



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 326 595**

51 Int. Cl.:
A61K 31/405 (2006.01)
C07D 209/18 (2006.01)
A61P 5/00 (2006.01)
A61P 37/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04765746 .5**
96 Fecha de presentación : **28.09.2004**
97 Número de publicación de la solicitud: **1667678**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **14.06.2006**

54 Título: **Composición de pienso para animales.**

30 Prioridad: **03.10.2003 PCT/EP03/11171**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
15.10.2009

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
15.10.2009

73 Titular/es: **Veijlen N.V.**
Schottegatweg Oost 18
Curaçao, AN

72 Inventor/es:
Gillessen, Hubert, Jean, Marie, François y
Rebiere, Christian

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 326 595 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composición de pienso para animales.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a una composición de pienso para animales no humanos, composición de pienso para animales que comprende ácido indolacético libre (IAA libre) o un derivado del mismo. La invención también se refiere a una composición para potenciar el crecimiento animal.

10 La invención también se refiere al uso de IAA libre o un derivado del mismo para la preparación de una composición terapéutica para aumentar la velocidad de crecimiento y/o la velocidad de conversión del pienso y/o la inmunidad de animales en necesidad de un tratamiento tal, en particular animales inmunodeprimidos o de crecimiento lento. Una composición según la invención puede estar preferentemente en forma de un complemento alimenticio o para
15 piensos.

Antecedentes de la invención

20 El aporte limitado de proteína alimentaria convencional es un problema importante al que debe hacer frente un rápido aumento de la población mundial. De particular importancia es la producción de animales que contienen proteínas que tienen aminoácidos esenciales requeridos por los seres humanos. Debido a los centros de producción limitados y a la falta de mejora en la tecnología de producción, el aumento de la producción de proteína animal no parece ser proporcional al aumento de la población mundial.

25 Por tanto, parece sumamente deseable mejorar la productividad de la producción de proteína animal. Uno de los medios para mejorar la productividad es desarrollar composiciones de pienso que potencian el crecimiento animal.

30 Se sabe que la velocidad de crecimiento de los animales puede acelerarse mediante la administración de ciertas clases de sustancias tales como antibióticos, tensioactivos y estrógenos. Sin embargo, la administración de cada una de estas clases de sustancias tenía desventajas que han evitado su aceptación universal. Por tanto, se cree que los antibióticos y los tensioactivos, aunque son eficaces bajo ciertas condiciones, actúan principalmente para suprimir enfermedades y no provocar una respuesta al crecimiento real. Es por esta razón por la que el uso de antibióticos se limitará en Europa, mientras que está en debate en EE.UU. y Asia.

35 Por tanto, el uso de estrógenos como agentes promotores del crecimiento presenta ciertas dificultades y riesgos inherentes. Por tanto, los estrógenos reducen frecuentemente la calidad del animal al que se administran. Otra desventaja es que parte del material estrogénico puede permanecer en porciones comestibles del animal y posiblemente podría producir un efecto adverso en un individuo cuando se consume. Además, las sustancias conocidas se han administrado principalmente mediante procedimientos de inyección o implantación, que son ambos caros y requieren mucho tiempo
40 y frecuentemente no gustan a los consumidores.

El documento JP 2002 281914 A se refiere a un procedimiento para producir un promotor de la vitalidad nutriente para peces y ganado que comprende ácido indolacético. El documento JP 60 161920 A se refiere a un agente de crecimiento para animales que contiene una hormona de crecimiento vegetal, por ejemplo, oxiauxina tal como ácido
45 oxiindolacético. El documento JP 60 199801 A desvela un procedimiento para administrar hormona de crecimiento vegetal, por ejemplo, auxina (IAA) a un animal.

Resumen de la invención

50 Un objeto de la invención es proporcionar una composición de pienso para animales. Otro objeto de la invención es proporcionar una composición de pienso que potenciaría el crecimiento animal. Un objeto adicional de la invención es proporcionar una composición de pienso para potenciar el crecimiento animal. Otro objeto de la invención es proporcionar un procedimiento para la preparación de una composición de pienso para animales. Otros objetos, características y ventajas de la invención serán evidentes a medida que la invención se desvele más completamente a
55 continuación en este documento.

Ahora se ha encontrado que pueden vencerse las desventajas de las sustancias y los procedimientos de la técnica anterior y que el crecimiento de animales no humanos puede potenciarse administrando por vía oral ácido indolacético libre (IAA libre) o un derivado del mismo a animales junto con su pienso normal.

60 **Descripción detallada de la invención**

El IAA libre y sus derivados son compuestos conocidos. El IAA libre es una fitohormona de crecimiento vegetal que se produce naturalmente que se ha estudiado ampliamente. En las plantas, la mayoría del IAA se produce en una forma conjugada (Slovin y col. 1999, Biochemistry and molecular biology of plant hormones, Elsevier, Amsterdam, pág. 115-140) tanto conjugado a azúcares mediante enlaces éster como a aminoácidos y péptidos mediante enlaces
65 amida.

ES 2 326 595 T3

El término "IAA libre" se usa en este documento para indicar que el IAA libre está en la forma libre o de ácido, mientras que el término "IAA conjugado" se refiere a IAA que está conjugado mediante enlaces éster o mediante enlaces amida.

5 Los efectos del IAA libre sobre seres humanos ya se estudiaron en 1956, y se mostró que dosis únicas de 0,1 g/kg eran no tóxicas (Mirsky A y Diengott D, Hypoglycemic action of indole-3-acetic acid by mouth in patients with diabetes mellitus, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 93: 109-110,1956). En 1964 se encontró que los productos de la fotooxidación del IAA libre servían de inhibidores del crecimiento de microorganismos (Still C, Fukuyama T y Moyed H, Inhibitory Oxidation Products of Indole-3-acetic acid, J. Biological Chemistry, 240, 6, 2612-2618, 1964).

10 Por tanto, previamente se ha descrito el uso médico del IAA libre y algunos de sus derivados. El documento EP 1.296.676 describe el uso de IAA libre como producto farmacéutico, en particular para tratar enfermedad neoplásica en seres humanos. El documento WO 02/080906 describe el uso de IAA libre para tratar endometriosis en mujeres. Nachson y col. (Food and Chemical Toxicology 41, 745-752) notificó el efecto de algunos derivados de IAA libre (indol-3-carbinol y 3,3'-diindolilmetano) sobre la proliferación e inducción de apoptosis en líneas de células de cáncer de próstata humano, mientras que Rossiter y col. (Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 12, 2523-2526), además de Folkes y col. (Biochemical Pharmacology 63, 265-272), describieron el uso de IAA libre y algunos derivados en terapias contra el cáncer dirigidas a enzima-profármaco.

