

在第2组中,由于感染,与未感染的第1组相比,淋巴细胞组织细胞支气管炎和小叶性间质性肺炎的数量显著增加。与此同时,分别用 VET-HBM 和 tiamutine 处理的第3组和第4组的参数保持与第1组相同的水平,小叶性间质性肺炎例外,在第3组中它的数量明显高于对照组。在检查的有关改变方面,第3组和第4组彼此没有统计学的差别。

6. 血清学检查

在鸡败血枝原体凝集实验中在载玻片上研究了所有鸡的血浆。对反应的严重性进行评分，并且通过卡方检验比较了得分的总和。到实验结束时第1组保持为阴性。在处理过的第3组和第4组中，显著更少的动物表现出血清学反应（分别为6和8，而第1组为25）。与未处理过的第2组相比（得分75），它们的得分明显更低（分别为6和11）。

7. 枝原体再分离

传染性枝原体属菌株的再分离是通过以下方式进行的。在感染1小时之后，将5-5只动物处死。将一段1-1 cm长的气管放入2 ml的液体培养基B中，并且在摇晃3分钟之后，在所述培养基中进行振荡细菌计数。在该实验结束时，用于感染的菌株的再分离是从所有鸡的呼吸器官（气管，肺，气囊）和其他器官（脑，肝脏，脾，肾，心脏）中分离的，通过棉球将从上述器官中取出的样品放入固体培养基B中。将所述琼脂斜面培养10天，然后对它们进行评估。使用特异性免疫血清，用epifluorescent方法对一部分分离物进行鉴定。

一旦感染之后，就不再能从第1组动物的气管中成功地分离枝原体。与此同时，可以在来自第2组感染动物的气管中表现出 1×10^2 - 2.7×10^3 pfu/ml的鸡败血枝原体。

在该实验结束时，不可能再培养用于感染第1组的菌株，而在第2组中，可以在64种场合下（首先来自气管，肺和气囊）对它们进行再培养。另一方面，第3组和第4组的再分离明显更少成功（分别为10和3次），并且仅来自某些肺和气管，而不能来自其他内部器官。在分别用VET-HBM和tiamutine处理的组中观察不到显著差别。

25 实施例 7. 检验抗柔嫩艾美虫的作用

将48只1日龄的鸡用于该实验，将这些鸡分成四组（每组12-12只）。将这些鸡分组圈养在笼子中；在实验过程中室温为28℃。在培育过程中，所述动物食用通常的起始营养物，并且自由地饮用水，直到达到14日龄（第1组和第2组）。第3组和第4组的营养物在每千克饲料中补充0.3 g VET-HBM。

通过含有 2×10^3 柔嫩艾美虫形成孢子的卵囊的悬浮液口服感染第2组和第4组的动物。

从感染的第7天开始，对粪便进行卵囊促排便研究。对同一组动物的每天的排便量进行称重，并且分别匀化。从每一只动物的粪便中称取相同的重量，并且用 2.5% $K_2Cr_2O_7$ 溶液匀化。在 McMaster 室中测定特定组的每日卵囊促排便，进行三次重复。结果如表 7 所示。

5

表 7. 在 McMaster 室中测定每天的卵囊促排便

对照组		处理组	
第1组 未感染	第2组 感染, 平均值 \pm SD	第3组 未感染	第4组 感染, 平均值 \pm SD
1. 第0天	21 500 \pm 0,02	1. 第0天	23 800 \pm 0,03
2. 第0天	120 500 \pm 0,31	2. 第0天	27 250 \pm 0,07 $p < 0,0001$
3. 第0天	84 500 \pm 0,11	3. 第0天	20 300 \pm 0,08 $p < 0,0001$
4. 第0天	75 800 \pm 0,22	4. 第0天	15 900 \pm 0,14 $p < 0,0001$
5. 第0天	5 700 \pm 0,13	5. 第0天	1 800 \pm 0,02 $p < 0,0001$
6. 第0天	950 \pm 0,03	6. 第0天	200 \pm 0,01 $p < 0,001$
7. 第0天	350 \pm 0,02	7. 第0天	15 \pm 0,01 $p < 0,001$

