



PCT

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

<p>(51) 国際特許分類6 A61K 38/46, A23K 1/165</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO99/32144</p> <p>(43) 国際公開日 1999年7月1日(01.07.99)</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP98/05749</p> <p>(22) 国際出願日 1998年12月18日(18.12.98)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平9/351220 1997年12月19日(19.12.97) JP</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 協和醗酵工業株式会社 (KYOWA HAKKO KOGYO CO., LTD.)[JP/JP] 〒100-8185 東京都千代田区大手町一丁目6番1号 Tokyo, (JP)</p> <p>(72) 発明者 ; および</p> <p>(75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 外勢正伸(HOKASE, Masanobu)[JP/JP] 〒889-4505 宮崎県北諸県郡高崎町大字大牟田4262-4 Miyazaki, (JP)</p> <p>(74) 代理人 弁理士 平木祐輔, 外(HIRAKI, Yusuke et al.) 〒105-0001 東京都港区虎ノ門一丁目17番1号 虎ノ門5森ビル3F Tokyo, (JP)</p>	<p>(81) 指定国 AU, CA, JP, NZ, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>	
<p>(54) Title: METHOD FOR PREVENTING/REMEDYING MASTITIS</p> <p>(54) 発明の名称 乳房炎の予防・治療方法</p> <p>(57) Abstract A novel method for preventing/remedying mammalian mastitis and a preventive/remedial composition for mastitis, aiming at preventing milk yield lowering caused by the onset of mammalian mastitis. The method comprises administering phytase to mammals.</p>		

(57)要約

乳牛等家畜動物に乳房炎が発生する結果生じる牛乳量生産低下を防ぐため、ほ乳動物の乳房炎を予防・治療する新規方法および乳房炎予防・治療用組成物を提供することを目的とする。

この目的を解決する手段として、ほ乳動物に、フィターゼを給与するにより、ほ乳動物の乳房炎の予防・治療が可能であることを見出した。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE	アラブ首長国連邦	ES	スペイン	LI	リヒテンシュタイン	SG	シンガポール
AL	アルバニア	FI	フィンランド	LK	スリ・ランカ	SI	スロヴェニア
AM	アルメニア	FR	フランス	LR	リベリア	SK	スロヴァキア
AT	オーストリア	GA	ガボン	LS	レソト	SL	シエラ・レオネ
AU	オーストラリア	GB	英国	LT	リトアニア	SN	セネガル
AZ	アゼルバイジャン	GD	グレナダ	LU	ルクセンブルグ	SZ	スワジランド
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GE	グルジア	LV	ラトヴィア	TD	チャード
BB	バルバドス	GH	ガーナ	MC	モナコ	TG	トーゴ
BE	ベルギー	GM	ガンビア	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
BF	ブルキナ・ファソ	GN	ギニア	MG	マダガスカル	TM	トルクメニスタン
BG	ブルガリア	GW	ギニア・ビサオ	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア共和国	TR	トルコ
BJ	ベナン	GR	ギリシャ	ML	マリ	TT	トリニダード・トバゴ
BR	ブラジル	HR	クロアチア	MN	モンゴル	UA	ウクライナ
BY	ベラルーシ	HU	ハンガリー	MR	モーリタニア	UG	ウガンダ
CA	カナダ	ID	インドネシア	MW	マラウイ	US	米国
CF	中央アフリカ	IE	アイルランド	MX	メキシコ	UZ	ウズベキスタン
CG	コンゴ	IL	イスラエル	NE	ニジェール	VN	ヴェトナム
CH	スイス	IN	インド	NL	オランダ	YU	ユーゴスラビア
CI	コートジボアール	IS	アイスランド	NO	ノールウェー	ZA	南アフリカ共和国
CM	カメルーン	IT	イタリア	NZ	ニュージーランド	ZW	ジンバブエ
CN	中国	JP	日本	PL	ポーランド		
CU	キューバ	KE	ケニア	PT	ポルトガル		
CY	キプロス	KG	キルギスタン	RO	ルーマニア		
CZ	チェッコ	KP	北朝鮮	RU	ロシア		
DE	ドイツ	KR	韓国	SD	スーダン		
DK	デンマーク	KZ	カザフスタン	SE	スウェーデン		
EE	エストニア	LC	セントルシア				

## 明 細 書

## 乳房炎の予防・治療方法

## 技術分野

本発明は、ほ乳動物の生殖器病の中で最も発生率の多い病気である乳房炎を予防・治療するためにフィターゼを単独または飼料に混合してほ乳動物に給与する方法およびフィターゼを含有したほ乳動物の乳房炎の予防・治療用組成物に関する。

