

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2004-519660

(P2004-519660A)

(43) 公表日 平成16年7月2日(2004.7.2)

(51) Int. Cl.⁷

GO 1 N 33/53

GO 1 N 33/50

F I

GO 1 N 33/53

GO 1 N 33/50

N

G

テーマコード (参考)

2 GO 4 5

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 51 頁)

(21) 出願番号	特願2002-523612 (P2002-523612)	(71) 出願人	503080958
(86) (22) 出願日	平成13年8月29日 (2001.8.29)		イークワイン・アラート・プロプライエタリー・リミテッド
(85) 翻訳文提出日	平成15年2月28日 (2003.2.28)		オーストラリア国ウェスタン・オーストラリア 6000, パース, ジ・エスプラナード 28, ザ・ビージーシー・センター, レヴェル 11
(86) 国際出願番号	PCT/AU2001/001085	(74) 代理人	100089705
(87) 国際公開番号	W02002/018943		弁理士 社本 一夫
(87) 国際公開日	平成14年3月7日 (2002.3.7)	(74) 代理人	100076691
(31) 優先権主張番号	PQ 9756		弁理士 増井 忠式
(32) 優先日	平成12年8月29日 (2000.8.29)	(74) 代理人	100075270
(33) 優先権主張国	オーストラリア (AU)		弁理士 小林 泰
(31) 優先権主張番号	PR 1015	(74) 代理人	100080137
(32) 優先日	平成12年10月25日 (2000.10.25)		弁理士 千葉 昭男
(33) 優先権主張国	オーストラリア (AU)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ウマにおいて成績低下を予測する方法

(57) 【要約】

本発明は、免疫グロブリンレベル、特に I g A および / または I g G レベルの測定を用いて、ウマにおいて、成績および遂行潜在能力を評価する方法に関する。本発明はまた、ストレス要因、特に身体ストレス要因に曝露されたウマにおいて、成績低下、疲労および / または感染に対する感受性を予測する方法にも関する。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

ストレス要因に曝露されたウマにおいて、遂行潜在能力、成績低下、疲労および/または感染に対する潜在的な感受性を予測する方法であって：

- (a) 訓練期の免疫グロブリン A (I g A) および/または免疫グロブリン G (I g G) レベルを測定し；そして
- (b) あらかじめ決定した閾値と、訓練期の I g A および/または I g G レベルを比較することによって、成績低下、疲労および/または感染に対する感受性を予測することを含み、前記方法。

【請求項 2】

ウマの身体訓練プログラムの適切さを評価し、そして/または監視する方法であって：

- (a) 訓練期前の I g A および/または I g G レベルを測定し；
- (b) 訓練期中の I g A および/または I g G レベルを、間隔を置いて測定し、そして
- (c) 訓練期前の I g A および/または I g G レベルと、訓練期中の I g A レベルを比較し、そしてそれによって、身体訓練プログラムの適切さを評価することを含み、前記方法。

【請求項 3】

本明細書に定義するように、ウマの成績および/または疲労レベルに対するストレス要因の影響を評価する方法であって：

- (a) 唾液 I g A および/または I g G レベルを測定し；そして
- (b) あらかじめ決定した閾値と、前記 I g A および/または I g G レベルを比較することによって、ウマの成績および/または疲労レベルに対するストレス要因の影響を評価することを含み、前記方法。

【請求項 4】

ウマにおいて、呼吸器感染に対する潜在的な感受性を評価する方法であって：

- (a) 訓練初期の唾液 I g A および/または I g G レベルを測定し；そして
- (b) あらかじめ決定した閾値と、訓練初期の I g A および/または I g G レベルを比較することによって、呼吸器感染に対する潜在的な感受性を予測することを含み、前記方法。

【請求項 5】

ウマにおいて、疲労/感染に対する潜在的な感受性を評価する方法であって：

- (a) ストレス要因への曝露後、I g A および/または I g G レベルを測定し；
- (b) 本明細書に定義するような回復期間を許容し；
- (c) 回復期間後、I g A および/または I g G レベルを測定し；
- (d) 上記工程 (c) の I g A および/または I g G レベルと、上記工程 (a) の I g A および/または I g G レベルを比較することによって、疲労/感染に対する潜在的な感受性を予測することを含み、前記方法。

【請求項 6】

ウマの訓練プログラムを設計する方法であって：

- (a) 訓練開始前、
- (b) 訓練初期、
- (c) 最適訓練期中および/または競争または重度の身体ストレス中の一つ以上から選択される時点で、唾液 I g A および/または I g G レベルを測定することを含み、前記方法。

【請求項 7】

ウマの訓練プログラムを設計する方法であって：

- (a) 訓練開始前に、唾液 I g A および/または I g G レベルを測定し、
- (b) 訓練初期に、唾液 I g A および/または I g G レベルを測定し、

10

20

30

40

50

(c) 最適訓練期中および/または競争または重度の身体ストレス中に、唾液 I g A および/または I g G レベルを測定し、

(d) 工程 (a) から (c) で得たレベルを用いて、そのウマに関する I g A および/または I g G プロフィールを作成して、安定したレベルの I g A および/または I g G を維持する訓練プログラムを設計することを含む、前記方法。

【請求項 8】

工程 (d) の訓練プログラムを、I g A および/または I g G レベルがあらかじめ決定したレベルより下に落ちないように設計する、請求項 7 記載の方法。

【請求項 9】

ウマの遂行潜在能力を評価する方法であって：

(a) 訓練開始前に、免疫グロブリン A (I g A) および/または免疫グロブリン G (I g G) レベルを測定し；そして

(b) あらかじめ決定した閾値と、I g A および/または I g G レベルを比較することによって、遂行潜在能力が劣っていることを予測することを含む、前記方法。

【請求項 10】

ウマの遂行潜在能力を評価する方法であって：

(a) 訓練開始前に、I g A および/または I g G レベルを測定し、

(b) 訓練初期に、I g A および/または I g G レベルを測定し、

(c) 工程 (a) から (b) で得たレベルを用いて、そのウマに関する I g A および/または I g G プロフィールを作成し、そして前記プロフィールを用いて、あらかじめ決定した閾値と、該 I g A および/または I g G レベルを比較することによって、遂行潜在能力が劣っていることを予測することを含む、前記方法。

【請求項 11】

ウマが訓練プログラムを完了する能力を予測する方法であって：

(a) 訓練開始前に、I g A および/または I g G レベルを測定し、

(b) 訓練初期に、I g A および/または I g G レベルを測定し、

(c) 工程 (a) から (b) で得たレベルを用いて、そのウマに関する I g A および/または I g G プロフィールを作成し、そして前記プロフィールを用いて、あらかじめ決定した閾値と、該 I g A および/または I g G レベルを比較することによって、ウマが訓練プログラムを完了する能力を予測することを含む、前記方法。

【請求項 12】

免疫グロブリンレベルを唾液中で測定する、請求項 1 から 11 のいずれか 1 つに記載の方法。

【請求項 13】

免疫グロブリンが I g A またはそのサブクラスである、請求項 1 から 12 のいずれか 1 つに記載の方法。

【請求項 14】

閾値が、正常ウマから得た試料中で決定した正常閾値である、請求項 1 から 13 のいずれか 1 つに記載の方法。

【請求項 15】

閾値が内部個体閾値である、請求項 1 から 13 のいずれか 1 つに記載の方法。

【請求項 16】

唾液試料が全未刺激唾液である、請求項 1 から 15 のいずれか 1 つに記載の方法。

【請求項 17】

ウマが競馬ウマまたは他の競争馬である、請求項 1 から 16 のいずれか 1 つに記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 18】

ストレス要因が、免疫系の有効性に影響を与えることが知られる、請求項 1 から 17 のいずれか 1 つに記載の方法。

【請求項 19】

免疫グロブリンレベルを、E L I S A、R I A、免疫拡散およびそれらに匹敵するものからなる群より選択されるイムノアッセイによって測定する、請求項 1 から 18 のいずれか 1 つに記載の方法。

【請求項 20】

アッセイ装置または系をウマの唾液と接触させることによって、免疫グロブリン含量に関して、*in situ*で唾液を解析する、請求項 1 から 19 のいずれか 1 つに記載の方法 10

【請求項 21】

請求項 1 から 20 のいずれか 1 つに記載の方法で用いる、アッセイ装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

技術分野

本発明は、成績低下、疲労および/または感染を検出する方法としての、生物学的液体における免疫グロブリンの測定に関する。より具体的には、本発明は、疲労、成績低下、あるいは成績低下、劣った遂行潜在能力および/または感染のリスクの決定要因としての、ウマにおける唾液 I g A および/または I g G の測定に関する。 20

【0002】

背景技術

相互方式で、唾液 I g A レベルを運動選手の成績低下と関連付ける、有意なデータベースがヒトには存在する。最近のデータによって、本質的にすべての選り抜きの運動選手は、B 細胞ゲノムに取り込まれた E B ウイルス D N A を有すること、そして疲労および成績低下の機構として、I g A レベルが低い選手では、不適切に多量の訓練をすると、E B V 排出が活性化されることが示されてきている。成績低下、疲労および/または感染を監視するアッセイを開発するための研究は、他のいかなる動物モデルでも行われてきていない。多様な生物学的液体における免疫グロブリンレベルを用いて、他の種いずれかで成績低下を監視するかまたは評価することが可能であるかどうか (E B V は、限定された数の動物種に特異的である) は未知である。より具体的には、E B V はウマに感染しない。 30

【0003】

競馬ウマ、並びにポロおよびそれに匹敵するものなどの他のスポーツに参加するウマは、重度の競争ストレスと共に、訓練/運動ストレスに曝露される。運動レベルおよび競争によって課されるストレスを監視し、適切な訓練および休養プログラムが、適切な時、必要とされる場合に、提供されるのを可能にすることが重要であろう。

【0004】

したがって、身体的または他のストレスに曝露されたウマにおいて、成績低下、疲労を監視し、そして/または感染に対する感受性を予測するか、あるいは劣った成績のリスクまたは遂行潜在能力を評価して、訓練プログラムの変更を行うか、または適切な場合に介入療法を用いることを可能にする、適切な試験が必要である。 40

【0005】

先行技術の欠点を克服するかまたは改善し、あるいは有用な代替法を提供するのが本発明の目的である。

発明の概要

ヒトにおける I g A の測定は、ストレスが誘導する疲労および/または感染感受性の評価における有用なツールであることが立証されている。予期せぬことに、訓練または競争などの身体ストレスに曝露されたウマにおいて、唾液免疫グロブリンレベル、特に I g A および/または I g G が、疲労および/または感染に対する感受性あるいは劣った潜在能力の指標となる可能性があることが、見出された。さらに、ストレス要因への曝露後に起こ 50

る、I g A および / または I g G レベルの低下が、迅速に回復されない場合、これらの免疫グロブリンレベルの長期の低下は、感染に対する感受性および / または疲労を生じ、そしてしたがって、成績の悪化を生じる。上述のように、低下した I g A および / または I g G レベルは、疲労だけでなく、感染に対する感受性の指標でもある。したがって、I g A および / または I g G レベルの回復速度もまた、感染に対する感受性または遂行潜在能力の低下の優れた指標でもある。

【0006】

第一の側面にしたがって、本発明は、ストレス要因に曝露されたウマにおいて、遂行潜在能力、成績低下、疲労および / または感染に対する潜在的な感受性を予測する方法であって：

10

(a) 訓練期の免疫グロブリン A (I g A) および / または免疫グロブリン G (I g G) レベルを測定し ; そして

(b) あらかじめ決定した閾値と、訓練期の I g A および / または I g G レベルを比較することによって、成績低下、疲労および / または感染に対する感受性を予測することを含む、前記方法を提供する。

【0007】

第二の側面にしたがって、本発明は、ウマの身体訓練プログラムの適切さを評価し、そして / または監視する方法であって：

(a) 訓練期前の I g A および / または I g G レベルを測定し ;

(b) 訓練期中の I g A および / または I g G レベルを、間隔を置いて測定し、そして

(c) 訓練期前の I g A および / または I g G レベルと、訓練期中の I g A レベルを比較し、そしてそれによって、身体訓練プログラムの適切さを評価する

