

資料番号 18

子豚を用いた野外応用試験

目次	頁
総括	1 ~ 3
野外試験Ⅰ	4 ~ 11
野外試験Ⅱ	12 ~ 19
野外試験Ⅲ	20 ~ 27

1. 表題

Bacillus subtilis DB9011 株の子豚における試験の総括

2. 目的

3施設において1群60頭×3反復の試験を実施し、その結果から *Bacillus subtilis* DB9011 株の子豚に対する成長促進の効果を検討する。

3. 方法

Bacillus subtilis DB9011 株の投与の有無を1因子、また試験施設による差を1因子として2元配置による分散分析を行い、平均増体重の増加と平均飼料要求率の改善の効果を判定した。

4. 分散分析の結果

(1) 平均増体重の増加

各試験施設における、*Bacillus subtilis* DB9011 株の投与群および非投与群のそれぞれ3試験区の成績を表1に示した。また、分散分析の結果を表2に示した。

その結果、*Bacillus subtilis* DB9011 株の投与により、 $P<0.05$ の水準で平均増体重の増加作用が認められた。また、試験施設との交互作用は認められなかった。

(2) 平均飼料要求率

各試験施設における、*Bacillus subtilis* DB9011 株の投与群および非投与群のそれぞれ3試験区の成績を表3に示した。また、分散分析の結果を表4に示した。

その結果、*Bacillus subtilis* DB9011 株の投与により、 $P<0.05$ の水準で平均飼料要求率の改善作用が認められた。また、試験施設との交互作用は認められなかった。

5. まとめ

Bacillus subtilis DB9011 株の子豚への投与により、平均増体重の増加および平均飼料要求率の改善が確認された。これらの作用は試験施設の相違に影響を受けなかった。

以上のことから、子豚の成長促進において *Bacillus subtilis* DB9011 株の生菌剤としての効果が確認された。

表1 平均増体重に関する試験成績

施設名	非投与群			投与群		
	1区	2区	3区	1区	2区	3区
S	18.1	18.3	18.1	20.4	19.0	19.3
I	19.3	20.4	19.6	22.0	21.7	23.1
N	16.8	15.9	17.2	17.8	17.7	18.7

表2 分散分析表 (平均増体重)

因子	自由度	S	MS	F	P
DB9011 株	1	14.58	14.58	42.27	< 0.05
試験施設	2	41.51	20.76	31.37	< 0.01
交互作用	2	1.32	0.66	1.92	
群間誤差	12	4.14	0.34		

表 3 平均飼料要求率に関する試験成績

施設名	非投与群			投与群		
	1区	2区	3区	1区	2区	3区
S	1.74	1.70	1.76	1.64	1.66	1.63
I	1.78	1.80	1.83	1.69	1.69	1.63
N	1.78	1.79	1.78	1.70	1.68	1.69

表 4 分散分析表 (平均飼料要求率)

因子	自由度	SS	MS	F	P
DB9011 株	1	0.05	0.05	95.99	< 0.05
試験施設	2	0.01	0.00	5.39	< 0.05
交互作用	2	0.00	0.00	1.66	
群間誤差	12	0.01	0.00		

1. 表題

Bacillus subtilis DB9011 株の子豚における野外試験 I

2. 目的

本試験は、野外における *Bacillus subtilis* DB9011 株の子豚に対する成長促進の作用を確認し、野外における *Bacillus subtilis* DB9011 株の生菌剤としての有効性を検討する。

3. 試験実施機関



4. 試験責任者



5. 試験実施者



6. 試験実施場所



7. 試験期間

平成 5 年 10 月～平成 6 年 1 月

試験材料および方法

1. 供試添加物と飼料への添加

生菌製剤 *Bacillus subtilis* DB9011 (1g中に *Bacillus subtilis* DB9011 株の耐熱胞子を 10^8 個含有する乳糖製剤 : Lot No. 3001-930805-02P-L) を飼料に 0.5% 添加した。

2. 供試動物

試験委託農場 S にて育成された、生後 21 日令 (離乳日) の同一品種 (LWD) で同一分娩された豚 120 頭 [1 群 60 頭 (20 頭×3 反復)]。

3. 供試飼料

2 種類の指定配合飼料を使用し、原則として 21~41 日令は人工乳 A (CS2001 ヤマコ飼料株式会社製) また 41~61 日令は人工乳 B (CS2002 ヤマコ飼料株式会社製) を給与した。

* 抗生物質の使用 : 対照群および試験群にテトラサイクリン 200ppm、21 日令より 7 日間および 41 日令より 7 日間、肺炎予防の目的で、管理獣医師の指示により飼料に添加した。

4. 投与期間

21~61 日令までの 40 日間。

5. 飼養条件

高床式一般育成舎にて、不断給餌方式で育成した。

生後 40~45 日に、豚コレラおよび豚丹毒のワクチンを接種した。

6. 試験区の設定

供試薬剤	投与方法	投与期間	供試豚
対照群 (乳糖 0.5% 添加)	飼料添加	離乳-肉豚舎導入	20 頭×3 ケージ
試験群 (生菌製剤 0.5% 添加)	飼料添加	離乳-肉豚舎導入	20 頭×3 ケージ

試験成績

1. 平均増体重および平均飼料要求率

各群の平均増体重および平均飼料要求率を表 1 に示した。

試験期間内の平均増体重については、試験群が対照群に比べ、1~41 日令では $P < 0.01$ の水準で有意に大きかったが、42~61 日令では逆に小さくなる傾向を示し、期間全体では、大きくなる傾向を示すに留まった。

