

(12) **Österreichische Patentanmeldung**

(21) Anmeldenummer: A 904/2012
(22) Anmeldetag: 20.08.2012
(43) Veröffentlicht am: 15.02.2014

(51) Int. Cl.: **A23K 1/12** (2006.01)
A61K 36/15 (2006.01)
A23K 1/14 (2006.01)

(30) Priorität:
14.08.2012 AT A 888/2012 beansprucht.

(56) Entgegenhaltungen:
DE 2258071 A1
WO 2011127499 A1
EP 2085083 A1

(71) Patentanmelder:
NEUFELD KLAUS DDR.
2532 HEILIGENKREUZ (AT)

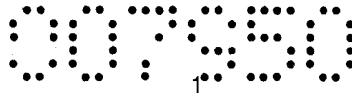
(74) Vertreter:
PATENTANWÄLTE PUCHBERGER, BERGER
& PARTNER
WIEN

(54) **Tierfutter- oder Tränkwasserzusatz für Wiederkäuer**

(57) Die Erfindung betrifft einen Tierfutterzusatz, der oligomere Procyanidine zur Behandlung oder Prophylaxe von akuter oder subakuter Pansenazidose oder aus Pansenazidose resultierenden Zuständen bei einem Wiederkäuer enthält.

Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft einen Tierfutterzusatz, der oligomere Procyanidine zur Behandlung oder Prophylaxe von akuter oder subakuter Pansenazidose oder aus Pansenazidose resultierenden Zuständen bei einem Wiederkäuer enthält.



Tierfutter- oder Tränkwasserzusatz für Wiederkäuer

Gebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft Zusätze zum Tierfutter oder Tränkwasser für Wiederkäuer.

Hintergrund der Erfindung

Die landwirtschaftliche tierische Produktion zielt heute darauf ab, unter möglichst ökonomischen Bedingungen ein akzeptables Leistungsniveau der Nutztiere und einen hohen Gesundheitsstatus zu erreichen. Es hat sich gezeigt, dass ein guter Gesundheitszustand in der Folge auch zu guten Leistungen in Hinblick auf Wachstum, Milchleistung, Wollproduktion, Reproduktion etc. führt. In früherer Zeit hat man versucht, das Leistungsniveau durch sogenannte nutritive Gaben von antimikrobiellen Wirkstoffen (z.B. Antibiotika) zu erhöhen. Im Bereich der Wiederkäuer wurde lange Zeit beispielsweise das Produkt Flavomycin® (Substanzname: Flavophospholipol) verwendet [Van der Merwe BJ et al: The effect of flavophospholipol (Flavomycin®) on milk production and milk urea nitrogen concentrations of grazing dairy cows, *South African Journal of Animal Science (SASAS)* 2001, 31(2): 101-105]. Ein weiteres Beispiel für die Gruppe dieser Substanzen sind die ionophoren Antibiotika, beispielsweise das Produkt Rumensin (Substanzname: Monensin-Natrium) [Callaway TR et al: Ionophores: Their use as ruminant growth promotants and impact on food safety, *Curr. Issues Intest. Microbiol.* 2003, 4: 43-51].

Der Einsatz der antimikrobiellen Wirkstoffe ist mit bedeutenden Nachteilen verbunden. Einerseits wurde aus wissenschaftlicher Sicht nicht immer ein positiver Effekt dieser Substanzen auf das Leistungsniveau der Nutztiere nachgewiesen [Gritzer K und Leitgeb R: Überprüfung der Wirksamkeit antibiotischer und mikrobieller Leistungsförderer in der Rindermast, *Die Bodenkultur*, 1998, 49(1): 51-59], andererseits aber hat sich im Bereich des Konsumenten ein Trend zu natürlichen und rückstandsfreien tierischen Nahrungsmitteln entwickelt und somit im Handel und beim Konsumenten ein Widerstand gegen die Verwendung solcher Substanzen in der Landwirtschaft aufgebaut. Außerdem hat sich auf wissenschaftlicher Ebene der Verdacht erhärtet, dass es durch die Verwendung antibiotischer Leistungsförderer in

der Landwirtschaft zu einer Entwicklung von Resistenzen gegen Antibiotika, insbesondere auch bei der Verwendung in der Humanmedizin, kommen kann. Als alternative Produkte wurden in den letzten Jahren sogenannte Lebendhefen eingesetzt. Ihre fördernde Wirkung auf Bakterien im Pansen sowie ihre pH-stabilisierende Wirkung im Pansen durch eine bessere Milchsäureverwertung sind bekannt [Schmitz W: Lebendhefen: Kleine Zellen mit großer Wirkung, *Der fortschrittliche Landwirt* 2010, 20: 10-12].

Auf veterinärmedizinischer Ebene hat sich jedoch herausgestellt, dass die größte Kapazität für eine optimale Leistung der landwirtschaftlichen Nutztiere der Erhalt eines optimalen Gesundheitszustandes ist. Bei den wiederkäuenden landwirtschaftlichen Nutztieren, wie beispielsweise Kühen, Schafen oder Ziegen, gibt es zwei große Stoffwechselprobleme, die zu erheblichen Leistungseinbußen führen. Es handelt sich dabei einerseits um die Ketose, andererseits um die Azidose, insbesondere die subakute Azidose (SARA). Ketose und Azidose sind in ihrer wirtschaftlichen Bedeutung ungefähr gleichwertig.

Die subakute Rumenazidose (SARA) tritt je nach untersuchtem Land und Haltungsform in einer Häufigkeit von 10% bis 30% der Milchkühe auf. So geben etwa Enemark und Jorgensen (2001) bei Milchkühen in Dänemark eine Häufigkeit von 22% an, Oetzel (2003) gibt die Häufigkeit von subklinischer Pansenazidose bei frischlaktierenden Kühen mit 15% an. Somit stellt die Azidose neben der Ketose das größte und aus ökonomischer Sicht wichtigste Gesundheitsproblem in der Rinderproduktion dar.