## 背景技術

乳房炎は、細菌等のほ乳動物の乳房内への侵入・増殖により発生する乳管系や乳腺組織に生じた炎症をいう。乳房炎に罹病すると、炎症によって乳汁を合成する機能が障害されるため、異常乳を分泌し、乳汁中に白血球などの体細胞数が増加し、乳腺の細胞が損傷を受け、委縮したり結合組織が増殖するため泌乳量が減少する。酪農業においては、時には泌乳を停止し酪農経営に大きな損害を与えることが知られている（「獣医診療指針」、原茂、1988年、講談社刊）。

また、乳房炎により牛乳中の体細胞数も増加するため、牛乳の商品価値が低くなり、体細胞数が50万cell/ml を越えた牛乳は廃棄されている。

乳房炎は現在のところ、薬剤やワクチン接種などによる予防・治療が難しく、乳房炎の効果的な予防・治療方法は確立されていない。急性症の対処方法としては、抗生物質を主剤とする乳房内薬液注入、抗ヒスタミン剤または5%ブドウ糖液の乳房への注射、カナマイシンおよびアンピシリンなどの抗生物質の動脈内への注射が行われている（「獣医診療指針」、原茂、1988年、講談社刊）。これらの処理を施した乳牛は、薬剤の残留性の問題などから牛乳の生産から外され、農家の生産性を著しく低下させる。この他、最近では硫酸亜鉛メチオニンなどの有機亜鉛製剤を経口投与する事により乳房炎の兆候である体細胞数の増加が抑制されたという報告もあるが（Feedstuffs, 57, 52, p11, 1985）、一方で効果がないという報告もあり（Feedstuffs, 58, 12, p10, 1986）、その効果は定かではない。

フィターゼは難消化性の有機リンであるフィチン酸を加水分解し、その吸収を促進する酵素である。豚および家禽などの単胃動物では、消化管内にフィターゼを持たないため、フィチン酸を消化吸収することができない。

このため、フィターゼは、日本においては飼料添加物として指定されており（「飼料添加物の成分規格等収載書 第8版」、1996年、日本科学飼料協会刊）、国内外でも、主に養豚、養鶏用飼料に広く用いられている。これらの動物では、飼料にフィターゼを添加することにより、リンだけでなくカルシウム、亜鉛、蛋白質などの消化率が有意に向上する事が数多く報告されている（Proceedings of the 1996 Canadian Society of Animal Science Annual Meeting, Lethbridge, Alberta, Canada, A. W. Jongbloed et. al, 1996 ; British Journal of Nutrition, 64, 525-540, P. C. Simons et. al, 1990）が、乳房炎への予防効果は知られていない。

これに対し乳牛などの反芻動物は、反芻胃内の微生物がフィターゼを産生する（J. Anim. Sci. 73, 2000-2008, G. L. Cromwell et. al, 1995）ため、反芻動物自身でフィチン酸を分解することが可能で、フィターゼを給与しても効果は期待できないとされているため、飼料には添加されていない。

従って、本発明は、乳牛等家畜動物に乳房炎が発生する結果生じる牛乳量生産低下を防ぐため、ほ乳動物の乳房炎を予防・治療する新規方法および乳房炎予防・治療用組成物を提供することを目的とする。

#### 発明の開示

本発明者は、上記課題を解決するため鋭意研究を行ったところ、ほ乳動物に、フィターゼを給与するにより、ほ乳動物の乳房炎の予防・治療が可能であることを見出した。

すなわち、本発明は、

- (1) フィターゼを給与することを特徴とする、ほ乳動物（人を除く）の乳房炎の予防・治療方法、
- (2) フィターゼを飼料乾物1kg当たり50～5000単位添加した飼料を給与することからなる、(1)記載のほ乳動物（人を除く）の乳房炎の予防・治療方法、

(3) ほ乳動物がウシであり、飼料が乳用牛飼育配合飼料である(1)記載の乳房炎の予防・治療方法、

(4) フィターゼを含有することを特徴とする、ほ乳動物(人を除く)の乳房炎の予防・治療用組成物、

(5) 組成物がフィターゼと配合飼料とからなる、(4)記載のほ乳動物(人を除く)の乳房炎の予防・治療用組成物、

(6) 組成物が硫酸亜鉛メチオニンを含有することからなる(5)記載のほ乳動物(人を除く)の乳房炎の予防・治療用組成物に関する。

#### 図面の簡単な説明

第1図は、スイッチバック法による乳牛への飼料の給与スケジュールを示す図である。

——— は、組成物Cを配合した飼料を毎日給与することを示す。

…………… は、組成物Cを配合していない飼料を毎日給与することを示す。

→ は、乳汁を採取し、乳汁中の体細胞数を測定した日を示す。

第2図は、試験中における乳汁中の体細胞数の変化を示す。

——— は、A群における体細胞数を示す。

…………… は、B群における体細胞数を示す。

#### 発明を実施するための最良の形態

本発明をより詳細に説明するために、以下に実施例を記載するが、本発明はこれに限定されるものではない。

本発明に用いるフィターゼ〔酵素番号：3.1.3.26および3.1.3.8〕としては、カビ類、酵母類、細菌類などの微生物由来のフィターゼ、大麦、小麦、米糠などの植物由来のフィターゼ、または、前記のフィターゼの遺伝子を、通常遺伝子操作で用いられる手段で、大腸菌等の宿主細胞に組み込み、該宿主細胞から生産されたフィターゼ等があげられるが、カビ由来のフィターゼを用いることが好ましい。

