

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6779619号
(P6779619)

(45) 発行日 令和2年11月4日(2020.11.4)

(24) 登録日 令和2年10月16日(2020.10.16)

(51) Int.Cl.	F I
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00
A 6 1 K 31/35 (2006.01)	A 6 1 K 31/35
A 6 1 K 31/351 (2006.01)	A 6 1 K 31/351
A 6 1 K 45/06 (2006.01)	A 6 1 K 45/06
A 6 1 K 45/08 (2006.01)	A 6 1 K 45/08

請求項の数 8 (全 58 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2015-556344 (P2015-556344)
 (86) (22) 出願日 平成26年2月10日 (2014. 2. 10)
 (65) 公表番号 特表2016-507533 (P2016-507533A)
 (43) 公表日 平成28年3月10日 (2016. 3. 10)
 (86) 国際出願番号 PCT/AU2014/000102
 (87) 国際公開番号 W02014/121343
 (87) 国際公開日 平成26年8月14日 (2014. 8. 14)
 審査請求日 平成29年2月9日 (2017. 2. 9)
 審判番号 不服2019-5074 (P2019-5074/J1)
 審判請求日 平成31年4月17日 (2019. 4. 17)
 (31) 優先権主張番号 2013900411
 (32) 優先日 平成25年2月8日 (2013. 2. 8)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 オーストラリア (AU)

(73) 特許権者 518387055
 ルオダ ファーマ リミテッド
 アイルランド国, ダブリン 2, 1 3 4 /
 1 3 5 バゴット ストリート ロウワー
 , レベル 2
 (74) 代理人 100114775
 弁理士 高岡 亮一
 (74) 代理人 100121511
 弁理士 小田 直
 (74) 代理人 100202751
 弁理士 岩堀 明代
 (74) 代理人 100191086
 弁理士 高橋 香元

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 乳房炎をはじめとする微生物感染を処置する方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

対象における細菌性乳房炎を処置する方法であって、ナラシン、サリノマイシン、ラサロシド、モネンシン、センデュラマイシン、マデュラマイシン及びライドロマイシンから選択されるポリエーテル系イオノフォアまたはその治療的に許容し得る塩の治療有効量を、100mg/乳頭管～600mg/乳頭管の範囲の用量で前記対象に乳房内投与することにより処置するステップを含む、方法。

【請求項 2】

前記細菌性乳房炎は、スタフィロコッカス・エピデルミディス、スタフィロコッカス・シミュランス、スタフィロコッカス・フェリス、スタフィロコッカス・キシローサス、スタフィロコッカス・クロモゲネス、スタフィロコッカス・ワーネリ、スタフィロコッカス・ヘモリチカス、スタフィロコッカス・シウリ、スタフィロコッカス・サブロフィチカス、スタフィロコッカス・ホミニス、スタフィロコッカス・カブラエ、スタフィロコッカス・コーニイ亜種コーニイ、スタフィロコッカス・コーニイ亜種ウレアリチカス (Staphylococcus cohnii subsp. urealyticus)、スタフィロコッカス・キャピティス亜種キャピティス、スタフィロコッカス・キャピティス亜種ウレアリチカス、スタフィロコッカス・ハイカス、スタフィロコッカス・アウレウス、スタフィロコッカス・シュードインターメディウス、スタフィロコッカス・デルフィニ、スタフィロコッカス・シュレイフェリ亜種コアグランス、スタフィロコッカス・アウレウス亜種アネロピウス、ストレプトコッカス・ウベリス、ストレプトコッカス・アガラクチ

エ、ストレプトコッカス・ディスガラクチエ、ストレプトコッカス・ピオゲネス、ストレプトコッカス・ボビス、ストレプトコッカス・エクイ亜種ズーエピデミクス、ストレプトコッカス・エクイヌス、バチルス・メラニノゲニカス、バチルス・プミルス、バチルス・リチェニフォルミス、バチルス・セレウス、バチルス・サブチリス、バチルス・アントラシス、エンテロコッカス・フェシウム、エンテロコッカス・フェカリス、エンテロコッカス・デュランス、リステリア・モノサイトゲネス、クロストリジウム・パーフリンゲンス、アクチノマイセス・ボビス、プロピオニバクテリウム・アクネス、プロピオニバクテリウム・グラヌロスム、エウバクテリウム、ペプトコッカス・インドリカス、およびペプトストレプトコッカス・アネロピウスを含む群から選択される細菌性物質によって引き起こされることを特徴とする、請求項 1 に記載の方法。

10

【請求項 3】

ナラシン、サリノマイシン、ラサロシド、モネンシン、センデュラマイシン、マデュラマイシン及びライドロマイシンから選択されるポリエーテル系イオノフォアまたは治療的に許容し得る塩の治療有効量と、場合により獣医学的に許容し得る賦形剤または担体を、100mg/乳頭管～600mg/乳頭管の範囲の用量で含有する、対象における細菌性乳房炎の治療用乳房内獣医学的抗菌組成物。

【請求項 4】

抗生物質および抗真菌薬を含む群から選択されるさらなる抗菌薬を含む、請求項 3 に記載の組成物。

20

【請求項 5】

キレート化剤を含む群から選択される賦形剤を含む、請求項 3 又は請求項 4 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 6】

対象における乳房炎の処置に用いられる場合の即時放出、持続放出または制御放出のための獣医学的デバイスであって、乳房内インジェクターと、請求項 3～5 のいずれか 1 項に記載の組成物と、を含む、デバイス。

【請求項 7】

対象における細菌性乳房炎の処置用の薬剤を製造する際の、ナラシン、サリノマイシン、ラサロシド、モネンシン、センデュラマイシン、マデュラマイシン及びライドロマイシンから選択されるポリエーテル系イオノフォアまたはその治療的に許容し得る塩の使用であって、100mg/乳頭管～600mg/乳頭管の範囲の用量で乳房内投与されることを特徴とする、薬剤を製造する際の使用。

30

【請求項 8】

前記細菌性乳房炎は、スタフィロコッカス・エピデルミディス、スタフィロコッカス・シミュランス、スタフィロコッカス・フェリス、スタフィロコッカス・キシローサス、スタフィロコッカス・クロモゲネス、スタフィロコッカス・ワーネリ、スタフィロコッカス・ヘモリチカス、スタフィロコッカス・シウリ、スタフィロコッカス・サブロフィチカス、スタフィロコッカス・ホミニス、スタフィロコッカス・カブラエ、スタフィロコッカス・コーニイ亜種コーニイ、スタフィロコッカス・コーニイ亜種ウレアリチカス、スタフィロコッカス・キャピティス亜種キャピティス、スタフィロコッカス・キャピティス亜種ウレアリチカス、スタフィロコッカス・ハイカス、スタフィロコッカス・アウレウス、スタフィロコッカス・シュードインターメディウス、スタフィロコッカス・デルフィニ、スタフィロコッカス・シュレイフェリ亜種コアグランス、スタフィロコッカス・アウレウス亜種アネロピウス、ストレプトコッカス・ウベリス、ストレプトコッカス・アガラクチエ、ストレプトコッカス・ディスガラクチエ、ストレプトコッカス・ピオゲネス、ストレプトコッカス・ボビス、ストレプトコッカス・エクイ亜種ズーエピデミクス、ストレプトコッカス・エクイヌス、バチルス・メラニノゲニカス、バチルス・プミルス、バチルス・リチェニフォルミス、バチルス・セレウス、バチルス・サブチリス、バチルス・アントラシス、エンテロコッカス・フェシウム、エンテロコッカス・フェカリス、エンテロコッカス・デュランス、リステリア・モノサイトゲネス、クロストリジウム・パーフリンゲンス、ク

40

50

ロストリジウム・ディフィシル、アクチノマイセス・ボビス、プロピオニバクテリウム・アクネス、プロピオニバクテリウム・グラヌロスム、エウバクテリウム、ペプトコッカス・インドリカス、およびペプトストレプトコッカス・アネロピウスを含む群から選択される細菌性物質によって引き起こされることを特徴とする、請求項7に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、対象における乳房炎の処置および予防の方法、それに用いられる場合の乳房内獣医学的抗菌組成物、ならびにそれに用いられる場合の乳房内獣医学的組成物に関する。

10

【背景技術】

【0002】

背景技術

人間医学および獣医学の両方における感染は多くの場合、ブドウ球菌属の細菌への感染により誘発される。ブドウ球菌は、健全な哺乳動物およびトリの片利共生生物であり、皮膚上および付属する腺の内部、鼻孔、ならびに一時的に胃腸管内で、そして上気道および下部尿生殖路の粘膜上で見出される場合がある。ブドウ球菌の多くの菌種は疾患を誘発しないが、特定の種は日和見病原性が可能である。医学的および獣医学的に重要である2つの主要な病原性ブドウ球菌属菌種が、スタフィロコッカス・アウレウスおよびスタフィロコッカス・シュードインターメディウスである。スタフィロコッカス・アウレウスは、乳房炎、皮膚および術後創部感染に関連するが、スタフィロコッカス・シュードインターメディウスは一般に、イヌおよびネコの発熱性皮膚感染および術後創部感染に関連する。スタフィロコッカス・シュードインターメディウスは、菌種スタフィロコッカス・インターメディウス、スタフィロコッカス・シュードインターメディウス、およびスタフィロコッカス・デルフィニを含む、スタフィロコッカス・シュードインターメディウス群(SIG)の獣医学的重要性のある主な病原種として同定された。

20

【0003】

抗生物質による細菌の処置

ブドウ球菌の処置は、特に対象が抗生物質耐性株に感染している場合には、困難になる可能性がある。ブドウ球菌による細菌感染は通常、細菌細胞壁の生合成において機能するペニシリン結合タンパク質(PBP)を標的とする抗菌薬の一分類：β-ラクタム系抗菌薬の投与により処置される。これらの抗菌薬は、殺菌活性を有し、細菌細胞壁の生合成を阻害することにより機能して、高い内部浸透圧をもたらし、細菌を溶解させる。しかし、細菌感染の処置における抗菌薬の使用、過剰使用および誤使用が、抗菌薬耐性菌を出現させており、ブドウ球菌属で特にその傾向が高い。ブドウ球菌の一部の種における耐性機構は、β-ラクタム系抗菌薬のβ-ラクタム環を加水分解することが可能なβ-ラクタマーゼ酵素の分泌を含む。この形態の耐性に取り組みするために、クラバン酸などのβ-ラクタマーゼ阻害剤が、典型的には、β-ラクタム系抗菌薬と共に同時投与されるか、またはβ-ラクタマーゼの基質でないメチシリンおよびクロキサシリンなどのペニシリンの合成類似体を用いることができる。

30

40

【0004】

近年になり、β-ラクタム系抗菌薬およびβ-ラクタマーゼ阻害剤との併用処置でさえ、ブドウ球菌の抗生物質耐性菌種に対して無効になることが立証された。メチシリン耐性スタフィロコッカス・アウレウス単離物(MRSA)の出現は、β-ラクタマーゼにより不活性化されないメチシリンおよび他のβ-ラクタム系抗菌薬の使用を事実上、妨害した。MRSA単離物は、現在では、突然変異したペニシリン結合タンパク質またはPBPをコードして、ペニシリンおよびその類似物、ならびに他のβ-ラクタム系抗菌薬、例えばほとんどのセファロスポリンおよびカルバペネムへの耐性を付与する、mecAまたはmecC耐性遺伝子を有することが見出されている。MRSAの問題は多くの場合、MRSA菌単離物が患者に伝染した病院内で、院内感染型MRSA(HA-MRSA)として遭

50

遇し、院内機器の汚染および職員の保菌によって院内に保持されることが多い。不幸にも免疫抑制されていて創傷または他の外傷を有する患者は、M R S A 感染およびブドウ球菌属の他の菌種への感染に容易に罹患する素因を有する。これにより多くの病院は、H A - M R S A 感染の発生を低減するために抗M R S A 策を講じた。より近年の問題が、市中感染型M R S A (C A - M R S A) と称される病院外でのM R S A 株の出現であった。これらの菌株は多くの場合、H A - M R S A よりも猛毒性であり、壊死性菌膜炎を誘発する場合がある。最も近年では、家畜関連M R S A (L A - M R S A) 菌株(例えば、欧州の配列タイプ[S T] 3 9 8、およびアジアのS T 9)が、ブタ、家禽、ウシ(乳牛など)および他の家畜種における新興感染症として記載された。

【 0 0 0 5 】

メチシリン耐性は、M R S A に加えて、他のブドウ球菌種でも観察された。例えば病原性のコアグラゼ陰性種(M R - C N S) およびスタフィロコッカス・シュードインターメディウス(M R S P) は、メチシリン耐性であることが公知である。異なる耐性機構を有する他の耐性種としては、M D R シュードモナス・エルギノサ、ならびにM D R 大腸菌およびエンテロバクター種、ならびにグラム陽性バンコマイシン耐性腸球菌(V R E)、ならびにペニシリンおよびマクロリド耐性連鎖球菌の菌種が挙げられる。

【 0 0 0 6 】

ウシ乳房炎

抗生物質による処置および予防を必要とする動物の主要な生産制限疾患の例が、ウシ乳房炎である。乳房炎は、畜産動物における抗生物質使用の最も多くを占める原因であり、感染を排除して乳房内感染の新たな例を予防するために乳製品業界の実質的なコストを占める。乳房炎は、ウシ乳腺または乳房の4つの分房のうちの1つ以上に発症し、罹患したウシの健康に悪影響を及ぼす可能性がある。乳頭括約筋が搾乳後に弛緩されると、病原が乳頭管を介して乳腺に侵入する。オーストララシア地区およびその他の地域において、乳房炎を誘発する最も一般的な病原として、ストレプトコッカス・ウベリス、スタフィロコッカス・アウレウス、コアグラゼ陰性ブドウ球菌、ストレプトコッカス・ディスガラクチエ、およびストレプトコッカス・アガラクチエが挙げられる。M R S A により誘発される乳房炎は、乳牛の体内で同定され、ヒトにおいて保菌、感染および疾患誘発を行い得る一部の菌株(S T 3 9 8 など)を世界全体に伝染し得る、乳牛の生産性破壊の新たな原因である。乳牛の乳房炎を処置するために現在、利用可能な製品のうち、M R S A に効果のあるものはほとんどなく、20年を超えて新しい抗細菌薬が開発および登録されていないため、微生物学および臨床的転帰を改善する新しい薬物および乳房内送達システムが、緊急に求められている。乳房炎を管理する上での歴史的失敗のほとんどが、検証済みの乳房内送達システム、動物への安全性があり一般的な乳房炎原因菌に対して信頼性および再現性の上で有効であるシステムという要件が適わないことによる。

【 0 0 0 7 】

乳房炎処置は、典型的にはウシの泌乳サイクルの2つの異なる期間：乾乳(D C) 期および搾乳または泌乳(L C) 期に投与される。泌乳期治療は、搾乳時に牛に投与されるが、乾乳期治療は、ウシが泌乳終了時の乾乳した時に牛に投与される。乾乳期治療は、泌乳期に蓄積される感染体を除去するため、次の泌乳までのキャリアオーバーを予防するため、そして乾乳期に受けた新たな感染体の数を低減するために投与される。乳房炎処置は多くの場合、乳房内注射または輸液により乳頭管から動物の乳房に投与される。

【 0 0 0 8 】

乾乳期治療

乾乳期処置は、抗菌薬輸液または乳頭シーラント導入により実施することができる。乾乳期の新たな感染を予防するために、ウシの自然な防御機構には、乳頭を密閉する自然なケラチンプラグの形成がある。ケラチンプラグは、乾乳期に乳頭管から細菌が侵入する際の効果的バリアを提供する。ほとんどのウシでは、ケラチンプラグの形成は、最後の搾乳および乾乳期開始後の最初の2週間にわたり漸進的に生じる。一部のウシは、ケラチンプラグを形成せず、乾乳期に感染を受け易い。乳頭縁部への外傷も、乳頭管を密閉する能力

10

20

30

40

50

に重大な影響を及ぼす可能性がある。

【0009】

ウシ乳房炎を処置する1つのアプローチが、抗菌剤の乳頭管および乳頭槽への乳房内輸液である。この標準技術は、Roger Blowey and Peter Edmondsonによる表題「Mastitis control in dairy herds」(2010)(第2版)という教書、そして特にCAB International(英国ウォーリングフォード)2010、p196~197の表題「Treatment and Dry Cow Therapy」の節に記載されている。抗菌剤は、乳頭管に部分的に挿入されたシリンジを介して投与され、抗生物質が乳頭から乳腺槽内および乳腺槽全体に揉み込まれる。

10

【0010】

乾乳期の完全なケラチンプラグを自然に形成することの遅延する、または明らかに不能である場合、ウシは新たな乳房炎感染のリスクに見舞われることになる。乳頭の自然な防御を補足し、乾乳期全体を通して乳頭管が効率的に密閉されるのを確実にする1つの方法が、内部乳頭シーラントの使用によるものである。内部乳頭シーラントの使用は、1970年代中期にMeaney, W. J.により「Dry period teat seal.」*Vet Rec.* 99(2)(1976)30に記載された。

【0011】

本出願者は、乾乳期感染を低減するのに利用できる2種の乳頭シール：乳頭端部に最大7日間にわたり可撓性バリアフィルムをもたらす外部フィルムシーラント、および内部乳頭管シールを認識している。外部シールは、現在は一般に用いられていないが、内部シールが投与されない後期乾乳期に用いることができる。内部シールは、はるかに効果的であり、最も一般的に用いられている。最も一般的には内部乳頭シールは、乾乳期に乳頭管に輸液される基剤の中のビスマス塩である。ビスマス塩は、抗細菌特性を有さず、このため投与時の厳密な衛生が不可欠である。しかし、内部乳頭シール組成物中に抗菌物質を含ませれば、既存の感染を処置して新たな感染を予防する確率を高めることができる。効果的な乾乳期処置は、乾乳期を通して抗菌薬の乳房内濃度を持続的および効果的にする乳房内調製剤を必要とする。例えば、モノステアリン酸アルミニウムゲル中に配合されて鉱物油に希釈されたペニシリン(特にクロキサシリンベンザチン)の不溶性塩の持続的投与(例えば、Smith, A., F. K. Neave, et al. (1967) *Journal of Dairy Research* 34(01): 47-57参照)。

20

30

【0012】

泌乳期治療

泌乳期調製剤を配合して、2つの相反する因子のバランスを模索する。該配合剤は、最終的な輸液が投与された後に許容されない濃度の牛乳残留物が持続することによる搾乳差し控えの期間を最小限に抑えながら、1日あたり2回以上の継続的な搾乳に逆らって、抗細菌物質の有効濃度を感染物質が存在する乳腺全体(即ち、感染部位)に可能な限り長期間、提供しなければならない。一般に泌乳牛において使用される調製剤は、数時間または数日間、高濃度をもたらす、急速放出性の水性または油性(鉱物油または植物油)基剤中に配合される。

40

【0013】

抗生物質耐性の出現により、MRSAおよびMRSPなどの多剤耐性菌株を阻害することが可能な別の化合物を提供する必要性が高まった。

【0014】

ポリエーテル系イオノフォア

ポリエーテル系抗生物質またはポリエーテル系イオノフォアとしても公知であるカルボキシルポリエーテルは、一価または二価カチオンと電気的に中性の複合体を形成して、様々な生体膜を通したカチオンまたはプロトンの電気的にサイレントな交換を触媒する。これらの化合物は、薬物耐性菌および原生動物感染の潜在的制御への大きな期待を示すこと

50

が報告されたが、それらの使用は、高い毒性によって厳密に制限されている。これらの分子は、生体膜を通して通常は非対称に分布されるカチオンを細胞膜または細胞内膜に透過性にし、それにより急激な濃度勾配を形成することにより機能する。ポリエーテル系イオノフォアの例としては、ラサロシド、モネンシン、ナラシン、サリノマイシン、センデュラマイシン、マデュラマイシンおよびライドロマイシンが挙げられる。

【0015】

しかし、赤血球溶解活性および心臓毒性によるこれらの化合物の急性毒性が、インビボでのそれらの使用を事実上妨害した。ヒト疾患を制御する薬物としてのポリエーテル系イオノフォアの使用に対する主な障害は、毒性の問題である。一例において、NaujokatおよびSteinhart (2012, J Biomed Biotechnol 950658) により報告された通り、サリノマイシンの少なからぬ毒性が、ヒトにおいて報告された。この症例において、35歳男性による約1mg/kgサリノマイシンの偶発的吸入および嚥下が、悪心を伴う急性的羞明、下肢脱力、頻脈および血圧上昇、ならびに慢性的な(2日目~35日目)クレアチンキナーゼ増加、ミオグロビン尿症、四肢脱力、筋肉痛、および軽度横紋筋融解重度を含む重度の急性および慢性サリノマイシン毒性を生じた。欧州食品安全機関は、近年になりリスク評価データを発表し、イヌによる500µg/kgを超えるサリノマイシンの連日摂取が髄鞘脱落および軸索変性などの神経毒作用を誘導することから、ヒトに関して5µg/kgサリノマイシンという一日摂取許容量(ADI)を公表した(Naujokat and Steinhart, 2012、上掲)。別の例において、Liu(1982, Polyether Antibiotics. Naturally Occurring Acid Ionophores. Volume 1. Biology. J. W. Westley. New York, Marcel Dekker Inc: 43-102)は、ポリエーテル系イオノフォアの高い経口および非経口毒性がポリエーテル系イオノフォアのインビボ抗菌活性に関する報告が存在しない理由として考えられることを例証している。

【0016】

本出願者が認識しているポリエーテル系イオノフォアのわずかな現行適用例が、コクシジウム病のコントロールおよび成長促進用に獣医学の経口投与剤として適用することである。

【0017】

さらにポリエーテル系イオノフォアの全てが、スタフィロコッカス・アウレウスなどのグラム陽性菌に対して有意な活性を示さず、ほとんどがグラム陰性菌に対する広域スペクトルの活性を有さない。NaujokatおよびSteinhart(2012、上掲)により報告された哺乳動物における少なからぬ毒性のために、サリノマイシンは、家畜における抗コクシウム剤および成長促進剤として使用されるに過ぎず、ヒトの薬物開発では適切な候補と見なされていない。

【0018】

MRSAおよびMRSPなどの多剤耐性菌による感染の処置において別の抗菌薬が依然として求められている。しかし、米国感染症学会および欧州疾病対策センターにより報告された通り、既存の処置を越える有望な結果を提示する新規薬物はほとんど開発されておらず、これらのうちブドウ球菌の処置に特化して投与されるものは、ほとんどない(Gilbert et al. 2010, Clinical Infectious Diseases, 50(8):1081-1083)。

【0019】

本発明の目的は、先行技術の欠点の一部または全てを克服することである。

【0020】

先に示された背景の議論は、本発明の理解を促すことのみを目的とするものである。その議論は、本出願の優先日に、参照された材料のいずれかが共通一般知識の一部であることまたは一部であったことの承認または許容ではない。

【発明の概要】

10

20

30

40

50

【発明が解決しようとする課題】

【0021】

発明の概要

本発明の一態様によれば、対象における乳房炎を処置する方法であって、ポリエーテル系イオノフォアまたはその治療的に許容し得る塩の治療有効量を対象の乳腺に投与するステップを含む、方法が提供される。

【0022】

本発明の別の態様によれば、対象における乳房炎を予防する方法であって、ポリエーテル系イオノフォアまたはその治療的に許容し得る塩の治療有効量を対象の乳腺に投与するステップを含む、方法が提供される。

10

【0023】

本発明の別の態様によれば、対象における乳房炎の処置または予防のための薬剤の製造において、ポリエーテル系イオノフォアまたはその治療的に許容し得る塩の使用が提供される。

【課題を解決するための手段】

【0024】

該投与は、乳頭管を介した乳房内注射または輸液などによる乳房内投与によるものであってもよい。

【0025】

本発明のさらなる特色は、モネンシン(A-3823Aとしても公知)、ナラシンA(A-28086Aとしても公知)、ナラシンB(A-28086Bとしても公知)、ナラシンD(A-28086Dとしても公知)、ラサロシド、サリノマイシン、およびマデュラマイシン、アルポリキシン(S-14750A、CP-38,986としても公知)、ライドロマイシン(AB-78としても公知)、レノレマイシン(A-130A、Ro21-6150としても公知)、A-130B、A-130C、ジアネマイシン(A-150(M5-16183)としても公知)、A-204A、A-204B、ロノマイシン(A-218としても公知)、デオキシライドロマイシン(A-712としても公知)、カルシマイシン(A-23187としても公知)、セプタマイシン(BL-580 および A-28695Aとしても公知)、A-28695B、K-41A(A-32887としても公知)、セプタマイシン(BL-580^bとしても公知)、BL-580、BL-580、BL-580Z、カリオマイシン、カルマイシン^b(calmycin^b) (A-23187としても公知)、カチオノマイシン、クロロノポリトマイシンA(X-14766Aとしても公知)、エーテロマイシン(CP-38,295、C-20-12、T-40517としても公知)、デオキシサリノマイシン(SY-1としても公知)、デオキシエピサリノマイシン(SY-2)、デオキシナラシン、デオキシエピナラシン、ジアネマイコン^b(dianemycon^b) (M5-16183、A-150としても公知)、エメリシド(ロノマイシンAおよびDE3938としても公知)、デュアマイシン(duamyacin)(ニゲリシン、ヘリキシンCおよびアザロマイシンMとしても公知)、グリドリキシン(gridorixin)、イオノマイシン、K-41B、ラサロシドA(X-537A)、ラサロシドB、ラサロシドC、ラサロシドD、ラサロシドE、イソラサロシドA、ロイセラマイシン、ロモマイシンB(lomomycin B)、ロモマイシンC、リソセリン、M-139603、モネンシンB、モネンシンC、モネンシンD、ムタロマイシン、ノポリトマイシンA、ノポリトマイシンB、RP30504、RP37454、サリノマイシン、サリノマイシンAII、SY-4、SY-5、SY-8、テトロノマイシン、TM-531B、TM-531C、X-206、X-14547A、X-14667A、X-14667B、X-14868A、X-14868B、X-14868C、X-14868D、5057、6016を含む群から選択される、ポリエーテル系イオノフォアまたはその治療的に許容し得る塩を提供する。

