

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2017 年 1 月 26 日 (26.01.2017)



(10) 国际公布号
WO 2017/012571 A1

- (51) 国际专利分类号:
C12N 1/20 (2006.01) C12R 1/125 (2006.01)
A23K 1/16 (2006.01) C12R 1/07 (2006.01)
A23K 1/18 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2016/090897
- (22) 国际申请日: 2016 年 7 月 21 日 (21.07.2016)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
201510435777.5 2015 年 7 月 22 日 (22.07.2015) CN
- (71) 申请人: 江南大学 (JIANGNAN UNIVERSITY)
[CN/CN]; 中国江苏省无锡市滨湖区蠡湖大道 1800 号张梁, Jiangsu 214122 (CN)。
- (72) 发明人: 张梁 (ZHANG, Liang); 中国江苏省无锡市滨湖区蠡湖大道 1800 号, Jiangsu 214122 (CN)。
- (74) 代理人: 无锡华源专利商标事务所 (普通合伙) (WUXI HUAYUAN PATENT AND TRADEMARK AGENCY(GENERAL PARTNERSHIP)); 中国江苏省无锡市滨湖区建筑路 599 号国家工业设计园 4 号楼 1216 室聂启新, Jiangsu 214072 (CN)。
- (81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG,

BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

- (84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

根据细则 4.17 的声明:

- 关于申请人有权申请并被授予专利(细则 4.17(ii))

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。
- 包括按细则 13 之二规定在说明书以外提交的关于生物材料保藏的说明(细则 13 之二.4(d)(i)和 48.2(a)(viii))。

(54) Title: USE OF *BACILLUS COAGULANS* STRAIN IN INCREASING EGG PRODUCTION IN LAYING HEN

(54) 发明名称: 一株凝结芽孢杆菌在提升蛋鸡产蛋量上的应用

(57) Abstract: Provided is a use of a *Bacillus coagulans* strain in increasing egg production in a laying hen. The *Bacillus coagulans* is combined with a *Bacillus subtilis* (CCTCC No. M2011443) and a *Bacillus licheniformis* (CCTCC No. M2012458) to obtain a microbial ecological combined agent capable of increasing egg production in a laying hen. The *Bacillus coagulans* is a *Bacillus coagulans* strain (serial number: ZS-007) deposited in the China Center for Type Culture Collection (CCTCC) on May 3, 2015 and having a deposition number of CCTCC No. M 2015273.

(57) 摘要: 提供了一株凝结芽孢杆菌在提升蛋鸡产蛋量上的应用, 所述凝结芽孢杆菌与枯草芽孢杆菌 CCTCC No.M 2011443、地衣芽孢杆菌 CCTCC No.M 2012458 复配制备得到提升蛋鸡产蛋量的复合微生态制剂; 所述凝结芽孢杆菌为凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*)ZS-007, 菌种保藏编号为 CCTCC No.M 2015273, 保藏日期为 2015 年 5 月 3 日, 保藏地点为中国典型培养物保藏中心。



WO 2017/012571 A1

一株凝结芽孢杆菌在提升蛋鸡产蛋量上的应用

技术领域

本发明涉及微生物技术领域，尤其是涉及一株凝结芽孢杆菌在提高蛋鸡在产蛋后期产蛋量上的应用。

背景技术

随着生活水平日益提高，人们越来越关注抗生素、化学药品残留所引发的食品安全和生活健康问题，对无药物残留的绿色畜禽产品的需求越来越多。微生态制剂通过调节促进正常微生物群生长繁殖、抑制致病菌生长繁殖而发挥作用。因突出的预防和保健效果，微生态制剂在畜禽养殖中可替代抗生素、化学药品，实现真正的“绿色、无污染”。

鸡蛋早已成为人们日常生活的必需品。微生态制剂用在蛋鸡养殖中，可以提高蛋鸡健康状态、促进产蛋量。CN 103518980B 报道了一种由植物乳杆菌和枯草芽孢杆菌混合所得到的微生态制剂，使用后，可以提高机体健康程度。CN 101715879B 报道了一种由酶制剂和屎肠球菌制备的饲料添加剂，能改善鸡只健康状态，提高产蛋水平。CN 103202400B 报道了由干酪乳杆菌、植物乳杆菌、地衣芽孢杆菌复配的微生态制剂，能改善肉鸡、蛋种鸡生产性能。这些报道，证明微生态制剂在绿色养殖中大有可为。

