



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 330 046**

51 Int. Cl.:

A23K 1/16 (2006.01)

A23K 1/18 (2006.01)

A61K 31/198 (2006.01)

A61K 36/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06808106 .6**

96 Fecha de presentación : **11.09.2006**

97 Número de publicación de la solicitud: **1926391**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **04.06.2008**

54

Título: **Combinación de metionina biodisponible con por lo menos un aceite esencial.**

30

Prioridad: **12.09.2005 FR 05 09273**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
03.12.2009

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
03.12.2009

73

Titular/es: **Adisseo Ireland Ltd.**
IFSC, 25-28, North Wall Quay
Dublin 1, IE

72

Inventor/es: **Mercier, Yves y**
Geraert, Pierre-André

74

Agente: **Curell Suñol, Marcelino**

ES 2 330 046 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

Combinación de metionina biodisponible con por lo menos un aceite esencial.

5 La presente invención se refiere a una composición alimenticia, destinada a complementar la alimentación de los animales de ganadería con metionina.

10 La microflora intestinal de los animales está compuesta por diversas comunidades complejas, que agrupan unas bacterias, unas levaduras y unos hongos. Esta microflora tiene un impacto importante sobre la salud y la eficacia alimenticia de los animales.

15 Se encuentran generalmente dos tipos de bacterias: por un lado, las bacterias patógenas (por ejemplo, *Salmonella*, *Campylobacter jejuni* o *Clostridium perfringens*), y por otro lado, las bacterias que no se consideran como patógenas (por ejemplo, *Lactobacillus* o *Propionibacterium*). El balance global de los efectos de estas bacterias sobre los rendimientos de los animales de ganadería es negativo.

Desde hace numerosos años, las compañías implicadas en la cría de los animales intentan orientar la flora bacteriana intestinal con el fin de mejorar los rendimientos de los animales.

20 Así, el documento US n° 6.322.825 describe el uso de aceites esenciales en la preparación de composiciones farmacéuticas para sustituir las composiciones que comprenden en particular unas sulfonamidas de la cortisona o unos antibióticos.

25 El documento US n° 4.166.867 describe por su parte la preparación de alimento para caballos que sea más sabroso, en particular gracias al uso del aceite esencial de limón como revestimiento, representando el aceite menos de 0,01% en peso del producto final.

30 La solicitud de patente WO 03/056935 describe un complemento alimenticio que se puede utilizar en la formulación de alimentos para animales rumiantes, que comprende por lo menos un aceite esencial y por lo menos una saponina, actuando dicho complemento en el rumen de manera que se mantiene un índice óptimo de proteínas ruminales.

35 En particular es corriente complementar la alimentación de los animales con unos antibióticos factores de crecimiento, lo que permite disminuir la carga bacteriana global del tubo digestivo y mejorar los rendimientos de crecimiento o de producción. Sin embargo, el uso de los antibióticos como factores de crecimiento está prohibido en Europa desde el 1 de enero de 2006.

Por lo tanto, se necesitan unos productos de sustitución.

40 Un objetivo de la presente invención es proponer una composición destinada a la alimentación de los animales de ganadería que tiene un efecto bactericida sobre la flora intestinal de los animales de ganadería.

Otro objetivo de la presente invención es proponer una composición destinada a la alimentación de los animales de ganadería que tiene un efecto beneficioso sobre los rendimientos de los animales.

45 Otro objetivo de la presente invención es proponer una composición alimenticia que no comprende ningún antibiótico, teniendo al mismo tiempo los efectos beneficiosos que presentan generalmente los antibióticos sobre el crecimiento de los animales.

50 Aún otro objetivo de la presente invención es proponer una composición alimenticia que tiene una acción sobre la flora intestinal de los animales de ganadería.

La presente invención se refiere por lo tanto a una composición sinérgica alimenticia de metionina biodisponible destinada a la alimentación de los animales de ganadería, que comprende:

- 55 a) un compuesto de metionina biodisponible, y
b) por lo menos 5% de por lo menos un aceite esencial.