20

30

40

【0026】

好ましくはポリエーテル系イオノフォアは、サリノマイシン、ラサロシド、ナラシン、

50

マデュラマイシン、モネンシン、ライドロマイシン、およびセンデュラマイシンを含む群から選択される。

【0027】

該対象は、ウシ、ヒツジ、ヤギ、その他の反芻動物種、ラクダ科またはウマ科（ウマ、ロバおよびシマウマ）であってもよい。対象は、ヒトであってもよい。

【0028】

該ポリエーテル系イオノフォアは、5 mg / 乳腺 ~ 2,000 mg / 乳腺、好ましくは 20 mg / 乳腺 ~ 900 mg / 乳腺、より好ましくは 40 mg / 乳腺 ~ 600 mg / 乳腺、最も好ましくは 50 mg / 乳腺 ~ 500 mg / 乳腺を含む群から選択される用量で、対象の乳腺（反芻動物の乳房を形成する2つもしくは4つ、またはヒトの乳房）に投与される。例えばポリエーテル系イオノフォアは、50 mg / 乳腺、60 mg / 乳腺、70 mg / 乳腺、80 mg / 乳腺、90 mg / 乳腺、100 mg / 乳腺、110 mg / 乳腺、120 mg / 乳腺、130 mg / 乳腺、140 mg / 乳腺、150 mg / 乳腺、160 mg / 乳腺、170 mg / 乳腺、180 mg / 乳腺、190 mg / 乳腺、200 mg / 乳腺、210 mg / 乳腺、220 mg / 乳腺、230 mg / 乳腺、240 mg / 乳腺、250 mg / 乳腺、260 mg / 乳腺、270 mg / 乳腺、280 mg / 乳腺、290 mg / 乳腺、300 mg / 乳腺、310 mg / 乳腺、320 mg / 乳腺、330 mg / 乳腺、340 mg / 乳腺、350 mg / 乳腺、360 mg / 乳腺、370 mg / 乳腺、380 mg / 乳腺、390 mg / 乳腺、400 mg / 乳腺、410 mg / 乳腺、420 mg / 乳腺、430 mg / 乳腺、440 mg / 乳腺、450 mg / 乳腺、460 mg / 乳腺、470 mg / 乳腺、480 mg / 乳腺、490 mg / 乳腺、および 500 mg / 乳腺を含む群から選択される用量で、対象の乳腺に投与される。

10

20

【0029】

一実施形態において、該ポリエーテル系イオノフォアは、20 mg / 乳頭管 ~ 900 mg / 乳頭管、および 50 mg / 乳頭管 ~ 600 mg / 乳頭管を含む群から選択される用量で、対象に投与される。

【0030】

本発明の一実施形態において、該ポリエーテル系イオノフォアは、乳頭管を介して各乳腺に投与される。例えば該ポリエーテル系イオノフォアは、シリンジなどの乳房内デバイスを用いて乳頭管を介して投与される。これは、ウシに加え、ラクダ科およびウマ科などの反芻動物の乳房炎の処置に好ましい経路である。別の実施形態において、該ポリエーテル系イオノフォアは、乳腺の表面への局所適用を介して、または対象の皮膚を通した乳腺への直接注入もしくは乳管を介した注入により、対象に投与される。例えばヒトの乳房炎の処置において、該イオノフォアは、乳腺の表面への局所適用により、または乳管への輸液により、投与される。

30

【0031】

本発明の一実施形態において、該ポリエーテル系イオノフォアは、1日3回、1日2回、1日1回、2日毎に、1週間に1回、2週間に1回、1ヶ月に1回、乾乳期あたり1回、または乾乳期あたり2回からなる群から選択される投与レジメンを利用して対象に投与される。好ましくは該ポリエーテル系イオノフォアは、搾乳の直後に（または子孫に授乳した直後に）対象の乳腺（動物の乳房など）の各感染した1/4または半分に、乳頭管を介して投与される。例えば対象が1日2回搾乳される場合、該ポリエーテル系イオノフォアは、各搾乳の直後に投与される。好ましい実施形態において、該ポリエーテル系イオノフォアは、1日2回泌乳の際に、2日間、3日間、7日間、14日間、21日間および1ヶ月間各搾乳の直後に、もしくは乳房炎の兆候がもはや検出されなくなるまで対象に；またはウシへの適用の場合には泌乳の終了時に乾乳した乳牛に、もしくは初産前の若雌牛に、投与される。

40

【0032】

本発明の一実施形態において、該ポリエーテル系イオノフォアは、1 mg ~ 1000 mg ; 10 mg ~ 500 mg ; 10 mg ~ 400 mg ; 10 mg ~ 300 mg ; 10 mg ~

50

200 mg ; 10 mg ~ 100 mg ; および 50 mg ~ 100 mg からなる群から選択される、乳頭管（反芻動物）または乳房（ヒト）あたりの総用量で対象に投与される。好ましくは該ポリエーテル系イオノフォアは、150 mg、300 mg または 600 mg の、投与あたりの総用量で対象に投与される。

【0033】

本発明の一実施形態において、該ポリエーテル系イオノフォアは、動物対象の乳房またはヒト対象の乳房に投与される。一実施例において、該ポリエーテル系イオノフォアは、動物対象の乳房の4分の1または半数のそれぞれに投与される。一実施例において、該ポリエーテル系イオノフォアは、1 mg ~ 1000 mg ; 10 mg ~ 500 mg ; 10 mg ~ 400 mg ; 10 mg ~ 300 mg ; 10 mg ~ 200 mg ; 10 mg ~ 100 mg ; および 50 mg ~ 100 mg からなる群から選択される、分房あたりの（または動物種間の解剖学的差にもよるが動物の乳房半数あたりもしくはヒトの乳房あたりの）総用量で対象に投与される。より好ましくは、分房あたりの用量は、75 mg、150 mg、300 mg または 600 mg である。一実施形態において、分房あたりの（または動物の乳房半数あたりもしくはヒトの乳房あたりの）投与される用量は、1 mg、10 mg、20 mg、30 mg、40 mg、50 mg、60 mg、70 mg、80 mg、90 mg、100 mg、110 mg、120 mg、130 mg、140 mg、150 mg、160 mg、170 mg、180 mg、190 mg、200 mg、210 mg、220 mg、230 mg、240 mg、250 mg、260 mg、270 mg、280 mg、290 mg、300 mg、310 mg、320 mg、330 mg、340 mg、350 mg、360 mg、370 mg、380 mg、390 mg、400 mg、410 mg、420 mg、430 mg、440 mg、450 mg、460 mg、470 mg、480 mg、490 mg、500 mg、510 mg、520 mg、530 mg、540 mg、550 mg、560 mg、570 mg、580 mg、590 mg、600 mg を含む群から選択される。一実施例において、動物の乳房（4つ全てまたは2つのうちの2つ）またはヒトの両乳房あたりの総用量は、これらの用量に乳腺の数を掛け合わせた量から選択される。

【0034】

一実施形態において、処置後の対象の乳中の残留イオノフォアの濃度は、12時間後に1 ~ 200 mg / L ; 24時間後に0.1 ~ 5 mg / L ; 48時間後に0.01 ~ 2 mg / L ; および72時間後に0.0001 ~ 1 mg / L からなる群から選択される範囲である。好ましくは該濃度は、12時間後に200 mg / L 未満 ; 24時間後に5 mg / L 未満 ; 48時間後に1 mg / L 未満 ; および72時間後に0.5 mg / L 未満からなる群から選択される。あるいは該濃度は、12時間後に10 mg / L 未満 ; 24時間後に1 mg / L 未満 ; 48時間後に0.1 mg / L 未満 ; および72時間後に0.01 mg / L 未満からなる群から選択される。あるいは該濃度は、12時間後に1 mg / L 未満 ; 24時間後に0.1 mg / L 未満 ; 48時間後に0.01 mg / L 未満 ; および72時間後に0.001 mg / L 未満からなる群から選択される。あるいは該濃度は、12時間後に0.1 mg / L 未満 ; 24時間後に0.01 mg / L 未満 ; 48時間後に0.001 mg / L 未満 ; および72時間後に0.0001 mg / L 未満からなる群から選択される。

【0035】

該微生物は、原核生物または真核生物であってもよい。好ましくは乳房炎を誘発する微生物は、ブドウ球菌属の菌種、連鎖球菌属の菌種、桿菌属の菌種、腸球菌属の菌種、リステリア属の菌種、マイコプラズマ属の菌種、および嫌気性細菌からなる群から選択される細菌性物質であるが、これらに限定されない。該細菌性物質は、スタフィロコッカス・エピデルミディス、スタフィロコッカス・シミュランス、スタフィロコッカス・フェリス、スタフィロコッカス・キシローサス、スタフィロコッカス・クロモゲネス、スタフィロコッカス・ワーネリ、スタフィロコッカス・ヘモリチカス、スタフィロコッカス・シウリ、スタフィロコッカス・サブロフィチカス、スタフィロコッカス・ホミニス、スタフィロコッカス・カプラエ、スタフィロコッカス・コーニイ亜種コーニイ、スタフィロコッカス・コーニイ亜種ウレアリチカス (*Staphylococcus cohnii subs*

10

20

30

40

50

p. urealyticus)、スタフィロコッカス・キャピティス亜種キャピティス、スタフィロコッカス・キャピティス亜種ウレアリチカス、スタフィロコッカス・ハイカス、スタフィロコッカス・アウレウス、スタフィロコッカス・シュードインターメディウス、スタフィロコッカス・デルフィニ、スタフィロコッカス・シュレイフェリ亜種コアグランス、スタフィロコッカス・アウレウス亜種アネロピウス、ストレプトコッカス・ウベリス、ストレプトコッカス・アガラクチエ、ストレプトコッカス・ディスガラクチエ、ストレプトコッカス・ピオゲネス、ストレプトコッカス・ボビス、ストレプトコッカス・エクイ亜種ズーエピデミクス、ストレプトコッカス・エクイヌス、パチルス・メラニノゲニカス、パチルス・プミルス、パチルス・リチェニフォルミス、パチルス・セレウス、パチルス・サブチリス、パチルス・アントラシス、エンテロコッカス・フェシウム、エンテロコッカス・フェカリス、エンテロコッカス・デュランス、リステリア・モノサイトゲネス、クロストリジウム・パーフリンゲンス、アクチノマイセス・ボビス、プロピオニバクテリウム・アクネス、プロピオニバクテリウム・グラヌロスム、エウバクテリウム、ペプトコッカス・インドリカス、ペプトストレプトコッカス・アネロピウス、およびマイコプラズマ・ボビスを含む群から選択され得るが、これらに限定されない。

10

【0036】

より好ましくは該細菌性物質は、スタフィロコッカス・アウレウス、スタフィロコッカス・エピデルミディス、ストレプトコッカス・ウベリス、ストレプトコッカス・アガラクチエ、ストレプトコッカス・ディスガラクチエ、およびプロピオニバクテリウム・アクネスを含む群から選択される。

20

【0037】

最も好ましくは該細菌性物質は、抗生物質感受性株または抗生物質耐性株である。抗生物質耐性株の例としては、MRSAおよびテトラサイクリン耐性連鎖球菌属の菌種である。好ましい実施形態において、該細菌性物質は、MRSAである。

【0038】

一実施形態において、該細菌性物質は、コアグラゼ陰性ブドウ球菌(CNS)を含む群から選択されるが、これらに限定されない。コアグラゼ陰性ブドウ球菌(CNS)の例としては、スタフィロコッカス・エピデルミディス(ウシ乳房炎から単離)、スタフィロコッカス・シミュランス(ウシ乳房炎またはネコ皮膚炎から単離)、スタフィロコッカス・フェリス(ネコ皮膚炎から単離)、スタフィロコッカス・キシローサス(ウシ乳房炎またはウシ皮膚炎から単離)、スタフィロコッカス・クロモゲネス(ウシ乳房炎またはヤギ皮膚炎から単離)、スタフィロコッカス・ワーネリ(ヤギの細菌叢から単離)、スタフィロコッカス・ヘモリチカス(ヤギの細菌叢から単離)、スタフィロコッカス・シウリ(ブタ滲出性表皮炎から単離)、スタフィロコッカス・サブロフィチカス(ヤギの細菌叢から単離)、スタフィロコッカス・ホミニス(ブタの細菌叢から単離)、スタフィロコッカス・カブラエ(ヤギの細菌叢から単離)、スタフィロコッカス・コーニイ亜種コーニイ(ヤギの細菌叢から単離)、スタフィロコッカス・コーニイ亜種ウレアリチカス(ヤギの細菌叢から単離)、スタフィロコッカス・キャピティス亜種キャピティス(ウシ乳房炎から単離)、スタフィロコッカス・キャピティス亜種ウレアリチカス(ウシ乳房炎から単離)、およびスタフィロコッカス・ハイカス(ブタ滲出性表皮炎およびウシの細菌叢から単離)が挙げられる。

30

40

【0039】

別の実施形態において、該細菌性物質は、コアグラゼ陽性ブドウ球菌から選択される。例えば該細菌性物質は、スタフィロコッカス・アウレウス(ヒト、ウマ、イヌ、およびネコの細菌叢、ウシおよびヒツジの乳房炎、ならびに多くの種の皮膚炎および術後創感染から単離)、スタフィロコッカス・シュードインターメディウス(イヌ膿皮症、イヌおよびネコの細菌叢)、スタフィロコッカス・デルフィニ(イルカの可能性皮膚病変)、スタフィロコッカス・シュレイフェリ亜種コアグランス(イヌ外耳炎、イヌおよびネコの細菌叢)、およびスタフィロコッカス・アウレウス亜種アネロピウス(ヒツジリンパ節炎)を含む群から選択され得るが、これらに限定されない。最も好ましい実施形態において、該

50

細菌性物質は、シーケンスタイプ (ST) またはクローナルコンプレックス (CC) 398 または ST9 の家畜関連 MRSA、様々なヒト市中型 (CA) MRSA および院内型 (HA) MRSA をはじめとし、多くの系統、適合された多くの宿主から得ることができる *Staphylococcus aureus* である。

【0040】

別の実施形態において、該細菌性物質は、連鎖球菌属のものである。例えば該細菌性物質は、*Streptococcus uberis*、*Streptococcus agalactiae*、*Streptococcus dysgalactiae*、*Streptococcus pyogenes*、*Streptococcus bovis*、*Streptococcus equi* 亜種 *subsp. edimur*、および *Streptococcus equinus* を含む群から選択され得るが、これらに限定されない。該細菌は、ウシ乳房炎から単離され得る。

10

【0041】

別の実施形態において、該細菌性物質は、桿菌属のものである。例えば該細菌性物質は、*Bacillus melaninogenicus*、*Bacillus pumilus*、*Bacillus richieifolmis*、*Bacillus selous*、*Bacillus subtilis*、および *Bacillus anthracis* を含む群から選択され得るが、これらに限定されない。該細菌は、ウシ乳房炎から単離され得る。

【0042】

別の実施形態において、該細菌性物質は、腸球菌属のものである。例えば該細菌性物質は、*Enterococcus faecium*、*Enterococcus faecalis*、および *Enterococcus durans* を含む群から選択され得るが、これらに限定されない。該細菌は、ウシ乳房炎から単離され得る。

20

【0043】

別の実施形態において、該細菌性物質は、*Listeria* 属のものである。例えば該細菌性物質は、*Listeria monocytogenes* であってもよい。該細菌は、ウシ乳房炎から単離され得る。

【0044】

別の実施形態において、該細菌性物質は、嫌気性である。例えば該細菌性物質は、*Clostridium perfringens*、*Actinomyces bovis*、*Propionibacterium acnes*、*Propionibacterium granulosum*、*Eubacterium*、*Peptococcus indolicus*、および *Peptostreptococcus anaerobius* を含む群から選択され得るが、これらに限定されない。該細菌は、ウシ乳房炎から単離され得る。

30

【0045】

別の実施形態において、該微生物は、*Mycoplasma* 属のものである。例えば該微生物は、*Mycoplasma bovis* であってもよい。該細菌性物質は、ウシ乳房炎から単離され得る。

好ましい実施形態において、該微生物は、*Staphylococcus aureus* である。最も好ましい実施形態において、該微生物は、MRSA である。

【0046】

本明細書に記載されたポリエーテル系イオノフォアが典型的にはグラム陽性菌および多数の嫌気性細菌に加え、真菌に対して効果的であることは、理解されよう。本明細書に記載されたポリエーテル系イオノフォアに対する微生物の感受性は、個々の菌株に応じて変動するが、一般には、*Clostridium*、*Eubacterium*、*Propionibacterium*、*Mycobacterium* および *Streptomyces* などの一部の嫌気性細菌と同様にグラム陽性球菌および桿菌も、影響を受け易い。*Sclerotinia sclerotiorum*、*Monilia laxa*、*Fomopsis mariae*、*Botrytis cinerea*、*Trichosemium roseum*、および *Beltrichium alporium* などの真菌および酵母もまた、本明細書に記載されたポリエーテル系イオノフォアに対して感受性を示し得る。

40

【0047】

本発明の別の態様によれば、ポリエーテル系イオノフォアまたはその治療的に許容し得

50

る塩の治療有効量を含む乳房内医学的抗菌組成物が提供される。本発明の乳房内獣医学的抗菌組成物を、ヒトの乳房炎の処置に用いられ得る。

【0048】

本発明の別の態様によれば、ポリエーテル系イオノフォアまたはその治療的に許容し得る塩の治療有効量を含む乳房内獣医学的抗菌組成物が提供される。

【0049】

本発明の乳房内獣医学的抗菌組成物は、ウシの乳房炎の処置に用いられ得る。

【0050】

本発明の抗菌組成物は、乾乳牛の乳房炎を処置するため、または泌乳牛の乳房炎を処置するために配合され得る。乾乳牛の乳房炎を処置するための製剤は、該製剤をゲル化、さもなければ固化し、乳頭管を密閉することを目的とした賦形剤をさらに含むことができる。泌乳牛の乳房炎を処置するため製剤は、製剤が泌乳牛の乳腺に保持されないように急速な放出を目的とした賦形剤をさらに含むことができる。

【0051】

一実施形態において、乳房内抗菌組成物は、不純物を含み、該組成物の総重量の百分率として表した不純物の量は、不純物20%未満（組成物の総重量に対して）；不純物15%未満；不純物10%未満；不純物8%未満；不純物5%未満；不純物4%未満；不純物3%未満；不純物2%未満；不純物1%未満；不純物0.5%未満；不純物0.1%未満からなる群から選択される。一実施形態において、乳房内抗菌組成物は、微生物の不純物または二次代謝産物を含み、該組成物の総重量の百分率として表した微生物不純物の量は、5%未満；4%未満；3%未満；2%未満；1%未満；0.5%未満；0.1%未満；0.01%未満；0.001%未満からなる群から選択される。一実施形態において、該乳房内抗菌組成物は、滅菌性であり、密閉された滅菌性の容器に貯蔵される。一実施形態において、該乳房内抗菌組成物は、検出可能なレベルの微生物混入物を全く含まない。

【0052】

本発明の組成物は、さらなる抗菌薬を含むことができる。さらなる抗菌薬は、抗真菌薬であってもよい。

【0053】

一実施形態において、該抗真菌薬は、エキノカンジン系（アニデュラファンギン、カスポファンギン、ミカファンギン）、ポリエン系（アンホテリシンB、カンジシジン、フィリピン、ファンギクロミン、ハチマイシン、ハマイシン、ルセンソマイシン、メパルトリシン、ナタマイシン、ナイスタチン、ペチロシン、ペリマイシン、グリセオフルピン、オリゴマイシン、ピロールニトリン、シッカニン、およびピリジン（Viridin）を含む群から選択されるが、これらに限定されない。該抗真菌薬は、アシルアミン系（ブテナフィン、ナフチフィン、テルピナフィン）；イミダゾール系（ピホナゾール、プトコナゾール、クロルミダゾール、クロコナゾール、クロトリマゾール、エコナゾール、フェンチコナゾール、フルトリマゾール、イソコナゾール、ケトコナゾール、ラノコナゾール、ミコナゾール、ネチコナゾール、オモコナゾール、硝酸オキシコナゾール、セルタコナゾール、スルコナゾール、チオコナゾール）、チオカルバメート系（リラナフタート、トルシクラート、トリンダート、トルナフタート）、トリアゾール系（フルコナゾール、イサブコナゾール、イトラコナゾール、ボサコナゾール、ラブコナゾール、サベルコナゾール、テルコナゾール、ポリコナゾール）、アクリソルシン、アモロルフィン、プロモサリチルクロルアニリド、ブクロサミド、プロピオン酸カルシウム、クロルフェネシン、シクロピロクス、クロキシキン、コパラフィネート、エキサラミド、フルシトシン、ハロプロジン、ヘキセチジン、ロフルカルバン、ニフラテル、ヨウ化カリウム、プロピオン酸、ピリチオン、サリチルアニリド、プロピオン酸ナトリウム、スルベンチン、テノニトロゾール、トリアセチン、ウンデシレン酸、およびプロピオン酸亜鉛を含む群から選択される合成化合物であってもよいが、これらに限定されない。

【0054】

別の実施形態において、該抗真菌薬は、アモロルフィン、アンホテリシンB、アニデュ

10

20

30

40

50

ラファンギン、ビホナゾール、プロモクロロサリチルアニリド、ブテナフィン塩酸塩、硝酸プトコナゾール、酢酸カスポファンギン、クロルミダゾール塩酸塩、クロルフェネシン、シクロピロクス、クリムバゾール、クロトリマゾール、クロキシキン、塩酸クロコナゾール、エベルコナゾール硝酸塩、エコナゾール、エニルコナゾール、フェンチコナゾール硝酸塩、フルコナゾール、フルシトシン、フルトリマゾール、フォスフルコナゾール、グリセオフルピン、イソコナゾール、イトラコナゾール、ケトコナゾール、ラノコナゾール、リラナフタート、ルリコナゾール、メパルトリシン、ミカファンギンナトリウム、ミコナゾール、ナフチフィン塩酸塩、ナタマイシン、塩酸ネチコナゾール、ニフロキシム (Nifuroxime)、ナイスタチン、硝酸オモコナゾール、硝酸オキシコナゾール、パルコナゾール塩酸塩、ペンタマイシン、ピロクトンオラミン、ポサコナゾール、プロピオン酸、ピロールニトリン、ラブコナゾール、硝酸セルタコナゾール、シッカニン、パラクロロ安息香酸ナトリウム、硝酸スルコナゾール、テルピナフィン、テルコナゾール、チオコナゾール、トルシクラート、トルナフタート、トリアセチン、グルクロン酸トリメトレキサート、ウンデカン酸、およびポリコナゾールを含む群から選択され得るが、これらに限定されない。

10

【0055】

本発明の組成物は、 - ラクタマーゼ阻害剤 (クラブラン酸、スルバクタム、スルタミシリン、タゾバクタム)、腎ジペプチダーゼ阻害剤 (シラスタチン)、および腎保護剤 (ベタミブロン) を含む群から選択される抗生物質補助剤を含み得るが、これらに限定されない。

20

【0056】

一実施形態において、本発明の組成物は、アミノグリコシド系 (アミカシン、アルベカシン、バンベルマイシン、プチロシン、ジベカシン、ジヒドロストレプトマイシン、ホルチミシン、ゲンタマイシン、イセパマイシン、カナマイシン、マイクロノマイシン、ネオマイシン、ネチルマイシン、パロモマイシン、リボスタマイシン、シソマイシン、スペクチノマイシン、ストレプトマイシン、トブラマイシン)、アムフェニコール系 (アジダムフェニコール、クロラムフェニコール、チアムフェニコール)、アンサマイシン系 (リファミド、リファンピン、リファマイシンSV、リファペンチン、リファキシミン)、 - ラクタム系、カルバセフェム系 (ロラカルベフ)、カルバペネム系 (ピアペネム、ドリペネム、エルタペネム、イミペネム、メロペネム、パニペネム)、セファロsporin系 (セファクロル、セファドロキシル、セファマンドール、セファトリジン、セファゼドン、セファゾリン、セフカペン、セフジニル、セフジトレン、セフェピム、セフェタメト、セフィキシム、セフメノキシム、セフォジジム、セフォニシド、セフォペラゾン、セフォラニド、セフォセリス、セフォタキシム、セフォチアム、セフォゾプラン、セフピミゾール、セフピラミド、セフピロム、セフポドキシム、セフプロジル、セフロキサジン、セフスロジン、セフトロリン、セフトラジジム、セフテラム、セフテゾール、セフチブテン、セフチゾキシム、セフトピプロールメドカリル、セフトリアキソン、セフロキシム、セフゾナム、セファセトリル、セファレキシン、セファログリシン、セファロリジン、セファロチン、セファピリン、セフラジン、ピブセファレキシン)、セファマイシン系 (セフペラゾン、セフメタゾール、セフミノックス、セフォテタン、セフォキシチン)、モノバクタム系 (アズトレオナム、カルモナム)、オキサセフェム系 (フロモキセフ、モキサラクタム)、ペネム系 (ファロペネム、リチペネム)、ペニシリン類 (アムジノシリン、アムジノシリンピボキシリン、アモキシシリン、アンピシリン、アパルシリン、アスポキシシリン、アジドシリン、アズロシリン、バカンピシリン、カルベニシリン、カリンダシリン、クロメトシリン、クロキサシリン、シクラシリン、ジクロキサシリン、エピシリン、フェンペニシリン、フロキサシリン、ヘタシリン、レナンピシリン、メナムピシリン、メチシリンナトリウム、メズロシリン、ナフシリン、オキサシリン、ペナメシリン、ヨウ化水素酸ペネタメート、ペニシリンG、ペニシリンGベンザチン、ペニシリンGプロカイン、ペニシリンN、ペニシリンO、ペニシリンV、フェネチシリンカリウム、ピペラシリン、ピバンピシリン、プロピシリン、キナシリン、スルベニシリン、スルタミシリン、タランピシリン