20 Ahora se ha encontrado inesperadamente que el IAA libre o un derivado del mismo efectúa una notable respuesta promotora al crecimiento en animales no humanos, particularmente animales de explotación tales como peces, aves de corral, reses y cerdos o animales de compañía tales como caballos, gatos, perros, conejos y peces. Por tanto, la invención proporciona un procedimiento para alimentar animales no humanos administrando IAA libre al animal, preferentemente mediante un pienso.

25 El IAA libre o un derivado del mismo pueden alimentarse al animal y es más eficaz cuando se administra dentro de concentraciones claramente definidas en el pienso para animales. La inyección y/o implantación es innecesaria y los animales ingieren por vía oral el IAA libre o un derivado del mismo de su propia elección con su pienso.

30 Según una realización de la invención se proporciona una composición de pienso para animales no humanos que potencia el crecimiento animal que comprende IAA libre o un derivado del mismo. Una composición de pienso para animales tal puede ser una composición de pienso convencional complementada con IAA libre o un derivado del mismo en una concentración suficiente para permitir un consumo diario de entre 25 y 1000 microgramos por kg de peso vivo por día (ug/kg PV/día).

35 Se obtuvieron resultados particularmente buenos cuando un animal se alimentó directamente con una composición de pienso que contenía más de 0,24 mg de IAA libre o un derivado del mismo por kg de pienso, tal como una composición de pienso que contenía más de 0,30 mg de IAA libre o un derivado del mismo por kg de pienso, o una composición de pienso que contenía más de 0,40 mg de IAA libre o un derivado del mismo por kg de pienso, tal como más de 0,6, 0,8, 1, 5, 10, 20, 30, 50, 100, 200 ó 500 mg de IAA libre o un derivado del mismo por kg de pienso.

40 Por tanto, la invención se refiere a una composición de pienso para animales no humanos que comprende más de 240 microgramos hasta 40 gramos de IAA libre o un derivado del mismo por kilogramo.

45 El límite superior de la concentración de IAA libre o un derivado del mismo se determina en gran parte por el uso previsto. La composición de pienso puede estar en forma de un aditivo para piensos o alimentario que tiene que mezclarse con el pienso para animales a una velocidad conveniente.

50 La composición de pienso también puede estar en forma de una mezcla lista para usar. En ese caso, el límite superior se determina por la dosis deseada para el animal, una vez se conoce el consumo diario de pienso del animal. En la práctica diaria, las composiciones de pienso que contenían el 1, 2 ó 4% (10 a 40 g/kg) de IAA libre o un derivado del mismo demostraron ser más prácticas para el almacenamiento en forma de aditivo para piensos de ganado. Por tanto, una forma de almacenamiento preferida de una composición de pienso que va a mezclarse con un pienso listo para usar o con un aditivo alimentario es una mezcla de aproximadamente el 1 - 4% de IAA libre o un derivado del mismo con otro material seco adecuado para el consumo.

55 Las preparaciones que contienen entre 100 mg y 1000 mg, tales como 500 mg de IAA libre o un derivado del mismo/kg de aditivo para piensos, fueron más prácticas cuando se usaron para dosificar correctamente el IAA libre o un derivado del mismo en la composición de pienso lista para usar.

60 Por tanto, la invención también se refiere a una composición de pienso que comprende entre 100 y 1000 mg de IAA libre o un derivado del mismo por kilogramo.

65 Un experto apreciará que la cantidad de IAA libre en el pienso listo para usar tiene que ajustarse con el fin de suministrar al animal una cantidad eficaz de IAA libre. Con el fin de ajustar la concentración de IAA libre en el pienso de manera que se logre un cierto consumo diario de IAA libre, tiene que hacerse un cálculo aproximado del consumo de pienso de un animal o grupo de animales. Un experto es consciente del consumo de pienso de un animal

ES 2 326 595 T3

(tipo particular o grupo de animales), normalmente el consumo de pienso por día está entre el 0,5 y el 10% del peso corporal del animal, con excepciones ocasionales de hasta el 20% tal como, por ejemplo, en pollos jóvenes.

Una composición de pienso para animales como se usa en este documento comprende una composición para la nutrición animal en forma sólida o líquida. El pienso es la principal fuente de energía y de nutrición para los animales y normalmente es de origen animal o vegetal. Por tanto, el pienso puede definirse como una sustancia con valor nutritivo suficiente para permitir el crecimiento y el mantenimiento de las condiciones corporales adecuadas de un animal. En una realización típica, una composición de pienso para animales está constituida por gránulos, harina, granos, granos extruidos o expandidos, comprimidos, formas de polvo o bolos. Una composición de pienso particularmente ventajosa comprende un producto alimenticio seleccionado del grupo que está constituido por forrajes y fibras secos, piensos energéticos, piensos proteínicos, piensos minerales, piensos vitamínicos, productos de levadura, premezclas normales, harina de maíz, semilla de algodón, gluten de trigo, ensilado de maíz, colinabo, pulpa de remolacha azucarera, pulpa de manzana, ballico, festuca, concentrado de pienso de alfalfa y complemento para piensos. El IAA libre o un derivado del mismo puede mezclarse con cualquier material de pienso base adecuado tal como semilla de colza, semilla de algodón, soja, harina de pescado, salvado de trigo, harinas para piensos de trigo, minerales, vitaminas y aglutinantes o puede prepararse como una premezcla con, por ejemplo aminoácidos, sales, fósforo o harina de maíz. En una realización particularmente ventajosa, el pienso o aditivo para piensos está en una forma y/o composición aprobada por una institución gubernamental tal como la FDA, el Departamento estadounidense de agricultura o la Agencia canadiense de inspección de alimentos. En Europa, el grupo de trabajo sobre alimentación animal de la comisión del Codex Alimentarius (CAC), además del Acta de bienestar animal (AWA), proporcionan definiciones de pienso para animales. En una realización ventajosa, la invención se refiere a un pienso para animales dentro de la definición de “pienso para animales” en la sección 201 (x) de la FFDCA complementado con IAA libre.