20

ことを含む、前記方法を提供する。

【0008】

第三の側面にしたがって、本発明は、本明細書に定義するように、ウマの成績および / または疲労レベルに対するストレス要因の影響を評価する方法であって：

(a) 唾液 I g A および / または I g G レベルを測定し ; そして

(b) あらかじめ決定した閾値と、前記 I g A および / または I g G レベルを比較することによって、ウマの成績および / または疲労レベルに対するストレス要因の影響を評価する

30

ことを含む、前記方法を提供する。

【0009】

第四の側面にしたがって、本発明は、ウマにおいて、呼吸器感染に対する潜在的な感受性を評価する方法であって：

(a) 訓練初期の唾液 I g A および / または I g G レベルを測定し ; そして

(b) あらかじめ決定した閾値と、訓練初期の I g A および / または I g G レベルを比較することによって、呼吸器感染に対する潜在的な感受性を予測する

ことを含む、前記方法を提供する。

【0010】

第五の側面にしたがって、本発明は、ウマにおいて、疲労 / 感染に対する潜在的な感受性、成績低下または遂行潜在能力を評価する方法であって：

40

(a) ストレス要因への曝露後、I g A および / または I g G レベルを測定し ;

(b) 本明細書に定義するような回復期間を許容し ;

(c) 回復期間後、I g A および / または I g G レベルを測定し ;

(d) 上記工程 (c) の I g A および / または I g G レベルと、上記工程 (a) の I g A および / または I g G レベルを比較することによって、疲労 / 感染に対する潜在的な感受性または成績低下を予測する

ことを含む、前記方法を提供する。

【0011】

第六の側面にしたがって、本発明は、ウマの訓練プログラムを設計する方法であって：

50

(a) 訓練開始前に、唾液 I g A および / または I g G レベルを測定し、
 (b) 訓練初期に、唾液 I g A および / または I g G レベルを測定し、
 (c) 最適訓練期中および / または競争または重度の身体ストレス中に、唾液 I g A および / または I g G レベルを測定し、
 (d) 工程 (a) から (c) で得たレベルを用いて、そのウマに関する I g A および / または I g G プロフィールを作成して、安定したレベルの I g A および / または I g G を維持する訓練プログラムを設計することを含み、前記方法を提供する。

【0012】

第七の側面にしたがって、本発明は、ウマの訓練プログラムを設計する方法であって、1 10
 以上の以下：

(a) 訓練開始前、
 (b) 訓練初期、
 (c) 最適訓練期中および / または競争または重度の身体ストレス中
 から選択される時点で、唾液 I g A および / または I g G レベルを測定することを含み、
 前記方法を提供する。

【0013】

第八の側面にしたがって、本発明は、ウマの遂行潜在能力を評価する方法であって：

(a) 訓練開始前に、免疫グロブリン A (I g A) および / または免疫グロブリン G (I g G) レベルを測定し；そして
 (b) あらかじめ決定した閾値と、I g A および / または I g G レベルを比較することによって、遂行潜在能力が劣っていることを予測することを含み、前記方法を提供する。

20

【0014】

第九の側面にしたがって、本発明は、ウマの遂行潜在能力を評価する方法であって：

(a) 訓練開始前に、I g A および / または I g G レベルを測定し、
 (b) 訓練初期に、I g A および / または I g G レベルを測定し、
 (c) 工程 (a) から (b) で得たレベルを用いて、そのウマに関する I g A および / または I g G プロフィールを作成し、そして前記プロフィールを用いて、あらかじめ決定した閾値と、該 I g A および / または I g G レベルを比較することによって、遂行潜在能力
 が劣っていることを予測することを含み、前記方法を提供する。

30

【0015】

第十の側面にしたがって、本発明は、ウマが訓練プログラムを完了する能力を予測する方法であって：

(a) 訓練開始前に、I g A および / または I g G レベルを測定し、
 (b) 訓練初期に、I g A および / または I g G レベルを測定し、
 (c) 工程 (a) から (b) で得たレベルを用いて、そのウマに関する I g A および / または I g G プロフィールを作成し、そして前記プロフィールを用いて、あらかじめ決定した閾値と、該 I g A および / または I g G レベルを比較することによって、ウマが訓練プログラムを完了する能力を予測することを含み、前記方法を提供する。

40

【0016】

本発明の方法は、好ましくは、調教師の評価と組み合わせて用いる。

好ましくは、免疫グロブリンレベルは、最も侵襲性でないため、唾液中で測定するが、他の生物学的液体、例えば血液、涙、生殖液および気道液、並びにそれらに匹敵するものもまた、使用可能である。I g A および / または I g G サブクラスのレベルが、疲労および / または感染の評価に有用である可能性があることもまた、理解されるであろう。免疫グロブリンサブクラスもまた、使用可能である。

【0017】

50

好ましくは、ウマを訓練するかまたは身体ストレスに曝露しようとする場合、閾値は、通常、休息時または訓練前に得る、内部個体閾値である。これによって、個体プロフィールを作成し、そして潜在的な遂行能力の評価に、または適切な訓練プログラムの設計に使用することが可能になる。しかし、特定の適用では、そして特定の例では、正常なウマ I g A および / または I g G レベルに関して、正常なウマからまたは公表されたデータから得た試料において、正常閾値を決定することが可能である。

【0018】

好ましくは、唾液免疫グロブリンは、全未刺激唾液試料由来であり、そして最も好ましくは、唾液試料は、空腹時試料でない。

好ましくは、ウマは、競馬ウマまたは他の競争馬である。

10

【0019】

好ましくは、ストレス要因は、免疫系の有効性に影響を与えることが知られる。

好ましくは、ウマを身体的および / または生理学的ストレス要因に曝露する。好ましくは、身体的および / または生理学的ストレス要因は、長期身体訓練、過剰訓練または競争である。

【0020】

好ましくは、免疫グロブリンレベルは、E L I S A によって、または同様のイムノアッセイによって、測定する。好ましくは、アッセイ装置または系をウマの唾液と接触させることによって、免疫グロブリン含量に関して、*i n s i t u* で唾液を解析する。

【0021】

本発明の背景において、語「ストレス要因」は、その意味内に、限定されるわけではないが、疲労を含む、身体的、生理学的、心理学的および栄養上のストレス要因を含む。

20

【0022】

本発明の背景において、語「成績」は、その意味内に、他のウマに比較した成績、または個体の成績レベルに比較した成績、あるいは遂行潜在能力を含む。同様に、用語「疲労」は、その意味内に、他のウマに比較した疲労または個体の疲労レベルに比較した疲労を含む。

【0023】

本発明は、身体ストレス要因に曝露されたウマに関連した例によって例示されるが、当業者には、疲労および / または感染に対する感受性の同様の評価が、他のストレスの多い活動にあてはまるであろうことが明らかであろう。

30

【0024】

本発明の背景において、用語「回復期」は、ストレス要因またはストレス要因類への曝露後の休息期を含む。適切な長さの回復期は、当業者によって決定され、そしてストレス要因の種類およびウマの種類で多様であろう。

【0025】

本発明は、主に、成績低下および疲労を評価する背景で記載しているが、当業者には、同一の原理を、潜伏性感染の再活性化を含む、感染に対する感受性、および遂行潜在能力に適用可能であることが理解されるであろう。

好ましい態様の説明

40

ウマ I g A の測定を可能にするため、ウマ唾液中の I g A 量を検出する E L I S A アッセイを開発した。こうしたアッセイの使用は、ウマにおける唾液 I g A レベルの測定を可能にし、そしてしたがって訓練の結果および疲労の開始および成績低下を評価する手段を提供する。疲労はまた、身体ストレスから生じる感染の結果である可能性もあり、そしてしたがって、該アッセイを用いて、ウマが一般的に遭遇する感染、例えばウマインフルエンザ、ウマ連鎖球菌 (*S t r e p t o c o c c u s e q u i*) およびウマヘルペスウイルスに関連する一般的な気道感染に対する感受性または素因を評価することが可能である。

【0026】

本発明を例示するため、該アッセイを用いて、休息および運動 / 訓練中のウマから得た唾液を測定した。唾液 I g A レベルは、ウマが多様にストレスを受ける、大きな競技会の最

50

中に、29頭のポロのウマで測定した。これらの健康なウマでは、IgAレベルに目立った変動があった(1.69から579 ELISA単位(EU))。この広い範囲は、均質な集団に期待されるものの外である。したがって、これが、ストレス反応を反映する可能性があり、低レベルのIgAが、成績低下、疲労および/または感染に対する感受性のリスクを示す。

【0027】

同様の方式で競馬ウマに対してもまた、研究を行って、成績を評価し、そして適切な訓練プログラムを設計するのに使用可能なデータを得た。

ここで、特定の、しかし限定されない実施例に言及することによって、より詳細に本発明を記載するであろう。

【0028】

【実施例】

実施例1：唾液収集

1. ウマ唾液は、10mlシリンジにつないだカニューレを用いて、口腔底から吸引によって収集した。その後、カニューレをシリンジからはずし、そして実験室でプロセッシングするまで、ドライアイス上に置いた。

【0029】

2. カニューレから全量を1.5mlエッペンドルフ試験管に空け、そしてその後、5000rpmで20秒間遠心分離した。

3. エッペンドルフ試験管中にピペティングすることによって、0.2 - 0.5mlの唾液を収集し、氷上に置き、そしてその後、アッセイまで-70で保存した。

【0030】

変法を用いた唾液収集

より多量の唾液を収集するため、ウマの口腔全体を、綿棒でふき取った。その後、唾液が染み込んだ綿棒を20mlシリンジ外筒に入れ、その後、中にプランジャーを取り付けて、綿棒から無菌収集試験管中に唾液を搾り出した。この方法を用いると、総量0.25 - 1.5mlのウマ唾液を収集可能である。遠心分離して破片を除去した後、アッセイまで唾液を-20で保存する。

【0031】

実施例2：IgAおよびIgGに関するELISAアッセイ

1. 96ウェルマイクロタイタープレートのウェルを、ホウ酸ナトリウム緩衝液(pH8)中、1:1000希釈のウサギ抗IgGまたは抗IgA(Bethyl Laboratories、ニューサウスウェールズ州シドニー)でコーティングした。

【0032】

2. PBS中の1% Tween 20で洗浄した後、PBS中の2% BSA(100μl)を用いて、室温で1時間、ウェルをブロッキングした。

3. ブロッキング緩衝液を除去した後、ウェルをPBS/Tween中で洗浄し、そして紙タオルの上で軽く叩くことによって、過剰な緩衝液を除去した。

【0033】

4. PBS/Tween中で1:2000 - 1:5000に希釈したウマ唾液を、100μlアリコットで各ウェルに添加し、そして室温で1時間インキュベーションした。IgGおよびIgAに関する標準物質として、ウマ血清(Hunter Antisera、ニューサウスウェールズ州ニューキャッスル)を添加した。

【0034】

5. ウェルをPBS/Tween中で洗浄した後、100μlアリコット中の、ペルオキシダーゼをコンジュゲート化したヒツジ抗IgAまたは抗IgG(ICN Biomedicals、ニューサウスウェールズ州セブンヒルズ)を各ウェルに添加した。

【0035】

6. 1時間インキュベーションした後、ウェルをPBS/Tween中で洗浄し、その後、酵素基質、テトラメチルベンジジン(TMB)溶液の100μlアリコットを各ウェル

10

20

30

40

50

に添加した。

【0036】

7.20分間インキュベーションした後、2M H_2SO_4 溶液を添加することによって、発色反応を停止し、そしてELISAプレート読み取り装置中、450nmで吸光度を読み取った。結果は、試験試料の吸光度を、1,000EUのIgA濃度を持つ標準ウマ血清の希釈から構築した検量線の直線部分から内挿して、ELISA単位(EU)として表した。

【0037】

ELISAアッセイは、多くの異なる形式、例えば、すべて当業者に知られる、視覚的読み取り型、ディップスティック、およびそれらに匹敵するもので、使用可能である。他の適切なイムノアッセイもまた、使用可能であるし、そしてまた当業者に知られるであろう。