30

40

50

、テモシリン、チカルシリン)、リンコサミド系(クリンダマイシン、リンコマイシン)、マクロリド系(アジスロマイシン、セトロマイシン、クラリスロマイシン、ジリスロマイシン、エリスロマイシン、エリスロマイシンアシストラート、エリスロマイシンエストラート、グルコヘプトン酸エリスロマイシン、ラクトビオン酸エリスロマイシン、プロピオン酸エリスロマイシン、ステアリン酸エリスロマイシン、フィダキソマイシン、ジョサマイシン、ロイコマイシン、ミデカマイシン、ミオカマイシン、オレアンドマイシン、プリマイシン、ロキタマイシン、ロサラマイシン、ロキシスロマイシン、スピラマイシン、テリスロマイシン、トロレアンドマイシン)、ポリペプチド系(アンホマイシン、バシトラシン、バシトラシン亜鉛、カプレオマイシン、コリスチン、ダルババンシン、ダプトマイシン、エンジュラシジン、エンピオマイシン、フサファンギン、グラミシジン、グラミシジンS、イセガナン、オリタバシン、ポリミキシン、キヌプリスチン、ラモプラニン、リストセチン、テイコプラニン、テラバンシン、チオストレプトン、ツベラクチノマイシン、チロシジン、チロトリシン、バンコマイシン、バイオマイシン)、テトラサイクリン系(クロルテトラサイクリン、クロモサイクリン、デメクロサイクリン、ドキシサイクリン、グアメサイクリン(Guamecycline)、リメサイクリン、メクロサイクリン、メタサイクリン、ミノサイクリン、オキシテトラサイクリン、ピパサイクリン、ロリテトラサイクリン、テトラサイクリン、チゲサイクリン)、その他(シクロセリン、ダルフォプリスチン、ホスホマイシン、フシジン酸、ムピロシン、プリスチナマイシン、レタパムリンおよびバージニアマイシン)を含む群から選択されるさらなる抗生物質を含むが、これらに限定されない。

10

20

【0057】

別の実施形態において、本発明の組成物は、2,4-ジアミノピリミジン系(プロジモプリム、イクラプリム、テトロキソプリム、トリメトプリム)、ニトロフラン系(フラルタドン、塩化フラゾリウム、ニフラテル、ニフルフォリン、ニフルピリノール、ニフルトイノール、ニトロフラントイン)、オキサゾリジノン系(リネゾリド)、ペプチド系(オミガナン、ペキシガナン)、キノロン系および類似体(パロフロキサシン、ベシフロキサシン、シノキサシン、シプロフロキサシン、クリナフロキサシン、エノキサシン、フィナフロキサシン、フレロキサシン、フルメキン、ガレノキサシン、ガチフロキサシン、ゲミフロキサシン、グレパフロキサシン、ロメフロキサシン、ミロキサシン、モキシフロキサシン、ナジフロキサシン、ナジリクス酸、ノルフロキサシン、オフロキサシン、オキソリン酸、パズフロキサシン、ペフロキサシン、ピベミド酸、ピロミド酸、ブルリフロキサシン、ロソキサシン、ルフロキサシン、シタフロキサシン、スパルフロキサシン、トスフロキサシン、トロバフロキサシン)、スルホンアミド系(アセチルスルファメトキシピラジン、クロラミンB、クロラミンT、ジクロラミンT、マフェニド、ノプリルスルファミド、フタリルスルファセトアミド、フタリルスルファチアゾール、サラゾスルファジミジン、スクシニルスルファチアゾール、スルファベンズアミド、スルファアセトアミド、スルファクロロピリダジン、スルファクリソイジン、スルファシチン、スルファジアジン、スルファジクラミド、スルファドキシシン、スルファエチドール、スルファグアニジン、スルファグアノール、スルファレン、スルファロキクス酸、スルファメラジン、スルファメータ、スルファメタジン、スルファメチゾール、スルファメトミジン、スルファメトキサゾール、スルファメトキシピリダジン、スルファメトロール、スルファミドクリソイジン、スルファモキソール、スルファニルアミド、N4-スルファニリルスルファニルアミド、スルファニリル尿素、N-スルファニリル-3,4-キシルアミド、スルファペリン、スルファフェナゾール、スルファプロキシリン、スルファピラジン、スルファピリジン、スルファチアゾール、スルファチオ尿素、スルフィソミジン、スルフィソキサゾール)、スルホン系(アセジアルスホン、ダブソン、グルコスルホンナトリウム、スクシスルホン、スルファニル酸、p-スルファニリルベンジルアミン、スルホキソンナトリウム、チアゾールスルホン)、クロフォクトール、メテナミン、メトロニダゾール、ニトロキソリン、タウロリジン、およびキシボルノールを含む群から選択される合成抗生物質をさらに含むが、これらに限定されない。

30

40

50

【 0 0 5 8 】

別の実施形態において、本発明の組成物は、アセジアスルホンナトリウム、アミカシン、アミノサリチル酸、アモキシシリン、アンピシリン、アブラマイシン、硫酸アルベカシン、アルサニル酸、アスポキシシリン、硫酸アストロマイシン、アピラマイシン、アポバルシン、アジダムフェニコール、アジドシリンナトリウム、アジスロマイシン、アズロシリン、アズトレオナム、塩酸バカンピシリン、バシトラシン、パロフロキサシン、バンベルマイシン、バクイロプリム、硫酸ベカナマイシン、ベネタミンペニシリン、ベンザチンベンジルペニシリン、ベンザチンフェノキシメチルペニシリン、ベンジルペニシリン、ベシフロキサシン、ベタミプロン、ピアペナム、プロジモプリム、硫酸カプレオマイシン、カルバドックス、カルベニシリンナトリウム、カリンダシリンナトリウム、カルモナムナトリウム、セファクロル、セファドロキシル、セファレキシン、セファロニウム、セファロリジン、セファロチンナトリウム、セファマンドール、セファピリンナトリウム、セファトリジン、セファゾリン、セフペラゾン、セフカペンキボキシル塩酸塩、セフジニル、セフジトレンピボキシル、セフェピム塩酸塩、セフェタメト、セフィキシム、セフメノキシム塩酸塩、セフメタゾール、セフミノックスナトリウム、セフォジジムナトリウム、セフォニドナトリウム、セフォペラゾンナトリウム、セフォラニド、セフォセリス硫酸塩、セフォタキシムナトリウム、セフォテタン、塩酸セフォチアム、セフォベシリンナトリウム、セフォキシチンナトリウム、セフォゾプラン塩酸塩、セフピラミド、硫酸セフピロム、セフボドキシムプロキセチル、セフプロジル、硫酸セフキノム、セフラジン、セフロジンナトリウム、セフトアロリンフォサミル酢酸塩、セフトアジジム、セフテラムピボキシル、セフテゾールナトリウム、セフチブテン、セフチオフル、セフチゾキシムナトリウム、セフトビプロールメドカリル、セフトリアキソンナトリウム、セフロキシム、セスロマイシン、クロラムフェニコール、クロロキシチン、クロルキナルドール、クロルテトラサイクリン、シクラシリン、シラスタチンナトリウム、シノキサシン、シプロフロキサシン、クラリスロマイシン、クラブラン酸、クレミゾールペニシリン、クリンダマイシン、クリオキノール、クロファジミン、クロフォクトール、クロメトシリンカリウム、クロキサシリン、硫酸コリスチン、コテトロキサジン、コトリファモール (C o - t r i f a m o l e)、コトリモキサゾール、シクロセリン、ダルババンシン、メシル酸ダノフロキサシン、ダブソン、ダプトマイシン、デラマニド、デメクロサイクリン、硫酸ジベカシン、ジクロキサシリン、塩酸ジフロキサシン、硫酸ジヒドロストレプトマイシン、ジリスロマイシン、ドリベナム、ドキシサイクリン、エノキサシン、エンロフロキサシン、エルタベナムナトリウム、エリスロマイシン、エタムブトール塩酸塩、エチオナミド、硫酸エチマイシン、ファロペナムナトリウム、フィダキソマイシン、フレロキサシン、フロモキセフナトリウム、フロルフェニコール、フルクロキサシリン、フルメキン、フルリスロマイシンエチルスクシナート、フォルモスルファチアゾール、ホスホマイシン、硫酸フラマイセチン、フチバジド、塩酸フララルタドン、フラジジン (F u r a z i d i n)、フサファンギン、フシジン酸、ガミスロマイシン、メシル酸ガレノキサシン、ガチフロキサシン、メシル酸ゲミフロキサシン、硫酸ゲンタマイシン、グラミシジン、グラミシジンS、ハルキノール、イバフロキサシン、イクラプリム、イミペナム、イセパマイシン、イソニアジド、ジョサマイシン、酸性硫酸カナマイシン、キササマイシン、ラタモキセフナトリウム、レボフロキサシン、リンコマイシン、リネゾリド、塩酸ロメフロキサシン、ロラカルベフ、リメサイクリン、マフェニド、マガイニン、マンデル酸、マルボフロキサシン、メシリナム、メクロサイクリン、メレウマイシン (M e l e u m y c i n)、メロペナム、メタサイクリン、メテナミン、メチシリンナトリウム、メズロシリン、硫酸ミクロノマイシン、ミデカマイシン、ミノサイクリン、モリナミド、塩酸モキシフロキサシン、ムピロシン、ナジフロキサシン、ナフシリンナトリウム、ナリジクス酸、ネオマイシン、硫酸ネチルマイシン、ニフロキサジド、ニフルピリノール、ニフルトイノール、ニフルジド、ニシン、ニトロフラントイン、ニトロフラゾン、ニトロキソリン、ノルフロキサシン、塩酸ノルバンコマイシン、ノボピオシン、オフロキサシン、リン酸オレアンドマイシン、オルビフロキサシン、オリタバシン、オルメトプリム、オキサシリンナトリウム、オキソリン酸、

10

20

30

40

50

オキシテトラサイクリン、パニペネム、メシル酸パズフロキサシン、メシル酸ペフロキサシン、塩酸ペネタメート、フェネチシリンカリウム、フェノキシメチルペニシリン、フタルルスルファセトアミド、フタルルスルファチアゾール、ピペミド酸、ピペラシリン、塩酸ピルリマイシン、ピロミド酸、ピバンピシリン、ピブメシリナム、硫酸ポリミキシム B、プラドフロキサシン、プリスチナマイシン、プロカイン、ベンジルペニシリン、プロピシリンカリウム、プロチオンアミド、プルリフロキサシン、ピラジナミド、キヌプリスチン/ダルフォプリスチン、ラモブラニン、レタバムリン、硫酸リボスタマイシン、リファブチン、リファンピシン、リファマイシンナトリウム、リファペンチン、リファキシミン、ロキタマイシン、ロリテトラサイクリン、ロソキサシン、ロキシスロマイシン、塩酸ルフロキサシン、塩酸サラフロキサシン、硫酸シソマイシン、シタフロキサシン、スパルフフロキサシン、スペクチノマイシン、スピラマイシン、ストレプトマイシン、スクシニルスルファチアゾール、スルバクタム、スルベニシリンナトリウム、スルファベンザミド、スルファカルバミド、スルファセタミド、スルファクロルピリダジン、スルファクリソイジン、スルファクロジン、スルファジアジン、スルファジアジン銀、スルファジクラミド、スルファジメトキシム、スルファジミジン、スルファドキシム、スルファフラゾール、スルファグアニジン、スルファメラジン、スルファメチゾール、スルファメトキサゾール、スルファメトキシピリダジン、スルファメチルチアゾール、スルファメトピラジン、スルファメトロール、スルファモノメトキシム、スルファモキソール、スルファニルアミド、スルファピリジン、スルファキノキサリン、スルファチアゾール、スルファチアゾール銀、スルファトロキサゾール、スルフィソミジン、スルタミシリン、タウロリジン、タゾバクタムナトリウム、テイコブラニン、テラバンシン、テリスロマイシン、テモシリン、テリジドン、テトラサイクリン、テトロキソプリム、テノイル酸、チアンフェニコール、チアセタゾン、チオストレプトン、チアムリン、チカルシリンナトリウム、チゲサイクリン、チルジピロシン、チルミコシン、トブラマイシン、トスフロキサシン、トリメトプリム、トロレアンドマイシン、ツラスロマイシン、タイロシン、酒石酸タイルバロシン、チロスリシン、バルネムリン、バンコマイシン、バージニアマイシン、およびキシボルノールを含む群から選択される抗生物質をさらに含むが、これらに限定されない。

10

20

【0059】

好ましくは本発明の組成物は、ペニシリン G、ペネタメート、クロキサシリン、ナフシリン、アンピシリン、アモキシシリン、クラブラン酸、ゲンタマイシン、ストレプトマイシン、ネオマイシン、フラマイセチン、テトラサイクリン、チルミコシンおよびピルリマイシンを含む群から選択されるさらなる抗生物質を含むが、これらに限定されない。

30

【0060】

本発明の組成物は、結合剤および圧縮助剤、コーティングおよびフィルム、着色剤、希釈剤およびビヒクル崩壊剤、乳化剤および可溶化剤、香味剤および甘味剤、忌避薬、滑剤および滑沢剤、可塑化剤、防腐剤、噴射剤、溶媒、安定化剤、懸濁剤および増粘剤を含む群から選択される賦形剤をさらに含む得るが、これらに限定されない。本発明の実施形態において、該組成物は、クエン酸をさらに含む。そのような賦形剤が該組成物の任意の pH 変化をもたらし得ることは、理解されよう。

【0061】

該組成物は、本明細書に記載されたポリエーテル系イオノフォアを、当該技術分野で一般に用いられるようなゲル化物質と共に含む乳頭シーラントの形態であってもよい。例えばパラフィン油ゲル基剤中の 65% (w/w) 次硝酸ピスマス、または次硝酸ピスマスと液体パラフィンとステアリン酸アルミニウムとゲル基剤。

40

【0062】

本発明のさらなる態様によれば、対象における乳房炎の処置に用いられる場合の、乳房内インジェクターを含む治療デバイスと、ポリエーテル系イオノフォアまたはその治療的に許容し得る塩の治療有効量を含む本発明の組成物と、が提供される。

【0063】

本発明のさらなる態様によれば、対象における乳房炎の処置に用いられる場合の、乳房

50

内インジェクターを含む獣医学的デバイスと、ポリエーテル系イオノフォアまたはその治療的に許容し得る塩の治療有効量を含む本発明の組成物と、が提供される。

【0064】

好ましくは該デバイスは、イオノフォアの即時放出、持続放出または制御放出に適合される。

【0065】

さらなる態様において、本発明は、対象の乳房炎の処置または予防用の薬剤を製造する際の、ポリエーテル系イオノフォアまたはその治療的に許容し得る塩の使用である。好ましくは該使用は、ポリエーテル系イオノフォアまたはその治療的に許容し得る塩の治療有効量を、対象の乳腺に投与することを含む。好ましくは該ポリエーテル系イオノフォアは、20mg/乳頭管~900mg/乳頭管または50mg/乳頭管~600mg/乳頭管の範囲内の用量で対象に投与される。

10

【0066】

さらなる態様において、本発明は、実質的に添付の実施例および図を参照して本明細書に記載された方法、組成物、デバイスまたは使用である。

【0067】

さらなる態様において、本発明は、実質的に添付の実施例および図を参照して本明細書に記載された、請求項14に記載の組成物、請求項24に記載のデバイス、および請求項27に記載の使用である。

【0068】

本明細書で用いられる用語は、他に断りがなければ当該技術分野で慣用される意味を有する。本明細書で表された通り、以下の用語は、指示されたポリエーテル系イオノフォアを指す。

20

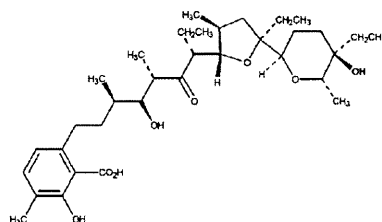
【0069】

実施例および図に関連して、LP1088は、サリノマイシンを指し、LP1369は、ラサロシドを指し、LP4525は、ナラシンを指し、LP6315は、マデュラマイシンを指し、LP9666は、モネンシンを指す。

【0070】

本明細書で用いられる用語ラサロシド(アパテック、ポバテックX-537A、イオノフォアX-4537A、およびRo2-2985としても公知。CAS登録番号25999-31-9(酸)、25999-20-6(Na塩))は、以下の化学構造を有する化合物を指す：

30

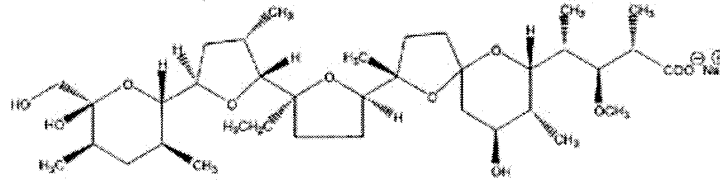


40

【0071】

本明細書で用いられる用語モネンシン(コバン、ルメンシン、モネンシン酸、およびA3823Aとしても公知。CAS登録番号17090-79-8(酸)、22373-78-0(Na塩))は、以下の化学構造を有する化合物を指す：

【化2】

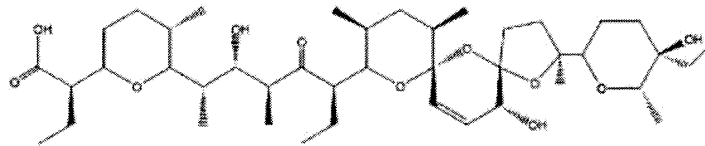


【0072】

本明細書で用いられる用語サリノマイシン（コキシスタック、ポシスタック（Posistac）、サロシン（Salocin）、オビコックス（Ovicox）、AHR-3096、K-364、およびK-748364Aとしても公知。CAS登録番号53003-10-4（酸）、55721-31-8（Na塩））は、以下の化学構造を有する化合物を指す：

10

【化3】

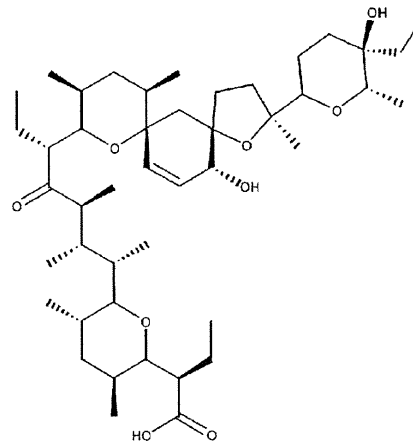


【0073】

本明細書で用いられる用語ナラシン（モンテパン、4-メチルサリノマイシン、化合物79891、A-28086ファクターA、C-7819Bとしても公知CAS登録番号55134-13-9（酸））は、以下の化学構造を有する化合物を指す：

20

【化4】



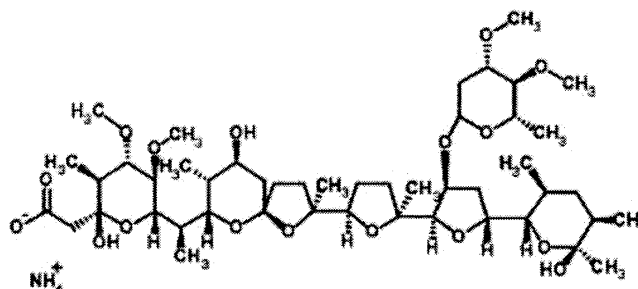
30

【0074】

本明細書で用いられる用語マデュラマイシンは、以下の化学構造を有する化合物を指す（以下にマデュラマイシアンモニウムとして表す）：

40

【化5】



50

【 0 0 7 5 】

記載された組成物が、乳房炎を処置および予防する方法に適用されることが、本明細書の利点である。乳房内適用は、当該技術分野で公知の標準的手順により乳房内インジェクターまたは乳頭シーラントを用いて実施することができる。本発明の組成物の乳房内適用は、対象の乳腺/血液バリアを介した全身吸収を最小限に抑えながら、ポリエーテル系イオノフォアへの暴露による対象の乳房炎の処置および予防をもたらすと予測される。こうして、対象をポリエーテル系イオノフォアの実質的毒性用量に暴露することなく、ポリエーテル系イオノフォアの治療有効量を、乳房炎の処置に適用することができる。

【 0 0 7 6 】

本発明のさらなる特色は、複数の非限定的実施形態の以下の説明においてより完全に記載される。この説明は、本発明を例証する目的で含まれているにすぎない。この説明が、先に表された本発明の大まかな概要、開示または説明の制限であると理解されるべきではない。該説明は、添付の図面を参照することによって行われる。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 7 7 】

【 図 1 】 実施例 1 による耐性プロファイルをはじめとするブドウ球菌属の菌種の生化学的同定に従う単離採取物および脊椎動物種供給源を表した表である。

【 図 2 】 実施例 1 による最小阻害濃度試験のために設計された 9 6 ウェルプレートの本発明の図面である。

【 図 3 】 最小殺菌濃度試験の図面であり、黒っぽい部分は二重測定での 1 0 μ L 容量の配置を表し、矢印の方向は実施例 1 によるプレート周囲に沿って時計回りに濃度が上昇していることを表す。

【 図 4 】 メチシリン感受性およびメチシリン耐性菌株に分離された個々の単離物に関する最小阻害濃度のグラフを示しており、1 2 8 μ g / m L を超えると示された値は M I C 値が実施例 1 により試験された濃度範囲内 (0 . 2 5 ~ 1 2 8 μ g / m L) で得られなかった菌株を表す。

【 図 5 】 実施例 1 によるアンピシリンおよび 5 種の被験化合物について、メチシリン感受性単離物の M I C ₅₀、M I C ₉₀ および M I C 範囲を示す表を示している。

【 図 6 】 実施例 1 によるアンピシリンおよび 5 種の被験化合物について、メチシリン耐性単離物の M I C ₅₀、M I C ₉₀ および M I C 範囲を示す表を示している。

【 図 7 】 メチシリン感受性およびメチシリン耐性菌株に分離された個々の単離物に関する最小殺菌濃度のグラフを示しており、1 2 8 μ g / m L を超えると示された値は M B C 値が実施例 1 により試験された濃度範囲内 (0 . 2 5 ~ 1 2 8 μ g / m L) で得られなかった菌株を表す。

【 図 8 】 実施例 1 による 5 種の被験化合物について、メチシリン感受性単離物の M B C ₅₀、M B C ₉₀ および M B C 範囲を示す表を示している。

【 図 9 】 実施例 1 による 5 種の被験化合物について、メチシリン耐性単離物の M B C ₅₀、M B C ₉₀ および M B C 範囲を示す表を示している。

【 図 1 0 】 実施例 1 による増殖曲線と比較した、様々な濃度のアンピシリン、L P 1 3 6 9 および L P 6 3 1 5 を使用した 4 8 時間の A T C C 4 9 7 7 5 の微量希釈時間・殺菌アッセイについて得られた光学濃度測定を示すグラフを示す。

【 図 1 1 】 実施例 1 による増殖曲線と比較した、様々な濃度のアンピシリン、L P 1 3 6 9 および L P 6 3 1 5 を使用した 4 8 時間の M S S 1 の微量希釈時間・殺菌アッセイについて得られた光学濃度測定を示すグラフを示す。

【 図 1 2 】 実施例 1 による増殖曲線と比較した、様々な濃度のアンピシリン、L P 1 3 6 9 および L P 6 3 1 5 を使用した 4 8 時間の M S S 1 1 の微量希釈時間・殺菌アッセイについて得られた光学濃度測定を示すグラフを示す。

【 図 1 3 】 実施例 1 による増殖曲線と比較した、4 8 時間の様々な濃度のアンピシリン、L P 1 3 6 9 および L P 6 3 1 5 を使用した 4 8 時間の M R S A の微量希釈時間・殺菌アッセイについて得られた光学濃度測定を示すグラフを示す。

10

20

30

40

50

【図14】実施例1によるLP1369のMICの1倍、4倍および8倍、アンピシリンのMICの1倍および4倍への導入と比較した、24時間のATCC49775の生存コロニー数(log10)を示すグラフを示す。