一般来说，鸡群在开产 300 天后淘汰低产个体，开产 500 天后产蛋显著下降，必要时需要更新鸡群。如何提升蛋鸡在产蛋后期的产蛋性能，最大化利用饲料，相关研究很少。

发明内容

针对现有技术存在的上述问题，本申请人提供了一株凝结芽孢杆菌在提升蛋鸡产蛋量上的应用。本发明用于蛋鸡养殖中，可显著提升蛋鸡在产蛋后期的产蛋性能：提高产蛋量、增加产蛋率，降低料蛋比。

本发明的技术方案如下：

一株凝结芽孢杆菌在提升蛋鸡产蛋量上的应用，所述凝结芽孢杆菌与枯草芽孢杆菌 CCTCC No. M 2011443、地衣芽孢杆菌 CCTCC No. M 2012458 复配制备

得到提升蛋鸡产蛋量的复合微生态制剂；所述三种菌种的用量分别为：

菌种	每克复合微生态制剂含有菌种活菌数
凝结芽孢杆菌	$0.4 \times 10^8 - 2.0 \times 10^{10}$ cfu
枯草芽孢杆菌 CCTCC No. M 2011443	$0.4 \times 10^8 - 2.0 \times 10^{10}$ cfu
地衣芽孢杆菌 CCTCC No. M 2012458	$0.2 \times 10^8 - 1.0 \times 10^{10}$ cfu;
其余为填充物；	

所述凝结芽孢杆菌为凝结芽孢杆菌 (*Bacillus coagulans*) ZS-007, 菌种保藏编号为 CCTCC No.M 2015273, 保藏日期为 2015 年 5 月 3 日, 保藏地点为中国典型培养物保藏中心。

所述复合微生态制剂有效活菌数为 $1.0 \times 10^8 - 5.0 \times 10^{10}$ cfu/g, 使用量为蛋鸡日采食量的 0.1%-1%。

1、凝结芽孢杆菌的筛选

从江苏无锡马山某奶牛养殖场附近的土壤样品称取 2g, 加入 98ml 无菌生理盐水, 80℃ 热处理 10min 后, 在 37℃ 摇床上 120 rpm 条件下振荡 20min, 吸取上清液 1ml 加入 LB 培养基中稀释涂布进行菌株分离。通过对菌株进行形态学观察、生理生化实验、16S rDNA 分析等手段有效而准确的确定菌种的属种。

最终得到编号为 ZS-007 的菌种, 鉴定为凝结芽孢杆菌 (*Bacillus coagulans*)。

ZS-007 于 2015 年 5 月 3 日保藏于中国典型培养物保藏中心, 保藏编号为 CCTCC M 2015273。

2、凝结芽孢杆菌高密度发酵

(1) 菌种活化

将凝结芽孢杆菌菌种接种至营养琼脂斜面培养基上, 25-37℃ 下培养 24-48hr; 然后划线转接于营养琼脂茄子瓶斜面, 25-37℃ 下培养 24-48hr。

营养琼脂斜面培养基及营养琼脂茄子瓶的组成均为: 蛋白胨 10g/L, 牛肉膏 3g/L, 氯化钠 5g/L, 琼脂 15-20g/L, pH7.2-7.4。

(2) 摇瓶培养

将活化好的菌种接种至摇瓶中, 振荡培养 18-30hr。

摇瓶培养基配方: 蛋白胨 10g/L, 牛肉膏 3g/L, 氯化钠 5g/L, pH7.2-7.4。
250mL 摇瓶装液量为 20mL, 500mL 摇瓶装液量为 50mL。

培养条件: 摇瓶转速 200r/min, 温度 25-37℃。

(3) 种子罐扩培

扩培菌种以用于后期发酵。种子罐培养基组成：蛋白胨 10g/L，牛肉膏 3g/L，氯化钠 5g/L，pH7.2-7.4。种子罐体积 10-1000L，装液量 50-80%。

培养条件：搅拌转速 180-250r/min，通气量 0.5-1.0vvm，温度 25-37℃，培养时间 18-30hr。

(4) 发酵罐发酵

以 0.1%-10%的接种量将种子液接入发酵罐，发酵培养基组成：葡萄糖 25 g/L，蛋白胨 15 g/L，酵母粉 10 g/L，磷酸二氢钾 1 g/L，硫酸镁 0.5 g/L，初始 pH7.0。发酵罐体积 1-50m³，装液量 50-80%。