60 Los inventores han constatado que la composición de la presente invención que comprende estos dos compuestos presenta un efecto bactericida sinérgico sobre la actividad de la flora intestinal. En efecto, el compuesto de metionina biodisponible y el aceite esencial, o la mezcla de aceites esenciales, refuerzan mutuamente sus efectos.

Ningún documento de la técnica anterior describe el efecto bactericida sinérgico de un compuesto de metionina biodisponible y de por lo menos un aceite esencial.

65 Por "metionina biodisponible" se entiende cualquier compuesto susceptible de complementar las necesidades diarias de los animales de ganadería en metionina. En efecto, la metionina se puede administrar en los animales de ganadería en diferentes formas.

Según la presente invención, el compuesto de metionina biodisponible se encuentra en el estado aislado.

Puede tratarse en primer lugar de la metionina en sí, en particular de L-metionina o de D,L-metionina.

5 Puede tratarse asimismo de un derivado de la metionina. Por “derivado de la metionina” se entiende por ejemplo las sales, las amidas, los ésteres alquílicos y alcohólicos, los derivados cetónicos y los hidroxi-análogos de la metionina y sus derivados en sí.

10 Puede tratarse del ácido 2-hidroxi-4-metiltiobutanoico (a continuación denominado HMTBA o hidroxi-análogo de metionina), conocido como análogo de la metionina para alimentar a los animales de ganadería. Tiene la ventaja de presentarse en forma de líquido, lo que facilita su uso por las compañías productoras de alimentos.

15 Puede tratarse asimismo del éster isopropílico del hidroxi-análogo de la metionina, o del éster tercio-butilico de la metionina.

La composición alimenticia de la invención puede comprender asimismo varias fuentes de metionina biodisponible, por ejemplo, una mezcla de metionina y de su hidroxi-análogo.

20 La biodisponibilidad de la fuente de metionina pasa por la determinación del índice de compuesto activo en la sangre, con relación a la cantidad de compuesto activo introducida en la ración del animal. Esta determinación tiene en cuenta el porcentaje de absorción en el intestino durante el tránsito digestivo, el paso del bolo alimenticio en los diferentes estómagos de los animales poligástricos y el porcentaje de transformación del compuesto activo por el organismo (es por ejemplo el caso del hidroxi-análogo de metionina).

25 Por “aceite esencial”, se entiende un líquido obtenido a partir de plantas (flores, yemas, semillas, hojas, ramitas, hierbas, cortezas, maderas, frutos y raíces). El aceite esencial se puede obtener en particular mediante expresión, fermentación, enflorado o extracción. Los aceites esenciales se denominan a veces aceites etéreos o volátiles, debido a la presencia de terpenos (hidratos de carbono no aromáticos) y de compuestos oxigenados (alcoholes, aldehídos, cetonas) que son aromáticos. El aceite esencial puede ser bruto, estar libre de pentano, rectificado o compuesto.

30 El aceite esencial puede, según la presente invención, ser una mezcla de aceites esenciales.

Según un modo de realización de la presente invención, los aceites esenciales están compuestos con más de 5% de uno por lo menos de los compuestos seleccionados de entre el acetato de linalilo, el alcohol cumínico, el aldehído cinámico, el borneol, el cadineno, el camfeno, el alcanfor, el carvacrol, la carvona, el cineol, el citral, el citronelal, el citronelol, el cimeno, el dipenteno, el estragol, el eugenol, el geraniol, el limoneno (D o L), el linalol (D o L), el mentol, el metilchavicol, el paracimeno, el felandreno, el pineno (alfa o beta), el salicilato de metilo, el terpineno (alfa y beta), el terpineol (alfa o beta), la tuyona, el timol, el acetato de bornilo, el acetato de geranilo, el acetato de eugenilo, el aldehído cumínico, la alicina, el anetol, el periladehído y el sabineno. Están compuestos más preferentemente con más de 10% de por lo menos uno de estos compuestos.