El IAA libre o un derivado del mismo se incorpora convenientemente directamente en el pienso para animales. Puede usarse cualquier procedimiento adecuado para dispersar el material en el pienso. La cantidad de IAA libre o un derivado del mismo añadida al pienso para animales puede variar dentro de los límites establecidos con el fin de obtener los máximos beneficios.

Por tanto, la invención comprende un procedimiento para la preparación de pienso para animales que comprende las etapas de proporcionar un pienso para animales y mezclar dicho pienso con una dosis eficaz de IAA libre.

La composición según la invención puede estar en forma de una cápsula, pero también son posibles otras formas farmacéuticas, preferentemente formas farmacéuticas orales tales como comprimidos, suspensiones, emulsiones, fluidos, polvos, pastillas para chupar, pastillas, píldoras, etc. La composición puede tomar la forma, por ejemplo, de un complemento para piensos, un aditivo para piensos o una composición farmacéutica.

Los piensos complementados con IAA libre o un derivado del mismo según la invención son particularmente adecuados para la cría comercial de animales de explotación tales como peces, reses, aves de corral y cerdos. También pueden usarse para animales de compañía tales como conejos, caballos, aves tales como palomas, peces tales como carpa koi, gatos y perros. Utilizando tales dietas complementarias no sólo es posible acelerar enormemente el crecimiento de animales no humanos, sino que la eficiencia de la conversión del pienso (es decir, el número de kg de pienso necesarios para producir un aumento de kg en el peso del animal) también aumenta enormemente, dando como resultado mayores beneficios económicos.

La composición de pienso para animales según la invención también puede aplicarse a animales que tienen una falta de crecimiento. En experimentos animales se mostró que el peso de animales con escaso crecimiento aumentó hasta niveles normales cuando se les alimentó con IAA libre o un derivado del mismo. Estos experimentos son ilustrativos del hecho de que los compuestos de la invención conducen a un aumento del apetito y/o mejoran la conversión del pienso.

El término falta de crecimiento en este respecto debe considerarse como un crecimiento que se queda sustancialmente atrás del crecimiento normal de las especies. Tales animales presentan un peso vivo que es superior al 10%, tal como superior al 25, 40, 60 ó 80%, bajo la mediana de la distribución normal de peso de animales con la misma edad dentro de las especies.

La composición de pienso para animales según la invención también puede aplicarse a animales inmunocompetentes. Los animales inmunocompetentes se definen en este documento como animales no humanos con un sistema inmunitario alterado o debilitado. Tales animales se caracterizan normalmente por un nivel reducido de IGF-1 en su suero. Los niveles reducidos en suero de IGF-1 se definen en este documento como niveles de IGF-1 que son superiores al 10% bajo la mediana normal de los sujetos sanos en las especies, tales como superiores al 25%, 40%, 60% o superiores al 80%. Un sistema inmunitario debilitado es frecuentemente la causa de una tasa de mortalidad elevada producida por condiciones de enfermedad o de vida adversas.

Por consiguiente, la invención se refiere por tanto al uso de IAA libre y un derivado del mismo para la preparación de una composición terapéutica para aumentar la velocidad de crecimiento y/o inmunidad en animales inmunocompetentes y/o animales con una falta de crecimiento. Esto puede conducir a un aumento de peso corporal del animal y/o una reducción de la tasa de mortalidad producida por enfermedades o condiciones de vida adversas.

ES 2 326 595 T3

Se encontró que para las diversas indicaciones que se ejemplifican en este documento hay cantidades óptimas de IAA libre o un derivado del mismo que van a administrarse. En general, con el fin de aumentar adicionalmente la velocidad de crecimiento de animales sanos y de crecimiento normal es suficiente un consumo diario de IAA libre de entre 25 y 1000, más en particular entre 50 y 500 ug/kg de PV/día. Particularmente pueden obtenerse buenos resultados cuando se administran 150 - 500 ug de IAA libre/kg de PV/día. Como se ejemplifica más adelante en este documento, el siluro africano mostró una velocidad de conversión del pienso notablemente marcada del 7% cuando se administró un promedio de 218 ug de IAA libre/kg de PV/día. Las aves de corral sanas ganaron el 18% más de peso en 5 semanas cuando se les alimentó con una dosis de 400 ug de IAA libre/kg de PV/día. Se obtuvieron resultados comparables en granjas de ganado y de cerdos.

Con el fin de aumentar la velocidad de crecimiento de animales que presentan una falta de crecimiento (en particular animales de explotación o de compañía), frecuentemente se requiere un dosis ligeramente mayor. Se obtuvieron resultados particularmente buenos con una dosis de 50 -1000 ug de IAA libre/kg de PV/día, en particular 250 - 1000 ug de IAA libre/kg de PV/día, más en particular 400 - 1000 ug de IAA libre/kg de PV/día tal como 500 ó 750 - 1000 ug de IAA libre/kg de PV/día durante un corto periodo de tiempo tal como inferior a 6 semanas, 4 semanas, pero más en particular inferior a 3 semanas, tal como 2 semanas.

La dosificación óptima de IAA libre o un derivado del mismo puede determinarse empíricamente y puede depender hasta cierto punto, dentro de los límites definidos en este documento, del tipo particular de pienso, especies y condiciones de cría. Un experto en la materia sabe cómo ajustar un programa para tales experimentos de dosificación, el diseño experimental del ejemplo 7 puede ser útil en este documento.

Por tanto, el compuesto clave de la invención es el ácido indolacético libre. Sin embargo, puede lograrse un resultado equivalente usando derivados de IAA libre. Los derivados de IAA libre se definen en este documento como compuestos que conducen a un aumento del nivel de IAA libre en el cuerpo del animal no humano en comparación con el nivel de IAA libre en el mismo cuerpo del animal antes de la administración del compuesto.

Estos derivados son: 4-hidroxi-IAA, 4-metoxi-IAA, 5-hidroxi-IAA, 5-metoxi-IAA, 6-hidroxi-IAA, 6-metoxi-IAA, 7-hidroxi-IAA, 7-metoxi-IAA.