平均飼料供給量に関しては、両群で有意な差が見られなかったが、平均飼料要求率については試験群が対照群に比べ $P < 0.05$ の水準で、有意に小さかった。

2. 死亡淘汰数

試験期間中の死亡淘汰数を表 2 に示した。

試験期間中に対照群にも試験群にも死亡淘汰例は見られなかった。

3. 一般症状

一般症状の観察結果を表 3、4 に示した。

糞便の状態については試験群で計 3 例、対照群で計 6 例の軟便が見られたが、下痢発生はなかった。

一般健康状態については、試験群にて 2 例、対照群で計 1 例の「元気無」が見られたが、その他は特に異常は認められなかった。

ま と め

Bacillus subtilis DB9011 株を離乳時の子豚に 40 日間投与してその増体重および飼料要求率に及ぼす効果を検討した。

その結果、投与群では非投与群に比べ、平均増体重の増加傾向が見られた。また投与により飼料要求率は、 $P < 0.05$ の水準で有意な改善効果が認められた。

また、*Bacillus subtilis* DB9011 株の投与による、糞便の状態および一般健康状態に対する悪影響は特にないものと思われた。

表1 平均増体重と平均飼料要求率

	区名	平均体重 (kg/頭)			平均増体重 (kg/頭)			平均飼料 給与量 (kg/頭)	菌の平均 投与量 (個/頭)	平均飼料 要求率
		21日令	41日令	61日令	21-41	42-61	合計			
対照群	1区	6.44	14.4	24.5	8.0	10.1	18.1	31.5	—	1.74
	2区	6.05	13.7	24.3	7.7	10.6	18.3	31.1	—	1.70
	3区	6.33	14.3	24.4	8.0	10.1	18.1	31.3	—	1.76
	平均 値	6.27 ± 0.20	14.1 ± 0.4	24.4 ± 0.1	7.9 ± 0.2	10.3 ± 0.3	18.2 ± 0.1	31.3 ± 0.7	—	1.73 ± 0.03
試験群	1区	6.48	17.1	26.9	10.6	9.8	20.4	33.4	1.8×10 ¹⁰	1.64
	2区	6.34	16.8	25.3	10.5	8.5	19.0	31.6	1.7×10 ¹⁰	1.66
	3区	6.15	15.4	25.4	9.3	10.0	19.3	31.5	1.7×10 ¹⁰	1.63
	平均 値	6.32 ± 0.17	16.4 ± 0.9*	25.9 ± 0.9	10.1 ± 0.7**	9.9 ± 0.8	19.6 ± 0.7	32.2 ± 1.1	—	1.64 ± 0.02*

* : P<0.05 , ** : P<0.01

表 2 死亡淘汰

	区名	期間内死亡淘汰数 (日)		
		21-41	42-61	21-61
対照群	1 区	0/20	0/20	0/20
	2 区	0/20	0/20	0/20
	3 区	0/20	0/20	0/20
	合計	0/60	0/60	0/60
試験群	1 区	0/20	0/20	0/20
	2 区	0/20	0/20	0/20
	3 区	0/20	0/20	0/20
	合計	0/60	0/60	0/60

表3 糞便の状態

	区名	試験期間 (日)					
		21-41			42-61		
		普通	軟便	下痢	普通	軟便	下痢
対照群	1区	18/20	2/20	0/20	20/20	0/20	0/20
	2区	18/20	2/20	0/20	20/20	0/20	0/20
	3区	19/20	1/20	0/20	19/20	1/20	0/20
	合計	55/60	5/60	0/60	59/60	1/60	0/60
試験群	1区	20/20	0/20	0/20	20/20	0/20	0/20
	2区	20/20	0/20	0/20	20/20	0/20	0/20
	3区	19/20	1/20	0/20	18/20	2/20	0/20
	合計	59/60	1/60	0/60	58/60	2/60	0/60

表 4 一般健康状態

試験期間 (日)		区名		対照群			試験群		
42-61		21-41	良好	1区	20/20	0/20	1区	20/20	0/20
			元氣無	2区	19/20	1/20	2区	20/20	0/20
21-41		21-41	良好	3区	20/20	0/20	1区	20/20	0/20
			元氣無	合計	59/60	1/60	合計	59/60	1/60
42-61		21-41	良好	1区	20/20	0/20	1区	20/20	0/20
			元氣無	2区	20/20	0/20	2区	20/20	0/20
42-61		21-41	良好	3区	19/20	1/20	3区	19/20	1/20
			元氣無	合計	59/60	1/60	合計	59/60	1/60

1. 表題

Bacillus subtilis DB9011 株の子豚における野外試験Ⅱ

2. 目的

本試験は、野外における *Bacillus subtilis* DB9011 株の子豚に対する成長促進の作用を確認し、野外における *Bacillus subtilis* DB9011 株の生菌剤としての有効性を検討する。

3. 試験実施機関



4. 試験責任者



5. 試験実施者



6. 試験実施場所



7. 試験期間

平成5年10月～平成6年1月

試験材料および方法

1. 供試添加物と飼料への添加

生菌製剤 *Bacillus subtilis* DB9011 (1g中に *Bacillus subtilis* DB9011 株の耐熱孢子を 10^8 個含有する乳糖製剤: Lot No. 3001-930805-02P-L) を飼料に 0.5% 添加した。

2. 供試動物

試験委託農場 I にて育成された、生後 21 日令 (離乳日) の同一品種 (LWD) で同一分娩された豚 120 頭 [1 群 60 頭 (20 頭×3 反復)]。

3. 供試飼料

2 種類の指定配合飼料を使用し、原則として 21~41 日令は人工乳 A (CS2001 ヤマコ飼料株式会社製) また 41~61 日令は人工乳 B (CS2002 ヤマコ飼料株式会社製) を給与した。

* 抗生物質の使用: 対照群および試験群にテトラサイクリン 200ppm、21 日令より 7 日間および 41 日令より 7 日間、肺炎予防の目的で、管理獣医師の指示により飼料に添加した。

4. 投与期間

21~61 日令までの 40 日間。

5. 飼養条件

高床式一般育成舎にて、不断給餌方式で育成した。

生後 40~45 日に、豚コレラおよび豚丹毒のワクチンを接種した。

6. 試験区の設定

供試薬剤	投与方法	投与期間	供試豚
対照群 (乳糖 0.5% 添加)	飼料添加	離乳-肉豚舎導入	20 頭×3 ケージ
試験群 (生菌製剤 0.5% 添加)	飼料添加	離乳-肉豚舎導入	20 頭×3 ケージ

7. 観察および検査項目

(1) 体重測定

各個体について、離乳日（生後 21 日）、生後 41 日目、生後 61 日目（試験終了時）に実施した。

(2) 飼料給与量

各ケージ毎に飼料の投入量を記録し、試験終了時に飼槽中の残存量を記録した。
飼料給与量は、全投入量から残存量を差し引いた値とした。

(3) 死亡淘汰数

死亡淘汰数については、毎日記録した。

(4) 一般症状

糞便の状態と一般健康状態を毎日観察・記録した。

ア)糞便の状態 (普通・軟便・下痢)

イ)一般健康状態 (良好・元気無)

なお一般健康状態は、次の基準により判定した。

良好 : 人に興味を示し、動作が機敏である。

元気無 : 人に興味を示さず、豚房内の隅の方にいる。

(試験日程)

経過日数	0	4	8	12	16	20	24	28	32	36	40
体重測定	○					○					○
飼料投入量	←————— 投入時に記録 —————→										
飼料残存量											○
死亡淘汰数	←—————→										
一般症状	←—————→										