培养条件：搅拌转速 100-200r/min，通气量 0.5-0.8vvm，温度 25-37℃，培养时间 16-48hr。

取发酵液镜检时，当 90%以上的菌体都形成芽孢时，即到发酵终点，得到最终发酵液。

采用平板涂布法测定最终发酵液活菌数和芽孢数，并计算芽孢率。其中，芽孢率为芽孢数与活菌数的比值。所用培养基为营养琼脂培养基：蛋白胨 10g/L，牛肉膏 3g/L，氯化钠 5g/L，琼脂 15-20g/L，pH7.2-7.4。测定最终发酵液活菌数时，梯度稀释后测定；测定芽孢数时，取最终发酵液于 80℃热处理 10min，梯度稀释后测定。最终发酵液中活菌数 1.5×10^{10} cfu/mL 以上、芽孢数 1.4×10^{10} cfu/mL 以上、芽孢率 90.8%以上。

3、凝结芽孢杆菌干菌粉制备

最终发酵液离心后收集湿菌泥，采用喷雾干燥工艺得到干菌粉。操作条件为：进风温度 210℃，出风温度 100℃。干菌粉中活菌数 8.0×10^{11} cfu/g 以上。

本发明有益的技术效果在于：用于蛋鸡养殖中，可显著提升蛋鸡在产蛋后期的产蛋性能：产蛋量增加 11%以上、产蛋率增加 9.2%以上，料蛋比降低 10%以上。

具体实施方式

下面结合实施例，对本发明进行具体描述。

实施例 1

1、凝结芽孢杆菌的筛选

从江苏无锡马山某奶牛养殖场附近的土壤样品称取 2g，加入 98ml 无菌生理

盐水，80℃热处理 10min 后，在 37℃摇床上 120 rpm 条件下振荡 20min，吸取上清液 1 ml 加入 LB 培养基中稀释涂布进行菌株分离。通过对菌株进行形态学观察、生理生化实验、16S rDNA 分析等手段有效而准确的确定菌种的属种。

最终得到编号为 ZS-007 的菌种，鉴定为凝结芽孢杆菌 (*Bacillus coagulans*)。

ZS-007 于 2015 年 5 月 3 日保藏于中国典型培养物保藏中心，保藏编号为 CCTCC M 2015273。

2、30m³ 发酵罐制备

菌种活化：将得到的菌种接种至营养琼脂斜面培养基上，30℃下培养 24hr 后划线转接于营养琼脂茄子瓶斜面，30℃下培养 24hr。营养琼脂斜面培养基及营养琼脂茄子瓶的组成均为：蛋白胨 10g/L，牛肉膏 3g/L，氯化钠 5g/L，琼脂 15-20g/L，pH7.2-7.4。

摇瓶培养：将活化好的菌种接种至摇瓶中，振荡培养 20hr。摇瓶培养基配方：蛋白胨 10g/L，牛肉膏 3g/L，氯化钠 5g/L，pH7.2-7.4，摇瓶装液量 50mL/500mL 三角瓶。培养条件：摇瓶转速 200r/min，温度 30℃。

种子罐扩培：收集 20 瓶 500mL 摇瓶种子液用于种子罐接种。种子罐培养基组成：蛋白胨 10g/L，牛肉膏 3g/L，氯化钠 5g/L，pH7.2-7.4。种子罐体积 500L，装液量 75%。培养条件：搅拌转速 200r/min，通气量 0.8vvm，温度 30℃，培养时间 20hr。

发酵罐发酵：30m³ 发酵罐装液量 70%。培养基组成：葡萄糖 25 g/L，蛋白胨 15 g/L，酵母粉 10 g/L，磷酸二氢钾 1 g/L，硫酸镁 0.5 g/L，初始 pH7.0。将培养好的种子接入发酵罐进行发酵。培养条件：搅拌转速 100r/min，通气量 0.6vvm，温度 35℃，培养时间 40-45hr。