乳房炎予防・治療に必要なフィターゼの投与量は、哺乳動物に対して体重1Kg当たり1日1～100単位/Kg、好ましくは10～50単位/Kgである。乳頭炎予防、治療用組成物のうち飼料にフィターゼを投与する場合のフィターゼの給与する割合は、飼料乾物1kg当たり50～5000単位、好ましくは100～1500単位、とりわけ好ましくは250～750単位添加すれば良い。

ここで言うフィターゼの単位とは、「飼料及び飼料添加物の成分規格に関する省令」別表第2の5「飼料添加物一般の試験法」中の酵素力試験法、フィチン酸分解力試験法に規定されたフィチン酸分解力単位を表す〔飼料添加物の成分規格等収載書、第8版、亀岡 一編、平成8年日本科学飼料協会刊〕。

本発明においてフィターゼを給与する対象となるほ乳動物とは、ヒト以外のほ乳動物を表し、牛、豚、山羊などの家畜、犬、猫等の愛玩動物を表すが、とりわけ牛に投与することが好ましい。

本発明においてフィターゼのほ乳動物への給与方法としては、フィターゼを直接飼料に添加し、添加後の飼料をほ乳動物へ給与する方法、または乳房炎予防・治療用組成物に含有させて、該組成物を経口でほ乳動物へ給与する方法があげられる。

飼料としては、通常家畜用飼料として用いられるものであれば良く、単体飼料、粗飼料または配合飼料のいずれでもよい。単体飼料としては加熱大豆、綿実、大豆等があげられ、粗飼料としては、グラスサイレージ、アルファルファヘイ、ビートパルプ、グラスヘイ、乾草等があげられる。また、配合飼料としては、乳用牛飼育用配合飼料、肉用牛飼育用配合飼料、肉豚肥育用配合飼料、種豚用配合飼料、馬用飼料、山羊用配合飼料、ミンク用配合飼料、ウサギ用配合飼料があげられる〔配合飼料講座、上巻、配合飼料講座編纂委員会編、昭和55年、チクサン出版社刊〕。これらの飼料のうち、とりわけ乳用牛飼育用配合飼料を本発明に用いることが好ましい。

乳用牛飼育用配合飼料とは、前記の粗飼料、単体飼料、穀類、そうこう類、植物性油粕等の濃厚飼料、骨粉、炭酸カルシウム等の無機飼料、ビタミン類、無機塩類、アミノ酸添加物等の特殊飼料を公知の方法により適宜配合したものである〔配合飼料講座、上巻、配合飼料講座編纂委員会編、昭和55年、チクサン出版

社刊)。

本発明において乳房炎予防・治療用組成物としては、フィターゼを動物用医薬品用錠剤、動物用医薬品用カプセル剤等に含有させた組成物、フィターゼをペットフードに含有させた組成物、フィターゼと配合飼料とからなる組成物等があげられる。なお、フィターゼを配合飼料に含有させた組成物のほ乳動物への給与方法は、フィターゼを配合飼料に含有させた組成物単独または該組成物を粗飼料等飼料と混合した後、該混合飼料を動物に給与することにより行う。

動物用医薬品用錠剤は、通常動物用医薬品に用いられるものであればどのようなものでもよく、主剤であるフィターゼ以外に、乳糖、白糖等の糖類、デンプン等からなるふ形剤、ゼラチン、メチルセルロース等からなる結合剤、タルク、ステアリン酸マグネシウム等からなる滑沢剤を含んでいても良い。

動物用医薬品用カプセル剤としては、通常動物用医薬品に用いられる用いられるものであればどのようなものでもよく、主剤であるフィターゼとともに、必要であれば前記のふ形剤、結合剤等を、硬カプセル等の日常用いられるカプセルに充填したものがあげられる。動物用医薬品用錠剤、動物用医薬品用カプセル剤は公知〔製剤学、大塚昭信ら編、1995年、南江堂刊〕の方法に準じて製造することができる。

動物用医薬品用錠剤または動物用医薬品用カプセル剤1錠中に、フィターゼは100～20000単位、好ましくは1000～10000単位含有される。フィターゼを含有した動物用医薬品用錠剤または動物用医薬品用カプセル剤は、乳房炎の予防・治療のどちらにでも適用することができるが、動物医薬品として治療剤に用いることが好ましい。