【図15】実施例1によるLP1369のMICの1倍、4倍および8倍、アンピシリンのMICの1倍および4倍への導入と比較した、24時間のMRSA9の生存コロニー数(log10)を表すグラフを示す。

【図16】実施例1による増殖対照と比較した、様々な濃度のアンピシリンまたはLP1369の24時間のATCC49775およびMRSA9のCFU/mL数(log10)の変動を示す表を示す。

【図17】実施例1によるLP6315のMICの1倍、4倍および8倍、アンピシリンのMICの1倍および4倍への導入と比較した、24時間のATCC49775の生存コロニー数(log10)を示すグラフを示す。

10

【図18】実施例1によるLP6315のMICの1倍、4倍および8倍、アンピシリンのMICの1倍および4倍への導入と比較した、24時間のMRSA9の生存コロニー数(log10)を示すグラフを示す。

【図19】実施例1による増殖対照と比較した、様々な濃度のアンピシリンまたはLP6315の24時間のATCC49775およびMRSA9のCFU/mL数(log10)の変動を示す表を示す。

【図20】実施例1による、様々な濃度の各被験化合物に加え、陽性対照および陰性対照、ならびに血液のみでの赤血球細胞毒性アッセイで得られた光学濃度測定値を示すグラフを示す。

20

【図21】実施例2による、耐性プロファイルをはじめとするスタフィロコッカス・シュードインターメディウス単離物の生化学的同定後の単離採取物およびイヌ品種供給源を示す表である。

【図22】実施例2により採取されたスタフィロコッカス・シュードインターメディウスの耐性プロファイルを示す表である。

【図23】実施例2により採取されたスタフィロコッカス・シュードインターメディウスに対するアンピシリンおよびLP化合物のMICプロファイルを示す表である。

【図24】実施例3による最小阻害濃度試験のために設計された96ウェルマイクロタイタートレイを示す図面である。

30

【図25】実施例3により試験された各化合物のMIC₅₀、MIC₉₀、MIC範囲、およびMBC₅₀、MBC₉₀、MBC範囲を示す表である。

【図26】実施例3による14のスタフィロコッカス・アウレウス単離物に対して試験された各化合物のMIC₅₀、MIC₉₀、MIC範囲、およびMBC₅₀、MBC₉₀、MBC範囲を示す表である。

【図27】実施例3による6のコアグラゼ陰性スタフィロコッカス・アウレウス単離物に対して試験された各化合物のMIC₅₀、MIC₉₀、MIC範囲、およびMBC₅₀、MBC₉₀、MBC範囲を示す表である。

【図28】実施例3による12のスタフィロコッカス・アガラクチエ単離物に対して試験された各化合物のMIC₅₀、MIC₉₀、MIC範囲、およびMBC₅₀、MBC₉₀、MBC範囲を示す表である。

40

【図29】実施例3による6のスタフィロコッカス・ウベリス単離物に対して試験された各化合物のMIC₅₀、MIC₉₀、MIC範囲、およびMBC₅₀、MBC₉₀、MBC範囲を示す表である。

【図30】実施例3によるウシ乳房炎単離物のプロファイルを示す表である。

【図31】実施例3による個々のウシ乳房炎単離物のMICを示す表である。

【図32】実施例3による個々のウシ乳房炎単離物のMBCを示す表である。

【図33】マイクロサイズ化物質で1回処置されたウシについて搾乳3回の牛乳中LP1369濃度の加重UCLを示すグラフである。

【図34】ナノサイズ化物質で1回処置されたウシについて搾乳3回の牛乳中LP136

50

9 濃度の加重 U C L を示すグラフである。

【図 3 5】 P V P で 1 回処置されたウシについて搾乳 3 回の牛乳中 L P 1 3 6 9 濃度の加重 U C L を示すグラフである。

【図 3 6】 実施例 7 および 8 で議論された感染前、感染後および処置後に採取された牛乳試料の微生物の結果を表す表である。

【図 3 7】 I V P 1 で 6 回（連続した搾乳時）処置された分房の搾乳 4 回の牛乳中 L P 1 3 6 9 濃度の加重上限信頼限界を示すグラフである。

【図 3 8】 I V P 2 で 2 分房に 6 回（連続した搾乳時）処置されたウシにおける、他の未処置分房についての搾乳 4 回の牛乳 L P 1 3 6 9 濃度の加重 U C L を示すグラフである。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 7 8 】

実施形態の説明

概論

本発明を詳細に説明する前に、本発明が本明細書に開示された特定の例証された方法または組成物に限定されないことが理解されなければならない。本明細書で用いられる用語は、本発明の特定の実施形態を説明することを目的としており、限定されるものではないことも理解されなければならない。

【 0 0 7 9 】

特許または特許出願をはじめとする本明細書で参照される発行物は全て、全体として参照により組み込まれる。しかし、本明細書で言及された適用は、単に、本発明に関連して使用されることがあった発行物内で参照される手順、プロトコル、および試薬を説明および開示する目的で参照されている。本明細書で参照された任意の発行物の引例を、先行の発明のおかげで本発明がそのような開示を事前の日付にする権利を与えられないという承認と解釈すべきではない。

【 0 0 8 0 】

加えて、本発明の実施では、他に断りがなければ、当該技術分野内の従来 of 微生物学的技術を使用する。そのような従来 of 技術は、当業者に公知である。

【 0 0 8 1 】

本明細書および添付の特許請求の範囲で用いられる単数形の「 a 」、「 a n 」および「 t h e 」は、他に明白な指示がない限り、複数を包含する。

【 0 0 8 2 】

他に断りがなければ、本明細書で用いられる技術的および科学的用語の全ては、当業者によって一般に理解されるものと同じ意味を有する。本明細書に記載されたものと類似または同一の任意の材料および方法を用いて、本発明を実施してもよく、好ましい材料および方法は、本明細書に記載されている。

【 0 0 8 3 】

本明細書に記載された発明は、値の 1 つ以上の範囲（例えば、サイズ、濃度、用量など）を包含し得る。値の範囲が、範囲を定義する値、および範囲の境界を定義する値に直接隣接する値と同じ結果または実質的に同じ結果をもたらす範囲に隣接する値など、範囲内の全ての値を含むことは理解されよう。

【 0 0 8 4 】

本明細書で用いられる熟語「治療有効量」は、保菌または乳房炎に関連する細菌増殖を阻害するのに十分な量を指す。即ち、本発明の方法または組成物によるポリエーテル系イオノフォアの治療有効量の投与は、実質的な殺菌または静菌活性が乳房炎の実質的な阻害を誘発する治療効果を指す。本明細書で用いられる用語「治療有効量」は、所望の生物学的、治療的、および/または防御的結果を提供する組成物の非毒性でありながら十分な量を指す。所望の結果としては、保菌の除去、または兆候、症状もしくは疾患原因の低減および/もしくは緩和、または生物学的システムの任意の他の所望の変化が挙げられる。任意の各例における有効量は、日常の実験を利用して当業者により決定され得る。医学的または獣医学的組成物への関連において、有効量は、疾患状態またはその兆候もしくは症状

10

20

30

40

50

の調整において推奨される投与量であってもよい。有効量は、使用される獣医学的組成物および利用される投与経路に依存して変動する。有効量は、特定の患者の様々な因子、例えば年齢、体重、性別など、そして疾患または疾患の原因微生物により罹患したエリアを考慮して日常的に最適化される。

【 0 0 8 5 】

本明細書で用いられる用語「微生物」および「微生物の」は、細胞の単一細胞壁クラスターのいずれかを含む微視的生物を指し、細菌および古細菌などの原核生物；ならびに原生動物、真菌、藻類などの真核生物の形態を包含するが、これらに限定されない。好ましくは用語「微生物」および「微生物の」は、原核生物および真核生物を指す。原核生物は、ブドウ球菌属の菌種、連鎖球菌属の菌種、桿菌属の菌種、腸球菌属の菌種、リステリア属の菌種、マイコプラズマ属の菌種、および嫌気性細菌などの細菌を指し得る。その用語は、抗生物質感受性菌株または抗生物質耐性菌株を指し得る。好ましい実施形態において、その用語は、MRSAを指す。別の好ましい実施形態において、その用語は、MRSPを指す。

10

【 0 0 8 6 】

一実施形態において、用語「微生物」および「微生物の」は、コアグラーゼ陰性ブドウ球菌(CNS)：スタフィロコッカス・エピデルミディス、スタフィロコッカス・シミュランス、スタフィロコッカス・フェリス、スタフィロコッカス・キシローサス、スタフィロコッカス・クロモゲネス、スタフィロコッカス・ワーネリ、スタフィロコッカス・ヘモリチカス、スタフィロコッカス・シウリ、スタフィロコッカス・サブロフィチカス、スタフィロコッカス・ホミニス、スタフィロコッカス・カブラエ、スタフィロコッカス・コーニイ亜種コーニイ、スタフィロコッカス・コーニイ亜種ウレアリチカス、およびスタフィロコッカス・ハイカスのうちの1つ以上を指す。

20

【 0 0 8 7 】

別の実施形態において、用語「微生物」および「微生物の」は、コアグラーゼ陽性ブドウ球菌：スタフィロコッカス・アウレウス、スタフィロコッカス・シュードインターメディアウス、スタフィロコッカス・デルフィニ、スタフィロコッカス・シュレイフェリ亜種コアグランス、およびスタフィロコッカス・アウレウス亜種アネロピウスのうちの1種以上を指す。

【 0 0 8 8 】

別の実施形態において、該細菌性物質は、連鎖球菌属のものである。例えば該細菌性物質は、ストレプトコッカス・ウベリス、ストレプトコッカス・アガラクチエ、ストレプトコッカス・ディスガラクチエ、ストレプトコッカス・ピオゲネス、ストレプトコッカス・ボビス、ストレプトコッカス・エクイ亜種ズーエピデミクス、およびストレプトコッカス・エクイヌスを含む群から選択され得るが、これらに限定されない。該細菌は、乳房炎から単離され得る。

30

【 0 0 8 9 】

別の実施形態において、用語「微生物」および「微生物の」は、桿菌属：バチルス・メラニノゲニカス、バチルス・プミルス、バチルス・リチエニフォルミス、バチルス・セレウス、バチルス・サブチリス、およびバチルス・アントラシスの細菌性物質のうちの1つ以上を指す。

40

【 0 0 9 0 】

別の実施形態において、用語「微生物」および「微生物の」は、腸球菌属：エンテロコッカス・フェシウム、エンテロコッカス・フェカリス、およびエンテロコッカス・デュランスの細菌性物質のうちの1つ以上を指す。

【 0 0 9 1 】

別の実施形態において、用語「微生物」および「微生物の」は、リステリア・モノサイトゲネスなどのリステリア属の細菌性物質のうちの1つ以上を指す。

【 0 0 9 2 】

別の実施形態において、用語「微生物」および「微生物の」は、1つ以上の嫌気性細菌

50

：クロストリジウム・パーフリゲンス、アクチノマイセス・ボビス、プロピオニバクテリウム・アクネス、プロピオニバクテリウム・グラヌロスム、エウバクテリウム、ペプトコッカス・インドリカス、およびペプトストレプトコッカス・アネロビウスを指す。

【0093】

別の実施形態において、用語「微生物」および「微生物の」は、マイコプラズマ・ボビスなどのマイコプラズマ属の1つ以上の種を指す。

【0094】

別の実施形態において、用語「微生物」および「微生物の」は、マラセジヤ属の1つ以上の真菌を指す。

【0095】

別の実施形態において、用語「処置」または「処置すること」は、病気の症状および兆候の完全な、または部分的な除去を指す。例えば乳房炎の処置において、処置は、乳房炎の兆候を完全に、または部分的に除去する。好ましくは乳房炎の処置において（ウシの処置など）、処置は、体細胞数を280,000細胞/mL未満（リニアスコア5以上）に減少させる。好ましくは処置は、体細胞数を、10%、20%、50%、80%、90%および95%からなる群から選択される百分率で280,000細胞/mL未満（リニアスコア5以上）に減少させる。

【0096】

獣医学的および医学的に許容し得る塩は、本開示の化合物の生物学的有効性および特性を保持しながら、生物学的またはその他について望ましくないものを含まない塩を包含する。多くの例において、本明細書で開示された化合物は、アミノおよび/もしくはカルボキシル基、またはそれと類似した基の存在により酸性および/または塩基性塩を形成することが可能である。獣医学的および医学的に許容し得る塩基付加塩は、無機および有機性塩基から調製することができる。無機性塩基に由来する塩としては、例えばナトリウム塩、カリウム塩、リチウム塩、アンモニウム塩、カルシウム塩およびマグネシウム塩が挙げられる。有機塩基に由来する塩としては、第一級、第二級および第三級アミン（例えば、アルキルアミン、ジアルキルアミン、トリアルキルアミン、置換型アルキルアミン、ジ（置換型アルキル）アミン、トリ（置換型アルキル）アミン、アルケニルアミン、ジアルケニルアミン、トリアルケニルアミン、置換型アルケニルアミン、ジ（置換型アルケニル）アミン、トリ（置換型アルケニル）アミン、シクロアルキルアミン、ジ（シクロアルキル）アミン、トリ（シクロアルキル）アミン、置換型シクロアルキルアミン、二置換型シクロアルキルアミン、三置換型シクロアルキルアミン、シクロアルケニルアミン、ジ（シクロアルケニル）アミン、トリ（シクロアルケニル）アミン、置換型シクロアルケニルアミン、二置換型シクロアルケニルアミン、三置換型シクロアルケニルアミン、アリールアミン、ジアアリールアミン、トリアアリールアミン、ヘテロアリールアミン、ジヘテロアリールアミン、トリヘテロアリールアミン、複素環式アミン、二複素環式アミン、三複素環式アミン、ジアミンとトリアミンとの混合物（ここでアミンの少なくとも2つの置換基は、異なっており、アルキル、置換型アルキル、アルケニル、置換型アルケニル、シクロアルキル、置換型シクロアルキル、シクロアルケニル、置換型シクロアルケニル、アリール、ヘテロアリール、複素環式などからなる群から選択される）の塩が挙げられるが、これらに限定されない。2または3個の置換基（アミノ窒素を伴う）が複素環基またはヘテロアリール基を形成するアミンもまた、含まれる。

【0097】

獣医学的および医学的に許容し得る酸付加塩は、無機酸および有機酸から調製され得る。使用され得る無機酸としては、例えば塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸などが挙げられる。使用され得る有機酸としては、酢酸、プロピオン酸、グリコール酸、ピルビン酸、シュウ酸、リンゴ酸、マロン酸、コハク酸、マレイン酸、フマル酸、酒石酸、クエン酸、安息香酸、桂皮酸、マンデル酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、サリチル酸などが挙げられる。

【0098】

10

20

30

40

50

本開示において有用な化合物の獣医学的および医学的に許容し得る塩は、従来の化学的方法により、塩基性または酸性部分を含む親化合物から合成され得る。一般にそのような塩は、これらの化合物の遊離酸または塩基の形態を、水または有機溶媒またはそれら2種の混合物中で（一般にはエーテル、酢酸エチル、エタノール、イソプロパノール、またはアセトニトリルのような非水性媒体が好ましい）、理論量の適正な塩基または酸と反応させることにより調製することができる。適切な塩のリストは、開示が参照により本明細書に組み入れられる、Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa. (1985), p. 1418に見出される。そのような獣医学的に許容し得る塩の例は、ヨウ化物、酢酸塩、フェニル酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、10
 アクリル酸塩、アスコルビン酸塩、安息香酸塩、クロロ安息香酸塩、ジニトロ安息香酸塩、ヒドロキシ安息香酸塩、メトキシ安息香酸塩、メチル安息香酸塩、o-アセトキシ安息香酸塩、ナフタレン-2-安息香酸塩、臭化物、イソ酪酸塩、フェニル酪酸塩、
 -ヒドロキシ酪酸、
 -ヒドロキシ酪酸塩、ブチン-1,4-ジオアート、ヘキシン-1,4-ジオアート、ヘキシン-1,6-ジオアート、カプリン酸塩、カプリル酸塩、塩化物、桂皮酸塩、クエン酸塩、デカン酸塩、ギ酸塩、フマル酸塩、グリコール酸塩、ヘプタン酸塩、馬尿酸塩、乳酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、ヒドロキシマレイン酸塩、マロン酸塩、マンデル酸塩、メシル酸塩、ニコチン酸塩、イソニコチン酸塩、硝酸塩、シュウ酸塩、
 フタル酸塩、テレフタル酸塩、リン酸塩、リン酸一水素塩、リン酸二水素塩、メタリン酸塩、ピロリン酸塩、プロピオール酸塩、プロピオン酸塩、フェニルプロピオン酸塩、サ
 リチル酸塩、セバシン酸塩、コハク酸塩、スペリン酸塩、硫酸塩、重硫酸塩、ピロ硫酸塩、
 亜硫酸塩、重亜硫酸塩、スルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p-プロモフェニルスルホン酸塩、クロロベンゼンスルホン酸塩、プロパンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、
 2-ヒドロキシエタンスルホン酸塩、メタンスルホン酸塩、ナフタレン-1-スルホン酸塩、ナフタレン-2-スルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩、キシレンスルホン酸塩、酒石酸塩などである。

【0099】

本発明の方法が用いられる予定の微生物感染のタイプが乳腺中の感染を含むことは、理解されよう。

【0100】

乳房内感染は、潜在性または臨床型乳房炎を生じ得る。潜在性乳房炎は、局所炎症または全身症状の明白な兆候を示さない感染を包含し、異常な乳または乳房炎症の一過性エピソードを生じる場合があり、通常は無症候性である。感染が継続する場合、乳房炎は、慢性と呼ばれる場合がある。カリフォルニア乳房炎検査または乳牛改善団体により提供される自動化法など、当該技術分野で公知の標準的検査を利用して、体細胞数（例えば、好中球など）に関する乳の検査により、検出を実施することができる。体細胞数は一般に、感染の存在を示す。例として、280,000細胞/mL以上（リニアスコア5以上）の体細胞数を有するウシは、感染確率が80%を超える。当該技術分野で公知の標準的手順による乳の細菌培養により、感染の原因物質を同定することができる。

【0101】

臨床型乳房炎は、感染への炎症性反応を包含し、目視による乳の異常を起こす。炎症の指標としては、乳房の変化（腫脹、熱、疼痛、発赤）を挙げることができる。軽度の臨床症例は、局所兆候のみを含む。重度の臨床症例には、全身症状（発熱、食欲不振、ショック）および急速な発現が挙げられる。

【0102】

本明細書に記載された組成物は、そのような投与剤型を水中油エマルジョンまたは油中水エマルジョンで含むことにより乳房内投与用に配合させることができる。そのような製剤において、即時放出投与剤型は、連続相であり、遅延放出性投与剤型は、不連続相である。該製剤は、先に記載された3種の投与剤型を送達するための手法で製造してもよい。例えば、即時放出性成分を含む連続相である油と、第一の遅延放出性投与剤型を含む油に

10

20

30

40

50

分散された水と、第三の遅延放出性投与剤型を含む水に分散された油と、を含む油中水中油エマルジョンを提供してもよい。

【0103】

本明細書に記載された組成物は、液体製剤の形態であってもよい。液体製剤は、溶媒に溶解された治療薬を含む溶液を含んでいてもよい。一般に、所望の効果を有し、治療薬を溶解し、対象に投与され得る、任意の溶媒を用いることができる。一般に所望の効果を有する治療薬の任意の濃度を、用いることができる。幾つかの変形例のある製剤が、不飽和、飽和または過飽和溶液の溶液である。溶媒は、純粋な溶媒であってもよく、または液体溶媒成分の混合物であってもよい。幾つかの変形例において、形成された溶液は、インサイチュのゲル化製剤である。用いられ得る溶媒および溶液タイプは、そのような薬物送達技術に精通した者に周知である。

10

【0104】

当該技術分野で公知の製剤による化合物の乳房内送達もまた、本明細書において企図される。例えば、本発明によるポリエーテル系イオノフォアと、植物油と、乳への油の分散を促進する天然のレシチンリン脂質材料のアルコール溶解性画分と、を含み、を含む乳房内輸液によるもので、該リン脂質は、ホスファチジルコリンおよびホスファチジルエタノールアミンおよびそれらの混合物からなる群から選択され、前記油中に少なくとも0.25%の量で存在する。そのような組成物は、乳への急速な分散と、短い搾乳時間(milkout times)を提供することができる。あるいはポリエーテル系イオノフォアは、パルミチン酸およびステアリン酸をポリオキシエチレン化セチルアルコールおよびステアリルアルコールと共に含むトリグリセリドの混合物からなる油に分散させてもよく、無機物、植物、合成または混合抽出物の油性媒体中に保持することができる。そのような組成物は、乳房中の抗菌薬の放出を急速化して、生物学的能力を向上させ、搾乳時間を減少させることができる。乳房内製剤は、ポリエーテル系イオノフォア、ヒュームドシリカ、粘度調整剤、および親水性担体を含むペースト状組成物の形態であってもよい。

20

【0105】

一実施形態において、ポリエーテル系イオノフォアを乳房内製剤中に配合された固体分散物として配合させることにより、本発明の組成物が乳房内送達用に配合される。1つのさらなる実施形態において、ポリエーテル系イオノフォアは、水溶性ポリマーに分散させて、固体分散物を形成する。該固体分散物は、その後、皮膚軟化性トリエステル(emollient triester)に添加することにより乳房内製剤に配合される。シリカ系組成物の添加により粘度を調整して粘度を上昇させることができる。一実施例において、ポリエーテル系イオノフォアを、ポリビニルピロリドンK30に分散させて、固体分散物を形成させる。該固形分散物は、その後、Crodamol GTCC(完全に飽和された皮膚軟化性トリエステルである)に添加することにより乳房内製剤に配合され、Aerosil R972の添加により粘度を調整する(Aerosil R972は、ジメチルジクロロシランでの後処置されたヒュームドシリカである)。乳房組成物は、その後、対象の乳房に適用するためにシリンジ内に分配される。

30

【0106】

さらなる態様において、本発明は、固体分散物に配合され、乳房内製剤にさらに配合されたポリエーテル系イオノフォアの治療有効量を含む、乳房内獣医学的抗菌組成物である。好ましくは該組成物は、水溶性ポリマーに分散されて固体分散物を形成するポリエーテル系イオノフォアを含む。該固体分散物は、皮膚軟化剤への添加により乳房内製剤に配合される。粘度上昇剤または低下剤の添加により、粘度を調整することができる。より好ましくは該組成物は、ポリエーテル系イオノフォア、水溶性ポリマーおよび皮膚軟化剤を含む。より好ましくは該組成物は、ポリエーテル系イオノフォア、水溶性ポリマー、皮膚軟化剤および粘性形成剤(viscosity forming agent)を含む。より好ましくは該組成物は、ポリエーテル系イオノフォア、ポリビニルピロリドンK30、Crodamol GTCCおよびAerosil R972を含む。

40

【0107】

50

好ましい実施形態において、該組成物は、

(1) 600 mg の LP1369 - PVPK30 固体分散物 (150 mg LP1369 + 450 mg PVPK30) + 7% R972 + Crodamol GTCC ; および
 (2) 1200 mg の LP1369 - PVPK30 固体分散物 (300 mg LP1369 + 900 mg PVPK30) + 7% R972 + Crodamol GTCC
 からなる群から選択される組成物である。

【0108】

一態様において、本発明は、以下のものからなる群から選択される単位投与剤型である：

【0109】

75 mg 群

各シリンジは、300 mg の LP1369 - PVPK30 固体分散物 (75 mg LP1369 + 225 mg PVPK30) + 7% R972 + Crodamol GTCC を含む；最終容量 5 mL

【0110】

150 mg 群

各シリンジは、600 mg の LP1369 - PVPK30 固体分散物 (150 mg LP1369 + 450 mg PVPK30) + 7% R972 + Crodamol GTCC を含む；最終容量 5 mL

【0111】

300 mg 群

各シリンジは、1200 mg の LP1369 - PVPK30 固体分散物 (300 mg LP1369 + 900 mg PVPK30) + 7% R972 + Crodamol GTCC を含む；最終容量 5 mL

【0112】

600 mg 群 (300 mg x 2)

各シリンジは、1200 mg の LP1369 - PVPK30 固体分散物 (300 mg LP1369 + 900 mg PVPK30) + 7% R972 + Crodamol GTCC を含む；最終容量 5 mL

【0113】

本発明による乳房炎処置のための乳房内送達システムは、主として乳房内および感染部位付近に乳頭管を通して本発明の組成物を送達するために、乳房内経路を介した送達を含む。本発明の組成物は、ナノ改良された (nanomodified) 有効成分を含むことができ、インサイでのチュゲル化が可能な獣医学的に許容し得る親水性ポリマー系ヒドロゲル乳房内送達システムの形態で提供することができる。あるいは本発明の組成物は、上皮に接着され得る粘液接着剤の形態であってもよい。

【0114】

本発明の組成物は、あるいは、当該技術分野で公知のものなど、ナノテクノロジーの薬物送達技術を利用して配合することができる。ナノテクノロジーに基づく薬物送達システムは、生物学的利用度、患者の服薬遵守の改善、および副作用の低減という利点を有する。