Stand der Technik

Bisherige Methoden, Pansenazidose zu verhindern, sind von begrenzter Wirksamkeit. Üblicherweise werden dem Tierfutter Puffersubstanzen, insbesondere Natriumbicarbonat, zugesetzt. Allerdings führt Natriumbicarbonat in wirksamen Dosierungen von >150 g pro Tier und Tag zu einer verminderten Futteraufnahme und kann daher nur begrenzt eingesetzt werden.

Aus EP 1 175 696 ist die Verwendung von Acarbose und Trestatinen zur Herstellung eines Medikaments für die kurative, palliative und prophylaktische Behandlung von Pansenazidose bekannt.

Offenbarung der Erfindung

Die vorliegende Erfindung hat sich die Aufgabe gestellt, Mittel zur Behandlung oder Prophylaxe von akuter oder subakuter Pansenazidose oder aus Pansenazidose resultierenden Zuständen bei Wiederkäuern bereitzustellen. Diese Mittel umfassen ein Tierfutter, einen Tierfutterzusatz bzw. eine Vormischung zur Herstellung eines Tierfutters sowie einen Tränkwasserzusatz.

Gemäß einem Aspekt gibt die vorliegende Erfindung einen Tierfutterzusatz an, der oligomere Procyanidine zur Behandlung oder Prophylaxe von akuter oder subakuter Pansenazidose oder aus Pansenazidose resultierenden Zuständen bei Wiederkäuern enthält.

Gemäß einem Aspekt der Erfindung können die oligomeren Procyanidine in dem Tierfutterzusatz in Form von vermahlener Kiefern- oder Ulmenrinde oder als Kiefernringen- oder Ulmenringenextrakt oder als Mischung davon enthalten sein.

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung hat sich überraschenderweise gezeigt, dass die Rinde von Kiefernarten (*Pinus* spp.) oder Ulmen (*Ulmus* spp.) oder Extrakte solcher Rinden eine positive, auch vorbeugende, Wirkung auf das Azidosegeschehen haben. Dies erfolgt physiologisch insbesondere durch die in den genannten Rinden enthaltenen oligomeren Procyanidine (die auch als Proanthocyanidine bezeichnet werden). Für diese Substanzen konnte eine Hemmwirkung auf die Pansenamylase im Rahmen von *In-vitro*-Tests mit Pansensaft nachgewiesen werden.

Aus physiologischer Sicht ist es wichtig, dass bei Tieren, die keine Pansenazidose entwickeln oder für diese nicht empfänglich sind, keine Hemmung der Pansenamylase stattfindet, da eine solche Hemmung bei „gesunden“ Tieren zu einer Entgleisung der Pansenfermentation und in der Folge zu gesundheitlichen Störungen und zu einer Leistungsdepression führen kann. Von den beim Stand der Technik verwendeten Hemmstoffen der Pansenamylase (z.B. Acarbose) ist bekannt, dass sie die Pansenamylase unabhängig vom Gesundheitszustand der Tiere hemmen.

Im Rahmen der Erfindung wurden umfangreiche Untersuchungen durchgeführt, wobei überraschenderweise festgestellt wurde, dass Kiefernrinde, Ulmenrinde oder Extrakte davon einen Wirkungsmechanismus zeigen, der durch einen Abfall des pH-Wertes (d.h. einen Säureanstieg) getriggert (d.h. ausgelöst) wird. Die in der Kiefern- und Ulmenrinde enthaltenen oligomeren Procyanidine werden durch ein Abfallen des pH-Wertes in den für die Entstehung der Pansenazidose oder der subakuten Pansenazidose sensiblen Bereich freigesetzt und damit aktiv. Die freigesetzte Menge und die Freisetzungsgeschwindigkeit können durch den Extraktionsgrad der Rinden beeinflusst werden. Die vermahlene, d.h. nicht extrahierte, Rinde zeigt die größte Verzögerung der Wirkstofffreisetzung und hat sich daher in der Praxis am besten bewährt, um gezielt bei azidosesensiblen Tieren über die Hemmung der Pansenamylase einen pH-Abfall zu vermeiden, ohne das Risiko einzugehen, bei gesunden oder nicht sensiblen Tieren die Pansenphysiologie unnötig zu stören.

Wie sie in dieser Beschreibung verwendet werden, sind die Ausdrücke „akute Pansenazidose“ und „subakute Pansenazidose“ wie folgt zu verstehen. Die akute Pansenazidose entsteht durch eine überschießende Fermentationsaktivität im Pansen mit daraus resultierender Bildung von Säuren als Stoffwechselprodukte des Fermentationsprozesses. Grund hierfür ist oftmals eine hohe Kraftfuttergabe, die beim Einsetzen der Laktation notwendig ist, um das entstehende Energiedefizit durch die Milchbildung zu begrenzen. Ein lange andauerndes Absinken des pH-Wertes im Pansen unter einen Wert von 5,5 bedingt eine Veränderung der Pansenflora, Sistieren der Wiederkautätigkeit, Inappetenz, Durchfall, Koliken bis zu schweren Störungen des Allgemeinbefindens und Festliegen. Der niedrige pH-Wert schädigt die Schleimhaut des Pansens, die dann ihre Barrierefunktion nicht mehr erfüllen kann. Der Übertritt von Bakterien, Pilzen, biogenen Aminen und Bakterientoxinen aus dem Pansen in den Organismus wird begünstigt und verschlimmert das Krankheitsbild.