ペットフードとしては、通常ペットフードとしてイヌ、ネコ等愛玩動物の食餌用に用いられるものであればどのようなものでもよく、イヌ用ドライフード、イヌ用精製飼料、イヌ用セミモイストフード等のイヌ用ペットフード、ネコ用ドライフード、ネコ用精製飼料、ネコ用アミノ酸飼料等のネコ用ペットフード等があげられる。ペットフード100g中にフィターゼは5～500単位、好ましくは25～100単位含有されればよい。該ペットフードは、通常のペットフードの製造方法〔配合飼料講座、上巻、配合飼料講座編纂委員会編、昭和55年、チク

サン出版社刊] に準じて製造することができる。

フィターゼを含有したペットフードは、乳房炎の予防・治療のどちらにでも適用することができるが、動物健康食的な乳房炎予防食として給与することが好ましい。

フィターゼと配合飼料とからなる組成物における配合飼料とは前記と同義であり、飼料安全法に規定された飼料添加物、例えばプロピオン酸カルシウム、プロピオン酸ナトリウム等の品質低下防止剤、ビタミン類、アミノ酸類、ミネラル類またはこれらの混合物を含有していても良い。フィターゼと配合飼料とからなる組成物において、好ましい配合飼料としては乳用牛飼育配合飼料が好ましい。

フィターゼと配合飼料からなる組成物100g中にフィターゼは1000~200000単位、好ましくは5000~100000単位含有されればよく、該組成物は、公知の方法に準じて得ることができる〔配合飼料講座、下巻、配合飼料講座編纂委員会編、昭和54年、チクサン出版社刊〕。

フィターゼと配合飼料からなる組成物は、乳房炎の予防・治療のどちらにでも適用することができるが、乳牛等が乳房炎に罹る前から乳牛等の餌として給与すれば、乳牛が乳房炎にならない環境で酪農業を営むことができるので、予防用組成物として用いることが好ましい。

なお、前記の乳房炎予防・治療用組成物には、硫酸亜鉛メチオニンなどの有機亜鉛、炭酸亜鉛あるいは硫酸亜鉛などの無機亜鉛、炭酸マンガンをあるいは硫酸マンガンをなどのマンガ化合物、ビタミンA、ビタミンD、ビタミンEなどのビタミン類、アルファアルファミール、圧ペントウモロコシ等が含有されていてもよく、好ましくは有機もしくは無機亜鉛、とりわけ好ましくは硫酸亜鉛メチオニンが含有されていてもよい。なお嗜好性を高めるため、同時にフレーバーなどを給与してもよい。また、該組成物等の給与の時期および本発明方法の実施期間は、予防用組成物としては、動物が乳を出すようになってから泌乳期間継続して給与する事が好ましい。また動物が乳房炎に罹った場合は、乳房炎予防・治療用組成物を飼料とともに給与し、必要によりフィターゼを含有した動物用医薬品用錠剤または動物用医薬品用カプセル剤を投与してもよい。

【実施例】

## (実施例1) フィターゼを用いた乳牛の飼育

ホルスタイン種乳牛1日1頭当たり、グラスサイレージ28kg、アルファルファヘイ1.5kg、ビートパルプ2kg、加熱大豆0.7kg、綿実1.2kg、大豆粕0.9kg、濃厚飼料6kgからなる乳用牛飼育配合飼料に、市販フィターゼ（商品名フィターゼ協和；協和発酵工業株式会社製、カビ由来フィターゼ500単位/g含有）30gを混合して給与した。飼養形態はフリーストール形式で合計65頭に30日間給与した。乳成分の検査は2週間ごとに全頭の合乳について行った。

結果を表1に示す。

【表1】

	給与2週前	給与開始時	給与2週後	給与4週後
平均泌乳量 (L/日/頭)	26.3	25.2	27.1	26.8
乳脂肪 (%)	4.0	4.2	4.2	4.3
乳蛋白 (%)	3.2	3.3	3.2	3.2
無脂乳固形分 (%)	8.9	8.8	9.1	9.0
体細胞数 ( $\times 10^4$ cell/ml)	25.3	28.9	15.3	8.7

表1によれば、供試した牛群はフィターゼ給与前には体細胞数が $25 \times 10^4$  cel/m1を越え、軽い乳房炎の兆候が認められたが、フィターゼ給与後は明らかに体細胞数が減少し乳房炎の発症を未然に防ぐ事ができた。