【0115】

本発明の組成物の配合は、化合物の溶解度に基づくナノサスペンションまたはナノエマルジョンの形態のナノ粒子の調製を含む。ナノサスペンションは、ボトムアップまたはトップダウン技術により調製され、適切な賦形剤により安定化されたナノサイズの薬物粒子の分散物である。このアプローチは、本明細書に記載されたポリエーテル系イオノフォアに適用されてもよく、この場合のポリエーテル系イオノフォアは、飽和溶解度を高めるため、そして溶解性を改善するために、非常に低い水溶性と脂質溶解性を有する。飽和溶解度は、温度、溶解媒体の特性、および粒子径 (1 ~ 2 μm 未満) に依存する化合物独自の定数であることは理解されよう。

10

20

30

40

50

【0116】

本発明の組成物は、ナノサスペンションの形態で提供することができる。ナノサスペンションの場合、表面積の増加は、飽和溶解度の上昇を導き得る。ナノサスペンションは、1 μm 未満の粒子からなるコロイド状薬物送達システムである。本発明の組成物は、ナノ結晶性懸濁物、固体脂質ナノ粒子(SLN)、ポリマーナノ粒子、ナノカプセル、ポリマーミセルおよびデンドリマーをはじめとするナノサスペンションの形態であってもよい。ナノサスペンションは、湿式粉碎および高圧均質化をはじめとする当該技術分野で公知の様々な技術により大きな粒子をナノメートル寸法に減少させ得るトップダウンアプローチを利用して調製することができる。あるいはナノサスペンションは、粒子の制御的沈殿を溶液から実施し得るボトムアップ技術を利用して調製してもよい。

10

【0117】

本発明の組成物は、ナノエマルジョンの形態で提供することができる。ナノエマルジョンは、典型的には透明の水中油または油中水の二相系であり、小液滴の径が100~500 nmであり、該当する化合物が疎水性相に存在する。ナノエマルジョンの調製物は、本明細書に記載されたポリエーテル系イオノフォアの溶解度を改善して、より良好な生物学的利用度に誘導することができる。ナノサイズの懸濁物は、ポリマーおよび界面活性剤などの静電的または立体障害的安定化のための薬剤を含むことができる。SLNの形態の組成物は、トリグリセリド、ステロイド、ワックスなどの生分解性脂質、ならびに大豆レシチン、卵レシチンおよびポロキサマーなどの乳化剤を含むことができる。SLN調製物の調製は、薬物を融解脂質に溶解/分散した後、高温または低温均質化することを含み得る。高温均質化が利用される場合、融解脂質相が水相に分散されて、エマルジョンが調製され得る。これを冷却により固化して、SLNを実現してもよい。低温均質化が利用される場合、脂質相が液体窒素中に固化され、ミクロンサイズに摩砕され得る。得られた粉末を、水性界面活性剤溶液中で高圧均質化に供することができる。

20

【0118】

本発明の組成物は、ナノエマルジョンの形態であってもよい。本明細書に記載されたポリエーテル化合物を、油/液体脂質に溶解して、エマルジョン製剤に安定化してもよい。高エネルギーおよび低エネルギーでの小液滴縮小技術を利用して、ナノエマルジョンを調製してもよい。高エネルギー法は、高圧均質化、超音波処理および微小流動化を含むことができる。低エネルギー法が用いられる場合、溶媒の拡散および転相が、自然なナノエマルジョンを発生させる。ナノエマルジョン中で用いられる脂質は、トリグリセリド、大豆油、サフラワー油、および胡麻油を含む群から選択されてもよい。乳化剤、抗酸化剤、pH調整剤および防腐剤などの他の成分が、添加されてもよい。

30

【0119】

乳房炎処置の場合、主として乳房内および感染部位付近に乳頭管を通して本発明の組成物を送達するために、乳房内経路が用いられる。したがって該組成物は、ナノ改良された有効成分を含むように配合させることができる。該組成物は、インサイチュでのゲル化が可能な親水性ポリマー系ヒドロゲル乳房内送達システムの形態であってもよい。あるいは該組成物は、上皮に接着され得る粘液接着剤の形態であってもよい。他の投与経路としては、局所(皮膚上など)および腸内(経口など)が挙げられる。

40

【0120】

該組成物は、制御放出性製剤の形態であってもよく、分解性または非分解性ポリマー、ヒドロゲル、オルガノゲル、またはポリエーテル系イオノフォアの放出を改変し得る他の物理学的構造体を含んでもよい。そのような製剤が、所望の色素、安定性、緩衝能力、分散性、または他の公知の所望の特色を提供するために添加されるさらなる不活性成分を含み得ることは、理解されよう。そのような製剤は、エマルジョン、フォーム、ミセル、不溶性単層、液晶、リン脂質分散物、ラメラ層などのリポソームをさらに含み得る。本発明において用いられるリポソームは、一般には中性および負電荷のリン脂質およびステロール、例えばコレステロールを含む、標準の小胞形成脂質から形成され得る。

【0121】

50

本明細書全体を通して、文脈が他に必要としない限り、言語「(comprise)含む」または「(comprises)含む」もしくは「(comprising)含んでいる」などの変形例は、言及された整数または整数群の含有を示唆するが、任意の他の整数または整数群の除外を示唆しないことは理解されよう。

【0122】

実施例1 - ブドウ球菌の単離物に対する抗細菌活性
各論

本発明の先行の概要から明白な通り、本発明は、ウシ、ヒツジ、ヤギ、他の反芻動物種、ラクダ科およびウマ科、ならびにヒトなどの対象の乳房炎の処置方法に関する。同じく本発明の先の概要から明白な通り、本発明は、乳房炎のそのような処置方法において用いられる組成物にも関する。

10

【0123】

ポリエーテル系イオノフォアの治療有効量への暴露の毒性作用を最小限に抑えるために、本発明の処置方法または本明細書に記載された組成物により処置される対象の全身暴露が最小限に抑えられるべきであることは、理解されよう。乳腺/血液バリアが、ポリエーテル系イオノフォアの治療有効量の吸収への物理的バリアとして機能することは認識されると思われ、該化合物が抗菌活性の局在化のために乳腺の組織および流体中に局在化され、毒性作用を低下させ続けることは理解されよう。

【0124】

材料および方法

20

細菌単離物の採取および同定

様々な種および菌株であるブドウ球菌の42の単離物を、単離採取物から採取した。コアグラゼを含む生化学的試験、プロテインAについてのラテックス凝集試験、Voges-ProskauerテストおよびポリミキシンBへの耐性を利用して、ブドウ球菌の菌種を同定した。単離物は全て、感染の処置に一般的に用いられる様々な抗菌薬への耐性についてもスクリーニングした。これは、ディスク拡散法およびCLSIにより概説された耐性基準を利用して実施した。以下の抗菌薬を使用した：アモキシシリン-クラバン酸(30 μg)、セファロチン(30 μg)、クリンダマイシン(2 μg)、エンフロキサシン(5 μg)、エリスロマイシン(15 μg)、ゲンタマイシン(10 μg)、イミペネム(10 μg)、オキサシリン(1 μg)、ペニシリンG(10単位)、テトラサイクリン(30 μg)、1:19トリメトプリム-スルファメトキサゾール(25 μg)およびバンコマイシン(30 μg)。オキサシリンに耐性の菌株は全て、アモキシシリン-クラバン酸、セファロチンおよびイミペネムに耐性であることも見出され、これらがメチシリン耐性株であることが決定された。単離物のプロファイルの全てを、図1に示す。

30

【0125】

抗菌薬の調製

5種の被験化合物それぞれについて、化合物2.56グラムをジメチルスルホキシド(DMSO)10mLに溶解することにより、256mg/mL原液を調製した。得られた溶液を、その後、500 μL容量に分取して、必要になるまで-80°Cに貯蔵した。アンピシリン(Sigma A-0166)0.303グラムをDMSO 10mLに溶解することにより、アンピシリンの256mg/mL原液も調製した。この溶液を、5種の被験化合物と同じ手法で分取および貯蔵した。これらの化合物が必要となった時に、原液(25.6mg/mL)100 μLを陽イオン調整 Mueller Hinton Broth (CAMHB) 9.9 mLに希釈することにより、256 μg/mL使用液を調製した。

40

【0126】

最小阻害濃度アッセイ

最小阻害濃度テストを、CLSI基準(CLSI 2012)に従って実施した。被験化合物溶液の1つまたはアンピシリン90 μLを、各ウェルにCAMHB 90 μLを含

50

む96ウェルプレートの最後の行に添加した。その後、溶液を列方向に横向きに系列希釈し、陽性対照および陰性対照については2行に残留させた(図2)。ヒツジ血液寒天(SBA)での一夜培養から得られた新しいコロニーを9.1g/L生理食塩溶液に添加することにより、細菌懸濁物を調製した。この懸濁物を $4 \times 10^8 \sim 5 \times 10^8$ CFU/mLの濃度に調整した。波長600nmの分光光度計を用いて光学濃度(OD)を測定することにより懸濁物の濃度を決定し、正しい濃度は1.00~1.20の光学濃度を有することが決定された。この懸濁液1mLを生理食塩水9mLに添加した後、陰性対照ウェルを除く全てのウェルに10 μ L容量で添加し、各ウェルに最終濃度 $4 \times 10^5 \sim 5 \times 10^5$ CFU/mLを与えた。その後、被験物質を37で24時間インキュベートし、その後、目視での判断と波長600nmのマイクロプレートリーダーによるOD測定値の両方を

10

【0127】

最小阻害濃度(MIC)を、目視での判断とOD測定値利用の両方により、細菌増殖を予防する抗生物質の最小濃度として決定した。被験化合物とアンピシリンとの直接的な統計比較は、分試料などの化合物構造に関する情報の開示制限など信頼性のある情報の制限により実施することができなかった。代わりにMIC値を照合し、それらを利用してそれぞれMIC₅₀およびMIC₉₀と称される、単離物の50%および90%に効果のある各化合物の最小濃度を決定した。これらの値とMIC値の範囲を、その後、被験化合物間の直接比較およびアンピシリンとの大まかな比較に利用した。

20

【0128】

最小殺菌濃度の決定

96ウェルのMICプレートを用いてMICを決定した後、ドロッププレート法の変法を利用して、被験化合物それぞれの最小殺菌濃度(MBC)を決定した。これらを、インキュベート後のMICプレートから採取した試料を利用して分析した。各化合物は、MICと等しいか、またはそれよりも高い各濃度の液滴10 μ Lを、ヒツジ血液寒天に時計回りに分注した(図3)。各濃度を二箇所ずつ分注し、その二箇所は液滴の内側の輪に沿って分注した。プレートを37で一晩インキュベートし、翌日、増殖を評価した。MBCをコロニーの99.9%が死滅する濃度とし、それを液滴を配置した寒天での増殖の欠如により目視で評価した。これらのデータを利用して、殺菌活性を化合物の幾つかについて

30

【0129】

時間・殺菌速度アッセイ

MICおよびMBC結果の評価に続いて、微量希釈時間・殺菌アッセイを用いた分析用に、2つの化合物:LP1369およびLP6315を選択し、これらをアンピシリンと比較した。時間・殺菌アッセイを、変法と共に、CLSIのM26-Aガイドラインに従って実施した。被験化合物およびアンピシリンを、96ウェルプレートの列に横方向にCAMHBに系列希釈し、細菌懸濁物をMIC試験と同じ手法で調製し添加した。96ウェルプレートを、その後、37で48時間インキュベートし、特定の時点で取り出して、陽性対照ウェルと、試験された菌株に特異的な化合物のMICの1倍、4倍および8倍のODを、波長600nmの分光光度計を使用して評価した。評価された時点は、ウェルへの細菌懸濁物の添加後0、1、2、4、8、12、24および48時間目であった。各被験化合物を三重測定で試験したが、アンピシリンは二重測定で試験し、このテストを独立に反復した。微量希釈アッセイに用いられた細菌株は、MBC試験時に明白となる殺菌活性に基づいて選択した。単離採取物中のブドウ球菌の分類(メチシリン感受性、メチシリン耐性およびコアグラージェ陰性)それぞれの1菌株を、比較用のATCC参照株と共に選択した。これらの菌株は、菌株MSS1、MSS11、MRS A9およびATCC49775参照株であった。

40

50

【0130】

OD測定の見出し限界により、時間・殺菌アッセイを微量希釈法でも実施した。15 mL試験管において、CAMHB中の被験化合物9 mL容量を、MIC濃度の1倍、4倍および8倍で調製し、アンピシリン9 mL容量を、MICの1倍および4倍でCAMHB中に調製した。4 ~ 5 × 10⁶の細菌懸濁物(MIC試験用に調製)1 mLを、該試験管およびCAMHB 9 mLのみを含む増殖対照試験管のそれぞれに添加した。これらの試験管を100 rpmで回転するオービタルシェーカーにおいて37 °Cで24時間インキュベートした。細菌添加後0、1、4、8、12および24時間目に、試料100 μLを各試験管から取り出し、9.1 g/L生理食塩溶液で系列希釈した。その後、希釈液をプレートカウント用寒天に二箇所ずつ接種して、37 °Cで24時間インキュベートした。インキュベーション後に、生存細菌数を寒天に見えるコロニー数から得て、これらを利用して各時点のCFU/mL値を計算した。微量希釈時間・殺菌分析では、メチシリン耐性株に対する抗細菌活性をさらに検討するために、ATCC 49775参照株およびMRSA9のみを評価した。これらの微量希釈時間・殺菌アッセイは、独立に反復し、殺菌活性はCFU/mL値で3 log以上の低下と定義した。

10

【0131】

真核細胞の毒性試験

真核細胞に対する5種の化合物全ての毒性を試験するために、赤血球溶血性を利用した。血液試料を9.1 g/L生理食塩溶液を用いて洗浄し、2500 rpmで10分間遠心分離した。これらの工程を、細胞片および部分的に溶解した細胞が溶液から除去されるまで反復した。残された血液細胞2 mLを9.1 g/L生理食塩溶液98 mLに懸濁して、2%血液細胞溶液を生成し、96ウェルプレートのウェルに90 μL容量で分配した。化合物溶液およびクロラムフェニコールを、原液から256 μg/mLの濃度に調製した(上記の通り)。クロラムフェニコールは、赤血球溶解性の陰性対照として用い、アンホテリシンBの即時使用溶液を、陽性対照として用いた。該化合物および対照90 μLを異なる列の最終ウェルに添加した。異なる濃度の抗菌薬を試験するために、これらの化合物を列に横方向に系列希釈した。2%血液溶液のみを含むウェルを用いて、96ウェルプレートの異なる行の測定値間の変動も評価した。これらの被験物質を37 °Cで1時間インキュベートし、その後、目視での判断と波長600 nmのマイクロプレートリーダーによるOD測定値使用の両方により溶解を評価した。各試験を二重測定で実施し、その後、正確さを確保するために四重測定で再度実施した。

20

30

【0132】

結果

MIC試験の結果から、メチシリン感受性およびメチシリン耐性の両方のブドウ球菌における全ての被験化合物の抗細菌活性が確認された。図4に示す通り、化合物LP9666を除く全ての菌株で、被験化合物全てが一定して低いMIC値を有した(16 μg/mL以下)。高いMIC₉₀値および広いMIC範囲により示された通り、LP9666に関してMICの変動が示された。MIC値の範囲は、アンピシリンと類似していたが、アンピシリンのMIC値で観察されたものと同様の、メチシリン耐性株とメチシリン感受性株の間の差異は存在しなかった。メチシリン感受性ブドウ球菌株のMIC₅₀、MIC₉₀およびMIC範囲を、図5に示す。LP9666を除く被験化合物のほとんどのMIC₅₀値が、アンピシリンと同等であったが、MIC₉₀値は、かなり低かった。これは、菌株採取物全体に対する被験化合物の範囲に反映され、LP9666以外の被験化合物全てでアンピシリンよりも小さな範囲を示した。図6に示された通り、類似の傾向がメチシリン耐性単離物で観察された。化合物LP1088、1369、4525および6315は、アンピシリンよりもかなり低いMIC₅₀およびMIC₉₀値、ならびに狭いMIC範囲を示した。しかしLP9666は、他の4種の被験化合物よりも高いMIC₅₀およびMIC₉₀値を有したが、それらは、メチシリン耐性株ではアンピシリンよりもかなり低かった。

40

【0133】

50

5種の被験化合物全てが、高濃度で殺菌活性を示したが、化合物LP1088、1369、4525および6315は、低い濃度でも若干の殺菌活性を示した。図7に示す通り、化合物LP1088および1369は、メチシリン感受性株でより一貫して殺菌活性を示し、化合物LP4525および6315は、メチシリン感受性株でより一貫して殺菌活性を示した。

【0134】

メチシリン感受性株およびメチシリン耐性株に関する5種の被験化合物の MBC_{50} 、 MBC_{90} および MBC 範囲の比較を、それぞれ図8および9に示している。 MBC_{50} および MBC_{90} 値から、幾つかの株依存性殺菌活性が低濃度の被験化合物で明らかとなったが、ほとんどの化合物が、試験された菌株の大部分で静菌性であった。最大殺菌活性は、メチシリン感受性単離物に対する化合物LP1369およびメチシリン耐性単離物に対するLP6315で観察され、これらは類似の MBC 範囲でありながら最小 MBC_{50} 値を示した。

10

【0135】

微量希釈時間・殺菌アッセイにおいて、化合物LP1369およびLP6315の両方が、48時間のATCC参照株の増殖を、増殖対照と比較して予防した(図10)。若干の増殖が、MICでのLP6315の48時間後に観察されたが、これは依然として増殖対照よりも有意に低かった。類似の傾向が、メチシリン感受性株MSS1およびMSS11で実施された殺菌速度アッセイで観察された(それぞれ図11および12)。ATCC参照株と同様に、化合物の全てが、増殖対照のレベルまで細菌増殖を予防し、ほとんどの濃度で初期濃度よりも増殖を予防した。しかしATCC株と同様に、LP6315のMICで増殖が観察されたが、24時間早く観察され、最後の24時間で増殖し続けた。類似の傾向が、MSS11に対するアンピシリンのMICでも観察されたが、最後の24時間の細菌数増加が、LP6315での $1 \times MIC$ 殺菌速度アッセイよりもかなり急激であった。MRSA9の時間・殺菌アッセイでは(図13)、12時間後の細菌数増加は、アンピシリンで明白であり、48時間後に得られた増殖は、増殖対照と同等であった。しかしLP6315の $1 \times MIC$ での増殖は、24時間後に明白となり、48時間後にはこの増殖はもはや観察されなかった。

20

【0136】

微量希釈でのさらなる時間・殺菌アッセイでは、菌株にかかわらず被験化合物の両方で最初の24時間に生存細菌数の比較的一定した減少が示された。細菌数に及ぼす化合物LP1369の影響が、試験された濃度全てで増殖対照に比較して有意であったが、この化合物がMRSA9およびATCC49775参照株でのMIC濃度の8倍よりもMICの4倍で高い能力を呈したことが、図14および15に示される。細菌数の合計減少数を、図16に示す通り評価した。予測通りアンピシリンは、両方の菌株で生存菌数の減少が $3 - \log_{10}$ を超える減少であったため殺菌性であることが示されたが、化合物LP1369は、全ての濃度で生存細菌数が $3 - \log_{10}$ 未満の減少であったため静菌性であることが見出された。

30

【0137】

LP1369と類似の傾向が、LP6315で観察された。ATCC参照株では(図17)、被験化合物の3つの濃度全てで24時間の細菌数の一定した減少が存在した。MRSA9では、図18に示された通り、全ての濃度で最初の12時間の細菌数が減少したが、増加がMICでの12~24時間で観察された。これらの減少を定量すると(図19)、アンピシリンが予測通り殺菌性であることが示されたが、LP6315ではほとんどの濃度で静菌性であることが示された。しかしMICの4倍では、LP6315は、MRSAに対してコロニーの減少が $3 - \log_{10}$ を超えていたことから殺菌性であることが観察された。

40

【0138】

真核生物毒性アッセイでの光学濃度の測定値を、以下の図20に示している。光学濃度の低下は、赤血球細胞の溶解の指標と解釈した。 $32 \mu g / mL$ 以上の濃度の被験化合物

50

全てで光学濃度の低下が存在したが、LP1369を除く化合物全てでのこの低下は、クロラムフェニコールと同等であったことからこの低下は有意ではなく、赤血球細胞の溶解は、これらの濃度では目視で観察されなかった。溶解レベルは、化合物LP1369ではアンホテリシンBほど高くなく、細胞の若干の溶解が、濃度範囲32~128 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で観察されたが、これは目視では64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で最も明白であった。

【0139】

実施例2 - 皮膚病変単離物に対する抗菌活性

スタフィロコッカス・シュードインターメディウスの単離物を、イヌの様々な品種の皮膚病変から採取した。mec遺伝子の存在および耐性プロファイルを、実施例1に記載された材料および方法に従って決定した。

10

【0140】

図21は、mecA遺伝子の存在のRT-PCR測定および様々な抗生物質への耐性プロファイルについて得られた結果を示している。図22は、得られた単離物全ての耐性プロファイルを示しており、図23は、23の単離物に対するアンピシリン、LP1369、LP4525およびLP6315の活性(個々の結果ならびにMIC50、MIC90、MICモードおよびMIC範囲)を示している。

【0141】

実施例3 - ウシ乳房炎単離物に対する抗細菌活性

概要

5種の抗菌薬: LP1088、LP1369、LP4525、LP6315およびLP9666を、51のオーストラリア産ウシ乳房炎単離物、主に病原性S.アウレウス属の菌種、S.アガラクチエおよびS.ウベリスに対して試験した。LP4525は、最小のMIC₅₀およびMIC₉₀(それぞれ0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ および1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)を呈した。LP1088、LP1369、LP6315およびLP9666では、それぞれ2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ および128 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のMIC₉₀が得られた。試験された抗菌薬の全てが、これらの化合物が乳房炎病原に対して静菌性であることを示唆するMBC値を誘導した。LP4525が、グラム陽性菌への感染から得られたウシ乳房炎の症例を処置する最も有望な乳房内抗菌薬候補になると思われる。

20

【0142】

材料および方法

細菌単離物の採取および同定

様々な細菌種を含む51の乳牛乳房炎単離物を、University of Adelaide Ambulatory Clinicによる南オーストラリア州の田園地域の酪農農家から採取された牛乳試料から単離した。グラム染色およびカタラーゼ試験から観察された細胞形態を利用して、グラム陰性菌種のブドウ球菌、連鎖球菌およびコリネバクテリウム属の菌種を識別した。コアグララーゼ、ランスフィールド群、エスクリン加水分解およびCAMPTテストをはじめとするさらなる生化学的検査を利用して、単離物を種のレベルで同定した。生化学的テストの結果が種を同定する際に決定的でなければ、16SリボソームRNA遺伝子の増幅および配列決定を利用して、単離物の同一性を確認した。

30

【0143】

抗菌薬の調製

5種の被験化合物それぞれについて、化合物2.56グラムをジメチルスルホキシド(DMSO)10mLに溶解することにより、256mg/mL原液を作製した。得られた溶液を、その後、500 μL 容量に分取して、-80に貯蔵した。アンピシリン(Sigma A-0166)0.303グラムをDMSO 10mLに溶解することにより、アンピシリンの256mg/mL原液も作製した。この溶液を、5種の被験化合物と同じ手法で分取および貯蔵した。これらの化合物が必要となった時に、原液(25.6mg/mL)100 μL を陽イオン調整Mueller Hinton Broth(CAMHB)9.9mLに希釈することにより、256 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 使用液を作製した。

40

【0144】

50

最小障害濃度アッセイ

最小障害濃度テストを、CLSI基準(CLSI 2012)に概要された手法で実施した。被験化合物溶液を、90 µL体積のCAMHB 90 µLを含む96ウェルマイクロタイタートレイに分配し、系列希釈して128 µg/mL ~ 0.25 µg/mLの範囲の濃度勾配を得た(図24参照)。連鎖球菌属の菌種では、CAMHBを、4%溶解ヒツジ血液を含むCAMHBサブプリメント(4%LSB:CAMHB)と置き換えた。ヒツジ血液5 mLをmilliQ水5 mLと混合することにより4%LSB:CAMHBを調製して、-20 °Cでの凍結および解凍を繰り返した後、7000 rpmで20分間遠心分離した。上清7 mLを取り出して、CAMB 93 mLに添加した。

【0145】

ヒツジ血液寒天(SBA)での一夜培養から得られた新しいコロニーを9.1 g/L生理食塩水4 mLに乳化させることにより、細菌懸濁物を600 nmでの光学濃度測定値(OD_{600nm}) 1.00 ~ 1.20に調製した。標準化された細菌懸濁物を生理食塩水で1:10に希釈し、陰性対照のウェルを除く全てのウェルに10 µL容量で分配して、各ウェルに4 × 10⁵ ~ 5 × 10⁵ CFU/mLの最終濃度を与えた。96ウェルマイクロタイタートレイを5%CO₂中、37 °Cで24時間インキュベートし、その後、目視での判断、および波長600 nmのマイクロプレートリーダーからのOD測定値利用の両方で評価した。これらの試験は二重測定で実施したが、MIC値の不一致が観察されれば再度実施した。

【0146】

最小障害濃度(MIC)を、目視での判断およびOD測定値利用の両方により、細菌増殖を予防する抗生物質の最小濃度として決定した。MIC値を照合し、それらを利用してそれぞれMIC₅₀およびMIC₉₀として公知の、単離物の50%および90%に効果のある各化合物の最小濃度を決定した。これらの値とMIC値の範囲を、その後、被験化合物間の直接比較およびアンピシリンとの大まかな比較に利用した。