10

【0038】

実施例3：ウマにおける唾液免疫グロブリンレベル

運動またはポロ競技会後の、28頭の「休息中の」サラブレッド系統のウマ由来の唾液におけるIgAおよびIgG濃度範囲を表1に示す。1頭のウマを除き、IgA濃度範囲は、IgGより有意により高く($p < 0.011$)、IgAの局所産生および分泌への能動輸送の存在が示唆された。

【0039】

表1. ウマ唾液IgAおよびIgG

20

【0040】

【表1】

	IgA EU/mL	IgG EU/mL	
	46.0	3.80	
	38.1	9.70	
	340.0	15.60	
	16.4	2.50	
	542.0	7.60	
	14.8	11.20	
	118.5	6.80	10
	11.1	3.84	
	43.2	6.91	
	6.9	8.20	
	43.4	3.20	
	18.3	3.50	
	170.0	14.00	
	12.7	1.90	
	5.1	1.23	
	20.6	8.80	
	43.0	8.10	
	125.0	13.80	
	22.7	4.60	20
	35.5	20.10	
	579.0	57.50	
	19.6	4.40	
	7.8	4.60	
	19.2	8.70	
	23.9	2.90	
	26.3	5.60	
	22.0	2.70	
	8.2	23.50	
平均±SEM	84.97 ± 28.6	9.47 ± 2.1	
	(n=28)	(n=28)	30

【0041】

より低いレベルの唾液IgAは、唾液試料を収集した日、訓練またはポロ競技会後の影響からの回復が遅いことを反映する可能性がある。ヒト研究からの証拠によって、選り抜きの運動選手において、激しい運動または過剰訓練が、唾液IgAレベルのより遅い回復および感染に対する感受性によって特徴付けられる免疫抑制につながることを示された。ストレスによる同様の影響が、訓練または競技会後のウマにおいて生じる可能性がある。

【0042】

実施例4：唾液IgAレベルおよびウマにおける成績の間の関係

別の群のウマから唾液IgAを収集し、以下のように1（最低）から5（最高）の成績に等級付けした、視覚的アナログスケールを用いて、その成績の評価もまた、行った： 40
1 = 劣っている； 2 = 優れている； 3 = 非常に優れている； 4 = 優秀である； 5 = 傑出している。

【0043】

成績は、特定の動物から期待されるものに比較して判定した。

データを以下の表2に示す。表中の数字は、EU/mLの唾液IgAレベルを示す。適切な場合、データの統計解析の目的のため、スコア群4および5を合わせ、そして群1と比較した。

【0044】

表2：成績スコアおよび唾液IgAレベルの間の関係

【 0 0 4 5 】

【 表 2 】

成績スコア (1-5)					
ウマの名前	1	2	3	4	5
Santa Rigalia				132	
Spirit of Fire			59		
I'm on Fire					801
It is so		119			
Constraint					576
Horse Shoe Bend					885
Fire Chief		141			
Breaker Moran					
Bluey		147			
Gran Turismo					
Paint it Silver	75				
Nacka-Yama			434		
Copernicus				86	
Straight Answer	19				
Mary Alice	8				

10

Summer Silence	46				
Crystal Glow					
Jasha Boy					
Lucrative Medal	11				
City Beach	16				

20

【 0 0 4 6 】

高スコア対低スコア解析 (E L I S A 単位に関する対応のない t 検定)

【 0 0 4 7 】

【 表 3 】

平均相違	DF	t 値	P 値
476	8	2.865	0.021

30

【 0 0 4 8 】

E l i s a 単位に関する群情報

【 0 0 4 9 】

【 表 4 】

	カウント	平均	分散	標準偏差	標準誤差
高スコア	5	496	137835.5	371.262	166.033
低スコア	5	20	229.5	15.149	6.775

40

【 0 0 5 0 】

図 1 は、グラフ形式で要約したデータを示す。

このデータは、唾液 I g A の特定の切り捨て値、例えば本実施例 10 では 100 E U / m l を用いて、特別な注意を要するかもしれない成績の悪いウマをすべて、または大部分、同定することが可能であることを示す。

【 0 0 5 1 】

さらに、優れた成績のウマにおける、高レベルの唾液 I g A、例えば 400 E U / m l 以上は、最適訓練プログラムを実行できるが、訓練を増加することについて配慮できるということを示す可能性がある。一方、それほど優れた成績でないウマにおける、高レベルの唾液 I g A は、訓練プログラムを増加するかまたは最適化する必要を示す可能性がある。下向き、安定または上向きいずれかの傾向を検出する、訓練プログラムにと一体化するこ

50

とが可能な進行外観、例えば毎週または毎月の評価を利用するのが特に有用であろう。

【0052】

同様に、優れた成績のウマにおける、低レベルの I g A、例えば 150 EU/ml 未満は、該動物が、成績を失するリスクにあるか、または劣った遂行潜在能力を有し、そしてしたがって、注意して扱わなければならないことを示す可能性がある。訓練を修正するかまたは一時中断し、そして唾液 I g A レベルの綿密な監視を要する可能性がある。成績が劣ったウマでは、低 I g A レベルは、直ちに注意を向け、そして該動物に長い休息期間を許容することを考慮する必要性を示す可能性がある。唾液 I g A レベルは、回復の指針として監視することが可能である。

【0053】

中程度の唾液 I g A レベルは、上に論じるような傾向を確認するため、より綿密な監視を必要とする可能性がある。成績レベルに関わらず、I g A レベルを監視して、個体プロフィールを決定しなければならない。

【0054】

実施例 5：激しい訓練後の競馬ウマにおける I g A レベルおよび成績

シドニーでトップクラスの 2 厩舎の 43 頭のサラブレッド系統の競馬ウマに、8 週間の期間に渡り、毎日レーストラックで激しい訓練をさせて、成績および唾液 I g A レベルに関して評価した。唾液試料は、訓練前（第 1 週）および訓練中（第 2 週 - 第 8 週）に、個々のウマから毎週収集した。ウマの成績は、I g A 試験を行っている実験室スタッフから何も知らせずに、2 人の調教師によって評価し、そして記録し、そしてその逆もまた、同様であった。8 週間終了時、上述の E L I S A 試験によって、ウマ I g A レベルに関し、すべての唾液試料を測定した。その後、2 人の調教師からの 1 から 5 の平均成績指標と、唾液 I g A レベルを、各ウマに関してマッチさせた。

【0055】

図 2 A、2 B および 2 C に示すように、評価した 43 頭のウマのうち 22 頭が、休息のため（疲労、不活発または身体的外傷）、訓練プログラムを完了するのに失敗し、13 頭のウマ（例えばウマ G W 0 0 1、G W 0 0 5、G W 0 1 1、G W 0 1 2、G W 0 2 4、G W 0 2 5、G W 0 3 2、G W 0 2 4）は、訓練プログラムにしたがって、4 週間を超えて進むのに失敗した。大部分の場合、その I g A レベルは、訓練前または訓練中のレベルと比較して、訓練プログラムから離脱した時点で、最低であった。訓練と共に I g A レベルに上昇および下降があったが、8 週間の訓練プログラムに渡って遂行に失敗したウマ（例えば G W 0 0 2、G W 0 0 6、G W 0 1 8、G W 0 1 4、G W 0 3 7、G W 0 1 4、G W 0 2 8、G W 0 3 0）もまた、先の閾値レベルと比較して、唾液 I g A レベル回復が劣っていた。顕著に対照的に、訓練プログラムを完了した 21 頭のウマは、より高いレベルの I g A を有しただけでなく（例えばウマ G W 0 1 0、G W 0 0 3、R Q 0 1 5、G W 0 1 6、G W 0 1 9、G W 0 4 4、G W 0 4 5、G W 0 4 2、G W 0 4 8、G W 0 4 6）、激しい訓練からの、唾液 I g A レベルのより優れた回復、および調教師に評価されるような、優れた成績も有した（図 3 A、3 B および 3 C）。総合すると、該データは、唾液 I g A レベルの測定に基づいて、激しい訓練などのストレス要因が、ウマの成績または疲労レベルまたは遂行潜在能力に与える影響を評価する方法の最初の証拠を提供する。

【0056】

さらに、訓練中に I g A または I g G いずれかの唾液レベルの低下を監視し、その後、指定した期間に渡り、これらの免疫グロブリン唾液レベルの回復を監視して、これを、ウマが訓練プログラムを完了するかどうか、そして最適成績を達成するため、訓練中、ウマをどのように管理する必要があるかの有用な予測因子として、使用可能である。また、I g A の出発レベルは、持続した成績および/または特定の訓練プログラムの適切さの優れた指標である。

【0057】

予備的解析は、研究で得たデータをどのように使用可能であるかの例を提供する。I g A データは、例えば、以下のことを示す：

10

20

30

40

50

・ウマが訓練プログラムを切り抜けるのに成功するかどうかを予測可能である（第7週および第8週前後の高いV Aスコアに注目されたい） - すなわち21 / 22頭のウマは、3.5のV A Sを有する。 < 3.5のV A Sを持つ1頭の馬は、0時点で、低い（ < 50 E U / m l ） I g Aレベルを有した。訓練プログラムの前半でのV A Sは、結果を予測しない。

【0058】

・最初（訓練前）のI g Aレベルは結果と相関した：

【0059】

【表5】

		IgA	
		< 50EU	< 25EU
(i) 低レベル	訓練完了せず (21) (TNC)	12	10
	訓練完了 (22) (TC)	9	7
		>100EU	>100EU (第2週に+ > 50)
(ii) 高レベル	訓練完了せず (21) (TNC)	3	0
	訓練完了 (22) (TC)	9	7*

10

20

【0060】

* 第2週で < 50 E Uであった2頭のウマは、続いて反発し、そしてその後、持続するI g Aレベルを有した。

・I g Aプロフィール決定もまた、有用である可能性があり、例えば、訓練を成功裡に完了するのに失敗したが、大半の時間、訓練に残ったウマはいずれも、持続したレベル（特に50 E Uを超える）のI g Aを持たなかった（7頭の被験体）。しかし、訓練を成功裡に完了したウマの、22頭のうち18頭が、持続する高レベルの唾液I g Aを有した。最終的に訓練を完了するのに失敗したウマでは、 < 50 E UのI g Aしか、連続して毎週回復しない頻度が、3倍増加していた。

30

【0061】

実施例6：I g Aは、訓練監視にどのように使用可能であるかの例

この実施例の目的のためのI g Aの絶対値は重大ではなく、そして切り捨て値のみが指針である。

(i) 訓練開始および1週間の訓練後（I g AレベルをE Uで示す）

40

・休息レベルで > 100 E U、第1週に > 50 E U - 修正なしに標準的（例えば8週間に渡る）訓練を完了する非常に高い確率。

(i i) ・毎週連続する < 50 E Uのレベルは、成績低下の高いリスクを同定する。

【0062】

・訓練の特に後半で、レベルを持続する（特に > 50 E U）のに失敗することは、成績低下を予測する。

(i i i) ・個体の低レベル（ < 50 E U ）

例えば < 50 E Uの値に関して

【0063】

【表6】

50

	V A S	
	<3.0	>3.0
訓練完了	12% *	8%
訓練完了に失敗	28%	9%

【 0 0 6 4 】

* 総測定 の %

・ 試料収集時、V A S に関して < 3 . 0 にランキングされる確率が 2 倍、しかし、これは、ウマが「完了失敗」群にある場合、3 倍である。

10

【 0 0 6 5 】

(i v) 個体の高レベル (> 1 0 0 E U)

・ 概して、> 3 . 0 の V A S が、3 倍の確率 (「完了群」では 4 倍) 。したがって、個体の測定は、リスク評価に価値を有する。

【 0 0 6 6 】

特定の時点での調教師の評価は、訓練プログラムの完了に関する優れた予測因子ではない (特にプログラムの前半) 。

本研究で得たデータには、当業者に明らかに認識されるであろう、他の重要な知見が含まれ、そして慣用的な統計法 (コンピューター補助を伴いまたは伴わず) をこの解析に使用可能である。