## (実施例2) フィターゼを用いた乳牛の飼育

タイストール形式の牛舎でホルスタイン種乳牛40頭の牛群を20頭ずつに分け、一方をフィターゼを給与する試験区とし、もう一方をフィターゼを給与しない対照区とした。飼料は1日1頭当たり、コーンサイレージ15kg、グラスヘイ8kg、ビートパルプ3kg、乾草4kg、圧ペントウモロコシ、大豆粕、無機質およびビタミンなどからなる濃厚飼料8.0kgからなる乳用牛飼育配合飼料を与え、試験区には市販フィターゼ（商品名フィターゼ協和；協和発酵工業株式会社製、カビ由来フィターゼ500単位/g含有）25gを飼料の上に振りかけて給与した。乳質検査は1カ月毎、

個体毎に行った。

結果を表2に示す。

【表2】

	給与開始時	給与1カ月後		給与2カ月後	
	試験区・対照区	試験区	対照区	試験区	対照区
平均泌乳量 (L/日/頭)	25.2	26.3	25.4	27.1	24.3
平均乳脂肪 (%)	4.0	4.1	4.2	4.2	4.3
平均乳蛋白 (%)	3.4	3.5	3.3	3.2	3.2
平均無脂乳固形分 (%)	8.8	8.9	9.2	8.7	9.3
体細胞数 ( $\times 10^4$ cell/ml)	30.2	12.1	35.2	8.6	42.1
乳房炎処置頭数 (頭)	0	0	1	0	2

表2によれば、供試した牛群はフィターゼ給与前には体細胞数が $30 \times 10^4$  cell/mlを越え、軽い乳房炎の兆候が認められた。フィターゼを給与した試験区では給与1カ月後に明らかに体細胞数が減少しているが、フィターゼを給与しない対照区では、体細胞数が増加し2カ月目に1頭、3か月目に2頭の牛が乳房炎と診断され、乳生産群から排除された。

(実施例3) フィターゼを用いた乳牛の飼育；硫酸亜鉛メチオニンとの比較

タイストール形式の牛舎でホルスタイン種乳牛40頭の牛群を20頭ずつに分け、一方をフィターゼを給与する試験区とし、もう一方を硫酸亜鉛メチオニンを給与する対照区とした。飼料は1日1頭当たり、コーンサイレージ15kg、グラスハイ8kg、ビートパルプ3kg、乾草4kg、圧ペントウモロコシ、大豆粕、無機質およびビタミンなどからなる濃厚飼料8.0kgからなる乳用牛配合用飼料を与え、試験区には市販フィターゼ（商品名フィターゼ協和；協和発酵工業株式会社製、カビ由来フィターゼ500単位/g含有）を1日1頭当たり25g、対照区には市販硫酸亜鉛メチオニン製剤（Zinpro40；ジンプロ社製）を1日1頭当たり4g飼料の上に振りかけて給与した。乳質検査は1カ月毎、個体毎に行った。

結果を表3に示す。

【表3】

	給与開始時	給与1カ月後		給与2カ月後	
	試験区・対照区	試験区	対照区	試験区	対照区
平均泌乳量 (L/日/頭)	25.2	26.3	25.4	27.1	24.3
平均乳脂肪 (%)	4.0	4.1	4.3	4.2	4.2
平均乳蛋白 (%)	3.4	3.6	3.6	3.1	3.2
平均無脂乳固形分 (%)	8.8	8.7	9.2	8.8	9.0
体細胞数 ( $\times 10^4$ cell/ml)	35.2	15.1	25.3	8.6	12.1

表3によれば、供試した牛群はフィターゼ給与前には体細胞数が $30 \times 10^4$  cell/mlを越え、軽い乳房炎の兆候が認められた。フィターゼを給与した試験区では給与1カ月後に明らかに体細胞数が減少している。硫酸亜鉛メチオニンを給与した対照区の体細胞数も減少しているが、添加効果は試験区の方が顕著であった。

#### (実施例4) 乳房炎予防用組成物A

以下の表4に示された飼料添加物を含む市販の乳用牛飼育配合飼料〔商品名セルカッター2：協和醗酵工業株式会社製造〕1Kgにフィターゼ（商品名フィターゼ協和；協和発酵工業株式会社製、カビ由来フィターゼ500単位/g含有）200gを添加し乳房炎予防用組成物Aを製造した。