Ahora puede ser evidente para el experto que la dosis de un derivado de IAA libre en el pienso para animales va a ajustarse con el fin de proporcionar concentraciones de IAA libre en el cuerpo del animal que se corresponden con los intervalos facilitados en este documento para el IAA libre. Esto tiene que explicar las conversiones que la mayoría de las veces no son completamente enteras y las pérdidas durante la producción cuando se preparan químicamente. Por tanto, las concentraciones de derivados pueden establecerse mejor empíricamente, el sistema experimental como se explica resumidamente en el ejemplo 7 puede ser útil en este respecto. Por consiguiente, cuando en este documento se hace referencia a una cierta concentración de IAA libre o a un derivado del mismo, se quiere decir que esta es la concentración de IAA libre o la concentración del derivado que da esta concentración particular de IAA libre en el animal. El experto será consciente de esto y sabe cómo determinar las concentraciones apropiadas de derivados con la ayuda de las enseñanzas que se proporcionan en este documento.

El ácido IAA libre está fácilmente disponible como un producto comercial. Puede sintetizarse químicamente o prepararse de una forma biológica. Los microorganismos que producen IAA están extendidos en la naturaleza. La levadura, los hongos y muchas bacterias, además de plantas, son conocidos por convertir precursores de IAA en IAA libre. Además de la conversión de L-triptófano por bacterias, también se describen ampliamente rutas bioquímicas independientes de L-triptófano hacia IAA libre (J. Plant Growth Regul (2001) 20: 198-216).

Una bacteria muy conocida que puede producir IAA libre es *Azospirillum Brasilense* (AB). Al final de la fase de crecimiento en un procedimiento de fermentación regular, la AB puede convertir L-triptófano en IAA libre. Para aumentar la eficiencia de esta conversión puede añadirse una pequeña cantidad de IAA libre sintético al medio. Mediante un mecanismo de retroalimentación, la AB aumenta la conversión de L-triptófano en IAA libre.

Las concentraciones finales de 1 gramo de IAA libre / litro de caldo de cultivo son fáciles de preparar, pero son posibles concentraciones incluso más altas, dependiendo del microorganismo usado.

Después de terminar la fermentación, el microorganismo puede lisarse y puede obtenerse un polvo enriquecido en IAA libre mediante secado por pulverización o cualquier otra forma conveniente de secado del caldo de cultivo. Pueden usarse otras técnicas para eliminar líquidos parcial o completamente.

Ejemplos

Ejemplo 1

Fuente de IAA libre

El IAA o un derivado del mismo pueden obtenerse a partir de cualquier fuente comercial. Alternativamente, el IAA libre puede producirse de una forma microbiológica.

ES 2 326 595 T3

Para este fin, la *Azospirillum brasilense* Sp7 (ATCC) se obtuvo como un cultivo en agar en un tubo de cultivo. Se usó medio LB para cultivar la cepa durante la noche a 28°C a 175 rpm. Se añadió glicerina al cultivo hasta el 10%, se mezcló y se dividió en crioviales Nalgene y se congelaron a -80°C. Los caldos se almacenaron a -80°C en crioviales.

5 Para preparar un cultivo de siembra de *A. brasilense*, un caldo (1,2 a 1,8 ml) se descongeló y se añadió a 1 litro de medio LB y se cultivó durante aproximadamente 20 h a 28°C y 175 rpm hasta una densidad óptica (DO620 nm) de aproximadamente 2,5.

10 Un fermentador de 10 litros se aclaró con agua y se calibró el electrodo de pH. Se prepararon nueve litros de medio LB y se añadieron 1 g/l de L-triptófano y 0,1 g/l de IAA libre. El medio se alimentó al fermentador junto con 2 ml de antiespumante. El fermentador se esterilizó durante 30 min a 121°C. Después de enfriarse hasta 28°C, la sonda de O₂ se calibra con N₂ y O₂, 0 y 100% de saturación del aire, respectivamente.

15 El cultivo de siembra se transfiere al fermentador mediante un matraz y tubos que se esterilizan por separado en un autoclave. Cuando se completa la adición, los tubos se quitan y la fermentación empieza con los siguientes parámetros:

Velocidad del agitador	400 rpm
Temperatura	28°C
Aireación	0,75 Nl/min
pH	7

25 Después de 15 min se toma una muestra para medir la DO620 nm y comprobar el pH. Las muestras se toman a ciertos intervalos para cuantificar el crecimiento de *A. brasilense*. Cuando disminuyó la velocidad de crecimiento se añadió medio adicional para garantizar que se formaba suficiente biomasa para la producción de IAA libre. Se encontró que la producción de IAA libre empezó cuando terminó la fase de crecimiento activa y continuó durante un periodo prolongado. El perfil de la concentración de IAA libre se siguió por EM-CL. Cuando la concentración de IAA libre estuvo a un nivel de aproximadamente 1 g/l, la fermentación terminó y las células se recogieron y se lisaron por medio de un homogeneizador de nanochorro a aproximadamente 1400 bar (140 MPa). El sobrenadante restante y las células lisadas se esterilizaron y se secaron por pulverización para dar la formulación de producto deseada.

35 Ejemplo 2

La velocidad de crecimiento de lechones de escaso crecimiento puede mejorarse con IAA libre

40 El ensayo se hizo en una granja bien dirigida con 1000 cerdas de la raza Dutch Landrace. Aunque la granja funciona bien, el rendimiento técnico no era óptimo. Había problemas latentes con las velocidades de mortalidad y de crecimiento de los lechones. Había demasiados lechones de escaso crecimiento sin una clara razón técnica o veterinaria subyacente. No se observaba ninguna patología clara en la granja.

45 Se seleccionaron aleatoriamente tres grupos de lechones en el día 1 del ensayo. El primer grupo (control) estuvo constituido por lechones normales que crecían bien. El grupo B estuvo constituido por 78 lechones de escaso crecimiento, estos se trataron con IAA libre. El grupo X estuvo constituido por 52 lechones de escaso crecimiento que no se trataron.

50 El grupo B recibió IAA libre en el pienso empezando en el día 5 del ensayo. El pienso para el grupo B se preparó mezclando primero IAA libre con dextrosa que luego se mezcló con el pienso. Para ese fin, 4 gramos de IAA libre puro (Aldrich) se mezclaron con 96 gramos de dextrosa y la mezcla se dispersó luego en el pienso. Los cerdos del grupo B recibieron una dosificación de 500 ug de IAA libre/kg de PV/DÍA (PV = peso vivo) que se correspondía con 12,5 mg/kg de PV/DÍA de la mezcla del 4% de IAA libre/dextrosa.