20

【 0 0 6 7 】

したがって、激しい訓練中の訓練後回復期における定期的な唾液 I g A レベルの解析は、競馬ウマの訓練強度を監視し、そして予測するのに価値を有する。異常、下降、および持続されないレベル (すなわち、例えば 5 0 E U 未満に低下すること) は、ウマが訓練を完了しない可能性を最も優れて予測する。

【 0 0 6 8 】

激しい訓練期に入るウマは、休息 I g A レベルおよび評価した潜在的な成績に基づいて、成績低下の傾向があると評価可能である - 特に、激しい訓練 1 週間後の回復レベルが優れている (例えば 5 0 E U) 場合、有用な指標は、高い休息時 I g A レベル (例えば > 1 0 0 E U) である。これは、訓練プログラムから優れた結果が得られる高い確率を示し、そしてすべてのウマの 1 5 - 2 0 % に相当するが、訓練を完了した群全体のおよそ 5 0 % である。これらの数字が、研究した特定の実施例に関連し、そしてウマのコホートは、訓練パターンに応じて多様であろうことが認識されるであろう。ベースラインまたはプロフィールパターンのため、成績低下のリスクにあることが見出されたウマは、訓練強度の改変から利益を得る可能性があることもまた、認識されるであろう。

30

【 0 0 6 9 】

したがって、唾液 I g A の測定、並びに傾向および個体プロフィールの作成を、個々に、または組み合わせて用いて、そして訓練スケジュール、休息期間、心理学的パラメーター、成績およびそれらに匹敵するものに関して、管理戦略を決定し、そして最適化することが可能である。

40

【 0 0 7 0 】

本発明は特定の実施例および好ましい態様に関して記載してきているが、本発明の原理および精神と一致する変動および修飾もまた、意図され、そして当業者に理解されることが理解されるであろう。

【 図面の簡単な説明 】

【 図 1 】 ウマにおける唾液 I g A レベルおよび成績の間関係

【 図 2 】 (A 、 B 、 C) : 8 週間の訓練を完了するのに失敗したウマ (すなわち劣った成績および / または外傷のため、休息させたウマ) における I g A レベルおよび平均視覚的アナログスコア (V A S) (バーの上) 。

【 図 3 】 (A 、 B 、 C) : 8 週間の訓練プログラムを完了したウマにおける I g A レベル

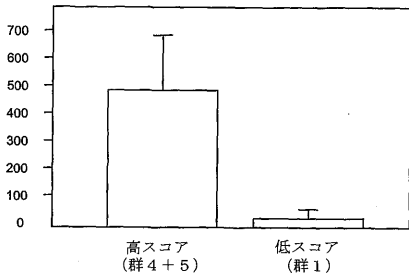
50

および平均 V A S (バーの上)。

唾液 I g A レベル (棒グラフ) および調教師の成績指標 (棒グラフの上に示す) を個々のウマで測定した。I g A レベルは、E L I S A によって測定し、そして結果を m l あたりの E L I S A 単位 (E U) で表した。成績スコアは以下のとおりであった: 1 - 1 . 5、劣っている、2 - 2 . 5、普通; 3 - 3 . 5; 優れている、4 - 4 . 5、非常に優れている; 5、傑出している。各ウマは、図のパネルに示したコードによって同定した。

【 図 1 】

唾液 IgA
(EU/ml - 平均 ± 1 SE)



【 図 2 】

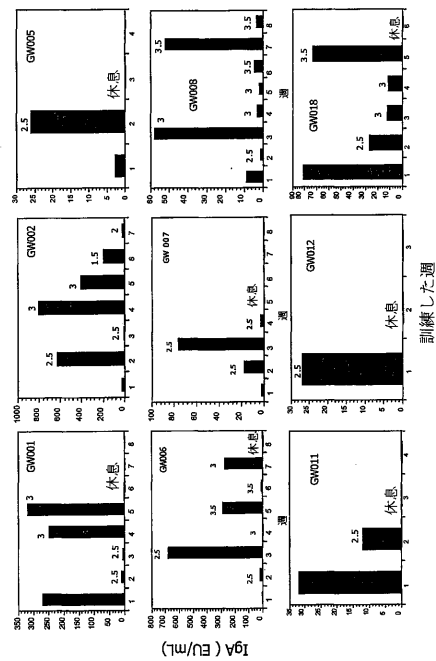


図 2 A

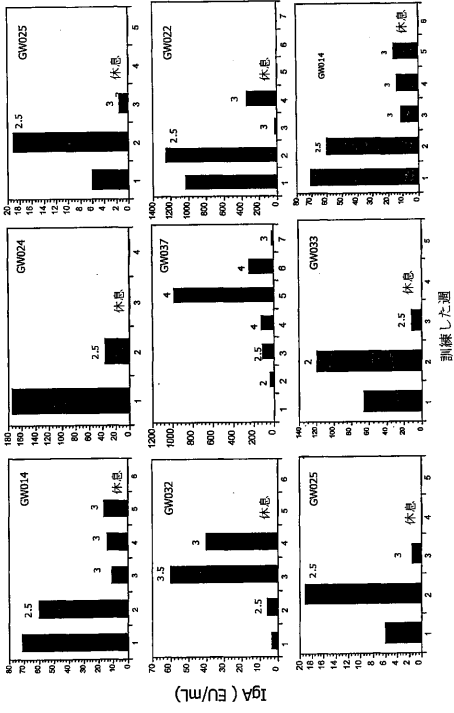


図 2 B

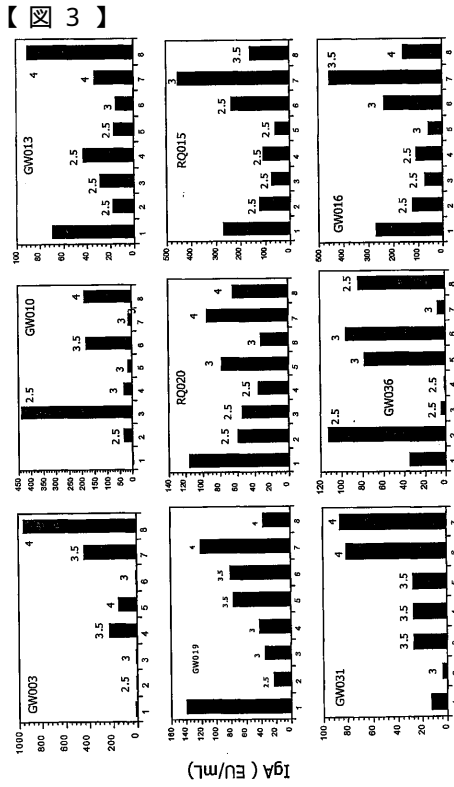


図 3 A

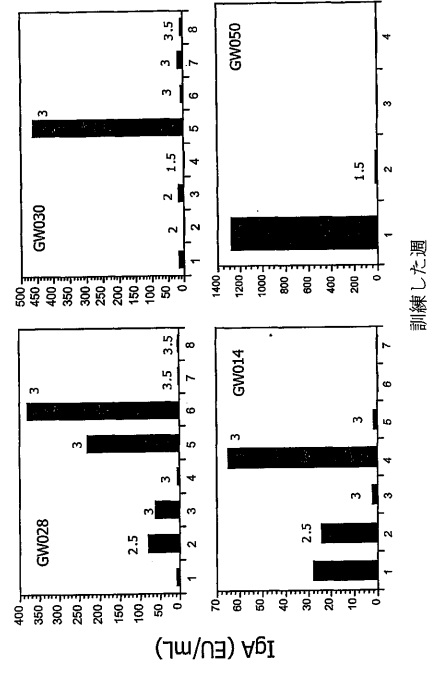


図 2 C

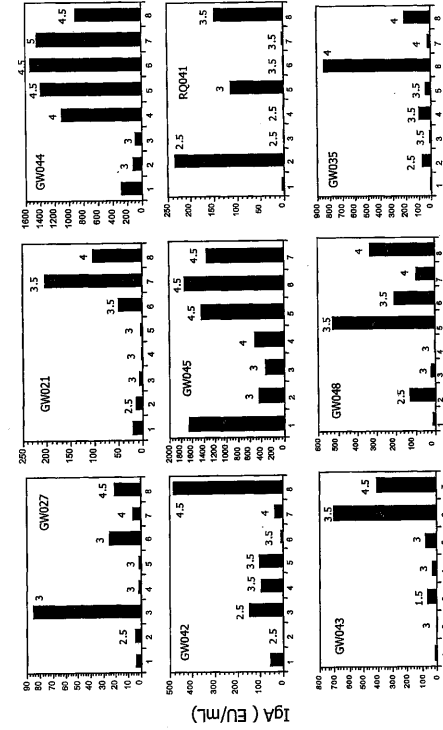


図 3 B

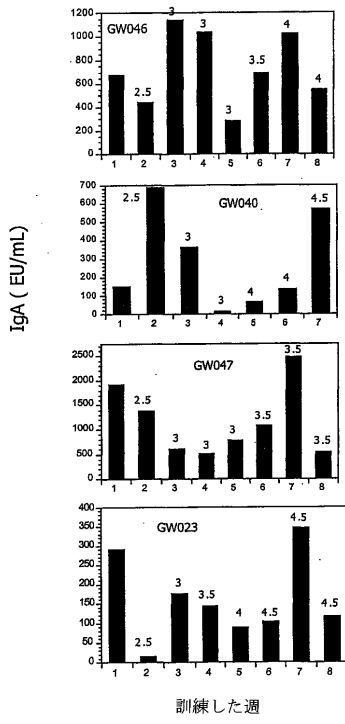


図 3 C

【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
7 March 2002 (07.03.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/18943 A1

(51) International Patent Classification: G01N 33/53, 33/68, 33/96, 33/543, A61B 10/00 (74) Agent: BALDWIN SHELSTON WATERS, 60 Margaret Street, Sydney, NSW 2000 (AU).

(21) International Application Number: PCT/AU01/01085

(81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(22) International Filing Date: 29 August 2001 (29.08.2001)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
PQ 9736 29 August 2000 (29.08.2000) AU
PR 1015 25 October 2000 (25.10.2000) AU

(84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BI, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Applicant (for all designated States except US): EQUINE ALERT PTY LTD [AU/AU], 8th Floor, 19 Pier Street, Perth, WA 6000 (AU).

Published:
— with international search report

(72) Inventors: and

(75) Inventors/Applicants (for US only): CLANCY, Robert, Llewellyn [AU/AU], 11 High Street, Newcastle, NSW 2300 (AU), PANG, Gerald [AU/AU], 4/25 Billyard Avenue, Elizabeth Bay, NSW 2011 (AU).

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.



WO 02/18943 A1

(54) Title: METHODS FOR PREDICTING IMPAIRED PERFORMANCE IN EQUINES

(57) Abstract: The present invention is concerned with methods of assessing performance and performance potential in horses using measurement of immunoglobulin levels, particularly levels of IgA and/or IgG. The invention is also concerned with methods for predicting impaired performance, fatigue and/or susceptibility to infection in horses exposed to stressors, in particular physical stressors.

- 1 -

"METHODS FOR PREDICTING IMPAIRED PERFORMANCE IN EQUINES"**TECHNICAL FIELD**

5 The present invention is concerned with measurement of immunoglobulins in biological fluids as a method of detecting impaired performance, fatigue and/or infection. More specifically the present invention is concerned with measurement of salivary IgA and/or IgG in horses as a determinant of fatigue, impaired performance or risk of impaired performance, poor potential to perform and/or infection.

BACKGROUND ART

10 A significant database exists in man which links salivary IgA levels with impaired performance in athletes in a reciprocal fashion. Recent data has shown that essentially all elite athletes have EB virus DNA incorporated in B cell genome and that in those with low IgA levels and inappropriate high volume of training activates EBV excretion as a mechanism of fatigue and impaired performance. There has been no studies in any other animal model to develop an assay to monitor impaired performance, fatigue and/or infection. Whether or not immunoglobulin levels in various biological fluids can be used to monitor or assess impaired performance in any other species (EBV is specific for a limited number of animal species) is not known. More specifically, EBV does not infect horses.