SARA (subakute Rumenazidose) stellt ein weit verbreitetes Problem in der Rinderproduktion dar. SARA ist mit einem Abfall des Pansen-pH-Wertes unter die physiologische Norm assoziiert. Die Ursache von Pansenazidose ist in der Regel ein Überangebot an rasch fermentierbaren Kohlenhydraten, oft in Verbindung mit einem Mangel an strukturierter Rohfaser. Im Gegensatz zur akuten Pansenazidose sind die Phasen eines unphysiologisch niedrigen pH-Werts (unter 5,8) bei SARA zeitlich

begrenzt und dauern von wenigen Minuten bis zu mehreren Stunden. Halten diese azidotischen Phasen länger als drei bis vier Stunden an, so kommt es zu einer morphologischen Schädigung der Pansenschleimhaut, die in der Regel erst *post mortem* feststellbar ist. Diese Schädigung bedingt wiederum eine erhöhte Durchlässigkeit für Bakterien, biogene Amine, Pilze und Bakterientoxine, welche im Organismus Entzündungen hervorrufen und Leberschäden sowie Klauenerkrankungen begünstigen. Als Folgeerkrankungen treten auf: Klauenerkrankungen (Laminitis), Störungen der Lebergesundheit (insbesondere Abszesse), Fruchtbarkeitsstörungen, verminderte Milchleistung sowie verminderter Fleischansatz bei Mastrindern. Weiters kommt es durch die Störung der Physiologie der Pansenzotten zu Fressunlust (Inappetenz) und einer Veränderung der Kotkonsistenz (d.h. der Kot wird dünnbreiig bis wässrig).

Beispiele für aus Pansenazidose resultierende Zustände bei einem Wiederkäuer, die durch Zusetzen von vermahlener Kiefern- oder Ulmenrinde oder Kiefernringen- oder Ulmenrindenextrakt oder einer Mischung davon zum Tierfutter oder Tränkwasser behandelt, reduziert oder vermieden werden können, sind pH-Absenkung im Pansen, Entgleisung der Pansenflora, Sistieren der Wiederkautätigkeit, Abfall der Milchmenge, Abfall des Milchfettgehaltes, chronische Stoffwechselbelastung, Belastung des Leberstoffwechsels, Unfruchtbarkeit, verlängerte Remontierungsrate, geringere Kälberzahl und entzündliche Klauenerkrankungen.

Gemäß einem anderen Aspekt betrifft die Erfindung ein Tierfutter für Wiederkäuer, das den oligomere Procyanidine enthaltenden Tierfutterzusatz in einer Menge, die zur Behandlung oder Prophylaxe von akuter oder subakuter Pansenazidose oder aus Pansenazidose resultierenden Zuständen bei einem Wiederkäuer wirksam ist, sowie eine oder mehrere Futtermittelkomponenten, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Proteinträgern, Kohlenhydratträgern, Raufutter, Silagen, Fetten, Vitaminen, Mineralstoffen und Spurenelementen, enthält.

Der Aufbau der Futtermischung für wiederkäuende landwirtschaftliche Nutztiere gestaltet sich grundsätzlich wie folgt:

Grundfuttermittel: das sind in der Regel wirtschaftseigene Futtermittel wie Weidegras und Graskonserven (Heu, Silage), Ackerfutter und Ackerfutterkonserven (Luzernensilage), Nebenprodukte (z.B. Biertreber).

Kraft- und Ergänzungsfuttermittel (leistungsabhängig): betriebseigenes Getreide, Nebenprodukte aus der Mehl-, Zucker- und Ölverarbeitung sowie zur Ergänzung vitaminisierte Mineralfutter. Heute üblich ist die Verwendung besonderer Ergänzungsfuttermittel für Milchvieh (z.B. Milchleistungsfutter) oder Ergänzungsfuttermittel für die Rindermast (allgemein als Kraftfutter oder Rindermastfutter bezeichnet).

Die tägliche Futteraufnahme für Grundfutter wird bei landwirtschaftlichen Nutztieren üblicherweise in Kilogramm Trockensubstanz (kg TS) angegeben. So beträgt etwa bei Milchkühen die Trockensubstanzaufnahme Kapazität 3 bis 3,8 Prozent der Körpermasse, bei Mastbullen 1,6 bis 2,5 Prozent der Körpermasse. So liegt bei Milchkühen die tägliche Aufnahme an Trockensubstanz üblicherweise bei 15 bis 20 Kilogramm. Die täglichen Kraftfuttergaben liegen etwa für Milchviehkraftfutter (= Milchleistungsfutter) bei rund 5 bis 10 Kilogramm pro Tier und Tag, bei einem Mastleistungsfutter bei rund 2 bis 3 Kilogramm pro Tier und Tag.

Der oligomere Procyanidine enthaltende Tierfutterzusatz kann mit dem Tierfutter (beispielsweise Grundfutter, Milchleistungsfutter, Kraftfutter etc.) vermischt verabreicht werden, oder er kann on-top zu den jeweiligen Futterrationen zugegeben werden.

Das erfindungsgemäße Tierfutter enthält den oligomere Procyanidine enthaltenden Tierfutterzusatz in Form von vermahlener Kiefern- oder Ulmenrinde in einer der Verabreichung von 0,1 bis 500 g vermahlener Kiefer- oder Ulmenrinde pro Tag pro Tier entsprechenden Menge. Alternativ enthält das erfindungsgemäße Tierfutter den oligomere Procyanidine enthaltenden Tierfutterzusatz in Form von Kiefern- oder Ulmenrindenextrakt in einer der Verabreichung von 0,002 bis 100 g Kiefern- oder Ulmenrindenextrakt pro Tag pro Tier entsprechenden Menge.