8. 統計処理

対照群と試験群の平均増体重量と平均飼料要求率について、Student の t 検定或いは Cochran-Cox の検定により統計学的解析を行った。

試験成績

1. 平均増体重および平均飼料要求率

各群の平均増体重および平均飼料要求率を表 1 に示した。

平均増体重については、試験期間全体で試験群が対照群に比べ、 $P < 0.01$ の水準で有意に大きかった。

平均飼料供給量については両群で大きな相違が見られなかったが、平均飼料要求率は試験群が対照群に比べ、 $P < 0.01$ の水準で小さかった。

2. 死亡淘汰数

試験期間中の死亡淘汰数を表 2 に示した。

試験期間中に対照群にも試験群にも死亡淘汰例は見られなかった。

3. 一般症状

一般症状の観察結果を表 3、4 に示した。

糞便の状態については対照群で計 7 例の軟便が見られたが試験群には見られなかった。また、下痢については両群で発生が見られなかった。

一般健康状態については、対照群で計 5 例の「元気無」が見られたが試験群には見られなかった。

ま と め

Bacillus subtilis DB9011 株を離乳時の子豚に 40 日間投与してその増体重および飼料要求率に及ぼす効果を検討した。

その結果、 $P < 0.05$ の水準で有意な増体重の増加効果および飼料要求率の改善効果がみられた。

また、*Bacillus subtilis* DB9011 株の投与により、糞便の状態および一般健康状態に対する悪影響は見られなかった。

表1 平均増体重と平均飼料要求率

	区名	平均体重 (kg/頭)			平均増体重 (kg/頭)			平均飼料 給与量 (kg/頭)	菌の平均 投与量 (個/頭)	平均飼料 要求率
		21日令	41日令	61日令	21-41	42-61	合計			
対照群	1区	6.45	16.8	25.7	10.4	8.9	19.3	34.5	—	1.78
	2区	6.12	16.5	26.5	10.4	10.0	20.4	36.7	—	1.80
	3区	6.04	18.9	25.6	12.9	6.7	19.6	36.0	—	1.83
	平均 値	6.20 ± 0.22	17.4 ± 1.3	25.9 ± 0.5	11.2 ± 1.4	8.5 ± 1.7	19.8 ± 0.6	35.7 ± 1.1	—	1.80 ± 0.03
試験群	1区	6.47	18.1	28.5	11.6	10.4	22.0	37.4	2.1×10 ¹⁰	1.69
	2区	6.00	18.0	27.9	12.0	9.9	21.9	36.9	2.0×10 ¹⁰	1.69
	3区	6.76	22.3	29.9	15.5	7.6	23.1	37.6	2.1×10 ¹⁰	1.63
	平均 値	6.41 ± 0.38	19.5 ± 2.5	28.8 ± 1.0*	13.0 ± 2.2	9.3 ± 1.5	22.3 ± 0.7**	37.3 ± 0.4	—	1.67 ± 0.03**

* : P<0.05 , ** : P<0.01

表 2 死亡淘汰

	区名	期間内死亡淘汰数 (日)		
		21-41	42-61	21-61
対照群	1 区	0/20	0/20	0/20
	2 区	0/20	0/20	0/20
	3 区	0/20	0/20	0/20
	合計	0/60	0/60	0/60
試験群	1 区	0/20	0/20	0/20
	2 区	0/20	0/20	0/20
	3 区	0/20	0/20	0/20
	合計	0/60	0/60	0/60

表 3 糞便の状態

区名	試験期間 (日)					
	21-41			42-61		
	普通	軟便	下痢	普通	軟便	下痢
対照群	1区	20/20	0/20	0/20	0/20	0/20
	2区	16/20	4/20	0/20	3/20	0/20
	3区	20/20	0/20	0/20	0/20	0/20
	合計	56/60	4/60	0/60	57/60	3/60
試験群	1区	20/20	0/20	0/20	0/20	0/20
	2区	20/20	0/20	0/20	20/20	0/20
	3区	20/20	0/20	0/20	20/20	0/20
	合計	60/60	0/60	0/60	60/60	0/60

表 4 一般健康状態

	区名	試験期間 (日)			
		21-41		42-61	
		良好	元気無	良好	元気無
対照群	1区	20/20	0/20	20/20	0/20
	2区	18/20	2/20	20/20	0/20
	3区	20/20	0/20	17/20	3/20
	合計	58/60	2/60	57/60	3/60
試験群	1区	20/20	0/20	20/20	0/20
	2区	20/20	0/20	20/20	0/20
	3区	20/20	0/20	20/20	0/20
	合計	60/60	0/60	60/60	0/60

1. 表題

Bacillus subtilis DB9011 株の子豚における野外試験Ⅲ

2. 目的

本試験は、野外における *Bacillus subtilis* DB9011 株の子豚に対する成長促進の作用を確認し、野外における *Bacillus subtilis* DB9011 株の生菌剤としての有効性を検討する。

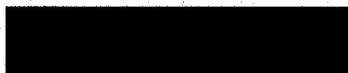
3. 試験実施機関



4. 試験責任者



5. 試験実施者



6. 試験実施場所



7. 試験期間

平成5年10月～平成6年1月

試験材料および方法

1. 供試添加物と飼料への添加

生菌製剤 *Bacillus subtilis* DB9011 (1g中に *Bacillus subtilis* DB9011 株の耐熱胞子を 10^8 個含有する乳糖製剤: Lot No. 3001-930805-02P-L) を飼料に 0.5% 添加した。

2. 供試動物

試験委託農場 N にて育成された、生後 21 日令 (離乳日) の同一品種 (LWD) で同一分娩された豚 120 頭 [1 群 60 頭 (20 頭×3 反復)]。

3. 供試飼料

2 種類の指定配合飼料を使用し、原則として 21~41 日令は人工乳 A (ウイナー 日本配合飼料株式会社製) また 41~61 日令は人工乳 B (ネオウイナー B 日本配合飼料株式会社製) を給与した。

*抗生物質の使用: 対照群および試験群にテトラサイクリン 200ppm、21 日令より 7 日間および 41 日令より 7 日間、肺炎予防の目的で、管理獣医師の指示により飼料に添加した。

4. 投与期間および投与方法

21~61 日令までの 40 日間。

5. 飼養条件

高床式一般育成舎にて、不断給餌方式で育成した。

生後 40~45 日に、豚コレラおよび豚丹毒のワクチンを接種した。

6. 試験区の設定

供試薬剤	投与方法	投与期間	供試豚
対照群 (乳糖 0.5% 添加)	飼料添加	離乳-肉豚舎導入	20 頭×3 ケージ
試験群 (生菌製剤 0.5% 添加)	飼料添加	離乳-肉豚舎導入	20 頭×3 ケージ