Racing horses and those participating in other sports such as polo and the like are exposed to severe competition stress as well as to training/exercise stress. It would be important to monitor exercise levels and stresses imposed by competition, to enable appropriate training and rest programs to be implemented where required at the appropriate time.

25 Thus there is a need for a suitable test to monitor impaired performance, fatigue and/or predict susceptibility to infection, or for assessing risk of poor performance or potential to perform, in horses exposed to physical or other stress, to enable changes in training programs to be made or to use intervention therapy where appropriate.

30 It is an object of the present invention to overcome or ameliorate the deficiencies of the prior art, or to provide a useful alternative.

- 2 -

SUMMARY OF THE INVENTION

Measurement of IgA in humans has proved to be a valuable tool in the assessment of stress-induced fatigue and/or infection susceptibility. It was unexpectedly found that salivary immunoglobulin levels, in particular IgA and/or IgG, in horses exposed to physical stress such as training or competition can be an indicator of fatigue and/or susceptibility to infection or poor potential. Further, if the decrease in IgA and/or IgG levels which occurs after exposure to a stressor is not recovered rapidly, prolonged reduction in levels of these immunoglobulins results in susceptibility to infection and/or fatigue and thus reduced performance. As mentioned above, reduced IgA and/or IgG levels are an indicator not only of fatigue but also of susceptibility to infection. Thus the rate of recovery of IgA and/or IgG levels is also a good indicator of susceptibility to infection or poor potential to perform.

According to a first aspect, the invention provides a method for predicting performance potential, impaired performance, fatigue and/or potential susceptibility to infection in horses exposed to stressor(s) including:

- (a) determination of immunoglobulin A (IgA) and/or immunoglobulin G (IgG) level in a training phase; and
- (b) prediction of impaired performance, fatigue and/or susceptibility to infection by comparison of the training phase IgA and/or IgG level with a predetermined threshold value.

According to a second aspect, the invention provides a method for assessing and/or monitoring suitability of a physical training program for horses, including:

- (a) determination of IgA and/or IgG level in a pre-training phase;
- (b) determination of IgA and/or IgG level at intervals during a training phase and
- (c) comparing IgA level during training phase with IgA and/or IgG levels in pre-training phase and thereby assessing suitability of the physical training program.

According to a third aspect, the invention provides a method for assessing the impact of stressor(s) on a horse's performance and/or fatigue levels, as defined herein, including:

WO 02/18943

PCT/AU01/01085

- 3 -

- (a) determination of salivary IgA and/or IgG level; and
- (b) assessing the impact of the stressor or stressors on the horse's performance and/or fatigue levels by comparison of said IgA and/or IgG level with a predetermined threshold value.

5 According to a fourth aspect, the invention provides a method for assessing potential susceptibility to respiratory infection in a horse, including:

- (a) determining the salivary IgA and/or IgG level in early training phase; and
 - (b) predicting the potential susceptibility to respiratory infection by
- 10 comparison of the early training phase IgA and/or IgG level with a predetermined threshold value.

According to a fifth aspect, the invention provides a method for assessing potential susceptibility to fatigue/infection, impaired performance or potential to perform in horses, including:

- 15 (a) determining the IgA and/or IgG level after exposure to stressor(s);
 - (b) allowing a recovery period as herein defined;
 - (c) determining the IgA and/or IgG level after the recovery period;
 - (d) predicting the potential susceptibility to fatigue/infection or
- 20 impaired performance by comparison of the IgA and/or IgG level at step (a) above with the IgA and/or IgG level at step (c) above.

According to a sixth aspect, the invention provides a method for designing a training program for a horse, including:

- (a) determining the salivary IgA and/or IgG level before training begins,
 - 25 (b) determining the salivary IgA and/or IgG level in early training phase,
 - (c) determining the salivary IgA and/or IgG level during optimal training phase and/or during competition or severe physical stress,
 - (d) establish an IgA and/or IgG profile for the horse using levels
- 30 obtained in steps (a) to (c) to design a training program which maintains stable levels of IgA and/or IgG.

According to a seventh aspect, the invention provides a method for designing a training program for a horse, including the determination of salivary

WO 02/18943

PCT/AU01/01085

- 4 -

IgA and/or IgG levels at the time periods selected from one or more of the following:

- (a) before training begins,
- (b) in early training phase,
- 5 (c) during optimal training phase and/or during competition or severe physical stress.

According to an eighth aspect, the invention provides a method for assessing performance potential of a horse including:

- 10 (a) determination of immunoglobulin A (IgA) and/or immunoglobulin G (IgG) level before training begins; and
- (b) prediction of poor performance potential by comparison of the IgA and/or IgG level with a predetermined threshold value.

According to a ninth aspect, the invention provides a method for assessing performance potential of a horse, including:

- 15 (a) determining the IgA and/or IgG level before training begins,
- (b) determining the IgA and/or IgG level in early training phase,
- (c) establishing an IgA and/or IgG profile for the horse using levels obtained in steps (a) to (b) and using said profile to predict poor performance potential by comparison of the IgA and/or IgG level with a
- 20 predetermined threshold value.

According to a tenth aspect, the invention provides a method for predicting the capacity of a horse to complete a training program, including:

- (a) determining the IgA and/or IgG level before training begins,
- (b) determining the IgA and/or IgG level in early training phase,
- 25 (c) establishing an IgA and/or IgG profile for the horse using levels obtained in steps (a) to (b) and using said profile to predict the capacity of a horse to complete a training program by comparison of the IgA and/or IgG level with a predetermined threshold value.

The methods of the present invention are preferably used in conjunction

30 with trainer assessment .

Preferably, the immunoglobulin level is determined in saliva because it is least invasive, but other biological fluids may also be used, for example blood, tears, reproductive and respiratory tract fluids, and the like. It will also be

WO 02/18943

PCT/AU01/01085

- 5 -

understood that levels IgA and/or IgG subclasses may be useful in the assessment of fatigue and/or infection. Immunoglobulin subclasses may also be used.

5 Preferably, the threshold value is an internal individual threshold value, usually obtained at rest or before training, if a horse is to be trained or exposed to physical stress. This enables an individual profile to be established and used in the assessment of potential performance capability or in designing an appropriate training program. However, in certain applications and in certain instances the normal threshold value may be determined in samples obtained
10 from normal horses or from published data on normal horse IgA and/or IgG levels.

Preferably, the salivary immunoglobulin is from a sample of whole unstimulated saliva and most preferably the saliva sample is not a fasting sample.

15 Preferably, the horse is a racing or other competition horse.

Preferably, the stressor is known to influence the efficacy of the immune system.

Preferably, the horse is exposed to a physical and/or physiological stressor. Preferably, the physical and/or physiological stressor is long-term
20 physical training, overtraining or competition.

Preferably, the immunoglobulin level is determined by ELISA or by a similar immunoassay. Preferably, the saliva is analysed for the immunoglobulin content *in situ* by contacting an assay device or system with the saliva of a horse.

25 In the context of the present invention, the word "stressor" includes within its meaning but is not limited to physical, physiological, psychological and nutritional stressors which include fatigue.

In the context of the present invention, the word "performance" includes within its meaning performance in relation to other horses, or performance in
30 relation to individual performance level or potential to perform. Similarly, the term "fatigue" includes within its meaning fatigue in relation to other horses or fatigue in relation to individual fatigue level.

WO 02/18943

PCT/AU01/01085

- 6 -

While the present invention has been exemplified by examples relating to horses exposed to a physical stressor, it will be clear to those skilled in the art that similar assessment of fatigue and/or susceptibility to infection will apply to other stressful activities.

5 In the context of the present invention the term "recovery period" includes a period of rest after exposure to a stressor or stressors. The appropriate length of time for recovery will be determined by the skilled addressee and will vary with the type of stressor and the type of horse.

10 Although the present invention has been described predominantly in the context of assessing impaired performance and fatigue it will be understood by those skilled in the art that the same principles can be applied to susceptibility to infection, including reactivation of latent infection and performance potential.

BRIEF DESCRIPTION OF THE FIGURES

Figure 1: Relationship between salivary IgA levels and performance in horses

15 **Figure 2 (A,B,C):** IgA levels and mean visual analogue scores (VAS) (above bars) in horses failing to complete eight weeks training (ie horses spelled due to poor performance and/or injury).

Figure 3 (A,B,C): IgA levels and mean VAS (above bars) in horses completing the eight week training programme.

20 Salivary IgA levels (bar graph) and trainers' performance indicators (shown top of the bar graph) were determined in individual horses. IgA levels were determined by ELISA and the results expressed as ELISA UNITS (EU) per mL. The performance score was as follows: 1-1.5, poor, 2-2.5, fair; 3-3.5; good, 4-4.5, very good; 5, outstanding. Each horse was identified by a code shown in
25 the figure panel.

DESCRIPTION OF THE PREFERRED EMBODIMENT

To enable measurement of equine IgA, an ELISA assay has been developed to detect the amount of IgA in horse saliva. The use of such an assay enables determination of salivary IgA levels in horses and thus provides
30 means of assessing the consequences of training and the onset of fatigue and impaired performance. Fatigue may also be a consequence of infection resulting from physical stress and thus the assay may be used to assess

WO 02/18943

PCT/AU01/01085

- 7 -

susceptibility or predisposition to infection commonly encountered in horses, eg. common respiratory tract infections associated with equine flu, Streptococcus equi and equine herpes virus.

To exemplify the present invention, the assay has been used to measure saliva obtained from rested and exercised/trained horses. Saliva IgA levels were measured in 29 polo horses in the middle of a major competition where the horses were variably stressed. There was a remarkable variation in IgA levels in these healthy horses (1.69 to 579 ELISA units (EU)). This wide range is outside that expected for a homogenous population. It is therefore likely that it reflects a stress response, with low levels of IgA indicating risk of impaired performance, fatigue and/or susceptibility to infection.

Studies were also performed on racehorses in a similar manner, to obtain data which can be used to assess performance and design suitable training programs.

The invention will now be described more particularly by reference to specific but non-limiting examples.

EXAMPLES

Example 1: Saliva collection

1. Horse saliva was collected by aspiration from the floor of the oral cavity using a cannula attached to a 10 mL syringe. The cannula was then detached from the syringe and placed on dry ice until processed in the laboratory.

2. The entire content from the cannula was emptied into a 1.5 mL Eppendorf tube and then centrifuged at 5000 rpm for 20 secs.

3. 0.2-0.5 mL of saliva fluid was collected by pipetting into an Eppendorf tube, placed on ice and then stored at -70°C until assay.

Saliva collection using a modified procedure

To collect a larger volume of saliva, the oral cavity of the horse was swabbed all around with a cotton bud. The saliva soaked cotton bud was then placed in a 20 ml syringe barrel into which the plunger is then applied to squeeze the saliva from the cotton bud into a sterile collection tube. Using this

WO 02/18943

PCT/AU01/01085

- 8 -

procedure, a total of 0.25-1.5 mL of horse saliva can be collected. After centrifugation to remove debris, the saliva is then stored at -20°C until assay.

Example 2: ELISA assay for IgA and IgG

1. Wells of a 96-well microtitre plate were coated with rabbit anti-IgG or anti-IgA (Bethyl Laboratories, Sydney NSW) at 1 :1000 dilution in sodium borate buffer (pH8) overnight at 4°C.
2. After washing with 1% Tween 20 in PBS, the wells were blocked with 2% BSA (100 µL) in PBS for 1 hr at room temperature.
3. After a removal of blocking buffer, the wells were washed in PBS/Tween and the excess buffer removed by tapping on a paper towel.
4. Horse saliva at 1:2000-1:5000 dilution in PBS/Tween was added in 100 µL aliquots to each well and incubated for 1 hr at room temperature. Horse serum (Hunter Antisera, Newcastle, NSW) was added as a calibrator for IgG and IgA.
5. After the wells were washed in PBS/Tween and peroxidase conjugated sheep anti-IgA or anti-IgG (ICN Biomedicals, Seven Hills, NSW) in 100 µL aliquots were added to each well.
6. After incubation for 1 hr, the wells were washed in PBS/Tween followed by adding to each well 100 µL aliquots of an enzyme substrate tetramethylbenzidine (TMB) solution.
7. After 20 mins incubation, the colour reaction was stopped by adding 2M H₂SO₄ solution and the absorbance read at 450 nm in an ELISA plate reader. The results were expressed as ELISA UNITS (EU) being absorbance of test samples interpolated from the linear portion of the calibration curve constructed from dilutions of a standard horse serum with a concentration of IgA at 1,000 EU.