发酵液中，活菌数 1.99×10^{10} cfu/g，芽孢数 1.92×10^{10} cfu/g，芽孢率 96.5%。

3、干菌粉制备

离心收集湿菌泥，采用喷雾干燥工艺得到干菌粉。操作条件为：进风温度 210℃，出风温度 100℃。干菌粉中活菌数 8.32×10^{11} cfu/g。

由实施例 1 制备得到的凝结芽孢杆菌与枯草芽孢杆菌 CCTCC No. M 2011443、地衣芽孢杆菌 CCTCC No. M 2012458 复配制备得到提升蛋鸡产蛋量的复合微生物制剂；枯草芽孢杆菌 CCTCC No. M 2011443、地衣芽孢杆菌 CCTCC

No. M 2012458 的单菌粉采购自泰州绿圣元生物科技有限公司，其产品规格均为 5.0×10^{10} cfu/g。

每 500g 复合微生态制剂中，各物质含量如表 1 所示：

表 1

名称	重量
凝结芽孢杆菌 CCTCC No. M 2015273	0.4g-200g
枯草芽孢杆菌 CCTCC No. M 2011443	0.4g-200g
地衣芽孢杆菌 CCTCC No. M 2012458	0.2g-100g
填充物（葡萄糖、石粉等）	499g-0g

折算后，复合微生态制剂中各微生物含量如表 2 所示：

表 2

菌种	每克产品含有菌种活菌数（cfu）
凝结芽孢杆菌 CCTCC No. M 2015273	$0.4 \times 10^8 - 2.0 \times 10^{10}$
枯草芽孢杆菌 CCTCC No. M 2011443	$0.4 \times 10^8 - 2.0 \times 10^{10}$
地衣芽孢杆菌 CCTCC No. M 2012458	$0.2 \times 10^8 - 1.0 \times 10^{10}$

实施例 2

由实施例 1 制备得到的凝结芽孢杆菌与枯草芽孢杆菌 CCTCC No. M 2011443、地衣芽孢杆菌 CCTCC No. M 2012458 复配制备得到提升蛋鸡产蛋量的复合微生态制剂，每种菌种的含量如表 3 所示。每克产品中剩余的为填充物（葡萄糖、石粉等）

表 3

菌种	每克产品含有菌种活菌数（cfu）
凝结芽孢杆菌 CCTCC No. M 2015273	0.4×10^8
枯草芽孢杆菌 CCTCC No. M 2011443	0.4×10^8
地衣芽孢杆菌 CCTCC No. M 2012458	0.2×10^8

实施例 3

由实施例 1 制备得到的凝结芽孢杆菌与枯草芽孢杆菌 CCTCC No. M 2011443、地衣芽孢杆菌 CCTCC No. M 2012458 复配制备得到提升蛋鸡产蛋量的

复合微生态制剂，每种菌种的含量如表 4 所示。每克产品中剩余的为填充物（葡萄糖、石粉等）

表 4

菌种	每克产品含有菌种活菌数（cfu）
凝结芽孢杆菌 CCTCC No. M 2015273	2.0×10^{10}
枯草芽孢杆菌 CCTCC No. M 2011443	2.0×10^{10}
地衣芽孢杆菌 CCTCC No. M 2012458	1.0×10^{10}

实施例 4

由实施例 1 制备得到的凝结芽孢杆菌与枯草芽孢杆菌 CCTCC No. M 2011443、地衣芽孢杆菌 CCTCC No. M 2012458 复配制备得到提升蛋鸡产蛋量的复合微生态制剂，每种菌种的含量如表 5 所示。每克产品中剩余的为填充物（葡萄糖、石粉等）

表 5

菌种	每克产品含有菌种活菌数（cfu）
凝结芽孢杆菌 CCTCC No. M 2015273	1.0×10^9
枯草芽孢杆菌 CCTCC No. M 2011443	1.0×10^9
地衣芽孢杆菌 CCTCC No. M 2012458	1.0×10^9

测试例：

用实施例 3 制备得到的复合微生态制剂进行蛋鸡喂养。试验地点位于江苏南通启东某生态牧场蛋鸡场。试验鸡为大棚散养，产蛋 500 天，产蛋率较高峰期 90% 的水平已显著下降。每棚 46 只，自由采食和饮水，按常规进行饲养管理。试验期间各组采用相同的饲养管理方式，预试期 7 d，正试期为 60 d，按母鸡生态养殖方法在圈一块地并划分围成面积、生态环境相同的四片区，每片区均设相同采食、采水槽、产蛋箱、鸡舍，每组在各片区轮换饲养，每组在每片区饲养 20 d，各片区轮换时彻底消毒清理，以消除位置效应的影响，试验期间早晚补饲日粮，自由采食与饮水。正式试验期从 2015 年 1 月 20 日至 2015 年 3 月 21 日。试验结果如表 6 所示：