【表4】

含有する試料添加物	有効成分名	含有量 (1 k g)
ビタミンA油	ビタミンAとして	2 5 0 0 . 0 千IU
ビタミンD3油	ビタミンD3として	5 0 0 . 0 千IU
ビタミンE油粉末	ビタミンEとして	1 0 0 0 . 0 m g
ビタミンK3	メナジオン亜硫酸Na	3 0 0 . 0 m g
ビタミンB1	硫酸チアミン	3 0 0 . 0 m g
ビタミンB2	リボフラビン	6 0 0 . 0 m g
ビタミンB6	塩酸ピリドキシン	1 5 0 0 . 0 m g
ビタミンB12	シアノコパラミン	2 . 0 m g
パントテン酸Ca	パントテン酸	6 0 0 0 . 0 m g
ニコチン酸アミド	ナイアシン	6 0 0 0 0 . 0 m g
塩化コリン		2 5 0 0 0 . 0 m g
炭酸マンガン	Mnとして	1 2 0 0 . 0 m g
硫酸鉄 (乾燥)	Feとして	1 5 0 0 . 0 m g
硫酸コバルト	Coとして	5 . 0 m g
炭酸亜鉛	Znとして	1 2 0 0 . 0 m g
ヨウ素酸Ca	I として	1 9 . 5 m g
炭酸マグネシウム	Mgとして	8 0 0 0 . 0 m g
硫酸亜鉛MET	硫酸亜鉛メチオニン	3 0 0 0 0 . 0 m g
	Znとして	6 0 0 0 . 0 m g
	METとして	1 2 0 0 0 . 0 m g
甘味料		適量
残 量		脱脂米糠、油カス

(実施例5) 乳房炎予防用組成物B

以下の表5に示された飼料添加物を含む市販の乳用牛飼育配合飼料〔商品名スーパービタミンサプリメント：協和発酵工業株式会社製造〕1kgにフィターゼ（商品名フィターゼ協和；協和発酵工業株式会社製、カビ由来フィターゼ500単位/g含有）200gを添加し乳房炎予防用組成物Bを製造した。

【表5】

含有する試料添加物	有効成分名	含有量 (1kg)
ビタミンA油	ビタミンAとして	2500.0 千IU
ビタミンD3油	ビタミンD3として	500.0 千IU
ビタミンE油粉末	ビタミンEとして	1000.0 mg
ビタミンK3	メナジオン亜硫酸Na	300.0 mg
ビタミンB1	硫酸チアミン	300.0 mg
ビタミンB2	リボフラビン	600.0 mg
ビタミンB6	塩酸ピリドキシン	1500.0 mg
ビタミンB12	シアノコバラミン	2.0 mg
パントテン酸Ca	パントテン酸	6000.0 mg
ニコチン酸アミド	ナイアシン	60000.0 mg
塩化コリン		25000.0 mg
炭酸マンガン	Mnとして	1200.0 mg
硫酸鉄（乾燥）	Feとして	1500.0 mg
硫酸コバルト	Coとして	5.0 mg
炭酸亜鉛	Znとして	1200.0 mg
ヨウ素酸Ca	I として	19.5 mg
炭酸マグネシウム	Mgとして	8000.0 mg
甘味料		適量
残 量		脱脂米糠、油カス

## (実施例6) 乳房炎予防用組成物C

以下の表6に示された飼料添加物を含む市販の乳用牛飼育配合飼料〔商品名セルカットー1：協和醗酵工業株式会社製造〕1kgにフィターゼ（商品名フィターゼ協和；協和醗酵工業株式会社製、カビ由来フィターゼ500単位/g含有）400gを添加し乳房炎予防用組成物Cを製造した。

【表6】

含有する試料添加物	有効成分名	含有量 (1kg)
ビタミンA油	ビタミンAとして	5000.0 千IU
ビタミンD3油	ビタミンD3として	1000.0 千IU
ビタミンE油粉末	ビタミンEとして	4000.0 mg
炭酸マンガン	Mnとして	230.0 mg
炭酸亜鉛	Znとして	700.0 mg
硫酸亜鉛MET	硫酸亜鉛メチオニン	60000.0 mg
	Znとして	12000.0 mg
	METとして	24000.0 mg
アルファアルファミール		10000.0 mg
甘味料		適量
残量		脱脂米糠、油カス

## (実施例7) 組成物Cを用いた乳房炎予防方法

1群50頭の乳牛に対して、通常の飼料または実施例6で得られた組成物Cを1日5kg配合した飼料を、2週間間隔で交換し、給与した。

なお、給与群はA、B2群に分け、第1図に示したスイッチバック法に従い、A群は組成物C含有飼料から、B群は組成物Cを含まない飼料から給与を行った。

給与開始後、2週間ごとに乳汁を採取し1群の乳牛から得た乳汁を全て併せてから、乳房炎の指標となる乳汁中の体細胞数を測定した。

結果を表 7 及び図 2 に示す。

【表 7】

( 単位 万細胞/ml )

	0 週目	2 週目	4 週目	6 週目	8 週目
A 群	4 5	2 3	2 6	1 8	2 3
B 群	3 6	5 0	3 0	4 1	1 8

表 7 及び図 2 によれば、試験開始から約 8 週間目には、A B 両群の体細胞数は試験開始前に比べ減少していることから乳房炎の抑制効果が確認された。

また、試験開始から 2 週間目までの体細胞数の変化を観察すると、組成物 C を含有する飼料を給与した A 群は体細胞数が減少しているのに対して、単に飼料を給与した B 群は体細胞数が増加していることから、飼料に組成物 C を含有させることにより、乳房炎の予防にも効果を奏することが認められた。