The ELISA assay may be used in many different formats, eg. visual readout-type, dip-stick, and the like, all known to those skilled in the art. Other suitable immunoassays may also be used and again will be known to those skilled in the art.

WO 02/18943

PCT/AU01/01085

- 9 -

Example 3: Salivary immunoglobulin levels in horses

The range of IgA and IgG concentrations in saliva from 28 'resting' thoroughbred horses after exercise or polo competition is shown in Table 1. The range of IgA concentrations except for one horse were significantly higher than 5 IgG ($p < 0.011$), suggesting that the presence of local production and active transport of IgA into secretion.

Table 1. HORSE SALIVA IgA and IgG

	IgA EU/mL	IgG EU/mL
10	46.0	3.80
	38.1	9.70
	340.0	15.60
	16.4	2.50
15	542.0	7.60
	14.8	11.20
	118.5	6.80
	11.1	3.84
	43.2	6.91
20	6.9	8.20
	43.4	3.20
	18.3	3.50
	170.0	14.00
	12.7	1.90
25	5.1	1.23
	20.6	8.80
	43.0	8.10
	125.0	13.80
	22.7	4.60
30	35.5	20.10
	579.0	57.50
	19.6	4.40
	7.8	4.60
	19.2	8.70
35	23.9	2.90
	26.3	5.60
	22.0	2.70
	8.2	23.50
40	Mean \pm SEM	
	84.97 \pm 28.6	9.47 \pm 2.1
	(n= 28)	(n= 28)

WO 02/18943

PCT/AU01/01085

- 10 -

The lower levels of salivary IgA may reflect slow recovery from the effect of training or after polo competition on the day when the saliva samples were collected. Evidence from human studies showed that intense exercise or overtraining in elite athletes led to immunosuppression characterised by a slower recovery of salivary IgA levels and a susceptibility to infection. Similar effects due to stress may result in horses following training or competition.

Example 4: Relationship between salivary IgA levels and performance in horses

Salivary IgA was collected from another group of horses in which assessment was also made of their performance using a visual analogue scale graded from 1 (lowest) to 5 (highest) performance as follows:

1 = poor; 2 = good; 3 = very good; 4 = excellent; 5 = outstanding

Performance was judged in relation to that expected from a particular animal.

The data is presented in Table 2 below. Figures in the table represent salivary IgA levels in EU/ml. For purposes of statistical analysis of the data where appropriate, score groups 4 and 5 were combined and compared with group 1.

Table 2: Relationship between performance score and salivary IgA levels

PERFORMANCE SCORE (1- 5)					
HORSE NAME	1	2	3	4	5
Santa Rigalia				132	
Spirit of Fire			59		
I'm on Fire					801
It is so		119			
Constraint					576
Horse Shoe Bend					885
Fire Chief		141			
Breaker Moran					
Bluey		147			
Gran Turismo					
Paint it Silver	75				
Nacka-Yama			434		
Copernicus				86	
Straight Answer	19				
Mary Alice	8				

WO 02/18943

PCT/AU01/01085

- 11 -

Summer Silence	46				
Crystal Glow					
Jasha Boy					
Lucrative Medal	11				
City Beach	16				

High score vs low score analysis (unpaired t-test for Elisa Units):

Mean Diff	DF	t-Value	P-Value
476	8	2.865	0.021

Group information for Elisa Units

	Count	Mean	Variance	Std Dev	Std Err
High score	5	496	137835.5	371.262	166.033
Low score	5	20	229.5	15.149	6.775

Figure 1 shows the summarised data in graphical form.

- This data suggests that a particular cut-off value of salivary IgA, for example 100 EU/ml in the present example, could be used to identify all or the majority of poor performers which may require special attention.

- Further, high levels of salivary IgA, for example 400 EU/ml or greater, in good performers can indicate that optimal training programs can be implemented but that consideration can be given to increasing training. On the other hand high levels of salivary IgA in not so good performers can be indicative of the need to increase or optimise training programs. It would be particularly useful to make use progress figures, for example weekly or monthly assessment, to detect trends, either downwards, stable or upwards, which can be integrated with training programs.

- Similarly, low levels of salivary IgA, for example less than 150 EU/ml, in good performers may indicate that the animal is at risk of loss of performance or has poor potential to perform and thus must be treated with care. Training may need to be modified or suspended and salivary IgA levels monitored closely. In poor performers low IgA levels can be indicative of the need for immediate attention and considerations of allowing the animal extensive rest periods. Levels of salivary IgA can be monitored as a guide to recovery.

- 12 -

Intermediate levels of salivary IgA may require closer monitoring to establish trends as discussed above. Whatever the performance level, IgA levels should be monitored to determine individual profiles.

Example 5: IgA levels and performance in race horses following intense training

Forty three thoroughbred race horses from two top racing stables in Sydney were assessed for performance and salivary IgA levels over a 8 week period with daily intense training at a race track. Saliva samples were collected weekly from individual horses before (week 1) and during training (week 2-8).

The horses' performances were assessed by two trainers and recorded with no knowledge from the laboratory staff performing the IgA tests and vice versa. At the end of 8 weeks, all saliva samples were measured for equine IgA levels by the ELISA test described above. Saliva IgA levels with the mean performance indicators from 1 to 5 from two trainers were then matched for each horse.

As shown in Figs 2A, 2B and 2C, 22 of 43 horses evaluated failed to complete the training program due to spelling (fatigue, inactivity or physical injury) with 13 horses (eg. horses GW001, GW005, GW011, GW012, GW024, GW025, GW032, GW 024) failed to progress beyond 4 weeks following the training program. In most cases, their IgA levels were lowest at the time when they were withdrawn from the training program compared with levels before training or during training. While there was a rise and fall in the IgA levels with training, horses (eg. GW002, GW006, GW018, GW014, GW037, GW014, GW028, GW030) which failed to perform over the 8 week training program also had poor recovery of salivary IgA levels compared with previous threshold levels. In marked contrast, 21 horses which completed the training program not only had higher levels of IgA (eg. horses GW010, GW003, RQ015, GW016, GW019, GW044, GW045, GW042, GW048, GW046) but also had a better recovery of salivary IgA levels from intense training and a superior performance as assessed by the trainers (Figs. 3A, 3B and 3C). Taken together, the data provides the first evidence of a method for assessing the impact of a stressor

WO 02/18943

PCT/AU01/01085

- 13 -

such as intense training on a horse's performance or fatigue levels or potential to perform based on the determination of salivary IgA levels.

Further, the monitoring of drop in salivary levels of either IgA or IgG during training, followed by monitoring of recovery of salivary levels of these immunoglobulins over a specified period of time, can be used as a useful predictor of whether or not a horse will complete the training program and how a horse needs to be managed during training to achieve optimal performance. Also, starting levels of IgA are good indicators of sustained performance and/or suitability for a particular training program.

Preliminary analysis provides examples of how the data obtained in the study can be used. The IgA data indicate for example that:

- It can be predicted whether or not a horse will successfully survive the training programme (note high VA scores around weeks 7 & 8) - ie 21/22 horses have VAS's of ≥ 3.5 . The one horse with a VAS of < 3.5 had a zero time low (< 50 eu/ml) IgA level. VAS's in the first half of the training programme do not predict outcome.
- Initial (pre-training) IgA levels correlated with outcome:

		IgA	
		< 50EU	< 25EU
25	(i) Low levels		
	training non completed (21) (TNC)	12	10
30	training completed (22) (TC)	9	7
		>100EU	>100EU (+>50at week 2)
35	(ii) High levels		
	training non completed (21) (TNC)	3	0
	training completed (22) (TC)	9	7*

WO 02/18943

PCT/AU01/01085

- 14 -

* The two horses with <50EU at week 2, subsequently had rebound and then sustained IgA levels.

- IgA profiling can also be useful, eg. none of those failing to complete training successfully, but who remained training for most of the time, had sustained levels (especially greater than 50 eu's) of IgA (seven subjects). Of those successfully completing training, however, 18 of 22 had sustained high levels of salivary IgA. There was threefold increase in frequency of consecutive weekly recoveries of IgA of <50 EUs in horses that eventually failed to complete training.

Example 6: An example of how IgA can be used for monitoring training

The absolute values of IgA for the purposes of this example are not critical and the cut off values are only a guide.

- (i) Training onset and after one week's training (IgA levels given in EU's)
- >100 EU with resting level at one week >50EU - very high chance of completing standard training (say over eight weeks) without modification.
 - (ii) • Consecutive weekly levels of <50EU's identifies high risk of impaired performance.
 - Failure to sustain levels (especially >50EU's) particularly in second half of training predicts impaired performance.
 - (iii) • Individual low levels (<50EU's),
eg. for values <50EU's

	V A S	
	<3.0	>3.0
Completed training	12% *	8%
Fail to complete training	28%	9%

* % of total measurements

WO 02/18943

PCT/AU01/01085

- 15 -

- Twice the chance of ranking <3.0 on VAS at time of sample collection, but this is threefold if horse is in 'fail to complete' group.

5 (iv) **Individual high levels** (>100EU's)

- Overall, threefold chance of a VAS of >3.0 (in 'completed group', this is fourfold). Thus - individual measurements have value in assessment of risk.

10 Trainer's assessment at particular points are not good predictors for completion of training programme (particularly in first half of programme).

The data obtained in this study includes other significant findings, which will be clearly recognised by those skilled in the art, and conventional statistical methods (with or without computer assistance) can be used for its analysis.

15 Thus, analysis of regular saliva IgA levels in the post training recovery phase during intense training has value in monitoring and predicting training intensity of race horses. Erratic, declining, and non-sustained levels (ie. falling below for example 50EU) best predict horses likely not to complete training.

20 Horses entering an intense training phase can be assessed as prone to impaired performance based on resting IgA levels and their potential performance assessed- a valuable indicator is a high resting IgA level (for example >100EU), particularly if good recovery levels after one week of intense training (for example ≥50EU). This represents high chance of quality outcome from training programme and represents 15-20% of all horses, but approximately 50% of total group completing training. It will be recognised that these figures relate to the
25 particular example studied, and that cohorts of horses will vary depending on training patterns. It will also be recognised that horses found to be at risk of impaired performance because of baseline or profile patterns, may benefit from altered intensity of training.

30 Thus, measurement of salivary IgA and the establishment of trends and individual profiles can be used individually or in combination to determine and

WO 02/18943

PCT/AU01/01085

- 16 -

optimise management strategies with respect to training schedules, rest periods, psychological parameters, performance and the like.

Although the present invention has been described with reference to certain examples and preferred embodiments it will be understood that
5 variations and modifications which are in keeping with principles and the spirit of the invention are also contemplated and will be understood by those skilled in the art.