55 Los lechones se destetaron durante dos días al principio del ensayo. Las muestras de sangre para la medición de IGF-1 se tomaron de cada grupo en el día 5 del ensayo y al final del ensayo. Dos porquerizas (13 lechones) del grupo B y X se pesaron en el día 5 y al final del ensayo. La cuantificación de IGF-1 se realizó usando un ensayo inmunorradiométrico (IRMA) (DSL-5600 ACTIVE™, DSL, Germany GmbH, Alemania). La varianza dentro de un mismo ensayo y entre ensayo distintos fue: 4,0% y 9,2% para GH; 3,0% y 1,5% para IGF-1.

60 Ya después de una semana de tratamiento, el granjero notó una clara diferencia entre el grupo B y el grupo X. Los lechones en el grupo B tenían un mejor aspecto, las panzas se llenaron más y el aspecto general de los lechones empezó a ser mejor que en el grupo X. Este fenómeno fue más pronunciado cuando continuó el tratamiento. Hubo menos lechones de escaso crecimiento en el grupo B, la piel y el pelo tenían un aspecto mucho mejor.

65 En el día 1 del ensayo no hubo diferencia en los niveles de IGF-1 entre los 3 grupos (tabla 1). Los niveles de IGF-1 fueron bajos, entre 0,8 y 13,1, con un promedio de 4,6. No hubo diferencia observable entre el grupo de control (que crecía bien) y los grupos X y B (de escaso crecimiento), probablemente debido a la tensión del destetamiento.

ES 2 326 595 T3

En el día 26 del ensayo, los niveles de IGF-1 se midieron de nuevo. El grupo B estaba en el nivel del grupo de control sano (25,3 frente a 23,6 nmol/l) que era claramente superior al grupo X sin tratar (17,2 nmol/l).

5

TABLA 1

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

		Medición de IGF-1 [nmol/l]	
		Día 1	Día 26
Grupo de control			
1		0,8	14
2		4,3	16,6
3		7,9	25,4
4		6,1	30,3
5		3,9	31,7
total		23	118
promedio		4,6	23,6
Grupo B tratado			
1		3	25,2
2		2,7	28,9
3		6,1	25,5
4		5,3	29,9
5		5,7	16,9
total		22,8	126,4
promedio		4,56	25,28
Grupo X sin tratar			
1		2,9	11,3
2		4,3	21,6
3		1,6	murió
4		13,1	20,8
5		1,3	15,1
total		23,2	68,8
promedio		4,64	17,2

La porqueriza B 3L (izquierda) creció en promedio 850 gramos más que sus vecinos de la porqueriza X 4L (derecha). La porqueriza B 3R (derecha) ganó en promedio tanto peso como sus vecinos de la porqueriza X 4R (derecha), pero pesó 310 gramos menos al principio del ensayo. En promedio, el grupo tratado ganó (para las porquerizas que se pesaron) casi 0,5 kg más durante un periodo de 21 días (tabla 2).

ES 2 326 595 T3

TABLA 2

Porqueriza nº	Peso (kg) en el día 5		Peso (kg) en el día 26		Aumento de peso (kg)
	Total (kg)	Promedio	Total (kg)	Promedio	Promedio
B 3L	86 (n=13)	6,62	150 (n=11)	13,64	7,02
B 3R	88 (n=13)	6,77	167 (n=13)	12,85	6,08
X 4L	80 (n=12)	6,67	141 (n=11)	12,82	6,15
X 4R	92 (n=13)	7,08	171 (n=13)	13,15	6,08

Después de detenerse el tratamiento, los lechones del grupo B continuaron rindiendo mejor que el grupo X. Los lechones del grupo B empezaron a tener un mejor aspecto que el grupo sin tratar y crecieron mejor que el grupo sin tratar. Estas características guardan claramente relación con un mayor nivel de IGF-1 en los grupos tratados.

Los resultados de este ensayo confirman que un único tratamiento durante 14-21 días con 500 ug de IAA libre/kg de PV/DÍA restaura eficazmente los niveles de IGF-1 en lechones de escaso crecimiento y promueve el crecimiento hasta un nivel de lechones normales bien desarrollados. Como resultado de este tratamiento, los cerdos han alcanzado el crecimiento perdido y les ha ido bien durante el periodo de engorde sin la necesidad de continuar el tratamiento.

Ejemplo 3

El crecimiento de gallinas ponedoras sanas puede mejorar con IAA libre

En este ejemplo se trataron animales de crecimiento normal con IAA libre. Las gallinas ponedoras en crecimiento de 10 semanas de edad se seleccionaron en la manada para crear dos grupos de diez gallinas:

- Grupo GB: 10 gallinas de crecimiento normal, sin tratar
- Grupo GNA: 10 gallinas de crecimiento normal, tratadas con IAA libre

Las aves tratadas se alimentaron a la fuerza diariamente con una cápsula con 400 ug de IAA libre/kg de PV/DÍA que se corresponde con 10 mg/kg de PV/DÍA de una mezcla del 4% de IAA libre en dextrosa. El tratamiento continuó hasta que las gallinas empezaron a poner. Los dos grupos se pesaron cada semana.

A partir de la primera semana se observó una mejora en el aumento de peso en el grupo tratado cuando se comparó con el grupo sin tratar. La mejora en el aumento de peso concordó durante las cuatro primeras semanas del ensayo. El grupo GNA iba adelantado aproximadamente 2 semanas del programa de cría normal.

Las dos últimas semanas del experimento fueron de mucha tensión para las aves ya que hacía mucho calor y las aves se vacunaron contra LTI.

TABLA 3

Semana	Grupo GB		Grupo GNA	
	Peso promedio (g)	Aumento de peso promedio (g)	Peso promedio (g)	Aumento de peso promedio (g)
1	690,5		740	
2	802	111,5	883	143
3	878	76	996	113
4	995	117	1095	99
5	1098	103	1222	127
Aumento de peso total (g)		407,5		482

ES 2 326 595 T3

El aumento de peso ya después de una semana dio una clara indicación de que el IAA libre tiene un efecto beneficioso sobre la velocidad de crecimiento de gallinas normales. Puede concluirse que el IAA libre tiene un efecto beneficioso sobre el crecimiento de aves normales y que el IAA libre puede acelerar el procedimiento de cría normal y dar aves mucho más fuertes al final del periodo de cría. Después de 5 semanas de ensayo, las aves que recibieron el IAA libre en su pienso fueron el 18% más pesadas en promedio que el grupo de control que no recibió IAA libre.