7. 観察および検査項目

(1) 体重測定

各個体について、離乳日（生後 21 日）、生後 41 日目、生後 61 日目（試験終了時）に実施した。

(2) 飼料給与量

各ケージ毎に飼料の投入量を記録し、試験終了時に飼槽中の残存量を記録した。
飼料給与量は、全投入量から残存量を差し引いた値とした。

(3) 死亡淘汰数

死亡淘汰数については、毎日記録した。

(4) 一般症状

糞便の状態と一般健康状態を毎日観察・記録した。

ア)糞便の状態 (普通・軟便・下痢)

イ)一般健康状態 (良好・元気無)

なお一般健康状態は、次の基準により判定した。

良好 : 人に興味を示し、動作が機敏である。

元気無 : 人に興味を示さず、豚房内の隅の方にいる。

(試験日程)

経過日数	0	4	8	12	16	20	24	28	32	36	40	
体重測定	○					○					○	
飼料投入量	←	————— 投入時に記録 —————										→
飼料残存量											○	
死亡淘汰数	←	—————										→
一般症状	←	—————										→

8. 統計処理

対照群と試験群の平均増体重量と平均飼料要求率について、Student の t-検定或いは Cochran-Cox の検定により統計学的解析を行った。

試験成績

1. 平均増体重および平均飼料要求率

各群の平均増体重および平均飼料要求率を表 1 に示した。

試験期間全体での平均増体重については、試験群が対照群に比べ $P < 0.05$ の水準で有意に大きかった。

平均飼料供給量は両群で大きな差は認められなかったが、平均飼料要求率については、試験群が対照群に比べ $P < 0.001$ の水準で有意に小さかった。

2. 死亡淘汰数

試験期間中の死亡淘汰数を表 2 に示した。

試験期間中に対照群にも試験群にも死亡淘汰例は見られなかった。

3. 一般症状

一般症状の観察結果を表 3、4 に示した。

糞便の状態については試験群で計 3 例、対照群で計 5 例の軟便が見られたが、下痢については発生が認められなかった。

一般健康状態については、試験群で計 2 例、対照群で計 2 例の「元気無」が見られたが、その他は特に異常は認められなかった。

ま と め

Bacillus subtilis DB9011 株を離乳時の子豚に 40 日間投与してその増体重および飼料要求率に及ぼす効果を検討した。

その結果非投与群に比べ、平均増体重については $P < 0.05$ の水準で有意な増加効果が見られ、また平均飼料要求率については、 $P < 0.001$ の水準で著しい改善効果が認められた。

また、*Bacillus subtilis* DB9011 株の投与による糞便の状態および一般健康状態に対する悪影響はないものと思われた。

表 1 平均増体重と平均飼料要求率

	区名	平均体重 (kg/頭)			平均増体重 (kg/頭)			平均飼料 給与量 (kg/頭)	菌の平均 投与量 (個/頭)	平均飼料 要求率
		21日令	41日令	61日令	21-41	42-61	合計			
対照群	1区	6.22	13.8	23.0	7.6	9.2	16.8	29.8	—	1.78
	2区	6.43	13.7	22.3	7.3	8.6	15.9	28.5	—	1.79
	3区	6.29	14.2	23.5	7.9	9.3	17.2	30.6	—	1.78
	平均 値	6.31 ± 0.11	13.9 ± 0.3	22.9 ± 0.6	7.6 ± 0.3	9.0 ± 0.4	16.6 ± 0.7	29.6 ± 1.1	—	1.78 ± 0.01
試験群	1区	6.38	14.2	24.2	7.8	10.0	17.8	30.2	1.6×10 ¹⁰	1.70
	2区	6.44	14.2	24.1	7.8	9.9	17.7	29.9	1.6×10 ¹⁰	1.68
	3区	6.46	15.2	25.2	8.8	10.0	18.7	31.7	1.7×10 ¹⁰	1.69
	平均 値	6.43 ± 0.04	14.5 ± 0.6	24.5 ± 0.6*	8.1 ± 0.6	10.0 ± 0.1	18.1 ± 0.6*	30.6 ± 1.0	—	1.69 ± 0.01***

* : P<0.05 , *** : P<0.001

表2 死亡淘汰

	区名	期間内死亡淘汰数 (日)		
		21-41	42-61	21-61
対照群	1区	0/20	0/20	0/20
	2区	0/20	0/20	0/20
	3区	0/20	0/20	0/20
	合計	0/60	0/60	0/60
試験群	1区	0/20	0/20	0/20
	2区	0/20	0/20	0/20
	3区	0/20	0/20	0/20
	合計	0/60	0/60	0/60

表 3 糞便の状態

	区名	試験期間 (日)					
		21-41			42-61		
		普通	軟便	下痢	普通	軟便	下痢
対照群	1区	18/20	2/20	0/20	20/20	0/20	0/20
	2区	19/20	1/20	0/20	20/20	0/20	0/20
	3区	19/20	1/20	0/20	19/20	1/20	0/20
	合計	56/60	4/60	0/60	59/60	1/60	0/60
試験群	1区	19/20	1/20	0/20	20/20	0/20	0/20
	2区	18/20	2/20	0/20	20/20	0/20	0/20
	3区	20/20	0/20	0/20	20/20	0/20	0/20
	合計	57/60	3/60	0/60	60/60	0/60	0/60

表 4 一般健康状態

	区名	試験期間 (日)			
		21-41		42-61	
		良好	元氣無	良好	元氣無
対照群	1 区	20/20	0/20	20/20	0/20
	2 区	19/20	1/20	20/20	0/20
	3 区	19/20	1/20	20/20	0/20
	合計	58/60	2/60	60/60	0/60
試験群	1 区	19/20	1/20	20/20	0/20
	2 区	19/20	1/20	20/20	0/20
	3 区	20/20	0/20	20/20	0/20
	合計	58/60	2/60	60/60	0/60

Attachment L/ Translation

Material No. 18

Field Study Using Weaned Pigs

Contents

Summary 1 – 3

Field study I 4 – 11

Field study II 12 – 19

Field study III 20 – 27

1. Title

Summary of Study of *Bacillus subtilis* DB9011 in Weaned Pigs

2. Study objectives

The effect of *Bacillus subtilis* DB9011 on the growth enhancement using 60 weaned pigs per group at 3 testing facilities.

3. Study methods

Two-way analysis of variance was conducted for 2 factors (administration of *Bacillus subtilis* DB9011 and differences in testing facilities) in order to determine the effect of DB9011 on mean body weight gain and mean feed conversion rate.

4. Analysis of variance results

(1) Mean body weight gain

Table 1 indicates results from 3 sheds each for the test substance (*Bacillus subtilis* DB9011) and control groups at each testing facility. Table 2 indicates analysis of variance results.

Administration of *Bacillus subtilis* DB9011 increased mean body weight gain with a significance level of less than 0.05. There were no interactions with the testing facilities.