Die in dem erfindungsgemäßen Tierfutter verwendete Menge vermahlener Kiefern- und/oder Ulmenrinde kann im Bereich von 0,01 g bis 250 g vermahlene Rinde pro Kilogramm Futter-Trockensubstanz variieren. Beispielsweise enthält das Tierfutter

vorzugsweise 0,01 g bis 100 g vermahlene Kiefern- oder Ulmenrinde pro Kilogramm Milchleistungsfutter (Krafftutter für Milchkühe), 0,03 g bis 250 g vermahlene Kiefern- oder Ulmenrinde pro Kilogramm Mastleistungsfutter (Krafftutter für Mastrinder) sowie 0,03 g bis 250 g vermahlene Kiefern- oder Ulmenrinde pro Kilogramm Krafftutter für kleine Wiederkäuer (z.B. Milchschafe, Fleischschafe, Wollschafe, Milchziegen, Fleischziegen).

Die in dem erfindungsgemäßen Tierfutter verwendete Menge Kiefern- und/oder Ulmenrindenextrakt kann im Bereich von 0,002 g bis 50 g Rindenextrakt pro Kilogramm Futter-Trockensubstanz variieren. Beispielsweise enthält das Tierfutter vorzugsweise 0,002 g bis 20 g Kiefern- oder Ulmenrindenextrakt pro Kilogramm Milchleistungsfutter (Krafftutter für Milchkühe), 0,002 g bis 50 g Kiefern- oder Ulmenrindenextrakt pro Kilogramm Mastleistungsfutter (Krafftutter für Mastrinder) sowie 0,002 g bis 50 g Kiefern- oder Ulmenrindenextrakt pro Kilogramm Krafftutter für kleine Wiederkäuer (z.B. Milchschafe, Fleischschafe, Wollschafe, Milchziegen, Fleischziegen).

Gemäß einem anderen Aspekt betrifft die Erfindung eine Vormischung zur Herstellung eines Tierfutters, wobei die Vormischung den oligomere Procyanidine enthaltenden Tierfutterzusatz zur Behandlung oder Prophylaxe von akuter oder subakuter Pansenazidose oder aus Pansenazidose resultierenden Zuständen zusammen mit einer oder mehreren Futtermittelkomponenten, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Proteinträgern, Kohlenhydratträgern, Raufutter, Silagen, Fetten, Vitaminen, Mineralstoffen und Spurenelementen, enthält.

Die Erfindung betrifft auch die Verwendung eines erfindungsgemäßen Tierfutterzusatzes oder einer einen erfindungsgemäßen Tierfutterzusatz enthaltenden Vormischung zur Herstellung eines Tierfutters.

Gemäß einem anderen Aspekt betrifft die Erfindung die Verwendung von vermahlener Kiefern- oder Ulmenrinde oder von Kiefern- oder Ulmenrindenextrakt oder einer Mischung davon zur Herstellung eines Tierfutterzusatzes oder einer Tierfuttermischung oder eines Tierfutters zur Behandlung oder Prophylaxe von akuter oder subakuter Pansenazidose oder aus Pansenazidose resultierenden Zuständen bei einem Wiederkäuer.

Wenn das Tierfutter die oligomeren Procyanidine in Form von vermahlener Kiefernrinde oder vermahlener Ulmenrinde enthält, liegt die Dosierung bevorzugt im Bereich von 0,1 bis 500 g vermahlener Kiefern- oder Ulmenrinde pro Tag pro Tier. Wenn das Tierfutter die oligomeren Procyanidine in Form von Kiefernringenextrakt oder Ulmenringenextrakt enthält, liegt die Dosierung bevorzugt im Bereich von 0,002 bis 100 g Kiefernringen- oder Ulmenringenextrakt pro Tag pro Tier.

Gemäß einer weiteren Ausgestaltung der Erfindung kann der oligomere Procyanidine enthaltende Kiefernringen- oder Ulmenringenextrakt, vorzugsweise in Form eines wasserlöslichen Extrakts, auch dem Tränkwasser für Wiederkäuer beigemischt werden. Die in dem Tränkwasser verwendete Menge Rindenextrakt kann im Bereich von 0,00008 g bis 100 g Extrakt pro Liter Wasser variieren. Alternativ dazu kann vermahlene Kiefern- und/oder Ulmenrinde mit dem Tränkwasser aufgeschlämmt verabreicht werden. In diesem Fall kann die Dosierung beispielsweise zwischen 0,1 und 500 g pro Tier und Tag variieren.

Die Herstellung der Rindenextrakte kann nach an sich bekannten Verfahren erfolgen, wie Fest-flüssig-Extraktion mit Wasser, Heißwasser oder Dampf oder mit organischen Lösungsmitteln wie etwa Ethanol oder Methanol oder mit Lösungsmittelgemischen oder Gemischen solcher Lösungsmittel mit Wasser oder mittels Extraktion mit superkritischem CO₂ als Extraktionsmittel. Der Extraktionsgrad kann durch hydrolytische oder andere katalytisch abbauende (z.B. enzymatische, insbesondere zellulolytische Enzyme wie Zellulasen) Konditionen optimiert werden. Bevorzugt wird die Extraktion bei Temperaturen im Bereich von 50 °C bis 300 °C durchgeführt.

Zur Optimierung des Procyanidingehaltes wird Rinde vorzugsweise vermahlen und das so gewonnene Pulver in einem Perkulator mit 0,1 molarer Salzsäurelösung als Extraktionsmittel bei einer Temperatur von 100 °C extrahiert. Anschließend wird der Extrakt eingedampft und in Wasser aufgenommen.

Eine andere bevorzugte Extraktionsmethode ist die superkritische CO₂-Extraktion, bei der superkritisches CO₂ als Extraktionsmittel verwendet wird und bei einer Durchflussrate von 1200 bis 1400 Liter pro Stunde über einen Zeitraum von 4 Stunden

bei einem Druck von 25 bis 30 MPa und einer Temperatur von 50 °C bis 70 °C extrahiert wird. Der Extrakt wird anschließend in Ethanol aufgenommen.