表 6

组别	空白对照组 (基础日粮)	加0.1%不含 凝结芽孢杆 菌产品组	加0.1%复合 微生物制剂	加0.25%复合 微生物制剂
产蛋率 (%)	50.83	52.38	55.54	56.01
产蛋总重 (g)	70070	73880	78050	79450
平均蛋重 (g)	50.1	50.7	50.9	51.4
耗料量	354.6	354.6	354.6	354.6
料蛋比	5.08	4.79	4.54	4.46

从上表可以看到,使用包括凝结芽孢杆菌 CCTCC No.M 2015273 在内的复合微生物制剂,蛋鸡在产蛋后期的产蛋率增加 9.2%以上、产蛋总量增加 11%以上、料蛋比下降 10%以上。

PCT

打印件(原件为电子形式)

0-1	PCT/RO/134表(SAFE)有关保藏的微生物或其他生物材料的说明(PCT细则第13条之二)	
0-1-1	软件版本	CEPCT 版本 1.01.00 MT/FOP 20140331/0.20.5.21
0-2	国际申请号	PCT/CN2016/090897
0-3	申请人或代理人的档案号	HY0079

1	下面的说明与本申请说明书中此处提到的保藏的微生物或其他生物材料相关:	
1-1	页码	0013
1-2	行号:	1-3
1-3	保藏事项	
1-3-1	保藏单位名称	中国典型培养物保藏中心
1-3-2	保藏单位地址	中国湖北省武汉市武汉大学, 邮政编码: 430072, Hubei (CN) 。
1-3-3	保藏日期	2015年 5月 03日 (03.05.2015)
1-3-4	保藏号	CCTCC M2015273
1-4	补充说明	
1-5	本说明是对下列指定国	所有指定国
1-6	单独提交的说明 这些说明将随后提交给国际局	

由受理局填写

0-4	本表格与国际申请一起收到: (是或否)	
0-4-1	授权官员	

由国际局填写

0-5	国际局收到本表格日期:	
0-5-1	授权官员	

权 利 要 求 书

1、一株凝结芽孢杆菌在提升蛋鸡产蛋量上的应用，其特征在于所述凝结芽孢杆菌与枯草芽孢杆菌 CCTCC No. M 2011443、地衣芽孢杆菌 CCTCC No. M 2012458 复配制备得到提升蛋鸡产蛋量的复合微生态制剂；所述三种菌种的用量分别为：

菌种	每克复合微生态制剂含有菌种活菌数
凝结芽孢杆菌	$0.4 \times 10^8 - 2.0 \times 10^{10}$ cfu
枯草芽孢杆菌 CCTCC No. M 2011443	$0.4 \times 10^8 - 2.0 \times 10^{10}$ cfu
地衣芽孢杆菌 CCTCC No. M 2012458	$0.2 \times 10^8 - 1.0 \times 10^{10}$ cfu；
其余为填充物；	

所述凝结芽孢杆菌为凝结芽孢杆菌 (*Bacillus coagulans*) ZS-007，菌种保藏编号为 CCTCC No.M 2015273，保藏日期为 2015 年 5 月 3 日，保藏地点为中国典型培养物保藏中心。

2、根据权利要求 1 所述的凝结芽孢杆菌在提升蛋鸡产蛋量上的应用，其特征在于所述复合微生态制剂有效活菌数为 $1.0 \times 10^8 - 5.0 \times 10^{10}$ cfu/g，使用量为蛋鸡日采食量的 0.1%-1%。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2016/090897

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12N 1/20 (2006.01) i; A23K 1/16 (2006.01) i; A23K 1/18 (2006.01) i; C12R 1/125 (2006.01) n; C12R 1/07 (2006.01) n
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12N; A23K; C12R