(2) Mean feed conversion rate

Table 3 indicates results from 3 sheds each for the test substance (*Bacillus subtilis* DB9011) and control groups at each testing facility. Table 4 indicates analysis of variance results.

Administration of *Bacillus subtilis* DB9011 improved mean feed conversion rate with a significance level of less than 0.05. There were no interactions with the testing facilities.

5. Conclusion

Administration of *Bacillus subtilis* DB9011 significantly increased mean body weight gain and improved mean feed conversion rate in weaned pigs. These findings were not affected by differences in testing facilities.

These results demonstrate that the probiotic *Bacillus subtilis* DB9011 has a growth promotion effect in weaned pigs.

Table 1 Study results for mean body weight gain

Testing facilities	Non-treatment group			Treatment group		
	Shed 1	Shed 2	Shed 3	Shed 1	Shed 2	Shed 3
S	18.1	18.3	18.1	20.4	19.0	19.3
I	19.3	20.4	19.6	22.0	21.7	23.1
N	16.8	15.9	17.2	17.8	17.7	18.7

Table 2 Analysis of variance results (mean body weight gain)

Factors	Degree of freedom	S	MS	F	P
DB9011 strain	1	14.58	14.58	42.27	<0.05
Testing facility	2	41.51	20.76	31.37	<0.01
Interactions	2	1.32	0.66	1.92	
Error between groups	12	4.14	0.34		

Table 3 Study results for mean feed conversion rate

Testing facilities	Non-treatment group			Treatment group		
	Shed 1	Shed 2	Shed 3	Shed 1	Shed 2	Shed 3
S	1.74	1.70	1.76	1.64	1.66	1.63
I	1.78	1.80	1.83	1.69	1.69	1.63
N	1.78	1.79	1.78	1.70	1.68	1.69

Table 4 Analysis of variance results (feed conversion rate)

Factors	Degree of freedom	SS	MS	F	P
DB9011 strain	1	0.05	0.05	95.99	<0.05
Testing facility	2	0.01	0.00	5.39	<0.05
Interactions	2	0.00	0.00	1.66	
Error between groups	12	0.01	0.00		

1. Study title

Field Study of *Bacillus subtilis* DB9011 in Weaned Pigs I

2. Study objectives

To confirm the growth promotion effect of *Bacillus subtilis* DB9011 in weaned pigs and to investigate efficacy of this probiotic in the field

3. Testing facilities

[REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]

4. Study director

[REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]

5. Staff members engaged in study

[REDACTED]

6. Location of field study

[REDACTED]
[REDACTED]

7. Study period

October, 1993 to January, 1994

Study materials and methods

1. Test substance and addition to feed

The probiotic *Bacillus subtilis* DB9011 (a lactose formulation containing *Bacillus subtilis* DB9011-Spore at 10^8 cfu per gram; lot No.: 3001-930805-02P-L) was added to feed to make a concentration of 0.5%.

2. Test animals

A total of 120 LWD piglets (postnatal day 21, 60 animals per group, 20 animals per shed) delivered in the same way reared at Ranch S, under contract with [REDACTED] were used.

3. Feed

Two types of formula feed, designated by [REDACTED], were used. As a rule, artificial milk A (CS2001, Yamako Feed Mill Co., Ltd.) and artificial milk B (CS2002, Yamako Feed Mill Co., Ltd.) were provided to weaned pigs aged 21 to 41 days or 41 to 61 days, respectively.

* Use of antibiotics

To animals in the control and test substance groups, tetracycline was administered by feed admixture at 200 ppm for 7 days from 21 days old and for an additional 7 days from 41 days old for prevention of pneumonia, following instructions from veterinarians.

4. Administration period

For 40 days from 21 to 61 days old.

5. Rearing condition

Weaned pigs were reared in normal pig sheds with a raised floor and provided feed *ad libitum*. Vaccination against swine cholera and erysipelas were conducted at 40 to 45 days old.

6. Composition of study groups

Dosage	Administration method	Administration period	Test pigs
Control (0.5% lactose)	Admixed with feed	From weaning until transfer to mature pig shed	20 animals × 3 sheds
DB9011 (0.5% probiotic)	Admixed with feed	From weaning until transfer to mature pig shed	20 animals × 3 sheds

7. Observation and examination items

(1) Measurement of body weight

Body weight was measured on the weaning day (postnatal day 21), then postnatal days 41 and 61 (at completion of the study).

(2) Food consumption

Amount of feed provided was recorded for each shed and amount of feed remaining was recorded at completion of the study.

Food consumption was estimated by subtracting the amount of feed remaining from total amount of feed provided.

(3) Animal deaths

Checking for animal deaths was conducted every day.

(4) Clinical condition

Fecal condition and general health condition were observed and recorded everyday.

a) Fecal condition (normal, soft stool, diarrhea)

b) General health condition (good, lethargy)

General health condition was determined according to the following criteria:

Good: When showing interest in people and moving agilely.

Lethargy: When showing no interest in people and staying in the corner of the shed.

Study schedule

Day of study	0	4	8	12	16	20	24	28	32	36	40
Measurement of body weight	○					○					○
Measurement of feed provided	Recorded at time of supply										
Measurement of feed remaining											○
No. of animal deaths	_____										
Clinical condition	_____										

8. Statistical analysis

Student's *t*-test or Cochran-Cox test was conducted for statistical analysis of mean body weight gain and mean feed conversion rate between the control and test substance groups.

Study results

1. Mean body weight gain and mean feed conversion rate

Table 1 indicates mean body weight gain and mean feed conversion rate for each group.

There was a significant increase in mean body weight gain in the test substance group compared to the control group, for animals aged 1 to 41 days, with a significance level of less than 0.01. However, animals aged 42 to 61 days showed an opposite trend, thus overall mean body weight gain during the study period merely showed a tendency towards increase.

There were no significant differences in amount of feed provided between the 2 groups, although feed conversion rate was significantly lower in the test substance group, with a significance level of less than 0.05.

2. Animal deaths

Table 2 indicates number of animal deaths during the study period.

There were no animal deaths in the control or test substance group during the study period.

3. Clinical condition

Tables 3 and 4 indicate observation results for clinical condition.

Soft stools were observed in 3 and 6 animals in the test substance group and control group, respectively, while diarrhea did not occur.

Two animals in the test substance group and 1 animal in the control group were lethargic, although there were no other abnormal findings for general health condition of these animals.

Conclusion

Bacillus subtilis DB9011 was administered for 40 days in weaned pigs and effect on body weight gain and feed conversion rate was investigated.

Body weight gain tended to increase and feed conversion rate significantly improved, with a significance level of less than 0.05.