【0147】

最小殺菌濃度の決定

MICを決定した後、ドロッププレート法の変法を利用して、被験化合物それぞれの最小殺菌濃度(MBC)を決定した。マイクロタイタートレイからの各濃度の液滴10 µLをSBAに分取することにより、MBCを決定して、SBAを37 °Cで24時間インキュベートした。MBCをコロニーの99.9%が死滅する濃度とし、それを液滴を配置した寒天での増殖の欠如により目視で評価した。さらなる試験のための化合物を選択するために、単離物の50%および90%のMBC値(MBC₅₀およびMBC₉₀)を計算して、MBC範囲と共に評価した。

【0148】

結果

ウシ乳房炎単離物に対する抗菌活性が、被験化合物の5種:LP1088、LP1369、LP4525、LP6315およびLP9666の全てで観察された。LP4525は、最小のMIC₉₀(1 µg/mL)を示した。LP1088、LP1369およびLP6315の値は、1~2希釈分高かったが、LP9666の値は、数希釈分高かった(図25)。5種の化合物のうちの4種で得られた低いMIC₉₀値とは異なり、全体として広く高いMBC₉₀値であることから、全ての化合物がほとんどの部分で静菌性であるがMICを超える極めて低い濃度(2~8 µg/mL)での殺菌活性が、幾つかの単離物で観察された。5種の化合物全ての各単離物のMICおよびMBCについては、図31および32を参照されたい。

【0149】

MICおよびMBCデータを単離物の菌種に従って分析すると、MIC₅₀およびMIC₉₀値がブドウ球菌属の菌種に比較して連鎖球菌属の菌種で低いことが明白となった(図26~30)。しかしMIC範囲から、2群の病原の間の差が有意でないことが示される。MBCデータは、種の中で高い変動性もあり、一部のブドウ球菌株および連鎖球菌株

10

20

30

40

50

がMICをわずかに超える濃度で効果的に死滅したが（例えば、LP4525およびLP6315）、有意差は種の間で同定されなかった。

【0150】

この試験の予備的結果から、5種の化合物全てが静菌活性を呈し、幾つかの化合物が高濃度で菌株に依存的な殺菌活性を呈することが示唆される。全ての化合物が陽イオン調整 Mueller Hinton Broth への希釈により若干の濁りを呈したが、LP1088、LP1369、LP4525、およびLP6315の全てが、低いMIC値を示した。しかしLP9666は、乳房炎病原の群それぞれで有意に高いMIC₉₀値を有し、これは陽イオン調整 Mueller Hinton Broth での希釈の際に形成された多量の沈殿物による可能性がある。LP4525は、全ての単離物で最も一貫したMIC値を有し、これは小さなMIC範囲により証明される。LP4525は、全ての化合物と比較して低いMIC₉₀値も有した。本発明者らは、1種のグラム陰性菌（採取物中の単離物2825）が5種の化合物全ての影響を受け易いことも見出した。

10

【0151】

実施例4 - 実施例5の乳房内製剤の調製

実施例5における動物試験用のLP1369を配合するために、4種の製剤を調製した。

【0152】

製剤の組成

群1：ベヒクルのみ。各シリンジは7% Aerosil R972 + Crodamol GTCCを含む；最終容量5mL

20

【0153】

群2：「マイクロサイズ化」。各シリンジは、900mg micrograde LP1369 + 7% Aerosil R972 + Crodamol GTCCを含む；最終容量5mL

【0154】

群3：「ナノサイズ化」。各シリンジは、900mg nanograde LP1369 + 7% Aerosil R972 + Crodamol GTCCを含む；最終容量5mL

【0155】

群4：「PVP」（固体分散物）。これは、PVP（ポリビニルピロリドンK30（PVP K30、Sigma, 81420））とLP1369の混合物である。各シリンジは、450mg LP1369 + 1350mg PVP + 7% Aerosil R972 + Crodamol GTCCを含む；最終容量5mL。2つのシリンジ（450mg / シリンジ × 2）を各分房用に作製した。

30

【0156】

乳房内製剤の調製

群1：ベヒクルのみ。Aerosil R972 10.5グラムを、Crodamol GTCC（完全に飽和された皮膚軟化性トリエステル：Chemsupply, CP209）150mLに溶解した

40

【0157】

群2：LP1369（HPLCによる純度：>98%。Bioaustralis fine chemicals, BIA-L1302）を75μmのふるいに通すことにより、マイクロサイズのLP1369を作製した。LP1369 27グラムをCrodamol GTCCに懸濁させて、R972 10.5グラムを添加した。懸濁物の最終容量を、Crodamol GTCCにより150mLに作製した。LP1369の最終濃度は、900mg / 5mLである。

【0158】

群3：Crodamol GTCC中のLP1369（80mg / mL；450mg / 5mL）を5mm未満の研削ボールで1000rpmで30分間湿式粉碎し、その後、3

50

0分間均質化することにより、ナノサイズの化合物を作製した。7% Aerosil R 972を添加して、粘度を維持した。2本のシリンジ(450mg/シリンジ×2)を、各分房用に作製した。

【0159】

群4: PVP。PVP-LP1369固体分散物54グラム(LP1369 13.5グラムおよびPVP 40.5グラム)をCrodamol GTCCに懸濁させて、Aerosil R972 10.5グラムを添加した。懸濁物の最終容量を、Crodamol GTCCにより150mLに作製した。LP1369の最終濃度は、450mg/5mLである。2本のシリンジ(450mg/シリンジ×2)を、各分房用に作製した。

10

【0160】

実施例5 - 泌乳牛において用いられる開発用乳房内抗生物質中でLP1369の残留物消失プロファイル(residue depletion profile)を測定するための予備試験

乳房内処置後の牛乳中薬物残留物の維持を認識することが、搾乳保留期間、または安全な濃度を達成するために牛乳が廃棄されるべき最後の処置後の期間を決定するのに不可欠である。3種のLP1369製剤で処置されたウシにおける試験を実施して、投与後の12回の搾乳(6日)の間の牛乳中濃度をモニタリングした。1回処置された4頭[微粒子化]('微粒子化')、2頭[ナノサイズ化]('ナノサイズ化')および3頭('PVP')における処置後の1回目、2回目、および12回目の搾乳時の牛乳中LP1369の濃度に関するデータを、オーストラリア、SA州アデレードのUniversity of South Australia内、School of Pharmacyでの分析実験により提供した。

20

【0161】

データ解析

牛乳試料中の検出不能のLP1369濃度を、0.0001mg/mLとした。牛乳濃度のデータを、確率プロットを利用して検証し、対数正規分布により全ての時点で適していることを見出した。それゆえ、Microsoft Excel 2010を用いて、全乳中のLP1369の濃度を対数変換した後、各時点での平均および標準偏差を計算した(各動物が生成した牛乳容量により加重した)。

30

【0162】

結果

微粒子化された製剤で処置されたウシ

【表1】

表1

搾乳の情報	総乳容量 (L)	加重平均のLP 1369濃度 (mg/L)	加重標準偏 差(mg/L)	加重UCL(上 限信頼限界) (logスケ ール)*
搾乳1(12hr)	6.8	11.8533	11.949	1.0738
搾乳2(24hr)	14.3	2.6745	1.416	0.4276
搾乳12(144hr)	23.0	0.0001	0.000	-4.0000

40

*牛乳生産量により加重

【0163】

log10スケールでのUCLは、時間に応じて直線的に低下するようである($R^2 = 0.9980$)。フィットされた線から、単回処置された場合、最後の処置後の65.3時間目にUCLが-1未満(logスケールでは0.010mg/L)になることが示唆される。図33を参照されたい。

【0164】

ナノサイズ化された製剤で処置されたウシ

50

【表 2】

表 2

搾乳の情報	総乳容量 (L)	加重平均の LP 1369 濃度 (mg/L)	加重 SD (mg/L)	加重 UCL (log スケール)*
搾乳 1 (12 hr)	7.0	5.2121	3.994	0.7170
搾乳 2 (24 hr)	9.4	0.4468	0.321	-0.3499
搾乳 12 (144 hr)	25.0	0.0001	0.000	-4.0000

*牛乳生産量により加重

【0165】

log₁₀スケールでの UCL は、時間に応じて直線的に降下するようである ($R^2 = 0.9856$)。フィットされた線から、単回処置された場合、最後の処置後の 61.1 時間目に UCL が -1 未満 (log スケールでは 0.010 mg/L) になることが示唆される。図 34 を参照されたい。

【0166】

PVP で処置されたウシ

【表 3】

表 3

搾乳の情報	総乳容量 (L)	加重平均の LP 1369 濃度 (mg/L)	加重 SD (mg/L)	加重 UCL (log スケール)*
搾乳 1 回目 (12 hr)	36.1	1.5471	1.059	0.1895
搾乳 2 回目 (24 hr)	44.6	0.3748	0.196	-0.4261
搾乳 12 回目 (144 hr)	56.7	0.0001	0.000	-4.2283

微生物群が存在しないため固定された、*牛乳生産量により加重

【0167】

log₁₀スケールでの UCL は、時間に応じて直線的に降下するようである ($R^2 = 0.9976$)。フィットされた線から、単回処置された場合、最後の処置後の 5.3 時間目に UCL が -1 未満 (log スケールでは 0.010 mg/L) になることが示唆される。図 35 を参照されたい。

【0168】

結論

酪農農家にかかる大きなコストは、牛乳中濃度が規制当局により許容され得ると思われる濃度に達するまで処置されたウシから得た牛乳を廃棄するという要件に関連する。この LP 1369 消失試験の結果から、それぞれ微粒子化製剤、ナノサイズ化製剤および PVP 製剤で搾乳 6 回、6 回、および 1 回に相当する保留期間 65.3 時間、61.1 時間および 5.3 時間が必要との予測が決定された。固体分散物 (PVP) 製剤は、5 回少ない牛乳廃棄が必要である。

【0169】

実施例 6 - 実施例 7 用の乳房内製剤の調製

実施例 7 で試験される動物への乳房内適用用の LP 1369 を配合するために、3 つの臨床試験用獣医学的生成物 (IVP) を調製した。

【表4】

表4

「IVP1」	臨床試験用獣医学的生成物1：固体分散物としてシリンジあたりLP1369 150mg
「IVP2」	臨床試験用獣医学的生成物2：固体分散物としてシリンジあたりLP1369 300mg
「IVP3」	臨床試験用獣医学的生成物2：固体分散物としてシリンジあたりLP1369 600mg

【0170】

10

方法

LP1369の乳房内製剤の調製は、2段階工程である。最初の段階は、化合物の固体分散物を調製して、乳房内ベヒクルに組み込むことである

【0171】

固体分散物の調製

LP1369 (HPLCによる純度：>98%。Bioaustralis fine chemicals, BIA-L1302) 8グラムおよびポリビニルピロリドンK30 (PVPK30, Sigma, 81420) を、丸底フラスコに添加した。メタノール(200ml)を攪拌しながら添加して、LP1369およびPVPK30が完全に溶解するまで音波処理した。メタノールを、真空下で45のロータリーエバポレータを用いて除去した(約4~5時間)。固体分散物が丸底フラスコの壁の周囲に形成し、それを採取して、スパーテルで砕き落とし、ブレンダーで粉碎した。

20

【0172】

乳房内製剤の調製

PVPK30-LP1369 (LP1369 7.5グラムに相当) 30グラムまたはPVPK30-LP1369 (LP1369 15グラムに相当) 60グラムの固体分散物を、フラスコに添加した。Crodamol GTCC (完全に飽和された皮膚軟化性トリエステル, Chemsupply, CP209) を添加して、懸濁液を作製した(250mL近くまで。約220mL)。Aerosil R972 17.5グラム(7重量%) (Aerosil R972は、ジメチルジクロロシランで後処理されたヒュームドシリカであり、Evonik Australia Pty Ltdにより供給された。カタログ番号R972) を、その後、懸濁液に添加して、粘度を調整した。懸濁液を250mLにして、以下のLP1369濃度を得た：150mg/5mLまたは300mg/5mL。

30

【0173】

600mg/シリンジの群では、PVPK30-LP1369 (LP1369 30グラムに相当)の固体分散物120グラムを、フラスコに添加した。Crodamol GTCCを添加して、懸濁液を作製した(250mL近くまで。約220mL)。Aerosil R972 17.5グラム(7重量%) を、その後、懸濁物に添加して、粘度を調整した。懸濁液を250mLにして、600mg/5mLのLP1369濃度を得た。流動性を改善するために、固体分散物を500mLに2倍希釈し、別のAerosil R972 17.5グラムを添加して粘度を維持した(最終的なR972 7%)。2本のシリンジ(300mg/シリンジ×2)を各分房用に作製した。各シリンジ(Elm-Plastic, ドイツ、デュッセルドルフ所在：8ml乳房インジェクター Art. No. 808000)に懸濁物5mLを充填して、ラベルを貼付した。

40

製剤の組成

【0174】

150mg群 - IVP1

各シリンジは、LP1369-PVPK30固形分散物600mg (150mg LP1369+450mg PVPK30)+7%R972+Crodamol GTCCを

50

含む；最終容量 5 mL

【0175】

300 mg 群 - IVP2

各シリンジは、LP1369 - PVPK30 固形分散物 1200 mg (300 mg LP1369 + 900 mg PVPK30) + 7% R972 + Crodamol GTCC を含む；最終容量 5 mL

【0176】

600 mg 群 (300 mg x 2) - IVP3

各シリンジは、LP1369 - PVPK30 固形分散物 1200 mg (300 mg LP1369 + 900 mg PVPK30) + 7% R972 + Crodamol GTCC を含む；最終容量 5 mL

10

【0177】

実施例 7 - 泌乳牛において誘発されたストレプトコッカス・ウベリスによる臨床型乳房炎の処置における LP1369 含有の臨床試験用獣医学的生成物の有効性

本試験の目的は、泌乳牛において誘発されたストレプトコッカス・ウベリスによる臨床的乳房炎の処置において 2 種の LP1369 含有臨床試験用獣医学的生成物 (IVP) の予備的有効性を推定することであった。本試験の具体的目的は、

(1) S. ウベリスの既知の菌株の乳房内投与による実験的チャレンジ後に泌乳牛で誘発された臨床型乳房炎の処置として各 IVP の予備的有効性を試験すること、

(2) S. ウベリスの既知の菌株の乳房内投与による実験的チャレンジ後に泌乳牛で誘発された臨床型乳房炎の処置において 2 種の IVP の予備的有効性を比較すること、

20

(3) S. ウベリスの既知の菌株の乳房内投与による実験的チャレンジ後に泌乳牛で誘発された臨床型乳房炎の処置において 2 種の IVP の予備的有効性を市販製品と比較すること、

であった。

【0178】

試験の最終目的は、IVP の有効性に関するデータを提供することであった。

【0179】

世界全体における臨床型乳房炎は、乳製品業界に少なからぬ損失をもたらす原因である。オーストラリアおよびニュージーランドの乳牛群における臨床型乳房炎の発症率は、およそ 15% と推定される (McDougall, 1999, McDougall et al., 2007a, Petrovski et al., 2009)。ストレプトコッカス・ウベリスは、オーストラリア (Shum et al., 2009) ; Petrovski 2013, 未発表) およびニュージーランド (Laven, 2008, McDougall, 1998, McDougall et al., 2007a, McDougall et al., 2007b) において主な乳房炎原因生物として報告されている。乳房炎での抗生物質処置によるインピボ有効性を試験するためには、感染したウシを処置することが有利である。しかしこれは、自然な感染を採り入れる試験では日数を要する可能性がある。それゆえ泌乳牛に確定された乳房炎チャレンジを利用することで、自然発生した乳房炎で試験を実施するよりも短時間かつ少ない動物数で有効性試験を完了することができる。チャレンジモデルは、この群により過去に開発されたものであり、さらなる試験では S. ウベリスの 1 つの菌株を好ましいチャレンジとして選択した。

30

40

【表 5】

表 5

試験場所		
動物相での試験場所	Dairy Research Centre School of Animal and Veterinary Sciences Roseworthy Campus オーストラリア、SA州ローズワージー、2371所在	10
微生物学的試験の試験場所	Microbiology Laboratory School of Animal and Veterinary Sciences Roseworthy Campus オーストラリア、SA州ローズワージー、2371所在	20

【0180】

実験計画

試験の種類および計画

本試験は、泌乳牛において誘発された臨床型乳房炎チャレンジに対するIVPの有効性を検査する無作為試験であった。ウシは全て、微生物懸濁液を接種された2つの対側分房（即ち、前左と後右、または前右と後左）を有した。チャレンジ分房は、乳房内投与技術を利用して接種された。各接種は、およそ4mLの容量を有し、公知であり明確な特徴づけがなされたS.ウベリス菌株をおよそ 10^6 コロニー形成単位(cfu)/シリンジ含んだ。

【0181】

ポータブル搾乳機を用いて、ウシを1日2回搾乳した。ウシおよび各分房の臨床試験を、チャレンジ後の最初の搾乳時（12時間目）から開始して180時間目まで12時間ごとに実施した。チャレンジ前の搾乳に先立ち、およそ2mLの牛乳をウシの4つの分房それぞれから、牛乳採取試験用の無菌採取法を利用して採取した。各分房からの泌乳の外観を、暗色のプラスチック容器または古いレコード盤を使用して、粘稠性および外観の変化について観察した。小片または塊の存在があれば、さらなる研究を即座に実施した。乳房炎の兆候が検出されたら、牛乳標本を、感染が疑われる分房から牛乳採取試験用の無菌採取法を利用して採取した。牛乳生産量をチャレンジ分房それぞれで各搾乳時に記録し、非チャレンジ分房の両方（例えば、FRとRL、またはFLとRRを一緒に）からは合乳の生産量を得た。方策として重要な時点では、体細胞数、タンパク質、脂質およびラクトース率の試験のために、合乳の非チャレンジ分房ではバケツ搾乳システムを利用し、チャレンジの各分房ではクォーターミルカーでの搾乳システムを利用して、牛乳標本を毎朝採取した。加えて、方策として重要な時点では、HPLCおよび微生物阻害残留試験、例えばCOPANまたはDelvotestのために、牛乳標本を採取した。

【0182】

各搾乳の完了の前および後に、ウシを急性乳房炎に関連する臨床兆候：抑うつ状態、跛行および臥床について観察した。検査の工程は、動物の目視での観察および臨床検査と、乳房に集中した病変を含んだ。個々の分房を、乳房炎に関連する臨床兆候、即ち熱、腫脹、発赤、圧痛について精査および触診し、観察は全て記録した。

【0183】

50

臨床型乳房炎に一致した兆候を示したウシ/分房は、直ちに処置した。ウシ/分房が、漸増的に乳房炎の兆候を示したため、それらをI V P 1、I V P 2または参照生成物(Noroclox LC, Norbrook)で処置した。次の各ウシの処置割り当てでは、このパターンを引き続き繰り返した。1匹のウシの第二の分房が、同じまたは次の搾乳(複数可)の際に乳房炎の兆候を示した場合、処置は個々のウシの臨床型乳房炎について処置された最初の分房と同じI V P/参照生成物で行った。それゆえ、群あたりのウシ/分房の数は、異なっていた。

【表6】

表6

事象のスケジュール

10

試験日	接種に関する時間	事象	
0	- 1. 0	全牛の無菌搾乳 全牛の搾乳。処置された牛の観察。全牛の試料採取	
0	- 0. 5	全牛のチャレンジ	
0	0	全牛の観察	
0	0~2	臨床観察、全牛の搾乳、標本採取および必要に応じて処置	
1	1 2	臨床観察、全牛の搾乳、標本採取および必要に応じて処置	20
2	2 4	臨床観察、全牛の搾乳、標本採取および必要に応じて処置	
2	3 6	臨床観察、全牛の搾乳、標本採取および必要に応じて処置	
3	4 8	臨床観察、全牛の搾乳、標本採取および必要に応じて処置	
3	6 0	臨床観察、全牛の搾乳、標本採取および必要に応じて処置	
4	7 2	臨床観察、全牛の搾乳、標本採取および必要に応じて処置	
4	8 4	臨床観察、全牛の搾乳、標本採取および必要に応じて処置	30
5	9 6	臨床観察、全牛の搾乳、標本採取および必要に応じて処置	
5	1 0 8	臨床観察、全牛の搾乳、標本採取および必要に応じて処置	
6	1 2 0	臨床観察、全牛の搾乳、標本採取および必要に応じて処置	
6	1 3 2	臨床観察、全牛の搾乳、標本採取および必要に応じて処置	
7	1 4 4	臨床観察、全牛の搾乳、標本採取および必要に応じて処置	40
7	1 5 6	臨床観察、全牛の搾乳、標本採取および必要に応じて処置	
8	1 6 8	臨床観察、全牛の搾乳、標本採取および必要に応じて処置	
8	1 8 0	臨床観察、全牛の搾乳、標本採取および必要に応じて処置	

【0184】

材料および方法
動物

50

動物の詳細

種： ウシ
 年齢： 2 ~ 10 歳
 品種： 一般的乳牛（ホルスタイン・フリーシアン）
 型： 泌乳牛
 体重： 適用可能でない
 個体数および性別： 14 匹雌
 識別： ウシは、最初の農場で永久的な固有番号が記載された片耳の耳標によって識別された。加えて各ウシには、様々な色のテールペイントスプレー缶を利用して、固有試験認識番号（例えば、1、2、3・・・14）を恥骨直下の後肢にスプレーマ
 ーキングした。同じ固有試験認識番号を、各ウシのハインドパスターンに適用された、色が調和した1本のプラスチック脚バンドに記録した。
 供給元： 動物は、市販の乳牛群から得られる。

10

【0185】

組み入れ基準

- ・ 健常な牛（購入前3～4日間の臨床観察）
- ・ 4つの機能する分房（購入前）
- ・ 既知の体細胞検査歴（最後の12ヶ月間に250,000細胞/mLを超えるSCCがない）
- ・ ウシが試験開始前14日以内に抗菌薬で処置されていない

20

【0186】

組み入れ後の除外（離脱）

【0187】

持続時間が短いため、ウシが試験から除外される必要が生じることは予測されなかった。しかし、試験の継続に不適切と思われるウシは、研究責任者の承認後に除外された。任意の除外の理由を完全に文書にして、生データおよびSRにおいて正当性を評価された。試験から除外された任意のウシは、適正な獣医のケアを受けた。1匹のウシが、後肢への偶発的損傷により除外された。

【0188】

動物の飼育および管理

試験期間の間、動物試験相の試験場所でウシを飼育した。最短で試験開始前7日間、ウシを施設に順化させた。優良農法規範の推奨（good farming practice recommendations）と一致したオーストラリア飼育場/飼育条件のもとでウシを管理した。ウシを最初の農場で用いられた混合飼料および穀物系濃厚飼料で飼育した。主な水は、清浄な自動補給式の槽から随意に飲用として使用することができた。

30

【0189】

群の割り付けおよび無作為化

組み入れ基準を満たしたウシは全て、試験に登録した。チャレンジされる分房は、搾乳小屋でウシの順番に基づき、表7に示された通りウシの間で交互に割り付けられた。チャレンジへの最終的な割り付けを、SRにおいて報告した。

40

【表7】

表7. 各ウシの処置レジメン

搾乳小屋での ウシの順番	前左	前右	後左	後右
1	チャレンジ	非チャレンジ	非チャレンジ	チャレンジ
2	非チャレンジ	チャレンジ	チャレンジ	非チャレンジ
3	チャレンジ	非チャレンジ	非チャレンジ	チャレンジ
4	非チャレンジ	チャレンジ	チャレンジ	非チャレンジ
5	チャレンジ	非チャレンジ	非チャレンジ	チャレンジ
6	非チャレンジ	チャレンジ	チャレンジ	非チャレンジ
7	チャレンジ	非チャレンジ	非チャレンジ	チャレンジ
8	非チャレンジ	チャレンジ	チャレンジ	非チャレンジ
9	チャレンジ	非チャレンジ	非チャレンジ	チャレンジ
10	非チャレンジ	チャレンジ	チャレンジ	非チャレンジ
11	チャレンジ	非チャレンジ	非チャレンジ	チャレンジ
12	非チャレンジ	チャレンジ	チャレンジ	非チャレンジ
13	チャレンジ	非チャレンジ	非チャレンジ	チャレンジ
14	非チャレンジ	チャレンジ	チャレンジ	非チャレンジ

10

【0190】

チャレンジ

20

チャレンジの菌株

【0191】

チャレンジに用いられたS.ウベリス株は、The University of Adelaide内のSAVS Microbiology Laboratoryの菌株ライブラリーから得た。選択された菌株は、十分に特徴づけられていて、チャレンジ後36～120時間の臨床型乳房炎誘発に成功することが先行の試験で知られたものであった。該菌株は、標準の微生物学的方法により生化学試験を用いてS.ウベリスとして表現型により同定された。

【0192】

チャレンジ懸濁物

30

【0193】

選択されたS.ウベリス株のチャレンジ懸濁物の調製を、The University of Adelaide内のSAVSにあるMicrobiology Laboratoryで実施した。チャレンジ懸濁物の調製手順は、検査所の標準操作手順に従った。

【0194】

実験的感染

【0195】

ウシは全て、搾乳終了後可能な限り早期に、搾乳後0.5時間を超えないように、チャレンジ懸濁物に2つの対側分房(表7参照)を暴露させた。接種前に、4つ全ての分房の乳頭端部を、乾いた紙タオルおよびアルコール綿のスワブまたは適正な乳頭ワイプを用いて完全に清浄化した。チャレンジ接種物を、乳房内経路から接種した。一方のシリンジの内容物全てを、所定のチャレンジ分房それぞれに投与した。チャレンジ懸濁物の投与後に、分房を徹底的にマッサージして、乳房内の懸濁物の分散を支援した。