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

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

CNTEXT; EPTXT; FRABS; CNABS; KRTXT; CPEA; TWMED; JPTXT; CHTXT; JPABS; DWPI; ILABS; GBTEXT; SIPOABS;
AUABS; CNMED; CPRSABS; CJFD; LEXIS; RUTXT; TWTXT; DETXT; HKABS; TWABS; RUABS; MOABS; LEXTXT; CATXT;
USTXT; WOTXT; SGTXT; ATXT; SGABS; VEN: chicken, M2015273, ZS-007, bacillus coagulans, bacillus subtilis, bacillus

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 105062916 A (UNIV JIANGNAN) 18 November 2015 (18.11.2015) see claims 1 and 2	1, 2
A	CN 104171538A (LIAONING WELLHOPE AGRI TECH CO., LTD.) 03 December 2014(03.12.2014) see the whole document	1, 2
A	CN 103518980A (UNIV NANJING AGRICULTURAL) 22 January 2014(22.01.2014) see the whole document	1, 2
A	CN 103202400A (INNER MONGOLIA SCI PLUS BIOTECH CO., LTD.) 17 July 2013 (17.07.2013) see the whole document	1, 2
A	FU, Lizhi, "Effect of probiotics on digestive enzyme activities and immune function in chicken" Chinese Journal of Animal Science, vol.43, no.11, 31 December 2007 (31.12.2007), ISSN:0258-7033, pages 22 and 23, see the whole document	1, 2

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

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

Date of the actual completion of the international search 17 October 2016	Date of mailing of the international search report 31 October 2016
Name and mailing address of the ISA State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10) 62019451	Authorized officer WANG, Huimei Telephone No. (86-10) 62416241

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2016/090897

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 105062916 A	18 November 2015	None	
CN 104171538 A	03 December 2014	CN 104171538 B	13 April 2016
CN 103518980 A	22 January 2014	CN 103518980 B	28 January 2015
CN 103202400 A	17 July 2013	CN 103202400 B	31 December 2014

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2016/090897

A. 主题的分类

C12N 1/20(2006.01)i; A23K 1/16(2006.01)i; A23K 1/18(2006.01)i; C12R 1/125(2006.01)n; C12R 1/07(2006.01)n

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

C12N; A23K; C12R

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CNTEXT; EPTXT; FRABS; CNABS; KRTXT; CPEA; TWMED; JPTXT; CHTXT; JPABS; DWPI; ILABS; GBXT; SIPOABS; AUABS; CNMED;
 CPRSABS; CJFD; LEXIS; RUTXT; TWTXT; DETXT; HKABS; TWABS; RUABS; MOABS; LEXTXT; CATXT; USTXT; WOTXT; SGTXT; ATXT;
 SGABS; VEN: 鸡, 凝结芽孢杆菌, 枯草芽孢杆菌, 地衣芽孢杆菌, M2015273, ZS-007, bacillus coagulans,
 bacillus subtilis, bacillus licheniformis

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
PX	CN 105062916 A (江南大学) 2015年 11月 18日 (2015 - 11 - 18) 参见权利要求1-2	1-2
A	CN 104171538 A (辽宁禾丰牧业股份有限公司) 2014年 12月 3日 (2014 - 12 - 03) 参见全文	1-2
A	CN 103518980 A (南京农业大学) 2014年 1月 22日 (2014 - 01 - 22) 参见全文	1-2
A	CN 103202400 A (内蒙古和美科盛生物技术有限公司) 2013年 7月 17日 (2013 - 07 - 17) 参见全文	1-2
A	付利芝. “微生态制剂对雏鸡体内消化酶活性与免疫功能的影响” 中国畜牧杂志, 第43卷, 第11期, 2007年 12月 31日 (2007 - 12 - 31), ISSN: 0258-7033, 第22-23页, 参见全文	1-2

☐ 其余文件在C栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件 (如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2016年 10月 17日

国际检索报告邮寄日期

2016年 10月 31日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN)
 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088

传真号 (86-10) 62019451

受权官员

王慧梅

电话号码 (86-10) 62416241

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2016/090897

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	105062916	A	2015年 11月 18日	无			
CN	104171538	A	2014年 12月 3日	CN	104171538	B	2016年 4月 13日
CN	103518980	A	2014年 1月 22日	CN	103518980	B	2015年 1月 28日
CN	103202400	A	2013年 7月 17日	CN	103202400	B	2014年 12月 31日