Administration of *Bacillus subtilis* DB9011 appears to have no negative effect on fecal and general health condition.

Table 1. Mean body weight gain and mean feed conversion rate

	Shed No.	Mean body weight (kg/animal)			Mean body weight gain (kg/animal)			Mean amount of feed provided (kg/animal)	Mean dose of bacteria (cfu per animal)	Mean feed conversion rate
		21 days	41 days	61 days	21 - 41	42 - 61	Total			
Control group	1	6.44	14.4	24.5	8.0	10.1	18.1	31.5	—	1.74
	2	6.05	13.7	24.3	7.7	10.6	18.3	31.1	—	1.70
	3	6.33	14.3	24.4	8.0	10.1	18.1	31.3	—	1.76
	Mean	6.27 ± 0.20	14.1 ± 0.4	24.4 ± 0.1	7.9 ± 0.2	10.3 ± 0.3	18.2 ± 0.1	31.3 ± 0.7	—	1.73 ± 0.03
DB9011 group	1	6.48	17.1	26.9	10.6	9.8	20.4	33.4	1.8X10 ¹⁰	1.64
	2	6.34	16.8	25.3	10.5	8.5	19.0	31.6	1.7X10 ¹⁰	1.65
	3	6.15	15.4	25.4	9.3	10.0	19.3	31.5	1.7X10 ¹⁰	1.63
	Mean	6.32 ± 0.17	16.4 ± 0.9*	25.9 ± 0.9	10.1 ± 0.7**	9.9 ± 0.8	19.6 ± 0.7	32.2 ± 1.1	—	1.64 ± 0.02*

* P < 0.05 ** P < 0.01

Table 2 Animal deaths

	Shed No.	Incidence of animal deaths during the study period (day)		
		21 - 41	42 - 61	21 - 61
Control group	1	0/20	0/20	0/20
	2	0/20	0/20	0/20
	3	0/20	0/20	0/20
	Total	0/60	0/60	0/60
DB9011 group	1	0/20	0/20	0/20
	2	0/20	0/20	0/20
	3	0/20	0/20	0/20
	Total	0/60	0/60	0/60

Table 3 Fecal condition

	Shed No.	Study day (day)					
		21 - 41			42 - 61		
		Normal	Soft stool	Diarrhea	Normal	Soft stool	Diarrhea
Control group	1	18/20	2/20	0/20	20/20	0/20	0/20
	2	18/20	2/20	0/20	20/20	0/20	0/20
	3	19/20	1/20	0/20	19/20	1/20	0/20
	Total	55/60	5/60	0/60	59/60	1/60	0/60
DB9011 group	1	20/20	0/20	0/20	20/20	0/20	0/20
	2	20/20	0/20	0/20	20/20	0/20	0/20
	3	19/20	1/20	0/20	18/20	2/20	0/20
	Total	59/60	1/60	0/60	58/60	2/60	0/60

Table 4 General health condition

	Shed No.	Study day (day)			
		21 - 41		42 - 61	
		Good	Lethargy	Good	Lethargy
Control group	1	20/20	0/20	20/20	0/20
	2	19/20	1/20	20/20	0/20
	3	20/20	0/20	20/20	0/20
	Total	59/60	1/60	60/60	0/60
DB9011 group	1	20/20	0/20	20/20	0/20
	2	20/20	0/20	20/20	0/20
	3	19/20	1/20	19/20	1/20
	Total	59/60	1/60	59/60	1/60

1. Study title

Field Study of *Bacillus subtilis* DB9011 in Weaned Pigs II

2. Study objectives

To confirm the growth promotion effect of *Bacillus subtilis* DB9011 in weaned pigs and to investigate efficacy of this probiotic in the field

3. Testing facilities

[REDACTED]

4. Study director

[REDACTED]

5. Staff members engaged in study

[REDACTED]

6. Location of field study

[REDACTED]

7. Study period

October, 1993 to January, 1994

Study materials and methods

1. Test substance and addition to feed

The probiotic *Bacillus subtilis* DB9011 (a lactose formulation containing *Bacillus subtilis* DB9011-Spore at 10^8 cfu per gram; lot No.: 3001-930805-02P-L) was added to feed to make a concentration of 0.5%.

2. Test animals

A total of 120 LWD piglets (postnatal day 21, 60 animals per group, 20 animals per shed) delivered in the same way reared at Ranch I, under contract with [REDACTED] were used.

3. Feed

Two types of formula feed, designated by [REDACTED], were used. As a rule, artificial milk A (CS2001, Yamako Feed Mill Co., Ltd.) and artificial milk B (CS2002, Yamako Feed Mill Co., Ltd.) were provided to weaned pigs aged 21 to 41 days or 41 to 61 days, respectively.

* Use of antibiotics

To animals in the control and test substance groups, tetracycline was administered by feed admixture at 200 ppm for 7 days from 21 days old and for an additional 7 days from 41 days old for prevention of pneumonia, following instructions from veterinarians.

4. Administration period

For 40 days from 21 to 61 days old.

5. Rearing condition

Weaned pigs were reared in normal pig sheds with a raised floor and provided feed *ad libitum*. Vaccination against swine cholera and erysipelas were conducted at 40 to 45 days old.

6. Composition of study groups

Dosage	Administration method	Administration period	Test pigs
Control (0.5% lactose)	Admixed with feed	From weaning until transfer to mature pig shed	20 animals × 3 sheds
DB9011 (0.5% probiotic)	Admixed with feed	From weaning until transfer to mature pig shed	20 animals × 3 sheds

7. Observation and examination items

(1) Measurement of body weight

Body weight was measured on the weaning day (postnatal day 21), then postnatal days 41 and 61 (at completion of the study).

(2) Food consumption

Amount of feed provided was recorded for each shed and amount of feed remaining was recorded at completion of the study.

Food consumption was estimated by subtracting the amount of feed remaining from total amount of feed provided.

(3) Animal deaths

Checking for animal deaths was conducted every day.

(4) Clinical condition

Fecal condition and general health condition were observed and recorded everyday.

a) Fecal condition (normal, soft stool, diarrhea)

b) General health condition (good, lethargy)

General health condition was determined according to the following criteria:

Good: When showing interest in people and moving agilely.

Lethargy: When showing no interest in people and staying in the corner of the shed.

Study schedule

Day of study	0	4	8	12	16	20	24	28	32	36	40
Measurement of body weight	○					○					○
Measurement of feed provided	Recorded at time of supply										
Measurement of feed remaining											○
No. of animal deaths	_____										
Clinical condition	_____										

8. Statistical analysis

Student's *t*-test or Cochran-Cox test was conducted for statistical analysis of mean body weight gain and mean feed conversion rate between the control and test substance groups.