45 Los aceites usados se extraen preferentemente mediante expresión en frío de cáscaras o mediante destilación de diversas partes de los siguientes vegetales: ajo, arándano, aloe, eneldo, anís verde, árbol de té, albahaca, bergamota, palo rosa, abedul, enebro, zanahoria, cúrcuma, cajeput, alcanfor, canela, alcaravea, apio, roble, limón, citronela, cilantro, comino, estragón, eucalipto globuloso, hinojo, enebro, geranio bourbon, jengibre, ginseng, clavo, hisopo, laurel noble, lavanda, lavanda aspic, limonero, lima, mandarina, mejorana, menta piperita, nuez moscada, mirra, mirto, niaouli, cebolla, olíbano, naranja, orégano, palmarosa, pomelo, papaya, páprika, pachulí, perejil, pimienta, pino marítimo, pino silvestre, manzana, rábano picante, romero, sándalo, ajedrea, sasafrás, salvia, serpol, trementina, tomillo rojo, verbena, vetiver, alanguilán.

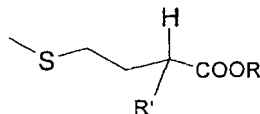
50 Por “animal” se entiende más particularmente los animales de ganadería y en particular los animales de pastoreo (en particular los bovinos criados para la carne, la leche, el queso y el cuero; los ovinos criados para la carne, la lana y el queso; los caprinos), los porcinos, los conejos, las aves de corral (los pollos, las gallinas, los pavos, los patos, las ocas y demás), los animales acuáticos (por ejemplo los peces, las gambas, las ostras y los mejillones), los animales de ocio y de compañía (en particular el caballo, el perro, el gato). Los bovinos, o vacunos, constituyen una sub-familia de los bóvidos, mamíferos rumiantes poligástricos, que comprende varias especies importantes de animales de ganadería (razas lecheras, razas de carne y razas mixtas).

60 La composición de la invención se encuentra en forma de polvo o en forma de líquido. En cuanto a la metionina biodisponible, ésta se encuentra en forma de polvo o de gránulos. Esto implica, además, la dilución de este polvo en el aceite esencial con el fin de constituir la composición según la presente invención. Tal como se ha descrito anteriormente, la metionina puede asimismo encontrarse en forma de hidroxi-análogo, por lo tanto en forma líquida. En este caso, los dos líquidos se mezclan de manera homogénea antes de ser administrados a los animales o mezclados en la ración del animal.

65 Preferentemente, el compuesto a) se selecciona de entre la metionina en sí (L-metionina o D,L-metionina), o uno de sus derivados, de tipo sal, amida, éster alquílico y alcohólico, derivado cetónico, hidroxi-análogo o un derivado de estos productos.

ES 2 330 046 T3

Según un modo de realización de la presente invención, el compuesto a) tiene por fórmula general (I):



en la que

R representa H o un grupo isopropilo, y

R' representa -OH o -NH₂-.

Según un modo de realización de la presente invención, la composición alimenticia de la presente invención que presenta un efecto bactericida sinérgico sobre la flora intestinal de los animales, comprende:

- a) de 5 a 95% en peso de un compuesto de metionina biodisponible,
- b) de 5 a 95% en peso de por lo menos un aceite esencial, y
- c) eventualmente por lo menos otro compuesto.

Según este modo de realización, la composición alimenticia es susceptible de comprender por lo menos otro compuesto, por ejemplo, un emulsificante o una gelatina. Se trata según este modo de realización de una composición abierta.

Ventajosamente, dicha composición comprende de 10 a 90% en peso de un compuesto de metionina biodisponible, de 10 a 90% en peso de por lo menos un aceite esencial, y eventualmente por lo menos otro compuesto.

Según otro modo de realización de la presente invención, dicha composición comprende de 15 a 85% en peso de un compuesto de metionina biodisponible, de 15 a 85% en peso de por lo menos un aceite esencial, y eventualmente por lo menos otro compuesto.

Según otro modo de realización de la presente invención, dicha composición comprende de 20 a 80% en peso de un compuesto de metionina biodisponible, de 20 a 80% en peso de por lo menos un aceite esencial, y eventualmente por lo menos otro compuesto.

Según otro modo diferente de realización de la presente invención, la composición alimenticia y que presenta un efecto bactericida sinérgico sobre la flora intestinal de los animales, consiste en:

- a) 5 a 95% en peso de un compuesto de metionina biodisponible, y
- b) 5 a 95% en peso de por lo menos un aceite esencial.