Eine Standardisierung des Gehaltes an oligomeren Procyanidinen kann mit Hilfe einer HPLC-Analyse aus den gewonnenen Extrakten erfolgen.

Kurze Beschreibung der Zeichnung

Im Folgenden wird die Erfindung anhand von Beispielen unter Bezugnahme auf die Zeichnung näher erläutert. In der Zeichnung zeigt die Figur 1 den Verlauf der Temperatur und des pH-Wertes im Pansen für (A) ein azidosensibles Tier und für (B) ein azidoseunempfindliches Tier.

BEISPIELE

Beispiel 1: *In-vitro*-Tests mit oligomeren Procyanidinen

Gesunden, unbehandelten, pansenfistulierten Ochsen wurde Pansensaft entnommen, abzentrifugiert und der Überstand sofort tiefgefroren. 10 ml des aufgetauten Pansensaftes wurden mit 0,5 g der erfindungsgemäßen Substanz vermengt und für 60 min, 90 min, 120 min, 150 min, 180 min, 210 min und 240 min bei 39°C mittels Magnetprüher gerührt. Der Überstand wurde zum jeweils angegebenen Zeitpunkt abpipettiert und die Amylaseaktivität gemessen. Dazu wurde ein handelsübliches ELISA-System verwendet, welches üblicherweise zur Bestimmung der Amylaseaktivität im Blutserum verwendet wird.

Tabelle 1: Amylasemessung in Pansensaft

Zeitpunkt [min]	Pansensaft ohne Versuchssubstanz (Kontrolle) [U/l]	Pansensaft mit Zusatz oligomerer Procyanidine gemäß der Erfindung [U/l]
60	209	129
90	212	153
120	197	149
150	211	159
180	204	153
210	194	163
240	181	167

Wie anhand der Tabelle 1 deutlich wird, verursachen die erfindungsgemäß verwendeten oligomeren Procyanidine eine Hemmung der Amylaseaktivität.

Beispiel 2: *In-vivo*-Versuche mit Mastbullen

Wie bereits oben ausgeführt wurde, ist es aus physiologischer Sicht wichtig, dass bei Tieren, die keine Pansenazidose entwickeln oder für diese nicht empfänglich sind, keine Hemmung der Pansenamylase stattfindet. Eine solche Hemmung kann bei gesunden Tieren zu einer Entgleisung der Pansenfermentation führen, was seinerseits gesundheitliche Störungen und Leistungsdepression bewirkt.

Dieses Beispiel zeigt, dass die erfindungsgemäße Versuchssubstanz (z.B. Kiefernrinde bzw. Kiefernrendenextrakt), abhängig vom Extraktionsgrad, einen Wirkungsmechanismus zeigt, der durch einen Abfall des pH-Wertes (d.h. einen Säureanstieg) bedingt ist. Umfangreiche Untersuchungen haben ergeben, dass die oligomeren Procyanidine der Kiefernrinde durch einen Säureanstieg (i.e. pH-Abfall) in einen Bereich, in dem mit der Entstehung der (subakuten) Pansenazidose zu rechnen ist, freigesetzt und damit aktiv werden. Die freigesetzte Menge und die Freisetzungsgeschwindigkeit können durch den Extraktionsgrad der Rinde beeinflusst werden.

Vermahlene Rinde hat im Vergleich zu Rindenextrakten die größte Verzögerung der Wirkstofffreisetzung. Sie ist daher in der Praxis besonders vorteilhaft, wenn es darum geht, gezielt bei azidosesensiblen Tieren über die Hemmung der Pansenamylase einen pH-Abfall zu vermeiden, ohne dass man dabei das Risiko eingeht, bei gesunden oder nicht sensiblen Tieren die Pansenphysiologie unnötig zu stören (siehe Figur 1A und 1B).

Diese Erkenntnisse wurden in umfangreichen Versuchen unter Verwendung von Pansenboli gewonnen, wobei der Einfluss der oligomeren Procyanidine bei Mastbullen untersucht wurde. Bei den verwendeten Pansenboli handelt es sich um Messsensoren, wobei jeweils ein Sensor in den Pansen des Versuchstieres gelegt wird. Der Sensor misst im Abstand weniger Minuten kontinuierlich sowohl den pH-Wert als auch die Temperatur und speichert diese Daten. Eine externe Datenspeicherstation ruft diese

Daten mehrmals täglich ab und leitet sie an einen Computer zur Datenauswertung weiter.

Mastbullen wurden deshalb für die Versuche herangezogen (und Milchkühen vorgezogen), weil im Fall von Milchkühen die Verwertung von flüchtigen Fettsäuren für die Milchbildung je nach Laktationsstadium und Milchmenge unterschiedlich ist und somit einen weiteren Einflussfaktor darstellen würde.

Die Versuche mit Pansenboli wurden an sechs Mastochsen über einen Zeitraum von insgesamt neun Wochen im lateinischen Quadrat durchgeführt. Zum Einsatz kam einerseits Versuchsfutter, welches oligomere Procyanidine in zwei verschiedenen Dosierungen enthielt, sowie Kontrollfutter ohne Beimischung eines erfindungsgemäßen Tierfutterzusatzes. Das Versuchschema ist in der nachstehenden Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2:

	Kontrollfutter	Versuchsfutter	Versuchsfutter
		Dosierung 1	Dosierung 2
Periode 1 (3 Wochen)	Tier 1	Tier 3	Tier 5
	Tier 2	Tier 4	Tier 6
Periode 2 (3 Wochen)	Tier 5	Tier 1	Tier 3
	Tier 6	Tier 2	Tier 4
Periode 3 (3 Wochen)	Tier 3	Tier 5	Tier 1
	Tier 4	Tier 6	Tier 2

Den Tieren wurde ein Tierfutter aus Krafftutter, Maissilage und Heu verabreicht, wobei das Krafftutter zu gleichen Teilen aus Gerste, Weizen und Soja HP (d.h. Hoch-Protein-Sojaextraktionsschrot) bestand. Die Zusammensetzung des Futters ist in der nachstehenden Tabelle 3 angeführt. In den Versuchsperioden wurde dem Tierfutter der erfindungsgemäße Tierfutterzusatz on-top zugemischt. Der oligomere Procyanidine enthaltende Futterzusatz wurde im Falle des Versuchsfutters in zwei verschiedenen Dosierungen (15 g pro Tier pro Tag bzw. 30 g pro Tier pro Tag) gefüttert.