40

【0196】

処置レジメン

信頼できる獣医または適正に訓練を受けた職員が、全ての処置を実施した。研究責任者が、試験職員の訓練活動、用いられた被験生成物、および試験時に投与された投与量の詳細記録を管理した。

【0197】

50

ウシを処置スケジュールに従って乳房内経路から処置した。処置を「処置記録」の用紙に記録した。

【0198】

IVP生成物の投与および回数

【0199】

各ウシは、6回の連続処置とし、1回の処置に分房あたり1本の乳房内シリンジの推奨用量で処置した。IVP1およびIVP2で処置されたウシ/分房では、各感染分房を各搾乳後直ちに、例えば12時間ごとに、6回連続で処置した。乳房内処置は、標準操作手順書に従って施された。

【0200】

参照生成物の投与および回数

【0201】

各ウシを、3回の実施で一回処置に分房あたり1本の乳房内シリンジの推奨用量で処置した。参照生成物で処置された牛/分房では、各分房を、3回の処置で24時間の間隔において、搾乳後直ちに処置した。乳房内処置は、標準操作手順書に従って施された。

【0202】

併用処置

【0203】

被験生成物に関係する他の任意処置の使用は、試験の間は禁止した。他の処置は全て、動物の不必要な罹患を回避する場合に限り利用すべきであり、正当性を示す必要があった。いずれの場合でも、研究責任者に任意の処置を報告し、承認されなければならなかった。

【0204】

観察/測定/標本採取

動物の検査

獣医が、各ウシを処置前に検査した。検査には、一般観察（具体的には体型、姿勢および挙動）、直腸温度の測定および各分房の触診が含まれた。

【0205】

体重は、この試験の間は測定しなかった。

【0206】

試験を通して、任意の疾病兆候について、試験の職員がウシを少なくとも1日2回観察した。観察を日誌形式で記録した。有害事象（AE）の例では、研究責任者と、必要に応じて獣医に、直ちに通知した。事象は全て記録した。

【0207】

試験0日目0時間目に開始して試験8日目180時間目まで、各ウシを各搾乳時に臨床型乳房炎と一致する兆候について観察した。

【0208】

軽度を超える（標準操作手順書に記載された通りスコア3よりも高い）不快感の兆候を示したウシはいずれも、製造業者の推奨用量の抗炎症性鎮痛剤（ケトプロフェン）で処置した。

【0209】

異常が存在するか否かにかかわらず、全ての観察の結果を観察用紙に記録した。

【0210】

ウシからの臨床検査用搾乳前の無菌分房レベルでの牛乳標本採取

チャレンジ接種（試験0日目0時間目）の直前に開始して試験8日目180時間目まで12時間ごとに、ウシを搾乳して臨床検査を実施した。各搾乳の際、チャレンジ分房ではクォーターミルカーでの搾乳の前、非チャレンジ分房ではバケット搾乳の前に、暗色のプラスチック容器を用いて、泌乳の外観を、粘稠性の変化、外観および/または小片もしくは塊の存在をはじめとする乳房炎に一貫した変化について観察した。乳房炎を示す兆候が現れたら、標準操作手順書に従い、無菌技術を利用して、さらなる牛乳標本を採取した。

10

20

30

40

50

【0211】

全ての無菌牛乳標本は、二本ずつ採取した。

【0212】

牛乳の外観の観察

初期観察および無菌標本が完了したら、泌乳の外観を、暗色のプラスチック容器または古いレコード盤を用いて粘稠性の変化、外観および小片または塊の存在について観察した。牛乳の外観は、標準操作手順書に記載された基準に基づいて評価した。

【0213】

搾乳

【0214】

牛乳の外観を観察した後、ポータブル搾乳機を用いてウシを搾乳した。チャレンジ分房は、チャレンジ接種（試験0日目0時間目）の直前に開始して試験8日目180時間目まで12時間ごとにクォーターミルクを用いて搾乳した。各ウシの非チャレンジ分房は、チャレンジ接種（試験0日目0時間目）の直前から開始して試験8日目180時間目まで12時間ごとにバケット搾乳を利用して搾乳した。

10

【0215】

牛乳の生産量

【0216】

チャレンジ分房と非チャレンジ分房の牛乳生産量を、チャレンジ分房は別個に各搾乳時に、そして非チャレンジ分房では合乳を（非チャレンジ分房のデータポイントとして、例えばFRとRL、またはFLとRRと一緒に）記録した。

20

【0217】

チャレンジ乳房および非チャレンジ乳房レベルでの牛乳標本の採取

バケット搾乳により回収された2つの適切な非チャレンジ分房からプールした牛乳から、またはクォーターミルクに回収されたチャレンジ分房の個々の分房から、標本を採取した。これらの標本は、標準操作手順書により各ウシ/分房/分房の組み合わせから回収された牛乳の代表であり、新鮮な牛乳の分析標本として用いた。そのような採取された標本を、体細胞数、タンパク質、脂肪およびラクトース率試験に使用した。

【0218】

乳房/ウシの搾乳後試験

搾乳の完了後に、ウシを急性乳房炎に関連する臨床兆候：抑うつ状態、跛行、臥床について、そして直腸温度を検査することにより観察した。検査工程は、乳房に集中した目視による観察および動物の臨床検査を含んだ。しかし動物が疾病を有する疑いがあれば、臨床状態を診断する目的の、登録獣医による詳細な臨床検査が実施された。これは、必要と判断されれば、適正なテスト（例えば、血液学的検査、生化学的検査）のための血液試料を含む場合があった。

30

【0219】

乳房および個々の分房を、乳房炎に関連する臨床兆候、即ち熱、腫脹、発赤、圧痛について精査および触診した。乳房触診スコアリングシステムの説明は、標準操作手順書に従った。

40

【0220】

乳房炎と診断された分房/ウシの処置

乳房炎の兆候（牛乳の変化、熱、腫脹および乳房の疼痛、または標準操作手順書により3以上の触診スコア）が検出されたため、標準操作手順書に従い、牛乳標本の無菌採取を利用して、牛乳標本を感染が疑われる分房から採取した。乳房炎と診断された分房を、IVPまたは参照生成物で処置した。乳房炎の兆候を示した最初のウシ/分房はIVP1で処置し、その後、漸増的にIVP2および参照生成物で処置した。このサイクルを、次の感染牛についても適宜、繰り返した。一匹のウシの第二の分房が同じまたは連続する搾乳（複数可）の際に乳房炎の兆候を示した場合には、そのウシの第二の分房内を、第一の分房と同じIVP/参照生成物で処置した。それゆえ、群あたりのウシ/分房の数は、異なる

50

り得る。

【0221】

ウシ1匹あたり2つを超える分房が感染したら、注射可能な生成物（即ち、ママジン（Mamazyn））をラベルの推奨に従って使用した（例えば、1日1回5gを3回）。急性汎発性乳房炎の兆候を示したウシの場合、全身抗生物質処置を直ちに開始し、必要に応じて補助的処置（例えば、非好いてロイド系抗炎症剤ケトプロフェン）を与えた。処置の決定は、登録獣医が研究責任者と相談して行った。各搾乳時には引き続き分房を観察し、適宜処置した。

【0222】

有効性の評価

10

【0223】

有効性の定義

処置された分房の50%が処置開始から5日以内に臨床治癒に至ったら、生成物を有効と見なした。

【0224】

有効性の測定

【0225】

臨床治癒

臨床治癒は、ウシの臨床検査、乳房の触診および牛乳の外観観察により決定した。臨床治癒は、

20

（1）標準操作手順書に従い3以下の触診スコア、および/または

（2）標準操作手順書に従い3以下の牛乳スコア、および/または

（3）乳房が正常な温度に戻り、接触の際に非腫脹および非疼痛であるか、もしくは発赤が消失していること、および/または

（4）ウシの一般的健康状態が標準操作手順書に従い3以下であること、と定義した。

【0226】

微生物学的治癒

【0227】

臨床治癒は、処置前および分房レベルで最後の処置後の最短で7日間に採取された無菌牛乳試料の微生物培養によっても決定した。微生物学的治癒は、

30

（1）処置前に1または2つのコロニータイプが単離され、処置後に増殖がないこと、

（2）処置前に1または2つのコロニータイプが単離され、処置後に異なるコロニータイプ（複数可）が単離されること、

と定義した。

【0228】

I V P / 参照生成物の有効性は、

（1）特定のI V P / 参照生成物で処置された分房の総数から臨床治癒に達した、臨床型乳房炎の分房の割合、

（2）特定のI V P / 参照生成物で処置された分房の総数から微生物学的治癒に達した、臨床型乳房炎の分房の割合、

40

と決定した。

【0229】

これらの方法で用いられた参考文献

（1）Laven, R. 2008. Clinical forum: choosing mastitis treatment in the lactating cow: selling or science? UK Vet: Livestock 13(4): 29-36.

（2）McDougall, S. 1998. Efficacy of two antibiotic treatments in curing clinical

50

and subclinical mastitis in lactating dairy cows. N. Z. Vet. J. 46(6):226-232.

(3) McDougall, S. 1999. Prevalence of clinical mastitis in 38 Waikato dairy herds in early lactation. N. Z. Vet. J. 47(4):143-149.

(4) McDougall, S., K. E. Agnew, R. Cursons, X. X. Hou, and C. R. Compton. 2007a. Parenteral treatment of clinical mastitis with tylosin base or penethamate hydr iodide in dairy cattle. J. Dairy Sci. 90(2):779-789.

10

(5) McDougall, S., D. G. Arthur, M. A. Bryan, J. J. Vermunt, and A. M. Weir. 2007b. Clinical and bacteriological response to treatment of clinical mastitis with one of three intramammary antibiotics. N. Z. Vet. J. 55(4):161-170.

(6) Petrovski, K., C. Heuer, T. Parkinson, and N. Williamson. 2009. The incidence and aetiology of clinical bovine mastitis on 14 farms in Northland, New Zealand. N. Z. Vet. J. 57(2):109-115.

20

(7) Shum, L. W. C., C. S. McConnell, A. A. Gunn, and J. K. House. 2009. Environmental mastitis in intensive high-producing dairy herds in New South Wales. Aust. Vet. J. 87(12):469-475.

【0230】

結果

30

【表8】

表8：略語

IVP1	臨床試験用獣医学的生成物1：固体分散物としてシリンジあたりLP1369 150mg
IVP2	臨床試験用獣医学的生成物2：固体分散物としてシリンジあたりLP1369 300mg
REF	参照生成物：シリンジあたりクロキサシリンベンザチン200mgを含むノロ クロックス
UUC	非処置で非チャレンジの対照：各処置牛の非処置で非チャレンジの対照分房

40

【0231】

搾乳前の牛乳の外観

【表 9】

表 9. 搾乳前のストリップミルクテストでの平均牛乳外観のスコアおよび処置群あたりの差

処置群	平均外観スコア	SE	差の対象
IVP1	0.76	0.09	UUC
IVP2	0.76	0.10	UUC
REF	0.79	0.07	IVP1、IVP2、UUC
UUC	-0.13	0.06	IVP1、IVP2、REF

【0232】

10

搾乳後の触診スコア

【表 10】

表 10. 搾乳直後の分房の平均触診スコアおよび処置あたりの差

処置群	平均触診スコア	SE	差の対象
IVP1	1.67	0.11	REF、UUC
IVP2	1.62	0.11	REF、UUC
REF	1	0.08	IVP1、IVP2、UUC
UUC	0.51	0.07	IVP1、IVP2、REF

【0233】

20

牛乳生産量

【表 11】

表 11. 平均牛乳生産量および処置群あたりの差

処置群	平均牛乳生産量		差の対象
	(L/分房/搾乳)	SE	
IVP1	1.69	0.12	IVP2、UUC
IVP2	1.38	0.12	IVP1、UUC
REF	1.46	0.09	UUC
UUC	2.28	0.09	IVP1、IVP2、REF

30

【0234】

表 12. 臨床治癒の概要および不能

臨床治癒

臨床治癒は、各ウシの臨床検査、乳房の触診および牛乳の外観の観察により決定した。

臨床治癒は、

- (1) 3以下の触診スコア、および/または
 - (2) 3以下の牛乳スコア、および/または
 - (3) 乳房が正常な温度に戻り、接触の際に非腫脹および非疼痛であるか、もしくは発赤が消失していること、および/または
 - (4) ウシの一般的健康状態が3以下であること、
- と定義した。

40

【表 1 2】

処置	ウシ	分房	触診スコア	牛乳スコア	乳房	一般的健康状態 スコア	状態
I V P 1	1	F	≦ 3	≦ 3	正常	≦ 3	治癒
I V P 1	1	H	≦ 3	≦ 3	正常	≦ 3	治癒
I V P 1	2	F	≦ 3	≦ 3	正常	≦ 3	治癒
I V P 1	2	H	≦ 3	≦ 3	正常	≦ 3	治癒
I V P 1	3	F	≦ 3	≦ 3	正常	≦ 3	治癒
I V P 1	3	H	≦ 3	≦ 3	正常	≦ 3	治癒
I V P 2	4	F	≦ 3	≦ 3	正常	≦ 3	治癒
I V P 2	4	H	≦ 3	≦ 3	正常	≦ 3	治癒
I V P 2	5	F	≦ 3	≦ 3	正常	≦ 3	治癒
I V P 2	5	H	≦ 3	≦ 3	正常	≦ 3	治癒
I V P 2	6	F	> 3	> 3	異常	> 3	不能
I V P 2	6	H	> 3	> 3	異常	> 3	不能
参照	7	F	≦ 3	≦ 3	正常	≦ 3	治癒
参照	7	H	≦ 3	≦ 3	正常	≦ 3	治癒
参照	8	F	≦ 3	≦ 3	正常	≦ 3	治癒
参照	8	H	≦ 3	≦ 3	正常	≦ 3	治癒
参照	9	F	> 3	> 3	異常	> 3	不能
参照	9	H	> 3	> 3	異常	> 3	不能

10

20

【 0 2 3 5 】

本試験におけるストレプトコッカス・ウベリスのチャレンジは、治癒されたウシ3頭のうち2頭のみで市販の参照生成物（ノロクロックス）を圧倒する十分な細菌チャレンジを提供した。ノロクロックスは通常、実務現場でのチャレンジの条件下で十分に効果が出ると予測されており、この試験でのチャレンジが極端であったことが示された。顕著な細菌チャレンジであったにもかかわらず、I V P 1（150mg LP1369）およびI V P 2（300mg LP1369）は、参照生成物と同じまたはそれを上回る能力を発揮し、この重要で一般的なウシ乳房炎原因に対して両方の製剤により高レベルの活性がもたらされることを実証した。表12を参照されたい。

【 0 2 3 6 】

実施例 8 - 実施例 7 に示された処置の微生物学的治癒効果の測定

ウシの健康状態、乳房の外観（特に炎症の兆候 - 温度、腫脹、疼痛、発赤について）および牛乳の外観の精査は、乳房炎の臨床治癒が実現されたか否かを示すことができるが、処置が微生物学的治癒を実証する別のテストがある。適正な条件下で、細菌を乳房に侵入させて、乳房炎を誘発することができる。乳房炎を誘発した生物体が、処置により感染した乳房から除去されない場合、密に接触する乳牛群では、それらの生物体が感染した牛だけでなく他の牛にも再感染する潜在的確率が残る可能性がある。さらに、たとえ細菌が低温殺菌で死滅される可能性があっても、牛乳中の細菌の存在は牛乳の品質および食品安全性の見地からは望ましいと判断されない。それゆえ、微生物学的治癒をもたらす乳房内処置の能力を評価することは、非常に有益である。

30

40

【 0 2 3 7 】

乳房炎の微生物学的治癒は、乳房レベルでの処置前および最後の処置後最短で7日間に採取された無菌牛乳試料の微生物培養により決定される。微生物学的治癒は、(i) 処置前に1つもしくは2つのコロニータイプが単離され、処置後に増殖しないこと、または(ii) 処置前に1または2つのコロニータイプが単離され、処置後に異なるコロニータイプ（複数可）が単離されること、と定義される。I V P / 参照生成物の有効性は、微生物学的治癒を実現する特定のI V P / 参照生成物で処置された臨床型乳房炎を有する分房全ての百分率として決定される。

【 0 2 3 8 】

材料および方法

50

微生物培養の結果は、感染前、感染後および処置後に回収された牛乳試料から作成した。数字のゼロを含むセルは、培養で陰性が見出されたものである。試料が得られた場合には、生物体の同一性および存在する生物体の数（CFU/ml）に関する情報を表すか、または試料をコンタミネーションについて同定している（図36参照）。図内の残りのセルは、評価のために回収されなかった理由を示している。

【0239】

結果

結果を、図36に表している。参照生成物（ノロクロックス）は、8つのチャレンジ分房のうち5つ（62.5%）で微生物学的治癒を実現した。IVP2（300mg LP1369）は、6つのチャレンジ分房のうち4つ（66.7%）で微生物学的治癒を実現した。IVP1（150mg LP1369）は、6つのチャレンジ分房のうち4つ（66.7%）で完全または部分的な微生物学的治癒を実現した。これらの誘導されたストレプトコッカス・ウベリス-乳房炎モデルにおいて、結果を実施例7で示された結果とまとめると、IVP1およびIVP2が、高レベルの臨床治癒および微生物学的治癒を提供したことが示される。これらの結果は、乳房炎の効果的処置を示している。

【0240】

実施例9 - 泌乳牛において誘発されたストレプトコッカス・ウベリスの臨床乳房炎の処置におけるLP1369の残留物消失プロファイルの決定（実施例7）

6回（6回の連続する搾乳時に）処置したIVP1およびIVP2に関する6つの分房から得た、処置後の牛乳中のLP1369濃度に関するデータを、オーストラリア、SA州アデレードのUniversity of South Australia内のSchool of Pharmacyにある分析検査室により提供した。牛乳中のLP1369の方法の定量限界（LoQ）は、0.088mg/Lであった。LP1369の最大残留レベル（MRL）は、APVMA, December 2013, Agricultural and Veterinary Chemicals Code Instrument No. 4（MRL Standard）2012によれば0.010mg/kgであった。

【0241】

データ解析

【0242】

LP1369レベルがLoQ未満であった牛乳試料中では、LP1369濃度は、0.0001mg/Lとした。

【0243】

牛乳濃度のデータを、確率プロットを利用して精査し、対数正規分布が全ての時点で適正であることを見出した。それゆえ、全乳中のLP1369濃度は、Microsoft Excel 2010を用いて、対数変換し、その後各時点での平均および標準偏差（各動物により生成された牛乳容量により加重）を計算した。

【0244】

牛乳からの任意の物質の消失の測定は、試験した母集団の規模により影響を受ける。本試験でサンプリングされたウシの数が少なかったため、g'因子（g' factor）（結果が母集団を象徴するものになるように、99%信頼区間を提供する因子）を解析に適用した。動物20匹の母集団に向けてg'因子を固定することにより、分散されたデータの確率を最小限にした。

【0245】

以下の仮説を定めた。搾乳1回目（12時間目）の牛乳中の有効成分の濃度は、最初の処置、2回目の処置および最後の処置の後の搾乳時に得られた平均濃度を表している。さらに、搾乳1回目（12時間目）の牛乳の容量は、最初の処置、2回目の処置および最後の処置の後の搾乳時に回収された平均牛乳容量を表している。

【0246】

結果

【表 1 3】

表 1 3. IVP 1 (150 mg 有効成分/シリンジ) で処置された分房

搾乳の情報	総乳容量 (L)	加重平均LP1 369 濃度 (mg/ L)	加重SD (mg/L)	加重UC L (logスケ ール)*
搾乳1回目(12hr)	6.28	26.1619	11.381 1	2.2594
搾乳2回目(24hr)	9.75	1.7359	3.0289	1.3336
搾乳4回目(48hr)	7.00	0.8422	4.3938	1.1010
搾乳6回目(72hr)	9.50	0.1153	0.2720	0.2103

*牛乳の生産量により加重

【0247】

図37に示された通り、log10スケールでのUC Lは、時間に応じて直線的に降下するようである($R^2 = 0.9113$)。フィットされた線から、UC Lが6回の連続した搾乳の際に処置されると最後の処置後112.7時間目に-1(logスケールで0.010 mg/L)未満になることが示唆される。極めて高いUC Lおよび長い残留物消失は、最後の処置後4回目の搾乳時に高度の陽性という1/6の分房(牛/分房 ID 9 FR)の異常な結果による可能性が最も高い。

【表 1 4】

表 1 4. IVP 2 (300 mg 有効成分/シリンジ) で処置(2回/牛)された分房

搾乳の情報	総乳容量 (L)	加重平均LP13 69 濃度 (mg/ L)	加重SD (mg/L)	加重UC L (logスケ ール)*
搾乳1回目(12hr)	4.94	117.1022	102. 3072	2.8663
搾乳2回目(24hr)	5.40	1.5246	4.73 22	1.1895
搾乳4回目(48hr)	5.65	0.1376	0.25 38	0.0980
搾乳6回目(72hr)	5.75	0.0001	0.00 00	-3.301 0

*牛乳の生産量により加重

【0248】

図38に示された通り、log10スケールでのUC Lは、時間に応じて直線的に降下するようである($R^2 = 0.9558$)。フィットされた線から、UC Lが6回の連続した搾乳の際に処置されると最後の処置後51.7時間目に-1(logスケールで0.010 mg/L)未満になることが示唆される。

【0249】

結論

LP1369消失の本試験の結果は、LP1369が処置された乳房炎の分房から急速に消失することを初めて明確に実証した。乳房内剤の最適化により、牛乳中のLP1369の最大有効性および最小滞留時間の要件を考慮することが可能となる。

【 図 1 - 1 】

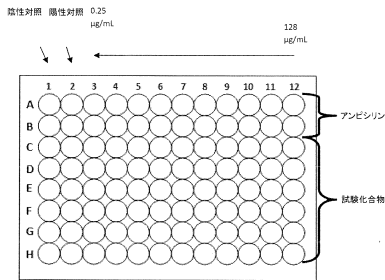
菌株ID#	供給源	産種	耐性プロファイル
A1CC 49775	ヒト	S. アウレウス	
MSS 1	ウシ	S. アウレウス	
MSS 2	ネコ	S. インターメディアウス	ペニシリン
MSS 3	ネコ	S. アウレウス	ペニシリン
MSS 4	未知	S. シュード インターメディアウス	
MSS 5	イヌ	S. インターメディアウス	ペニシリン
MSS 6	ヒト	S. シュード インターメディアウス	
MSS 7	イヌ	S. シュード インターメディアウス	ペニシリン
MSS 8	イヌ	コアグラ-ゼ陰性	ペニシリン, チトラサイクリン
MSS 9	イヌ	S. インターメディアウス	
MSS 10	イヌ	S. インターメディアウス	

【 図 1 - 2 】

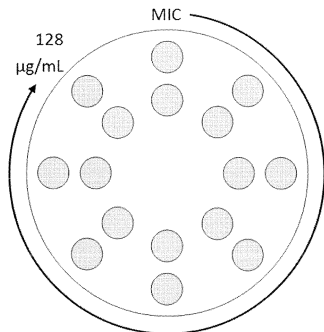
MSS 11	未知	コアグラ-ゼ陰性	ペニシリン, チトラサイクリン
MSS 12	イヌ	S. シュード インターメディアウス	ペニシリン
MSS 13	トリ	コアグラ-ゼ陰性	ペニシリン, チトラサイクリン
MSS 14	イヌ	S. インターメディアウス	ペニシリン
MSS 15	イヌ	S. インターメディアウス	ペニシリン, チトラサイクリン
MSS 16	ブタ	コアグラ-ゼ陰性	ペニシリン
MSS 17	ブタ	S. アウレウス	クリンダマイシン, エリスロマイシン
MSS 18	イヌ	S. インターメディアウス	ペニシリン
MSS 19	イヌ	コアグラ-ゼ陰性	エリスロマイシン
MSS 20	イヌ	S. シュード インターメディアウス	クリンダマイシン, ペニシ リン, チトラサイクリン
MRSA 1	ヒト	S. アウレウス	メチシリン, ペニシリン, クリンダマイシン, オキサリ ン, ステファン, オキサリ ン, ステファン, オキサリ ン
MRSA 2	ヒト	S. アウレウス	メチシリン, ペニシリン, クリンダマイシン, オキサリ ン, ステファン, オキサリ ン
MRSA 3	ヒト	S. アウレウス	メチシリン, ペニシリン, クリンダマイシン, オキサリ ン, ステファン, オキサリ ン
MRSA 4	ヒト	S. アウレウス	メチシリン, ペニシリン, クリンダマイシン, オキサリ ン, ステファン, オキサリ ン
MRSA 5	ヒト	S. アウレウス	メチシリン, ペニシリン, クリンダマイシン, オキサリ ン, ステファン, オキサリ ン
MRSA 6	ヒト	S. アウレウス	メチシリン, ペニシリン, クリンダマイシン, オキサリ ン, ステファン, オキサリ ン
MRSA 7	ヒト	S. アウレウス	メチシリン, ペニシリン, クリンダマイシン, オキサリ ン, ステファン, オキサリ ン
MRSA 8	ヒト	S. アウレウス	メチシリン, ペニシリン, クリンダマイシン, オキサリ ン, ステファン, オキサリ ン
MRSA 9	ヒト	S. アウレウス	メチシリン, ペニシリン, クリンダマイシン, オキサリ ン, ステファン, オキサリ ン
MRSA 10	ヒト	S. アウレウス	メチシリン, ペニシリン, クリンダマイシン, オキサリ ン, ステファン, オキサリ ン
MRSA 11	ヒト	S. アウレウス	メチシリン, ペニシリン
MRSA 12	ヒト	S. アウレウス	メチシリン, ペニシリン, クリンダマイシン, オキサリ ン, ステファン, オキサリ ン
MRSA 13	ヒト	S. アウレウス	メチシリン, ペニシリン, クリンダマイシン, オキサリ ン, ステファン, オキサリ ン
MRSA 14	ヒト	S. アウレウス	メチシリン, ペニシリン, クリンダマイシン, オキサリ ン, ステファン, オキサリ ン
MRSA 15	ヒト	S. アウレウス	メチシリン, ペニシリン, クリンダマイシン, オキサリ ン, ステファン, オキサリ ン
MRSA 16	ヒト	S. アウレウス	メチシリン, ペニシリン, クリンダマイシン