#### 産業上の利用可能性

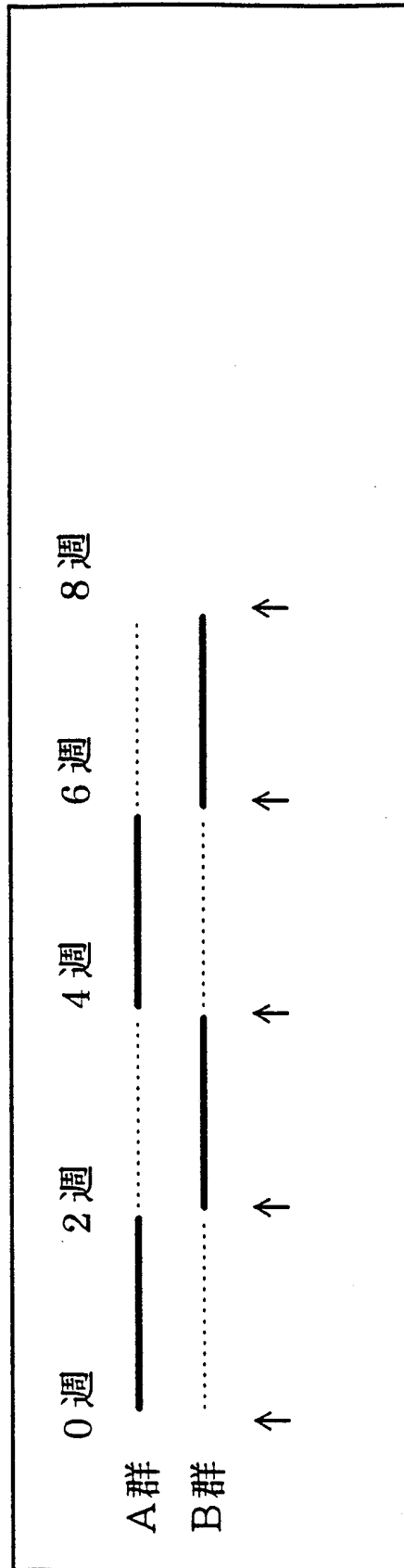
本発明により、ほ乳動物（人を除く）に発生する乳房炎の予防・治療方法および乳房炎予防・治療用組成物が提供される。