从上面的表 7 中可以看出，在获得了 VET-HBM 的受感染的第 4 组中的卵囊的发育，明显比食用传统营养物的受感染的第 2 组动物的卵囊发育少 ($p < 0.0001$ 和 $p < 0.001$)。在该组中，卵囊促排便的上升，在数日中都显著超过了处理组，并且这种较高的水平一直保持到该实验结束。

在第 0，第 7 和第 14 天测定的体重，证实了食用传统营养物的人工感染动物的体重直到实验结束当日一直在逐渐降低，而在食用 VET-HBM 的感染的和未感染的鸡的组中发现了体重的显著 ($p < 0.001$)

增加。

实施例 8. 测定接种过的鸡的抗体水平

将 7-7 只 1 日龄的 Ross-308 型小鸡(供应来源: Bábolna, Hungary) 5
分组用于本实验, 曾经用传染性粘液囊病疫苗(CEVAC 疫苗, 购自
Phylaxia, Budapest, Hungary)对处于卵中的这些小鸡进行过处理。在
半数鸡群的基础营养物中添加了用量为 0.3 g/饲料 kg 的 VET-HBM。
所述动物能自由地食用饲料和饮用水。分别在第 1 天和每周从对照和
处理鸡逐渐取血。分别收集它们的血液, 并且通过离心分离血清, 然
10 后在 -18℃ 的温度下保存, 直到进行处理。

通过 ELISA 试验测定抗体的数量。在该试验过程中, 通常将抗原
吸附在具有 96 个孔的聚苯乙烯板的壁上。要研究的血清的特异性抗体
与所述抗原结合, 而未结合的抗体通过洗涤而被除去, 然后用这种物
种特异性抗球蛋白血清补充所述系统, 所述球蛋白业已与辣根过氧化物
15 酶或其他酶缀合。所述抗球蛋白-缀合物分子不能进入所述反应, 可以
通过洗涤将它们除去。通过添加所述酶的底物, 可以通过颜色反应的
形式观察所述抗原-抗体-抗球蛋白缀合物“夹心结构”。在该实验中,
将检测传染性粘液囊炎抗体(ProfFLOKO® IBDELISA 试剂盒, 由
Kirkegaard & Perry Laboratories, Guilford, UK 生产; 产品目录号
20 54-81-01)的试剂盒用于测定。

所述测定是按照在上文所披露的方法进行的。在该测定中, 将 50-50
μl 血清添加到用抗原敏化的平板的孔中。将阳性和阴性对照血清放入
ELISA 平板的前部(-1, +2, -3)和后部(-94, +95, -96)的孔中。在室温
下将具有血清的平板温育 30 分钟, 然后用洗涤溶液(300 μl)洗涤所述
25 平板, 让所述溶液在孔中保持 3 分钟时间, 然后将其倒出。在 2 分钟
之后重复上述洗涤步骤。然后将 100 μl 来自所述试剂盒的缀合物逐孔
添加到所述样品中, 然后在室温下温育 30 分钟, 最后按照上述方法将
它们洗涤 2 次。然后, 将 100 μl 底物添加到该系统中, 并且, 在室温
下将它们温育 15 分钟。用 100 μl 终止溶液阻断所述反应。在 ELISA
30 读数装置上, 在 405-410 nm 的波长下读出形成的蓝绿色的颜色。根据
所获得的吸光度数据计算抗体效价, 每周分别对它们进行评估。

根据所述测定值可以确定, 所述动物在第 1 天的血液的血清的效价

值与对照组的正常值相同（平均为 13.5）。与对照组的值相比，在第 1 周采集的血清样品的效价值有所提高（平均值为 17.4）。在第 2 周，这种增长与对照组相比进一步提高（平均为 21.2）。在第 3 周，与对照组相比观察到了在 VET-HBM 处理的作用下出现的效价值的显著提升（平均为 30.3）。在第 4 周，处理组的效价值与对照相比增加 3 倍（平均为 42.1）。到第 5 周，所述效价值比对照组的高 4 倍（平均为 55.6）。到第 6 周，所述效价值几乎比在第 6 周测定的对照组的效价值高 5 倍（平均为 69.4）。

根据统计学评估，证实了所获得的值是显著的($p < 0.001$)，并且与对照相比表现出急剧上升。