Tabelle 3:

Maissilage	kg	9,09
Kraftfutter	kg	2,73
Heu	kg	0,69
Kraftfutterzusammensetzung: 33,3 % Gerste, 33,3 % Weizen, 33,3 % Soja HP		

Die Fig. 1 zeigt den mit den Pansenboli gemessenen Verlauf des pH-Wertes und der Temperatur im Pansen, und zwar für ein azidosesensibles Tier (Fig. 1A) und für ein azidoseunempfindliches Tier (Fig. 1B).

Bei dem azidosesensiblen Tier kam es durch die Provokationsfütterung mit dem stärkereichen Tierfutter in der Kontrollphase, d.h. ohne Verabreichung des erfindungsgemäßen Futterzusatzes, zu einem Absinken des pH-Wertes. Dagegen zeigten sich während der Versuchsphase, d.h. für die Dauer der Verabreichung des erfindungsgemäßen Tierfutterzusatzes, höhere pH-Werte. Dies bestätigt die Wirksamkeit des erfindungsgemäßen Tierfutterzusatzes zur Behandlung oder Prophylaxe von Pansenazidose.

Im Falle des azidoseunempfindlichen Tieres zeigte sich in der Kontrollphase, d.h. ohne den erfindungsgemäßen Tierfutterzusatz, kein Absinken des Pansen-pH. Es war keine Störung der Pansenphysiologie in der Versuchsphase feststellbar. Dieses Ergebnis bestätigt den weiter oben beschriebenen Wirkungsmechanismus des erfindungsgemäßen Tierfutterzusatzes. Bei gesunden oder azidoseunempfindlichen Tieren wird die Pansenphysiologie durch den erfindungsgemäßen Tierfutterzusatz nicht gestört, da das zum Auslösen seiner Wirkung nötige Abfallen des pH-Wertes im Pansen nicht erfolgt.

Beispiel 3: In-vivo-Versuche mit Milchkühen

Bei diesem Versuch handelte es sich um einen Feldversuch in einem Milchviehbetrieb. Während der Versuchsphase wurde allen laktierenden Milchkühen der Herde 30 g Ulmenrinde zur stallüblichen Ration on-top zugefüttert. Die Daten der stallüblichen Routineuntersuchungen zur Herdengesundheit der Versuchsphase wurden mit früheren Daten verglichen, die als Kontrolldaten (ohne Zufütterung von Rinde) bewertet wurden.

Als Versuchstiere konnten 40 laktierende Milchkühe ausgewertet werden. Das verabreichte Tierfutter war das im Beispiel 4 genannte Futter. Die Dosierung des erfindungsgemäßen Tierfutterzusatzes war 30 g Ulmenrinde pro Tier und Tag.

Im Rahmen dieser Versuche bei Milchkühen konnte festgestellt werden, dass der erfindungsgemäße Tierfutterzusatz insbesondere in kritischen Phasen der Laktation zu einer höheren Milchleistung führte. Wie die nachstehende Tabelle 4 deutlich zeigt, war dieser Effekt überraschenderweise nicht mit der aus fachlicher Sicht zu erwartenden Depression des MilCHFettgehaltes verbunden. Die Wirkung des erfindungsgemäßen Tierfutterzusatzes steht somit in krassem Gegensatz zur Lehre des Standes der Technik, die besagt, dass ein Anstieg der Milchleistung stets mit einem Abfall des MilCHFettgehaltes einhergeht.

Tabelle 4: Milchmenge und MilCHFettgehalte azidosegefährdeter Tiere

	Routinemäßige Herdenuntersuchung		
	Zeitpunkt 1 Kontrolle	Zeitpunkt 2 Kontrolle	Zeitpunkt 3 Versuch
Anzahl der Kühe über 35 kg Milchleistung	16	16	11
Milchmenge in kg	39,9	38,9	41,3
MilCHFettgehalt in %	4,21	4,23	4,26
Anzahl der erstlaktierenden Kühe im Laktationszeitraum Tag 1 bis 100	3	4	4
Milchmenge in kg	23,2	29,5	33,6
MilCHFettgehalt in %	4,71	4,23	4,33
Anzahl der Kühe ab 2. Laktation im Laktationszeitraum Tag 1 bis 100	9	10	6
Milchmenge in kg	41,0	39,8	43,3
MilCHFettgehalt in %	4,06	4,11	4,26

Interessant sind auch die routinemäßig erhobenen Parameter zur Herdengesundheit: Der Harnstoffgehalt der Milch dient als Indikator der Eiweißversorgung. Der Eiweißgehalt der Milch ist ein Indikator für die Energieversorgung des Tieres. Die beiden Parameter sind gemeinsam als Harnstoff/Eiweiß zu beurteilen und werden in neun Klassen eingeteilt. Der Wert soll im mittleren Feld (Klasse 5) liegen.

Abweichungen bedeuten eine Über- oder Unterversorgung mit Eiweiß und/oder mit Energie.

Stoffwechselkontrolle Harnstoff/Eiweiß (Harnstoffklasse, HKI) ohne erfindungsgemäßen Tierfutterzusatz:

Maximal 47,5% der Tiere waren in der optimalen Klasse 5 kategorisiert, bis zu 42,5% der Tiere waren in den ungünstigen Klassen 2 (Energiamangel) bzw. 7, 8 und 9 (Proteinüberschuss und/oder Energieüberschuss).