Ejemplo 4

El rendimiento de las gallinas ponedoras de escaso crecimiento puede mejorar con IAA libre

El escaso crecimiento de gallinas ponedoras constituye un gran problema en gallinas de cría. En este ejemplo, las aves de escaso crecimiento se trataron con IAA libre. Las manadas en la granja de prueba no crecieron uniformemente y aproximadamente el 10-15% de las aves tenían un rendimiento de crecimiento demasiado escaso.

Las gallinas ponedoras en crecimiento de 10 semanas de edad se seleccionaron en la manada para crear tres grupos de diez gallinas:

- Grupo GB: 10 gallinas de crecimiento normal, sin tratar
- Grupo SB: 10 gallinas de escaso crecimiento, sin tratar
- Grupo SNA: 10 gallinas de escaso crecimiento, tratadas con IAA libre

Las aves tratadas se alimentaron a la fuerza diariamente con una cápsula con 400 ug de IAA libre/kg de PV/DÍA que se corresponde con 10 mg/kg de PV/DÍA de una mezcla del 4% de IAA libre en dextrosa. El tratamiento continuó hasta que las gallinas empezaron a poner. Los diferentes grupos se pesaron cada semana.

A partir de la primera semana se observó una mejora en el aumento de peso en el grupo SNA tratado cuando se comparó con el grupo SB sin tratar. La mejora en el aumento de peso concordó durante las cuatro primeras semanas del ensayo. El grupo SNA había alcanzado de nuevo el programa de crecimiento normal y en algunas semanas superó a las gallinas de crecimiento normal que no se trataron en el grupo GB.

Las dos últimas semanas del experimento fueron de mucha tensión para las aves ya que hacía mucho calor y las aves se vacunaron contra LTI.

TABLA 4

SEMANA	Grupo GB		Grupo SB		Grupo SNA	
	Peso promedio (g)	Aumento de peso promedio (g)	Peso promedio (g)	Aumento de peso promedio (g)	Peso promedio (g)	Aumento de peso promedio (g)
1	690,5		498,5		489,5	
2	802	111,5	585	86,5	598	108,5
3	878	76	685	100	718	120
4	995	117	790	105	885	167
5	1098	103	907	117	995	110
Aumento de peso total (g)		407,5		408,5		505,5

El aumento de peso ya después de una semana dio una clara indicación de que el IAA libre tiene un efecto beneficioso sobre la velocidad de crecimiento de gallinas con una falta de crecimiento. El grupo SNA muestra el mayor aumento de peso en este periodo de prueba. Se concluye que el IAA libre puede usarse adecuadamente en el tratamiento de gallinas que tienen una falta de crecimiento con el fin de que alcancen su crecimiento "perdido".

ES 2 326 595 T3

También puede concluirse que el IAA libre no parece inducir una resistencia en gallinas a su modo de acción a la dosificación de 400 ug de IAA libre/kg de PV/DÍA.

5 Así, los resultados de este ejemplo indican que el uso de IAA libre puede devolver las gallinas de escaso crecimiento al programa de cría normal y prevenir la pérdida de animales para la producción normal, y que el IAA libre puede dar aves mucho más fuertes al final del periodo de cría.

10 Ejemplo 5

Supervivientes del virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino alimentados con IAA libre

15 Este experimento se realizó con lechones Belgian Landrace que tenían una historia de VSRRP. Los lechones se destetaron a las cuatro semanas y se realojaron a doce lechones por porqueriza. Los niveles de IGF-1 de tres grupos diferentes se probaron a la edad de cinco semanas.

Grupo P

20 Estos fueron los cerdos con grandes problemas. Tenían un mal aspecto, tenían poco peso, mal color y algunos de ellos tenían infecciones por *Staphylococcus*. El granjero y el veterinario tenían la firme creencia de que estos lechones no sobrevivirían hasta el final del ciclo de engorde. Las muestras de sangre se tomaron al azar de cinco de los doce lechones.

25 TABLA 5

Animal	IGF-1 [nmol/l] en el día 1
Lechón 1	2,3
Lechón 2	<0,5
Lechón 3	<0,5
Lechón 4	2,0
Lechón 5	1,8

30 Los resultados de la tabla 5 indican una grave alteración del sistema inmunitario como se indica por los bajos niveles de IGF-1. Existe una clara correlación entre el mal crecimiento y la salud y la concentración IGF-1. Cada animal de aproximadamente siete kilos se trató con 125 mg de una composición del 4% de IAA libre que comprendía 5 mg de IAA libre y 120 mg de NaCl y WPC 70 (concentrado de proteína de suero) durante un periodo de diez días. El producto se alimentó en un bebedero mezclado en el pienso líquido. Todos los lechones comieron del mismo bebedero. Esta dosificación se corresponde con un tratamiento con 715 ug de IAA libre/kg de PV/día.

45 Después de diez días de tratamiento, los doce cerdos todavía estaban vivos y su condición había mejorado espectacularmente. Todos ellos tenían un bonito color rosa, no tenían más pelo duro, las orejas estaban en la posición normal, ningún lechón padeció más infección por *Staphylococcus*. Todos habían ganado mucho peso y crecimiento del músculo y habían alcanzado con mucho el promedio del resto de los compañeros de camada "normales". Ahora estaban presentes todas las señales externas de buena salud.

50 Después de diez días se tomaron muestras de sangre de cinco lechones elegidos aleatoriamente y se determinaron sus concentraciones de IGF-1. Se añadió un código para el tamaño de los animales (K= pequeño; N= normal; Z= pesado).

55 TABLA 6

Animal	IGF-1 [nmol/l] en el día 10
Lechón PN	0,8
Lechón PK	<0,5
Lechón PZ	4,2
Lechón PK	<0,5
Lechón PN	<0,5

ES 2 326 595 T3

La espectacular mejora en la salud, el peso y la condición de los lechones no se reflejó en sus niveles de IGF-1. Los niveles de IGF-1 promedio no subieron durante los 10 primeros días del ensayo. Los inventores suponen que en ese tiempo toda la producción de IGF-1 adicional todavía se usa en el procedimiento del crecimiento adicional. Ahora existe una clara conexión entre el peso del individuo y los niveles de IGF-1.