THE CLAIMS DEFINING THE INVENTION ARE AS FOLLOWS:

1. Method for predicting performance potential, impaired performance, fatigue and/or potential susceptibility to infection in horses exposed to stressor(s) including:
 - 5 (a) determination of immunoglobulin A (IgA) and/or immunoglobulin G (IgG) level in a training phase; and
 - (b) prediction of impaired performance, fatigue and/or susceptibility to infection by comparison of the training phase IgA and/or IgG level with a predetermined threshold value.
- 10 2. Method for assessing and/or monitoring suitability of a physical training program for horses, including:
 - (a) determination of IgA and/or IgG level in a pre-training phase;
 - (b) determination of IgA and/or IgG level at intervals during a training phase and
 - 15 (c) comparing IgA level during training phase with IgA and/or IgG levels in pre-training phase and thereby assessing suitability of the physical training program.
3. Method for assessing the impact of stressor(s) on a horse's performance and/or fatigue levels, as defined herein, including:
 - 20 (a) determination of salivary IgA and/or IgG level; and
 - (b) assessing the impact of the stressor or stressors on the horse's performance and/or fatigue levels by comparison of said IgA and/or IgG level with a predetermined threshold value.
4. Method for assessing potential susceptibility to respiratory infection in a
25 horse, including:
 - (a) determining the salivary IgA and/or IgG level in early training phase; and
 - (b) predicting the potential susceptibility to respiratory infection by comparison of the early training phase IgA and/or IgG level with a
30 predetermined threshold value.
5. Method for assessing potential susceptibility to fatigue/infection in horses, including:
 - (a) determining the IgA and/or IgG level after exposure to stressor(s);

WO 02/18943

PCT/AU01/01085

- 18 -

- (b) allowing a recovery period as herein defined;
 - (c) determining the IgA and/or IgG level after the recovery period;
 - (d) predicting the potential susceptibility to fatigue/infection by comparison of the IgA and/or IgG level at step (a) above with the
5 IgA and/or IgG level at step (c) above.
6. Method for designing a training program for a horse, including the determination of salivary IgA and/or IgG levels at the time periods selected from one or more of the following:
- (a) before training begins,
 - 10 (b) in early training phase,
 - (c) during optimal training phase and/or during competition or severe physical stress.
7. Method for designing a training program for a horse, including:
- (a) determining the salivary IgA and/or IgG level before training
15 begins,
 - (b) determining the salivary IgA and/or IgG level in early training phase,
 - (c) determining the salivary IgA and/or IgG level during optimal training phase and/or during competition or severe physical stress,
 - 20 (d) establish an IgA and/or IgG profile for the horse using levels obtained in steps (a) to (c) to design a training program which maintains stable levels of IgA and/or IgG.
8. A method according to claim 7, wherein the training program of step (d) is
25 predetermined level.
9. Method for assessing performance potential of a horse including:
- (a) determination of immunoglobulin A (IgA) and/or immunoglobulin G (IgG) level before training begins; and
 - (b) prediction of poor performance potential by comparison of the IgA
30 and/or IgG level with a predetermined threshold value.
10. Method for assessing performance potential of a horse, including:
- (a) determining the IgA and/or IgG level before training begins,
 - (b) determining the IgA and/or IgG level in early training phase,

WO 02/18943

PCT/AU01/01085

- 19 -

- (c) establishing an IgA and/or IgG profile for the horse using levels obtained in steps (a) to (b) and using said profile to predict poor performance potential by comparison of the IgA and/or IgG level with a predetermined threshold value.
- 5 11. Method for predicting the capacity of a horse to complete a training program, including:
- (a) determining the IgA and/or IgG level before training begins,
(b) determining the IgA and/or IgG level in early training phase,
(c) establishing an IgA and/or IgG profile for the horse using levels
10 obtained in steps (a) to (b) and using said profile to predict the capacity of a horse to complete a training program by comparison of the IgA and/or IgG level with a predetermined threshold value.
12. A method according to any one of claims 1 to 11 wherein the immunoglobulin level is determined in saliva.
- 15 13. A method according to any one of claims 1 to 12 wherein the immunoglobulin is IgA or a subclass thereof.
14. A method according to any one of claims 1 to 13 wherein the threshold value is a normal threshold value determined in samples obtained from normal horses.
- 20 15. A method according to any one of claims 1 to 13 wherein the threshold value is an internal individual threshold value.
16. A method according to any one of claims 1 to 15 wherein the saliva sample is whole unstimulated saliva.
17. A method according to any one of claims 1 to 16 wherein the horse is a
25 racing or other competition horse.
18. A method according to any one of claims 1 to 17 wherein the stressor is known to influence the efficacy of the immune system.
19. A method according to any one of claims 1 to 18 wherein the immunoglobulin level is determined by an immunoassay selected from the
30 group consisting of ELISA, RIA, immunodiffusion and the like.
20. A method according to any one of claims 1 to 19, wherein the saliva is analysed for the immunoglobulin content *in situ* by contacting an assay device or system with the saliva of a horse.

WO 02/18943

PCT/AU01/01085

- 20 -

21. An assay device when used in a method according to any one of claims 1 to 20.

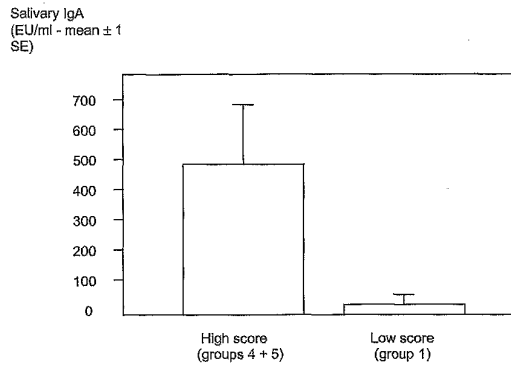


Figure 1

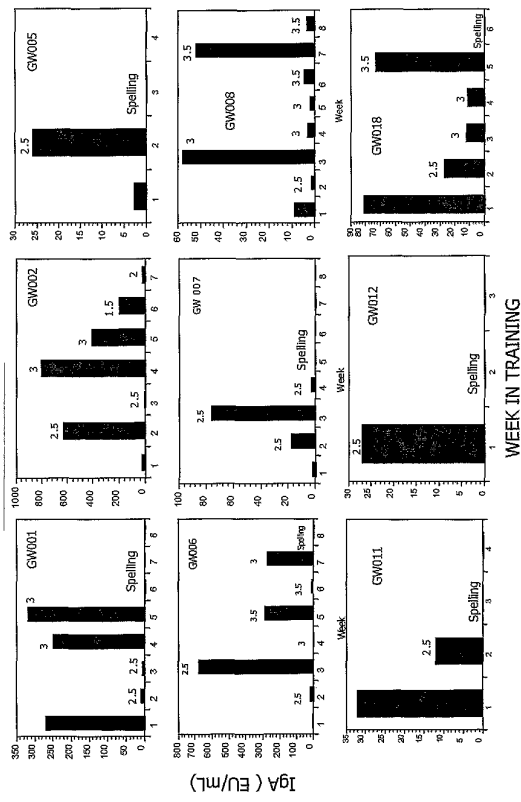


Figure 2A

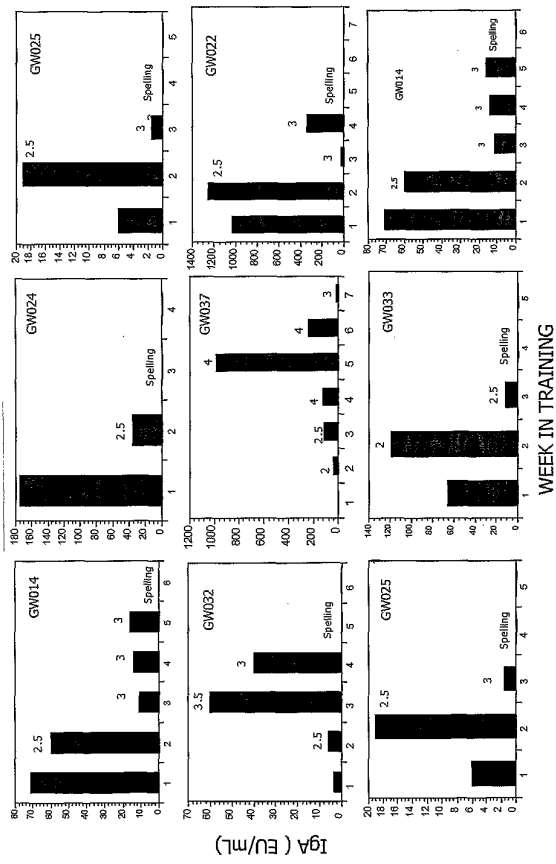


Figure 2B

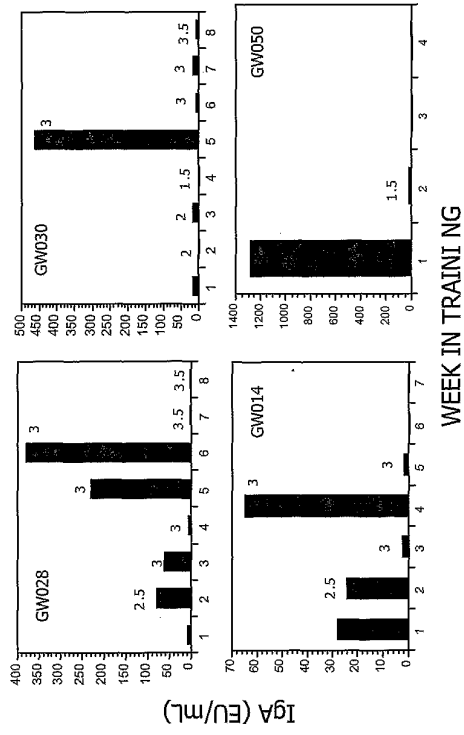
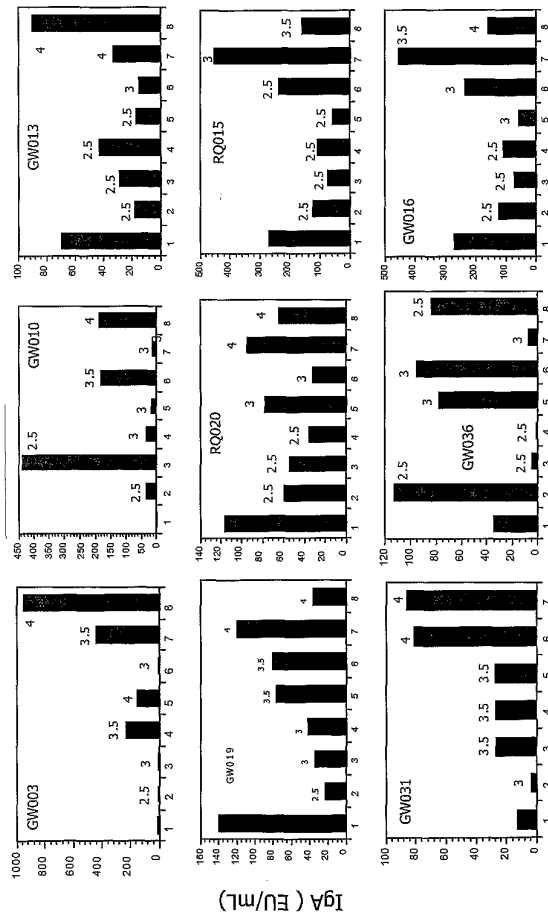