Stoffwechselkontrolle Harnstoff/Eiweiß (HKI) mit erfindungsgemäßem Tierfutterzusatz: 70,7% der Tiere waren in der optimalen Klasse 5 kategorisiert, 9,8% in Klasse 2, 17,1% in Klasse 8, kein Tier wurde als Klasse 9 ausgewiesen.

Der Parameter Stoffwechselkontrolle Energieversorgung beschreibt die Energieversorgung des Tieres über den Eiweißgehalt der Milch. Ein Eiweißgehalt von 3,2 % bis 3,8 % wird als normal eingestuft, darüber liegt eine Energieübersorgung, darunter eine Energieunterversorgung vor. Prinzipiell ist ein Energiamangel von einem Abfallen des Milcheiweißgehaltes begleitet.

Stoffwechselkontrolle Energieversorgung ohne erfindungsgemäßen Tierfutterzusatz: Rund 58% der Tiere lagen im Bereich „normal“, bis zu 35% der Tiere im Bereich „Energieüberschreitung“.

Stoffwechselkontrolle Energieversorgung mit erfindungsgemäßem Tierfutterzusatz: Rund 73% der Tiere lagen im Bereich „normal“, lediglich 17% der Tiere im Bereich „Energieüberschreitung“.

Die deutliche Verbesserung dieser Parameter, die die Pansengesundheit und Stoffwechsellaage widerspiegeln, deutet darauf hin, dass der erfindungsgemäße Tierfutter- bzw. Tränkwasserzusatz tatsächlich zu einer Verbesserung der Pansenphysiologie und damit der gesamten Stoffwechselsituation der Tiere führt.

Beispiel 4: Erfindungsgemäßes Tierfutter für Milchkühe

Dieses Beispiel gibt eine Zusammensetzung eines Ausgleichskraftfutters für Milchkühe an.

Rohstoff	Trockenmasse	Anteil in %
Mais	880	10,00
Gerste	870	15,00
Weizen	870	11,50
Sojaschrot	870	10,00
Maiskraftfutter	880	5,00
Rapsschrot	886	15,00
Weizenfuttermehl	882	5,00
Weizenkleie	880	10,00
Trockenschnitte	906	15,00
Futterkalk	980	1,20
Kiefern- oder Ulmenrinde	920	0,30
Mineralstoffmischung	900	2,00
		100,00

Nährstoff	Einheit	Gehalt
Trockensubstanz	%	88,34
Nettoenergie-Laktation (NEL)	MJ	6,59
ME-Wiederkäuer*)	MJ	10,50
Rohprotein	%	17,72
Rohfaser	%	8,14
Calcium	%	0,89
Phosphor	%	0,60
Natrium	%	0,36
Magnesium	%	0,35
Ca:P		=1,49:1
Milch aus Protein	l	2,09
Milch aus NEL	l	2,10

*) Metabolische Energie: Energiebewertungsschema für Wiederkäuer

Beispiel 5: Erfindungsgemäßes Tierfutter für Rindermast

Dieses Beispiel gibt eine Zusammensetzung eines Kraftfutters für Mastrinder an.

Rohstoff	Trockenmasse	Anteil in %
Gerste	870	9,80
Weizen	870	10,00
Sojaschrot	870	19,00
Maiskraftfutter	880	5,00
Rapsschrot	886	20,00
Weizenfuttermehl	882	5,00
Weizenkleie	880	10,00
Trockenschnitte	906	15,00
Futterkalk	980	2,00
Viehsalz	900	0,20
Kiefern- oder Ulmenrinde	920	1,00
Mineralstoffmischung	900	3,00
		100,00

Nährstoff	Einheit	Gehalt
Trockensubstanz	%	88,39
ME-Wiederkäuer*)	MJ	10,29
Rohprotein	%	22,01
Rohfaser	%	8,90
Calcium	%	1,74
Phosphor	%	0,76
Calcium : Phosphor		= 2,29:1
Natrium	%	0,31
Magnesium	%	0,44
Vitamin D	IE	3900
Vitamin E	mg	19
Vitamin B1	mg	1,56
ME-W*) /kg Trockenmasse	MJ	11,65
% Rohfaser/kg Trockenmasse		10,07

*) Metabolische Energie: Energiebewertungsschema für Wiederkäuer

Ein solches Futter ist dem Grunde nach auch für kleine Wiederkäuer wie Schafe in der Milch-, Fleisch- und Wollproduktion und Ziegen in der Milch- und Fleischproduktion geeignet.