Study results

1. Mean body weight gain and mean feed conversion rate

Table 1 indicates mean body weight gain and mean feed conversion rate for each group.

Overall mean body weight gain during the study period was significantly greater in the test substance group than the control group, with a significance level of less than 0.01.

There were no apparent differences in mean amount of feed provided between the 2 groups. Mean feed conversion rate was lower in the test substance group than control group, with a significance level of less than 0.01.

2. Animal deaths

Table 2 indicates number of animal deaths during the study period.

There were no animal deaths in the control or test substance group during the study period.

3. Clinical condition

Tables 3 and 4 indicate observation results for clinical condition.

Soft stools were observed in 7 animals in the control group, but not in the test substance group.

Diarrhea was not observed in either group.

Five animals in the control group were lethargic; however, no animals were lethargic in the test substance group.

Conclusion

Bacillus subtilis DB9011 was administered for 40 days in weaned pigs and effect on body weight gain and feed conversion rate was investigated.

Body weight gain significantly increased and feed conversion rate improved, with significance levels of less than 0.01.

Administration of *Bacillus subtilis* DB9011 appears to have no negative effect on fecal and general health condition.

Table 1. Mean body weight gain and mean feed conversion rate

	Shed No.	Mean body weight (kg/animal)			Mean body weight gain (kg/animal)			Mean amount of feed provided (kg/animal)	Mean dose of bacteria (cfu per animal)	Mean feed conversion rate
		21 days	41 days	61 days	21 - 41	42 - 61	Total			
Control group	1	6.45	16.8	25.7	10.4	8.9	19.3	34.5	—	1.78
	2	6.12	16.5	26.5	10.4	10.0	20.4	36.7	—	1.80
	3	6.04	18.9	25.6	12.9	6.7	19.6	36.0	—	1.83
	Mean	6.20 ± 0.22	17.4 ± 1.3	25.9 ± 0.5	11.2 ± 1.4	8.5 ± 1.7	19.8 ± 0.6	35.7 ± 1.1	—	1.80 ± 0.03
DB9011 group	1	6.47	18.1	28.5	11.6	10.4	22.0	37.4	2.1X10 ¹⁰	1.69
	2	6.00	18.0	27.9	12.0	9.9	21.9	36.9	2.0X10 ¹⁰	1.69
	3	6.76	22.3	29.9	15.5	7.6	23.1	37.6	2.1X10 ¹⁰	1.63
	Mean	6.41 ± 0.38	19.5 ± 2.5	28.8 ± 1.0*	13.0 ± 2.2	9.3 ± 1.5	22.3 ± 0.7**	37.3 ± 0.4	—	1.67 ± 0.03**

* P < 0.05 ** P < 0.01

Table 2 Animal deaths

	Shed No.	Incidence of animal deaths during the study period (day)		
		21 - 41	42 - 61	21 - 61
Control group	1	0/20	0/20	0/20
	2	0/20	0/20	0/20
	3	0/20	0/20	0/20
	Total	0/60	0/60	0/60
DB9011 group	1	0/20	0/20	0/20
	2	0/20	0/20	0/20
	3	0/20	0/20	0/20
	Total	0/60	0/60	0/60

Table 3 Fecal condition

	Shed No.	Study day (day)					
		21 - 41			42 - 61		
		Normal	Soft stool	Diarrhea	Normal	Soft stool	Diarrhea
Control group	1	20/20	0/20	0/20	20/20	0/20	0/20
	2	16/20	4/20	0/20	17/20	3/20	0/20
	3	20/20	0/20	0/20	20/20	0/20	0/20
	Total	56/60	4/60	0/60	57/60	3/60	0/60
DB9011 group	1	20/20	0/20	0/20	20/20	0/20	0/20
	2	20/20	0/20	0/20	20/20	0/20	0/20
	3	20/20	0/20	0/20	20/20	0/20	0/20
	Total	60/60	0/60	0/60	60/60	0/60	0/60

Table 4 General health condition

	Shed No.	Study day (day)			
		21 - 41		42 - 61	
		Good	Lethargy	Good	Lethargy
Control group	1	20/20	0/20	20/20	0/20
	2	18/20	2/20	20/20	0/20
	3	20/20	0/20	17/20	3/20
	Total	58/60	2/60	57/60	3/60
DB9011 group	1	20/20	0/20	20/20	0/20
	2	20/20	0/20	20/20	0/20
	3	20/20	0/20	20/20	0/20
	Total	60/60	0/60	60/60	0/60

1. Study title

Field Study of *Bacillus subtilis* DB9011 in Weaned Pigs III

2. Study objectives

To confirm the growth promotion effect of *Bacillus subtilis* DB9011 in weaned pigs and to investigate efficacy of this probiotic in the field

3. Testing facilities

[REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]

4. Study director

[REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]

5. Staff members engaged in study

[REDACTED]

6. Location of field study

[REDACTED]
[REDACTED]

7. Study period

October, 1993 to January, 1994

Study materials and methods

1. Test substance and addition to feed

The probiotic *Bacillus subtilis* DB9011 (a lactose formulation containing *Bacillus subtilis* DB9011-Spore at 10^8 cfu per gram; lot No.: 3001-930805-02P-L) was added to feed to make a concentration of 0.5%.

2. Test animals

A total of 120 LWD piglets (postnatal day 21, 60 animals per group, 20 animals per shed) delivered in the same way reared at Ranch N, under contract with [REDACTED] were used.

3. Feed

Two types of formula feed, designated by [REDACTED], were used. As a rule, artificial milk A (Winner[®], Nippon Formula Feed Mfg Co., Ltd.) and artificial milk B (NeowinnerB[®], Nippon Formula Feed Mfg Co., Ltd.) were provided to weaned pigs aged 21 to 41 days or 41 to 61 days, respectively.

* Use of antibiotics

To animals in the control and test substance groups, tetracycline was administered by feed admixture at 200 ppm for 7 days from 21 days old and for an additional 7 days from 41 days old for prevention of pneumonia, following instructions from veterinarians.

4. Administration period

For 40 days from 21 to 61 days old.

5. Rearing condition

Weaned pigs were reared in normal pig sheds with a raised floor and provided feed *ad libitum*. Vaccination against swine cholera and erysipelas were conducted at 40 to 45 days old.

6. Composition of study groups

Dosage	Administration method	Administration period	Test pigs
Control (0.5% lactose)	Admixed with feed	From weaning until transfer to mature pig shed	20 animals × 3 sheds
DB9011 (0.5% probiotic)	Admixed with feed	From weaning until transfer to mature pig shed	20 animals × 3 sheds

7. Observation and examination items

(1) Measurement of body weight

Body weight was measured on the weaning day (postnatal day 21), then postnatal days 41 and 61 (at completion of the study).