Figure 2C



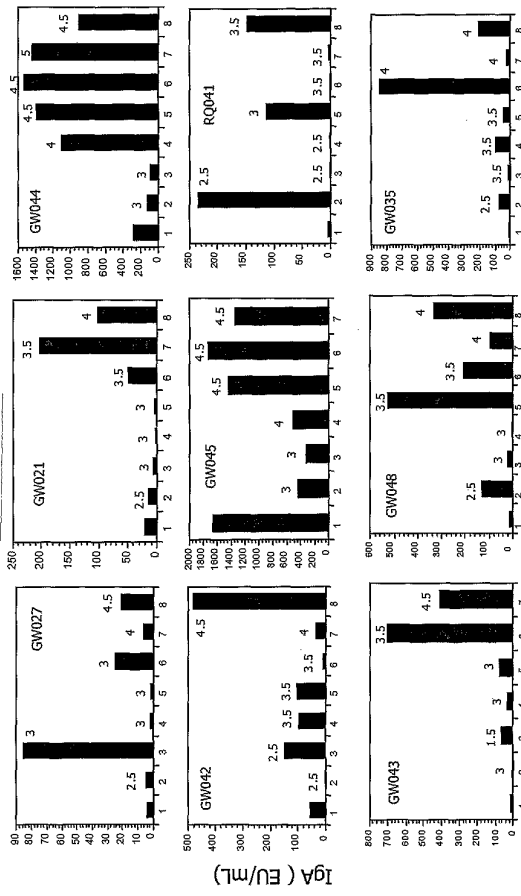
WEEK IN TRAINING

Figure 3A

WO 02/18943

PCT/AU01/01085

6/7



WEEK IN TRAINING

Figure 3B

WO 02/18943

PCT/AU01/01085

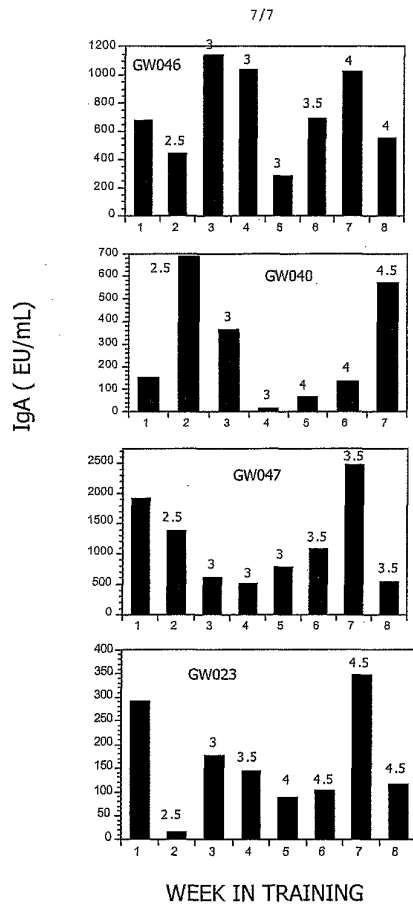


Figure 3C

【手続補正書】

【提出日】平成14年10月9日(2002.10.9)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】請求項1

【補正方法】変更

【補正の内容】

【請求項1】

ストレス要因に曝露されたウマにおいて、遂行潜在能力、成績低下、疲労および/または感染に対する潜在的な感受性を予測する方法であって：

(a) 訓練期の免疫グロブリンA(IgA)および/または免疫グロブリンG(IgG)レベルを測定し；そして

(b) あらかじめ決定した閾値と、訓練期のIgAおよび/またはIgGレベルを比較することによって、成績低下、疲労および/または感染に対する感受性を予測する

ことを含み、訓練期におけるより低いレベルにより遂行潜在能力、成績低下、疲労および/または感染に対する潜在的な感受性を予測する、前記方法。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】請求項2

【補正方法】変更

【補正の内容】

【請求項2】

ウマの身体訓練プログラムの適切さを評価し、そして/または監視する方法であって：

(a) 訓練期前のIgAおよび/またはIgGレベルを測定し；

(b) 訓練期中のIgAおよび/またはIgGレベルを、間隔を置いて測定し、そして

(c) 訓練期前のIgAおよび/またはIgGレベルと、訓練期中のIgAレベルを比較する

ことを含み、ここで、訓練期中のレベルの低下が身体訓練プログラムの適切さを示す、前記方法。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】請求項3

【補正方法】変更

【補正の内容】

【請求項3】

本明細書に定義するように、ウマの成績および/または疲労レベルに対するストレス要因の影響を評価する方法であって：

(a) 唾液IgAおよび/またはIgGレベルを測定し；そして

(b) あらかじめ決定した閾値と、前記IgAおよび/またはIgGレベルを比較することによって、ウマの成績および/または疲労レベルに対するストレス要因の影響を評価する

ことを含み、ここで、ストレス要因への曝露後におけるレベルの低下が当該ストレス要因による悪影響を示す、前記方法。

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】請求項4

【補正方法】変更

【補正の内容】

【請求項4】

ウマにおいて、呼吸器感染に対する潜在的な感受性を評価する方法であって：

(a) 訓練初期の唾液 I g A および / または I g G レベルを測定し ; そして
 (b) あらかじめ決定した閾値と、訓練初期の I g A および / または I g G レベルを比較することによって、呼吸器感染に対する潜在的な感受性を予測することを含み、訓練初期におけるより低いレベルが呼吸器感染に対する潜在的な感受性を示す、前記方法。

【手続補正 5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】請求項 5

【補正方法】変更

【補正の内容】

【請求項 5】

ウマにおいて、疲労 / 感染に対する潜在的な感受性を評価する方法であって :

(a) ストレス要因 (類) への曝露後、I g A および / または I g G レベルを測定し ;
 (b) 本明細書に定義するような回復期間を許容し ;
 (c) 回復期間後、I g A および / または I g G レベルを測定し ;
 (d) 上記工程 (c) の I g A および / または I g G レベルと、上記工程 (a) の I g A および / または I g G レベルを比較することによって、疲労 / 感染に対する潜在的な感受性を予測する

ことを含み、上記工程 (c) におけるより低いレベルが疲労 / 感染に対する潜在的な感受性を示す、前記方法。

【手続補正 6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 0 6

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 0 6】

第一の側面にしたがって、本発明は、ストレス要因に曝露されたウマにおいて、遂行潜在能力、成績低下、疲労および / または感染に対する潜在的な感受性を予測する方法であって :

(a) 訓練期の免疫グロブリン A (I g A) および / または免疫グロブリン G (I g G) レベルを測定し ; そして
 (b) あらかじめ決定した閾値と、訓練期の I g A および / または I g G レベルを比較することによって、成績低下、疲労および / または感染に対する感受性を予測することを含み、訓練期におけるより低いレベルにより遂行潜在能力、成績低下、疲労および / または感染に対する潜在的な感受性を予測する、前記方法を提供する。

【手続補正 7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 0 7

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 0 7】

第二の側面にしたがって、本発明は、ウマの身体訓練プログラムの適切さを評価し、そして / または監視する方法であって :

(a) 訓練期前の I g A および / または I g G レベルを測定し ;
 (b) 訓練期中の I g A および / または I g G レベルを、間隔を置いて測定し、そして
 (c) 訓練期前の I g A および / または I g G レベルと、訓練期中の I g A レベルを比較する

ことを含み、ここで、訓練期中のレベルの低下が身体訓練プログラムの適切さを示す、前記方法を提供する。

【手続補正 8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0008

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0008】

第三の側面にしたがって、本発明は、本明細書に定義するように、ウマの成績および/または疲労レベルに対するストレス要因の影響を評価する方法であって：

(a) 唾液 I g A および/または I g G レベルを測定し；そして

(b) あらかじめ決定した閾値と、前記 I g A および/または I g G レベルを比較することによって、ウマの成績および/または疲労レベルに対するストレス要因の影響を評価する

ことを含み、ここで、ストレス要因への曝露後におけるレベルの低下が当該ストレス要因による悪影響を示す、前記方法を提供する。

【手続補正9】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0009

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0009】

第四の側面にしたがって、本発明は、ウマにおいて、呼吸器感染に対する潜在的な感受性を評価する方法であって：

(a) 訓練初期の唾液 I g A および/または I g G レベルを測定し；そして

(b) あらかじめ決定した閾値と、訓練初期の I g A および/または I g G レベルを比較することによって、呼吸器感染に対する潜在的な感受性を予測する

ことを含み、訓練初期におけるより低いレベルが呼吸器感染に対する潜在的な感受性を示す、前記方法を提供する。

【手続補正10】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0010

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0010】

第五の側面にしたがって、本発明は、ウマにおいて、疲労/感染に対する潜在的な感受性、成績低下または遂行潜在能力を評価する方法であって：

(a) ストレス要因への曝露後、I g A および/または I g G レベルを測定し；


(b) 本明細書に定義するような回復期間を許容し；

(c) 回復期間後、I g A および/または I g G レベルを測定し；

(d) 上記工程(c)の I g A および/または I g G レベルと、上記工程(a)の I g A および/または I g G レベルを比較することによって、疲労/感染に対する潜在的な感受性または成績低下を予測する

ことを含み、上記工程(c)におけるより低いレベルが疲労/感染に対する潜在的な感受性を示す、前記方法を提供する。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/AU01/01085
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
Int. Cl. ⁷ G01N 033/53, 033/68, 033/96, 33/543, A61B 10/00		
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) Refer Electronic data base consulted below		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched AU: IPC G01N 033/53, 033/68, 033/96, 33/543, A61B 10/00		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) DWPI, JAPIO, DELPHION, ESP@CI, (KEYWORDS: IGA, IGG, HORSE, EQUINE, ELISA, STRESS*, FATIGUE, INFECTION)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	GALAN et al Mucosal nasopharyngeal immune responses of horses to protein antigens of <i>Streptococcus equi</i> Infect. Immun. (1985), 47(3), 623-8 See whole document, especially page 627 relating to immune response in horses where antibody specific and antigen specific, and for the demonstrated infection at least, independent in serum and mucus.	1, 3-5, 12-21
X	TROEDSSON et al Immunoglobulin (IgG and IgA) and complement C3 concentrations in uterine secretions following an intravaginal challenge to <i>Streptococcus zooepidemicus</i> in mares susceptible or resistant to chronic uterine infection Biol. Reprod. (1993), 49(3), 502-6 See page 504 and FIG 2.	1, 2, 5, 13-15, 17-19, 21
A	US 4911910 A (MIFFLIN et al) 27 March 1990 See whole document.	1, 2, 5, 13-15, 17-19, 21
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex		
* Special categories of cited documents: *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier application or patent but published on or after the international filing date *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) *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 *J* 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 *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 *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 *Z* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 10 October 2001		Date of mailing of the international search report 15 OCT 2001
Name and mailing address of the ISA/AU AUSTRALIAN PATENT OFFICE PO BOX 200, WODEN ACT 2606, AUSTRALIA E-mail address: pct@ipaustralia.gov.au Facsimile No. (02) 6285 3929		Authorized officer  ANTHEA HARVIE Telephone No : (02) 6283 2552

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/AU01/01085

This Annex lists the known "A" publication level patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The Australian Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

Patent Document Cited in Search Report	Patent Family Member
US 4911910	NONE
END OF ANNEX	

フロントページの続き

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,PH,PL,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VN,YU,ZA,ZW

(74)代理人 100096013

弁理士 富田 博行

(74)代理人 100091638

弁理士 江尻 ひろ子

(72)発明者 クランシー, ロバート・ルレウェリン

オーストラリア国ニューサウスウェールズ 2300, ニューキャッスル, ハイ・ストリート 1

(72)発明者 パング, ジェラルド

オーストラリア国ニューサウスウェールズ 2011, エリザベス・ベイ, ビルヤード・アベニュー 4/25

Fターム(参考) 2G045 BB51 CA26 CB07 CB17 DA80 FB03 GC10 JA01

专利名称(译)	预测马匹性能下降的方法		
公开(公告)号	JP2004519660A	公开(公告)日	2004-07-02
申请号	JP2002523612	申请日	2001-08-29
申请(专利权)人(译)	伊克酒警报专有有限公司		
[标]发明人	クランシーロバートルレウエリン パングジェラルド		
发明人	クランシー,ロバートルレウエリン パング,ジェラルド		
IPC分类号	G01N33/53 A61B10/00 G01N33/50 G01N33/68		
CPC分类号	G01N33/6854 A61B10/0051 G01N33/6893		
FI分类号	G01N33/53.N G01N33/50.G		
F-TERM分类号	2G045/BB51 2G045/CA26 2G045/CB07 2G045/CB17 2G045/DA80 2G045/FB03 2G045/GC10 2G045/JA01		
代理人(译)	小林 泰 千叶昭夫		
优先权	2000PQ9756 2000-08-29 AU 2000PR1015 2000-10-25 AU		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及使用免疫球蛋白水平，特别是IgA和/或IgG水平的测量来评估马的性能和性能潜力的方法。本发明还涉及一种预测暴露于应激因子，特别是身体应激因子的马的性能，疲劳和/或对感染的易感性下降的方法。

成績スコア (1-5)					
ウマの名前	1	2	3	4	5
Santa Rigalia				132	
Spirit of Fire			59		
I'm on Fire					801
It is so		119			
Constraint					576
Horse Shoe Bend					885
Fire Chief		141			
Breaker Moran					
Bluey		147			
Gran Turismo					
Paint it Silver	75				
Nacka-Yama			434		
Copernicus				86	
Straight Answer	19				
Mary Alice	8				