Patentansprüche

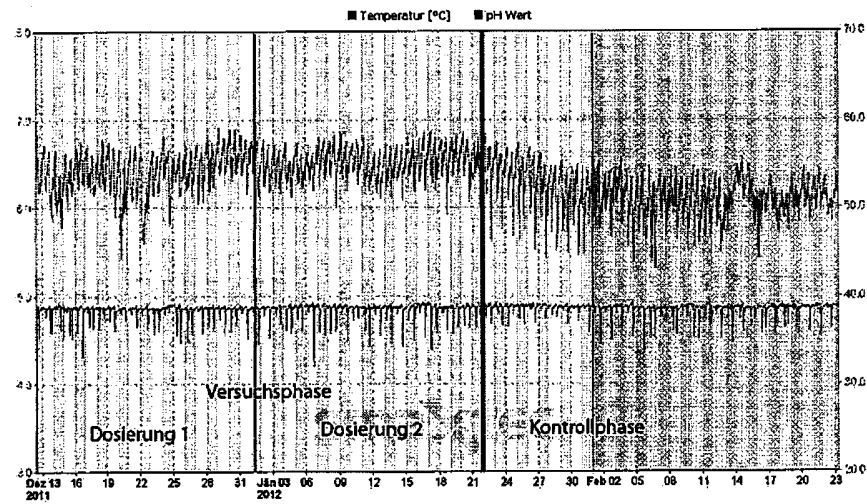
1. Tierfutterzusatz, dadurch gekennzeichnet, dass er oligomere Procyanidine zur Behandlung oder Prophylaxe von akuter oder subakuter Pansenazidose oder aus Pansenazidose resultierenden Zuständen bei einem Wiederkäuer enthält.
2. Tierfutterzusatz nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die oligomeren Procyanidine in Form von vermahlener Kiefern- oder Ulmenrinde oder in Form von Kiefernringen- oder Ulmenringenextrakt oder Mischungen davon enthalten sind.
3. Tierfutter für Wiederkäuer, dadurch gekennzeichnet, dass es einen Tierfutterzusatz nach Anspruch 1 in wirksamer Menge zur Behandlung oder Prophylaxe von Pansenazidose oder aus Pansenazidose resultierenden Zuständen zusammen mit einer oder mehreren Futtermittelkomponenten, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Proteinträgern, Kohlenhydratträgern, Raufutter, Silagen, Fetten, Vitaminen, Mineralstoffen und Spurenelementen, enthält.
4. Tierfutter nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass es 0,01 g bis 250 g vermahlene Kiefern- oder Ulmenrinde pro Kilogramm Futter-Trockensubstanz enthält.
5. Tierfutter nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass es 0,002 g bis 50 g Kiefernringen- oder Ulmenringenextrakt pro Kilogramm Futter-Trockensubstanz enthält.
6. Tierfutter nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass der Tierfutterzusatz nach Anspruch 1 in Form von vermahlener Kiefern- oder Ulmenrinde in einer der Verabreichung von 0,1 bis 500 g vermahlener Kiefer- oder Ulmenrinde pro Tag pro Tier entsprechenden Menge enthalten ist.
7. Tierfutter nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass der Tierfutterzusatz nach Anspruch 1 in Form von Kiefernringen- oder Ulmenringenextrakt in einer der Verabreichung von 0,002 bis 100 g Kiefernringenextrakt oder Ulmenringenextrakt pro Tag pro Tier entsprechenden Menge enthalten ist.

8. Vormischung zur Herstellung eines Tierfutters gemäß Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass sie einen Tierfutterzusatz nach Anspruch 1 oder 2 zusammen mit einer oder mehreren Futtermittelkomponenten, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Proteinträgern, Kohlenhydratträgern, Raufutter, Silagen, Fetten, Vitaminen, Mineralstoffen und Spurenelementen, enthält.
9. Verwendung eines Tierfutterzusatzes nach Anspruch 1 oder einer Vormischung nach Anspruch 8 zur Herstellung eines Tierfutters nach Anspruch 3.
10. Verwendung von vermahlener Kiefern- oder Ulmenrinde oder von Kiefernringen- oder Ulmenringenextrakt oder einer Mischung davon zur Herstellung eines Tierfutters oder eines Tierfutterzusatzes oder einer Tierfuttermischung zur Behandlung oder Prophylaxe von akuter oder subakuter Pansenazidose oder aus Pansenazidose resultierenden Zuständen bei einem Wiederkäuer.
11. Verwendung nach Anspruch 10, wobei der Wiederkäuer 0,1 bis 500 g vermahlene Kiefernrinde oder vermahlene Ulmenrinde pro Tag erhält.
12. Verwendung nach Anspruch 10, wobei der Wiederkäuer 0,002 bis 100 g Kiefernringenextrakt oder Ulmenringenextrakt pro Tag erhält.
13. Verwendung von vermahlener Kiefern- oder Ulmenrinde oder von Kiefernringen- oder Ulmenringenextrakt oder einer Mischung davon zur Herstellung eines Tränkwasserzusatzes zur Behandlung oder Prophylaxe von akuter oder subakuter Pansenazidose oder aus Pansenazidose resultierenden Zuständen bei einem Wiederkäuer.
14. Verwendung nach Anspruch 13, wobei der Tränkwasserzusatz 0,00008 g bis 100 g Kiefernringen- oder Ulmenringenextrakt pro Liter enthält.

Wien, am 20. August 2012

Anmelder(in) vertreten durch:
Patentanwälte
Puchberger, Berger & Partner

(A) Azidosesensibles Tier



(B) Azidoseunempfindliches Tier

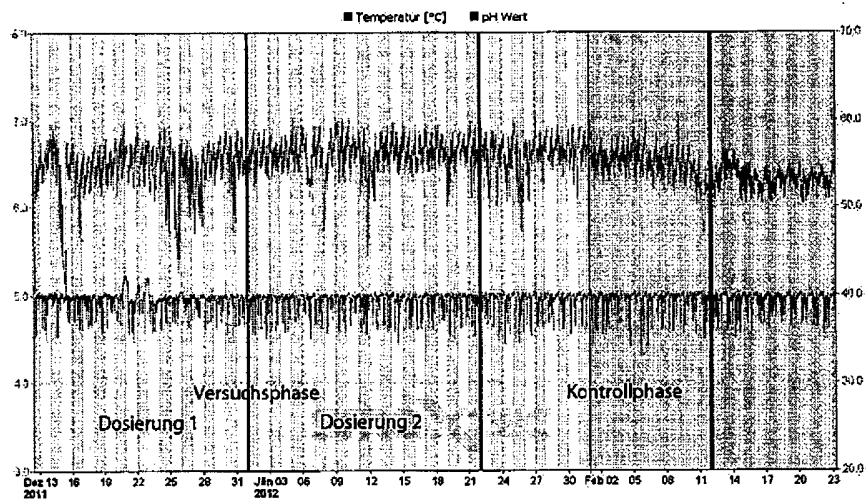


FIG. 1