Después de 10 días, el tratamiento con IAA libre se detuvo y los animales se mantuvieron con una dieta normal. Otras tres semanas después se tomaron de nuevo muestras de sangre de 7 cerdos elegidos aleatoriamente del grupo.

TABLA 7

Animal	IGF-1 [nmol/l] en el día 31
Lechón 1	30,0
Lechón 2	23,4
Lechón 3	65,1
Lechón 4	13,7
Lechón 5	60,1
Lechón 6	36,9
Lechón 7	55,6

Estos resultados muestran claramente que la producción de IGF-1 de los lechones aumentó considerablemente, aún cuando el tratamiento se detuvo.

Puede concluirse que el tratamiento con IAA libre mejoró espectacularmente la condición de los lechones con problemas. Sus sistemas inmunitarios eliminaron las infecciones por *Staphylococcus*. Esta mejora no se reflejó inmediatamente (después de 10 días) en la concentración en suero de IGF-1, pero tres semanas después de detenerse el tratamiento, el nivel de IGF-1 había aumentado hasta niveles (casi) normales.

Grupo R

Estos lechones eran los que tenían el mejor aspecto. Recibieron un pienso preiniciador especial antes del destete. Se eligieron cinco lechones al azar y se determinaron sus niveles de IGF-1 (tabla 8).

TABLA 8

Animal	IGF-1 [nmol/l] en el día 1
Lechón 1	4,3
Lechón 2	1,0
Lechón 3	7,3
Lechón 4	22,2
Lechón 5	14,7

Pareció que el preiniciador especial reforzó los niveles de IGF-1 en este grupo. Como desde el día 1, estos lechones se alimentaron con una dieta de iniciador para lechones normal comercial complementada con la misma dosificación de IAA libre que el grupo P. El grupo R estaba creciendo normalmente. No se presentó ningún indicio particular. En el día 10 se tomaron muestras de sangre de seis lechones seleccionados al azar.

ES 2 326 595 T3

TABLA 9

Animal	IGF-1 [nmol/l] en el día 10
Lechón RK	11,4
Lechón RN	11,4
Lechón RN	32,6
Lechón RZ	18,7
Lechón RK	9,8
Lechón RZ	10,4

La concentración de IGF-1 promedio en el grupo R ascendió en dos semanas de 9,9 nmol/l a 15,72.

Grupo T

Estos fueron lechones de aspecto normal. Recibieron un pienso iniciador para lechones habitual antes del destetamiento

TABLA 10

Animal	IGF-1 [nmol/l] en el día 1
Lechón 1	2,7
Lechón 2	<0,5
Lechón 3	0,8
Lechón 4	0,5
Lechón 5	3,5

Estos lechones tienen un crecimiento normal, pero menos bueno que el grupo R. Esto también se refleja en los menores niveles de IGF-1.

Estos lechones se mantuvieron con su pienso iniciador para lechones original complementado con la misma dosificación de IAA libre que los grupos P y R. El grupo T también creció normalmente sin ningún síntoma particular. Las muestras de sangre se tomaron de 5 cerdos seleccionados al azar y se determinó su concentración de IGF-1.

TABLA 11

Animal	IGF-1 [nmol/l] en el día 10
Lechón TZ	10,5
Lechón TN	6,0
Lechón TN	3,1
Lechón TN	10,9
Lechón TZ	16,3

La concentración de IGF-1 promedio en este grupo ascendió en 10 días de 1,6 a 9,36 nmol.

ES 2 326 595 T3

Ejemplo 6

Lechones con falta de crecimiento que usan IAA libre en el pienso preiniciador

5 Generalmente se acepta que los animales que tienen pesos menores en los primeros años de vida tendrán un menor rendimiento durante todo el periodo de producción. La diferencia en el crecimiento temprano puede explicarse ampliamente por una diferencia en la sensibilidad del individuo a la presión por tensión y/o infección. Este experimento se diseñó para estudiar los efectos del IAA libre en la velocidad de crecimiento de cerdos sanos, pero de escaso crecimiento, en una etapa temprana de su vida.

10 La prueba se llevó a cabo en una gran granja comercial con 1400 cerdas en la que se seleccionaron lechones de escaso crecimiento. Los lechones seleccionados no padecían ninguna enfermedad específica y los lechones en la granja dieron negativo para anticuerpos contra SRRP (las cerdas se vacunaron contra SRRP). Se seleccionaron 39 lechones de un grupo de 600 en el día 21 de edad, 7 días antes del destetamiento. Estos lechones se dividieron al azar en 3 grupos respecto a 3 cerdas de acogida hasta el destetamiento. Dos grupos de lechones recibieron IAA libre en el pienso preiniciador en el periodo de parición a una dosis de 500 ug de IAA libre/kg de PV/día. Después del destetamiento, el IAA libre se complementó a estos 2 grupos en el pienso iniciador a la misma dosis hasta 14 días después del destetamiento. La cantidad de IAA libre añadida al pienso se basó en los pesos estimados y el consumo de pienso. El tercer grupo recibió el mismo pienso, pero sin IAA libre.

20 Los animales se pesaron en el destetamiento y 14 días después se controló la mortalidad. Los desarrollos del peso de los tres grupos se facilitan en la tabla 12.

25

TABLA 12

Peso y crecimiento de los lechones

30

Día	Número de animales en cada grupo	Peso promedio (kg)		Aumento de peso promedio (g/día)
		Día 28 (destetamiento)	Día 42	
35 Grupo 1, control	16	4,31	5,7	99
Grupo 2, IAA libre	12	3,35	5,0	117
40 Grupo 3, IAA libre	11	4,22	6,2	141

Los grupos tratados con IAA libre rindieron mejor que el grupo de control; tanto el grupo 2 como el 3 ganaron más peso que el grupo de control. El IAA libre mejoró claramente el rendimiento de los lechones de escaso crecimiento. En el grupo de control, 2 animales murieron frente a ninguno en los grupos tratados con IAA libre.

Los lechones de escaso crecimiento (cerdos retrasados) se sacan frecuentemente de la producción debido a su escaso rendimiento y a los altos costes de medicación anticipados. El tratamiento con IAA libre puede contribuir a salvar estos animales, a reducir sus costes de medicación y a mejorar el rendimiento y la economía de una granja.