(2) Food consumption

Amount of feed provided was recorded for each shed and amount of feed remaining was recorded at completion of the study.

Food consumption was estimated by subtracting the amount of feed remaining from total amount of feed provided.

(3) Animal deaths

Checking for animal deaths was conducted every day.

(4) Clinical condition

Fecal condition and general health condition were observed and recorded everyday.

a) Fecal condition (normal, soft stool, diarrhea)

b) General health condition (good, lethargy)

General health condition was determined according to the following criteria:

Good: When showing interest in people and moving agilely.

Lethargy: When showing no interest in people and staying in the corner of the shed.

Study schedule

Day of study	0	4	8	12	16	20	24	28	32	36	40
Measurement of body weight	○					○					○
Measurement of feed provided	_____ Recorded at time of supply _____										
Measurement of feed remaining											○
No. of animal deaths	_____										
Clinical condition	_____										

8. Statistical analysis

Student's *t*-test or Cochran-Cox test was conducted for statistical analysis of mean body weight gain and mean feed conversion rate between the control and test substance groups.

Study results

1. Mean body weight gain and mean feed conversion rate

Table 1 indicates mean body weight gain and mean feed conversion rate for each group.

Overall mean body weight gain during the study period was significantly greater in the test substance group than the control group, with a significance level of less than 0.05.

There were no apparent differences in mean amount of feed provided between the 2 groups. Overall mean feed conversion rate during the study period was lower in the test substance group than the control group, with a significance level of less than 0.001.

2. Animal deaths

Table 2 indicates number of animal deaths during the study period.

There were no animal deaths in the control or test substance group during the study period.

3. Clinical condition

Tables 3 and 4 indicate observation results for clinical condition.

Soft stool were observed in 3 and 5 animals in the test substance and control groups, respectively, but diarrhea was not observed in either group.

Two animals each in the test substance and control groups were lethargic; however, there were no other abnormal findings for general health condition.

Conclusion

Bacillus subtilis DB9011 was administered for 40 days in weaned pigs and effect on body weight gain and feed conversion rate was investigated.

Mean body weight gain significantly increased and feed conversion rate improved, with significance levels of less than 0.05 and 0.001, respectively.

Administration of *Bacillus subtilis* DB9011 appears to have no negative effect on fecal and general health condition.

Table 1. Mean body weight gain and mean feed conversion rate

	Shed No.	Mean body weight (kg/animal)			Mean body weight gain (kg/animal)			Mean amount of feed provided (kg/animal)	Mean dose of bacteria (cfu per animal)	Mean feed conversion rate
		21 days	41 days	61 days	21 - 41	42 - 61	Total			
Control group	1	6.22	13.8	23.0	7.6	9.2	16.8	29.8	—	1.78
	2	6.43	13.7	22.3	7.3	8.6	15.9	28.5	—	1.79
	3	6.29	14.2	23.5	7.9	9.3	17.2	30.6	—	1.78
	Mean	6.31 ± 0.11	13.9 ± 0.3	22.9 ± 0.6	7.6 ± 0.3	9.0 ± 0.4	16.6 ± 0.7	29.6 ± 1.1	—	1.78 ± 0.01
DB9011 group	1	6.38	14.2	24.2	7.8	10.0	17.8	30.2	1.6X10 ¹⁰	1.70
	2	6.44	14.2	24.1	7.8	9.9	17.7	29.9	1.6X10 ¹⁰	1.68
	3	6.46	15.2	25.2	8.8	10.0	18.7	31.7	1.7X10 ¹⁰	1.69
	Mean	6.43 ± 0.04	14.5 ± 0.6	24.5 ± 0.6*	8.1 ± 0.6	10.0 ± 0.1	18.1 ± 0.6*	30.6 ± 1.0	—	1.69 ± 0.01***

* P < 0.05 ** P < 0.001

Table 2 Animal deaths

	Shed No.	Incidence of animal deaths during the study period (day)		
		21 - 41	42 - 61	21 - 61
Control group	1	0/20	0/20	0/20
	2	0/20	0/20	0/20
	3	0/20	0/20	0/20
	Total	0/60	0/60	0/60
DB9011 group	1	0/20	0/20	0/20
	2	0/20	0/20	0/20
	3	0/20	0/20	0/20
	Total	0/60	0/60	0/60

Table 3 Fecal condition

	Shed No.	Study day (day)					
		21 - 41			42 - 61		
		Normal	Soft stool	Diarrhea	Normal	Soft stool	Diarrhea
Control group	1	18/20	2/20	0/20	20/20	0/20	0/20
	2	19/20	1/20	0/20	20/20	0/20	0/20
	3	19/20	1/20	0/20	19/20	1/20	0/20
	Total	56/60	4/60	0/60	59/60	1/60	0/60
DB9011 group	1	19/20	1/20	0/20	20/20	0/20	0/20
	2	18/20	2/20	0/20	20/20	0/20	0/20
	3	20/20	0/20	0/20	20/20	0/20	0/20
	Total	57/60	3/60	0/60	60/60	0/60	0/60

Table 4 General health condition

	Shed No.	Study day (day)			
		21 - 41		42 - 61	
		Good	Lethargy	Good	Lethargy
Control group	1	20/20	0/20	20/20	0/20
	2	19/20	1/20	20/20	0/20
	3	19/20	1/20	20/20	0/20
	Total	58/60	2/60	60/60	0/60
DB9011 group	1	19/20	1/20	20/20	0/20
	2	19/20	1/20	20/20	0/20
	3	20/20	0/20	20/20	0/20
	Total	58/60	2/60	60/60	0/60

ASCA CORPORATION

Hiranomachi Yachiyo Bldg. 1-8-13 Hiranomachi, Chuo-ku, Osaka 541-0046, Japan
Tel: 06-6202-6272, Fax: 06-6202-6271

証明書番号 : No. 050876-6

October 28, 2005

株式会社バイオ医療情報

新事業開発部

残間 雅秋 様

株式会社アスカコ-ポレ-ション

541-0046 大阪市中央区平野町 1-8-13

平野町八千代ビル

翻訳証明書

Certificate of Translation

貴社から依頼のあった以下の文書を、原文にもとづき、知り得る知識の範囲で、忠実かつ正確に翻訳したことを証明します。

This is to certify that the following document has been translated faithfully and accurately to the best of our knowledge and ability.

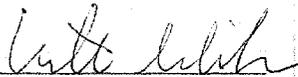
依頼文書タイトル: 子豚を用いた野外応用試験
Translated title: Field Study Using Weaned Pigs

翻訳完了日 : 2005 年 10 月 5 日

Date: October 5, 2005

責任者:

Signature



Eiko Ishioka
President