本明細書で引用した全ての刊行物、特許および特許出願をそのまま参考として本明細書にとり入れるものとする。

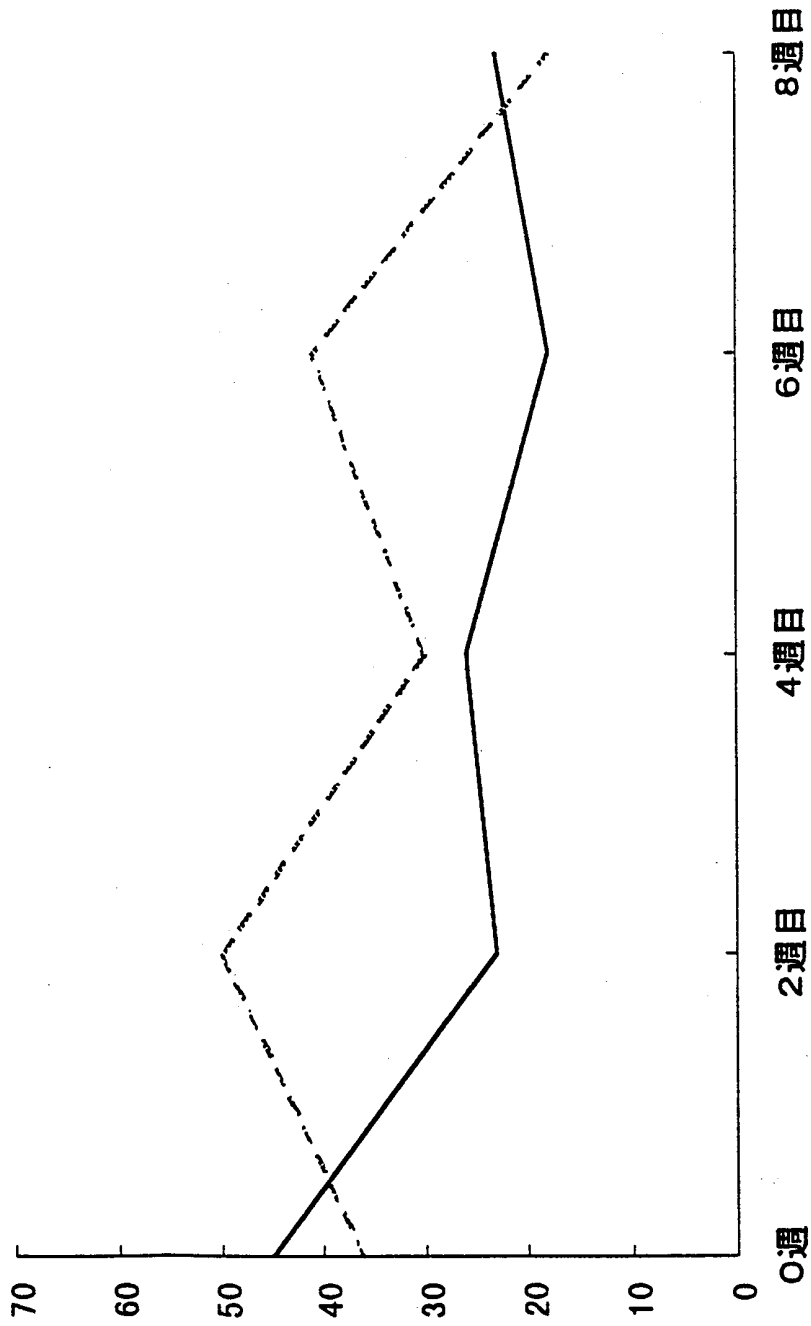
## 請 求 の 範 囲

1. フィターゼを給与することを特徴とする、ほ乳動物（人を除く）の乳房炎の予防・治療方法。
2. フィターゼを飼料乾物 1 k g 当たり 50～5000 単位添加した飼料を給与することからなる、請求の範囲第 1 項記載のほ乳動物（人を除く）の乳房炎の予防・治療方法。
3. ほ乳動物がウシであり、飼料が乳用牛飼育配合飼料である請求の範囲第 1 項記載の乳房炎の予防・治療方法。
4. フィターゼを含有することを特徴とする、ほ乳動物（人を除く）の乳房炎の予防・治療用組成物。
5. 組成物がフィターゼと配合飼料とからなる、請求の範囲第 4 項記載のほ乳動物（人を除く）の乳房炎の予防・治療用組成物。
6. 組成物が硫酸亜鉛メチオニンを含有することからなる請求の範囲第 5 項記載のほ乳動物（人を除く）の乳房炎の予防・治療用組成物。

第1図



第 2 図



体細胞数の推移 (万細胞/ml)

I  
N  
F  
E

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. -  
PCT/JP98/05749

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
Int.Cl<sup>6</sup> A61K38/46, A23K1/165

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)  
Int.Cl<sup>6</sup> A61K38/46-38/50, A23K1/165

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)  
CAPLUS (STN), REGISTRY (STN), MEDLINE (STN), WPIL (DIALOG)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP, 420428, A2 (Sabin, Robert), 3 April, 1991 (03. 04. 91) & CA, 2019878, A	1-6
A	WO, 93/16175, A1 (GIST-BROCADES N.V.), 19 August, 1993 (19. 08. 93) & AU, 9336284, A & FI, 9403707, A & EP, 626010, A1	1-6
A	JP, 2-83336, A (The Public Health Research Institute of the City of New York, Inc.), 23 March, 1990 (23. 03. 90) & ZA, 8806446, A & EP, 359873, A	1-6

Further documents are listed in the continuation of Box C.       See patent family annex.

<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"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)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>"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</p> <p>"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</p> <p>"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</p> <p>"&amp;" document member of the same patent family</p>
--	---

Date of the actual completion of the international search  
1 March, 1999 (01. 03. 99)

Date of mailing of the international search report  
23 March, 1999 (23. 03. 99)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl <sup>6</sup> A 61 K 38/46, A 23 K 1/165		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl <sup>6</sup> A 61 K 38/46-38/50, A 23 K 1/165		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの		
国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) CAPLUS (STN), REGISTRY (STN), MEDLINE (STN), WPIL (DIALOG)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	EP, 420428, A2 (Sabin, Robert), 3. 4月. 1991 (03. 04. 91), & CA, 2019878, A	1-6
A	WO, 93/16175, A1 (GIST-BROCADES N.V.), 19. 8月. 1993 (19. 08. 93), & AU, 9336284, A, & FI, 9403707, A, & EP, 626010, A1	1-6
A	JP, 2-83336, A (ザ パブリック ヘルス リサーチ インスティテュート オブ ザ シティ オブ ニューヨーク), 23. 3月. 1990 (23. 03. 90), & ZA, 8806446, A, & EP, 359873, A	1-6
<input type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日	01. 03. 99	国際調査報告の発送日 23.03. 1999
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 瀬下 浩 一 印	4C 9736
電話番号 03-3581-1101 内線 3452		