50

Ejemplo 7

Efecto de diferentes concentraciones de IAA libre sobre siluro africano

55

En este ensayo se usaron 360 siluros africanos (*Clarias gariepinus*) de aproximadamente 30 gramos cada uno. Una semana después de llegar, los peces se repartieron aleatoriamente en 12 acuarios idénticos, 30 peces en cada acuario. La temperatura del agua se fijó a 25°C y el programa de iluminación era 12 horas de luz seguido por 12 horas de oscuridad. La circulación del agua era 2 litros por acuario por hora; el volumen de agua en cada acuario se adaptó a la biomasa. Para acostumbrarse al pienso, los peces se alimentaron con pienso básico durante dos semanas antes de empezar el ensayo.

60

Se formaron cuatro grupos estando cada uno constituido por 90 peces divididos en 3 acuarios. Un grupo no recibió tratamiento y sirvió de control. Los otros tres grupos recibieron tratamiento de IAA libre en tres dosis diferentes como se indica en la tabla 13. El pienso se preparó mezclando IAA libre con pienso básico en las concentraciones indicadas en la tabla 13. Hubo una cantidad fija de pienso dado a los peces cada día correspondiente al 2,5% de la biomasa.

65

ES 2 326 595 T3

TABLA 13

Grupo	Pienso dado (mg de IAA libre/kg de pienso)	Dosis basada en el consumo de pienso real del 2,5% de peso vivo (ug de IAA libre/kg de PV/día)
1	0	0
2	40	1360
3	16	544
4	6,4	218

El periodo de ensayo duró cinco semanas y los peces se pesaron cada semana. El crecimiento promedio respecto al periodo de ensayo completo se facilita en la tabla 14 a continuación.

TABLA 14

Grupo	Dosis (ug de IAA libre/kg de PV/día)	Promedio crecimiento (g/d)
1	0	4,96
2	1360	5,02
3	544	4,97
4	218	5,31

Los resultados muestran que el grupo 4 (la dosis de 218 ug de IAA libre/kg de PV/día) dio una mejora clara y significativa del 7,1% respecto al control con el mismo consumo de pienso. Debido a que todos los peces recibieron exactamente la misma cantidad de pienso, esto significa que la velocidad de conversión del pienso también mejoró con el mismo nivel. Esto es un aumento significativo para la industria pesquera y refleja el potencial del IAA libre en la estimulación del crecimiento de peces sanos. Las dosificaciones mayores no mostraron ninguna respuesta positiva o negativa clara en comparación con el control. Por tanto, puede concluirse que empíricamente va a determinarse una dosis óptima para este tipo de tratamiento.

Ejemplo 8

Mezclas de caldo preferidas de IAA

Se preparó un caldo de un aditivo de caldo de pienso del 4% de IAA libre. Para este fin, el IAA libre (Aldrich) se mezcló con 94% de protamilo y 2% de extracto de levadura. De ese caldo, el 1,25% se añadió a un aditivo para piensos como se detalla a continuación en la tabla 15.

TABLA 15

Compuesto	%	kg
4% de caldo de IAA	1,25	0,625
Sulfato de Fe	0,5	0,25
Protamilo	5	2,5
WPC 35	45	22,5
Vitamina C	2,5	1,25
Maltodextrosa	45,55	22,775
Vitamina E	0,2	0,1
SUMA	100	50

ES 2 326 595 T3

El aditivo para piensos según la tabla 15 puede añadirse al pienso para animales en cantidades apropiadas para garantizar la dosis deseada que va a administrarse a un animal. Puede ser evidente que la concentración en el pienso puede variar dependiendo del consumo diario de pienso del animal, además de del peso del animal. Con el fin de suministrar a un animal de 10 kg con un consumo diario de 500 ug de IAA libre por kg de PV, una cantidad de 10
5 gramos de la mezcla de la tabla 15 puede mezclarse con la cantidad de pienso que el animal ingiere por día.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

ES 2 326 595 T3

REIVINDICACIONES

5 1. Una composición de pienso para animales no humanos que comprende más de 240 microgramos y hasta 40 g de IAA libre o un derivado del mismo por kilogramo, en la que dicho derivado se selecciona del grupo que está constituido por 4-hidroxi-IAA, 4-metoxi-IAA, 5-hidroxi-IAA, 5-metoxi-IAA, 6-hidroxi-IAA, 6-metoxi-IAA, 7-hidroxi-IAA y 7-metoxi-IAA.

10 2. Una composición de pienso según la reivindicación 1 que comprende entre 100 y 1000 mg de IAA libre o un derivado del mismo por kilogramo.

3. Una composición de pienso según las reivindicaciones 1 ó 2 en forma de gránulos, harina, granos, granos extruidos o expandidos, comprimidos, formas de polvo o bolos.

15 4. Una composición de pienso según las reivindicaciones 1 - 3 para aumentar la velocidad de crecimiento de un animal no humano que presenta un déficit de crecimiento.

20 5. Una composición de pienso según las reivindicaciones 1 - 3 para mejorar la inmunidad de un animal no humano inmunodeprimido.

6. Una composición de pienso según las reivindicaciones 1 - 3 para aumentar la velocidad de crecimiento de un animal no humano.

25 7. Una composición de pienso según las reivindicaciones 1 - 3 para mejorar la eficiencia del pienso y/o la velocidad de conversión del pienso en un animal no humano.

30 8. Procedimiento para la preparación de una composición de pienso para animales no humanos, comprendiendo dicho procedimiento mezclar una composición según las reivindicaciones 1 - 3 con una o más sustancia(s) o componente(s) de pienso con el fin de obtener una composición de pienso para animales no humanos según las reivindicaciones 1 -3.

35 9. Procedimiento para la preparación de una composición de pienso para animales no humanos, comprendiendo dicho procedimiento la etapa de complementar un pienso para animales no humanos con IAA libre o un derivado del mismo con el fin de obtener una composición de pienso para animales no humanos según las reivindicaciones 1 - 3.

10. Procedimiento para alimentar animales no humanos que comprende

40 a) Mezclar una dosis eficaz de IAA libre o un derivado del mismo con un material de pienso con el fin de obtener una composición de pienso según las reivindicaciones 1 - 3 adecuada para una especie particular de animales no humanos

b) Alimentar a dichas especies con el material de pienso.

45

50

55

60

65