MRSA 17	ヒト	S. アウレウス	メチシリン, ペニシリン, クリンダマイシン, オキサリ ン, ステファン, オキサリ ン
MRSA 18	ヒト	S. アウレウス	メチシリン, ペニシリン, クリンダマイシン, オキサリ ン, ステファン, オキサリ ン
MRSA 19	ヒト	S. アウレウス	メチシリン, ペニシリン, クリンダマイシン, オキサリ ン, ステファン, オキサリ ン
MRSA 20	ヒト	S. アウレウス	メチシリン, ペニシリン, クリンダマイシン, オキサリ ン, ステファン, オキサリ ン
MR-CNS 1	イヌ	コアグラ-ゼ陰性	メチシリン, ペニシリン, クリンダマイシン, オキサリ ン, ステファン, オキサリ ン

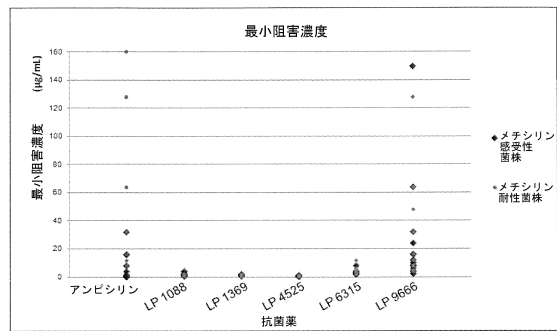
【 図 2 】



【 図 3 】



【 図 4 】



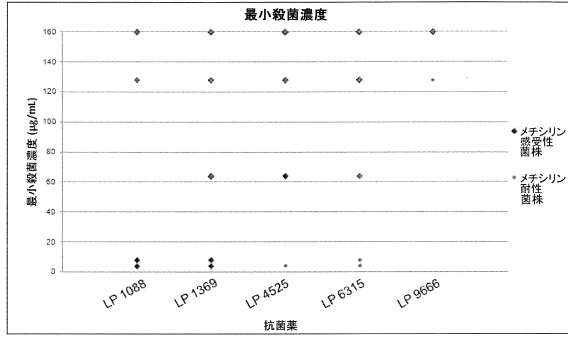
【 図 5 】

化合物	アンピシリン	LP 1088	LP 1369	LP 4525	LP 6315	LP 9666
MIC ₅₀	0.5	1	1	0.5	2	8
MIC ₉₀	16	2	2	1	4	64
MIC	0.25 - 32	0.5 - 4	0.5 - 2	0.25 - 1	2 - 8	2 - >128
範囲						

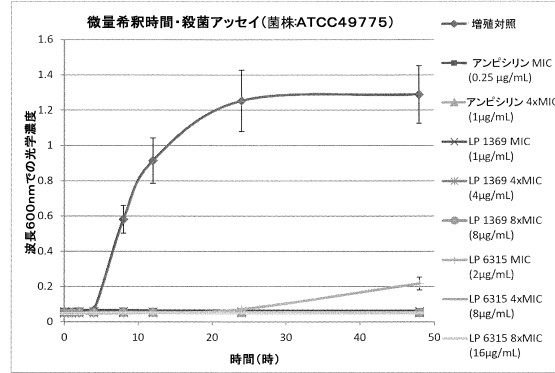
【 図 6 】

化合物	アンピシリン	LP 1088	LP 1369	LP 4525	LP 6315	LP 9666
MIC ₅₀	128	1	1	0.5	4	32
MIC ₉₀	>128	2	1	0.5	4	64
MIC	8 - >128	1 - 2	0.5 - 2	0.25 - 1	2 - 16	4 - 128
範囲						

【 図 7 】



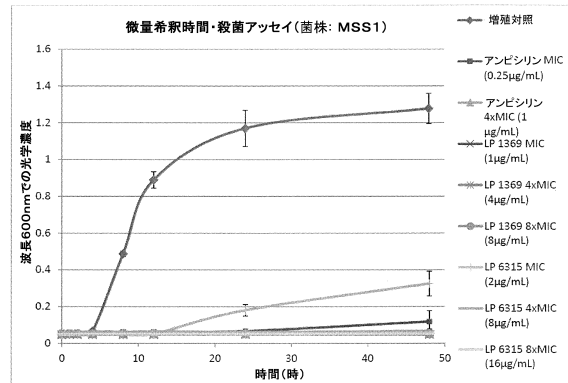
【 図 10 】



【 図 8 】

化合物	LP 1088	LP 1369	LP 4525	LP 6315	LP 9666
MBC ₅₀	>128	64	>128	>128	>128
MBC ₉₀	>128	>128	>128	>128	>128
MBC 範囲	4 - >128	4 - >128	64 - >128	64 - >128	128 - >128

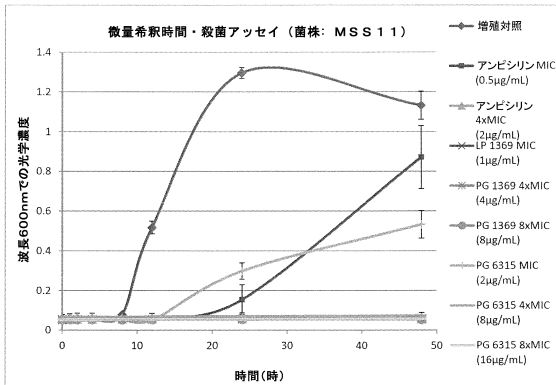
【 図 11 】



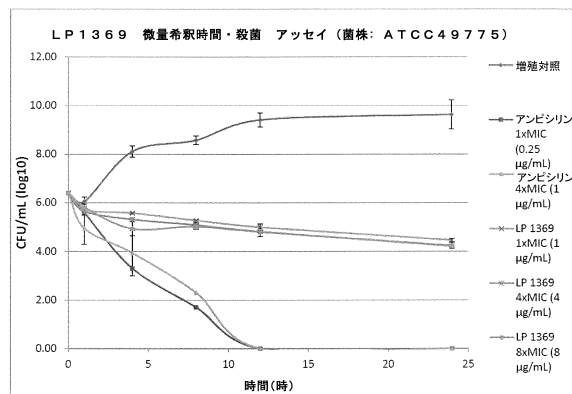
【 図 9 】

化合物	LP 1088	LP 1369	LP 4525	LP 6315	LP 9666
MBC ₅₀	>128	>128	>128	128	>128
MBC ₉₀	>128	>128	>128	>128	>128
MBC 範囲	128 - >128	64 - >128	4 - >128	4 - >128	128 - >128

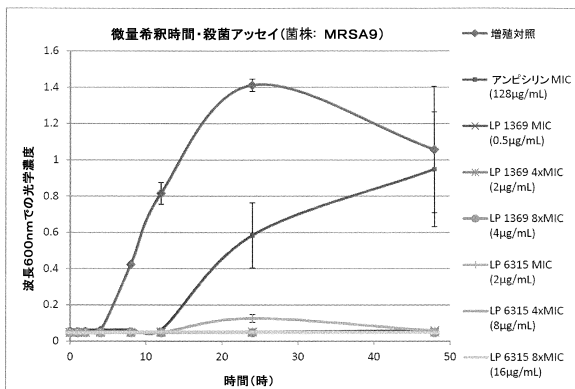
【 図 12 】



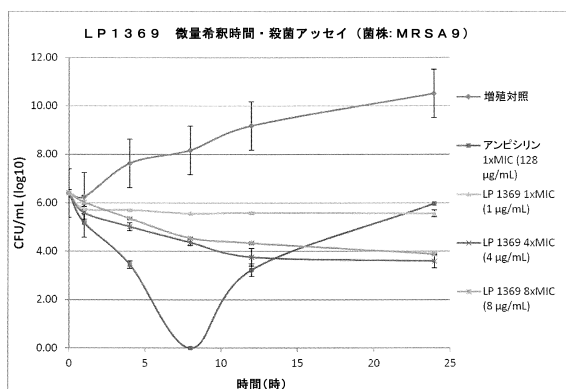
【 図 14 】



【 図 13 】



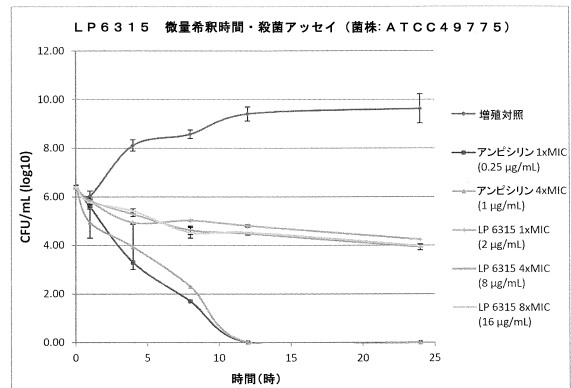
【 図 15 】



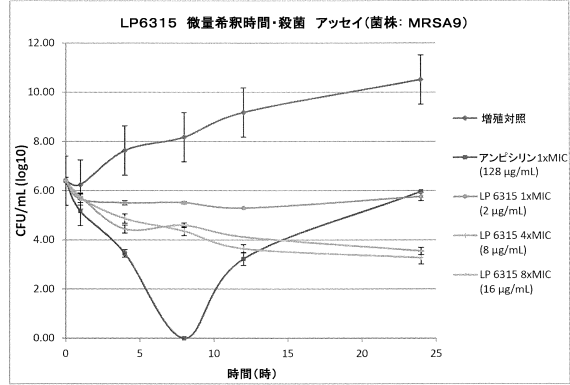
【表 16】

	増殖対照	アンピシリン 1xMIC	アンピシリン 4xMIC	LP 1369 1xMIC	LP 1369 4xMIC	LP 1369 8xMIC
ATCC 49775	3.23	-6.4	-6.4	-1.94	-2.18	-2.16
MRSA 9	4.11	-6.41	N/A	-0.84	-2.82	-2.52

【表 17】



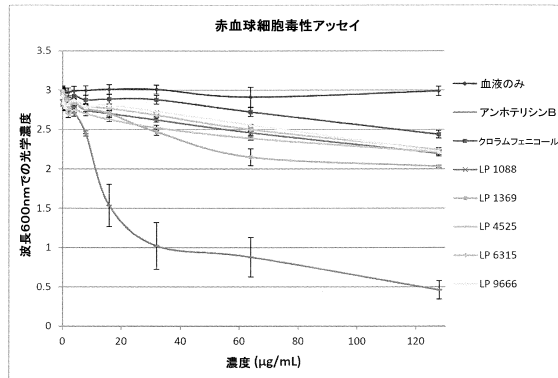
【表 18】



【表 19】

	増殖対照	アンピシリン 1xMIC	アンピシリン 4xMIC	LP 6315 1xMIC	LP 6315 4xMIC	LP 6315 8xMIC
ATCC 49775	3.23	-6.4	-6.4	-1.49	-2.47	-2.42
MRSA 9	4.11	-6.41	N/A	-0.64	-3.13	-2.86

【表 20】



【表 21】

アデノイド番号	CLY	菌株の部位	菌株	品名	MRSP / MSRP	薬性	試験	2D (mm)	2D_A4 (mm)	2D_A4i (mm)	2D_A4i (mm)	2D_4k (mm)	2D_4k (mm)	Etest MIC (mg/L)
S1P1	181	菌株	S1P1	イソパルメチン	MRSP	POCS	POCS	0	0	0	0	0	0	≤256
S2P2	180	菌株	S2P2	イソパルメチン	MRSP	POCS	POCS	21	21	14	0	0	0	≤256
S3P3	184	菌株	S3P3	イソパルメチン	MRSP	POCS	POCS	21	24	20	0	0	0	≤256
S4P4	214	菌株	S4P4	イソパルメチン	MRSP	POCS	POCS	29	29	29	0	0	0	2
S5P5	215	菌株	S5P5	イソパルメチン	MRSP	POCS	POCS	26	30	30	0	0	0	4
S6P6	219	菌株	S6P6	イソパルメチン	MRSP	POCS	POCS	22	26	26	0	0	0	≤256
S7P7	219	菌株	S7P7	イソパルメチン	MRSP	POCS	POCS	21	19	19	0	0	0	≤256
S8P8	220	菌株	S8P8	イソパルメチン	MRSP	POCS	POCS	21	21	21	0	0	0	≤256
S9P9	195	菌株	S9P9	イソパルメチン	MRSP	POCS	POCS	23	26	26	0	0	0	4
S10P10	190	菌株	S10P10	イソパルメチン	MRSP	POCS	POCS	21	15	15	0	0	0	≤256
S11P11	187	菌株	S11P11	イソパルメチン	MRSP	POCS	POCS	22	21	0	0	0	0	≤256
S12P12	188	菌株	S12P12	イソパルメチン	MRSP	POCS	POCS	24	24	13	16	16	15	1.5
S13P13	189	菌株	S13P13	イソパルメチン	MRSP	NEG	NEG	56	40	26	36	0.125	0.125	2
S14P14	185	菌株	S14P14	イソパルメチン	MRSP	NEG	NEG	34	32	22	29	0.25	0.25	2
S15P15	181	菌株	S15P15	イソパルメチン	MRSP	NEG	NEG	33	34	22	25	0.25	0.25	2
S16P16	184	菌株	S16P16	イソパルメチン	MRSP	NEG	NEG	42	26	34	0	0	0	0.19
S17P17	185	菌株	S17P17	イソパルメチン	MRSP	NEG	NEG	38	38	22	36	0.25	0.25	2
S18P18	196	菌株	S18P18	イソパルメチン	MRSP	NEG	NEG	26	40	22	30	0.25	0.25	2
S19P19	197	菌株	S19P19	イソパルメチン	MRSP	NEG	NEG	36	18	23	32	0.25	0.25	2
S20P20	198	菌株	S20P20	イソパルメチン	MRSP	NEG	NEG	36	38	16	23	30	0.25	0.25
S21P21	190	菌株	S21P21	イソパルメチン	MRSP	NEG	NEG	36	40	27	37	0.125	0.125	2
S22P22	200	菌株	S22P22	イソパルメチン	MRSP	NEG	NEG	34	35	21	26	0.125	0.125	2
S23P23	203	菌株	S23P23	イソパルメチン	MRSP	POCS	POCS	29	26	26	13	14	14	1.5

【 2 2 - 1 】

	ST1P1	S2P2	S3P3	S4P4	S5P5	S6P6	S7P7	S8P8	S9P9	S10P10	S11P11	S12P12	S13P13	S14P14	S15P15	S16P16	S17P17	S18P18	S19P19	S20P20	S21P21	S22P22	S23P23	
RT-PCRによる 検出結果	POS	POS	POS	POS	POS	POS	POS	POS	POS	POS	POS	POS	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	POS
ペニシリン	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
アンピシリン	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
アモキシシリン	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
クラリスロマイシン	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
ガントマイシン	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
クラリスロマイシン シフト後検査	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

【 2 2 - 2 】

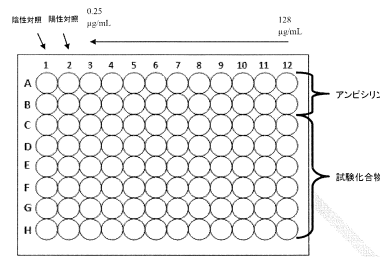
	ST1P1	S2P2	S3P3	S4P4	S5P5	S6P6	S7P7	S8P8	S9P9	S10P10	S11P11	S12P12	S13P13	S14P14	S15P15	S16P16	S17P17	S18P18	S19P19	S20P20	S21P21	S22P22	S23P23	
RT-PCRによる 検出結果	POS	POS	POS	POS	POS	POS	POS	POS	POS	POS	POS	POS	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	POS	
ペニシリン	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
アンピシリン	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
アモキシシリン	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
クラリスロマイシン	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
ガントマイシン	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
クラリスロマイシン シフト後検査	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

【 2 3 】

1 列目	AMP	LP 1369	LP 4525	LP6315	
1	S1P1	128	1	0.5	2
2	S2P2	128	0.5	0.25	1
3	S3P3	128	0.5	0.5	2
4	S4P4	128	0.5	0.25	1
5	S5P5	16	0.5	0.1	1
6	S6P6	64	0.5	0.25	1
7	S7P7	128	0.5	0.25	1
8	S8P8	128	0.5	0.25	1
9	S9P9	32	0.5	0.25	1
10	S10P10	64	1	0.25	1
11	S11P11	128	0.5	0.25	1
12	S12P12	32	0.5	0.25	1
13	S13P13	0.25	0.5	0.1	1
14	S14P14	1	1	0.25	2
15	S15P15	4	0.5	0.25	1
16	S16P16	0.25	0.5	0.25	1
17	S17P17	1	0.25	0.1	1
18	S18P18	4	0.25	0.25	1
19	S19P19	0.5	0.5	0.25	1
20	S20P20	4	0.5	0.25	1
21	S21P21	0.1	0.5	0.25	2
22	S22P22	8	0.5	0.25	2
23	S23P23	32	0.5	0.25	1

1 列目	AMP	LP 1369	LP 4525	LP6315
MIC50 (µg/ml)	32	0.5	0.25	1
MIC90 (µg/ml)	128	1	0.25	2
MIC ポイント (µg/ml)	128	0.5	0.25	1
MIC 範囲 (µg/ml)	0.1-128	0.25-1	0.1-0.25	1-2

【 2 4 】



【 2 5 】

化合物	MIC			MBC		
	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC 範囲	MBC ₅₀	MBC ₉₀	MBC 範囲
LP1088	1	2	0.25-4	128	x	4-x
LP1369	2	4	0.5-8	64	x	2-x
LP4525	0.25	1	0.25-2	128	x	2-x
LP6315	0.5	4	0.25-8	128	x	4-x
LP9666	32	128	1-x	x	x	64-x
アンピシリン	0.25	0.25	0.25-0.5	N/A	N/A	N/A

注意: 「x」は コンフルエントな増殖を示す。

【 2 6 】

化合物	MIC			MBC		
	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC 範囲	MBC ₅₀	MBC ₉₀	MBC 範囲
LP1088	1	2	1-4	x	x	4-x
LP1369	1	4	0.5-8	x	x	2-x
LP4525	0.5	1	0.25-1	64	x	2-x
LP6315	4	4	1-4	128	x	4-x
LP9666	32	128	8-128	x	x	64-x
アンピシリン	0.25	0.5	0.25-0.5	N/A	N/A	N/A

注意: 「x」は コンフルエントな増殖を示す。

【 図 3 6 - 1 】

クラン	乳房区	IR	感染前培養の結果 (CFU/ml)	感染後培養の結果 (CFU/ml)	培養後培養の結果 (CFU/ml)	観察
101	前右	IVP1	0		0	コントロール
101	前左	IVP1	0	S. ウェリス (>1x10 ⁵)	[6x10 ⁷] S. ウェリス	回復 (一部)
101	後右	IVP1	0	S. ウェリス (>1x10 ⁵)	[4.6x10 ⁵] S. ウェリス	回復 (一部)
101	後左	IVP1	0		0	コントロール
109	前右	IVP1	0	(4x10 ⁵) S. ウェリス	コンタミネーション	回復
109	前左	IVP1	0		コリネ菌類の前培養 (3x10 ⁵)	コントロール
109	後右	IVP1	0		コンタミネーション	コントロール
109	後左	IVP1	0		(>1x10 ⁵) S. ウェリス	培養不能
114	前右	IVP1	0		0	コントロール
114	前左	IVP1	0	S. ウェリス (>1x10 ⁵)	(>1x10 ⁵) S. ウェリス	培養不能
114	後右	IVP1	0	S. ウェリス (>1x10 ⁵)	(4x10 ⁷) S. ウェリス	回復 (一部)
114	後左	IVP1	0		0	コントロール
107	前右	IVP2	0		0	コントロール
107	前左	IVP2	S. ウェリス (3.0x10 ⁴)	(1x10 ⁵)	0	回復
107	後右	IVP2	0	S. ウェリス (>1x10 ⁵)	0	回復
107	後左	IVP2	0		0	コントロール

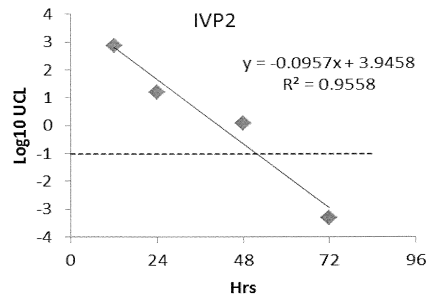
【 図 3 6 - 2 】

108	前右	IVP2	0			コンタミネーション	コントロール
108	前左	IVP2	0	S. ウェリス (2.6x10 ⁵)		コンタミネーション	回復
108	後右	IVP2	0	S. ウェリス (3.4x10 ⁵)	CNS (4.8x10 ⁵)		回復
108	後左	IVP2	0			コンタミネーション	コントロール
113	前右	IVP2	0	S. ウェリス (>1x10 ⁵)		臨床的に解決されない	臨床的に解決されない
113	前左	IVP2	0			臨床的に解決されない	臨床的に解決されない
113	後右	IVP2	0			臨床的に解決されない	臨床的に解決されない
113	後左	IVP2	0	S. ウェリス (>1x10 ⁵)		臨床的に解決されない	臨床的に解決されない
102	前右	Ref	0			コリネ菌類の前培養 (2x10 ⁵)	コントロール
102	前左	Ref	0	S. ウェリス (>1x10 ⁵)	0		回復
102	後右	Ref	0	S. ウェリス (>1x10 ⁵)	0		回復
102	後左	Ref	0		0		コントロール
103	前右	Ref	0	S. ウェリス (>1x10 ⁵)	0		回復
103	前左	Ref	0		(1x10 ⁵)		軽大な感染
103	後右	Ref	0	S. ウェリス (>1x10 ⁵)	0		回復
103	後左	Ref	0	S. ウェリス (>1x10 ⁵)	バチルス属の前培養 (1x10 ⁵)		回復+コンタミネーション

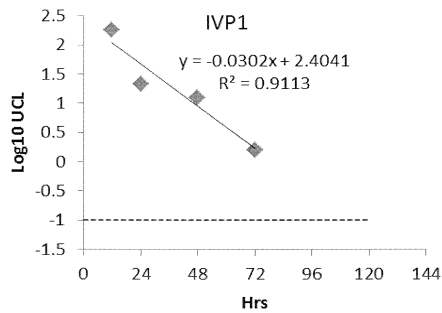
【 図 3 6 - 3 】

104	前右	Ref	0	S. ウェリス (2.4x10 ⁵)	0		回復
104	前左	Ref	0		コリネ菌類の前培養 (2.4x10 ⁵)		コントロール+軽量の感染
104	後右	Ref	0		0		コントロール
104	後左	Ref	0		コンタミネーション	0	感染 培養不能
111	前右	Ref	0				臨床的に解決されない
111	前左	Ref	0	S. ウェリス (>1x10 ⁵)			臨床的に解決されない
111	後右	Ref	CNS (1x10 ⁷)	S. ウェリス (>1x10 ⁵)			臨床的に解決されない
111	後左	Ref	0				臨床的に解決されない

【 図 3 8 】



【 図 3 7 】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		
A 6 1 P	15/14	(2006.01)	A 6 1 P	15/14
A 6 1 P	31/00	(2006.01)	A 6 1 P	15/14 1 7 1
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	31/00
			A 6 1 P	31/00 1 7 1
			A 6 1 P	43/00 1 2 1

(72)発明者 ペイジ, スティーブン
オーストラリア国, ニュー サウス ウェールズ 2042, ニュータウン, 55 キャンベル
ストリート

(72)発明者 ガーグ, サンジェイ
オーストラリア国, サウス オーストラリア 5064, マートル バンク, 6 ムーアハウス
アベニュー

合議体

審判長 前田 佳与子

審判官 渡邊 吉喜

審判官 滝口 尚良

(56)参考文献 特表2000-513348(JP,A)
特開2001-114761(JP,A)
国際公開第2012/152898(WO,A1)
J. Dairy Sci., 2004年, Vol. 87, p. 2967-2976
J. Dairy Sci., 2008年, Vol. 91, p. 2328-2341
Veterinary Microbiology, 1993年, Vol. 36, p. 253-
259
The Journal of Microbiology, 2007年, Vol. 45, I
ssue 1, p. 6-10

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K

CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)