Según este modo de realización, la composición alimenticia comprende sólo estos dos compuestos, no contiene ninguno más. Se trata, según este modo de realización, de una composición cerrada.

Ventajosamente, la composición alimenticia de la presente invención consiste en 10 a 90% en peso de un compuesto de metionina biodisponible, y en 10 a 90% en peso de por lo menos un aceite esencial.

Según otro modo de realización de la presente invención, dicha composición consiste en 15 a 85% en peso de un compuesto de metionina biodisponible y en 15 a 85% en peso de por lo menos un aceite esencial.

Según otro modo de realización de la presente invención, dicha composición comprende de 20 a 80% en peso de un compuesto de metionina biodisponible, de 20 a 80% en peso de por lo menos un aceite esencial, y eventualmente por lo menos otro compuesto.

Según un modo de realización de la presente invención, la metionina biodisponible (por ejemplo compuesto a)) está presente en el seno de la composición en una proporción superior al 60% en peso, preferentemente superior al 80% en peso.

Según un modo de realización de la presente invención, el aceite esencial (por ejemplo el compuesto b)) está presente en el seno de la composición en una proporción inferior al 40% en peso, preferentemente inferior al 20% en peso, de manera todavía más preferida inferior al 10% en peso. Asimismo, según un modo de realización de la presente invención, el compuesto b) está presente en el seno de la composición en una proporción superior al 5% en peso, preferentemente superior o igual al 8% en peso.

La presente invención se refiere asimismo a un aditivo alimenticio que comprende la composición según la presente invención.

Por “aditivo alimenticio” se entiende un compuesto activo o una mezcla de compuestos activos que entran en la composición del alimento en una proporción generalmente inferior al 2%, por ejemplo inferior al 1% en peso del alimento.

La presente invención se refiere asimismo a un alimento para animales, en particular del tipo ración alimenticia, que comprende la composición alimenticia tal como se ha definido anteriormente o que comprende dicho aditivo alimenticio.

La presente invención se refiere por último al uso de la composición tal como se ha definido anteriormente, para obtener un aditivo alimenticio.

Según un modo de realización de la presente invención, dicho uso puede además permitir disminuir la actividad de la flora endógena en los animales de ganadería o permitir combatir los efectos nefastos de los microorganismos patógenos de la flora intestinal de los animales de ganadería.

Según un modo de realización de la presente invención, dicho uso puede además permitir mejorar los rendimientos de los animales de ganadería tales como el crecimiento, la viabilidad, la homogeneidad, y la eficacia de producción.

Según otro modo de realización de la presente invención, la composición mejora los rendimientos mediante una reducción de la actividad de la flora intestinal de los animales de ganadería.

Así, según la presente invención, se usa la composición de la presente invención para preparar un aditivo alimenticio para animales de ganadería para mejorar los rendimientos mediante una reducción de la actividad de la flora intestinal de dichos animales.

Los ejemplos siguientes y las figuras permitirán poner más claramente de manifiesto ciertas ventajas y características de la presente invención.

El objetivo de los ensayos siguientes es comparar la producción de gas por la flora del contenido ileal de pollos de carne, bajo el efecto de diferentes unidades de ensayo. La producción de gas es un indicador indirecto de la actividad bacteriana de la flora ileal del pollo.

Ejemplo 1

Animales y extracciones

Se crían 50 pollos de carne con un régimen a base de trigo. Estos pollos se crían con el mismo régimen alimenticio. Los pollos se sacrifican el 35º día, y después se extrae el contenido de sus ileones en unas condiciones anaerobias. El contenido se dispone en unos frascos que se conservan a -18°C.

Ensayos in vitro

A partir del esquema experimental descrito a continuación en la tabla I, se mide el volumen de gas producido en función del tiempo.

Se llenan 48 frascos sucesivamente mediante:

- el tratamiento (nada para el control negativo, el HMTBA, el HE o la unidad de ensayo),
- 90 ml de solución tampón, que contiene el almidón de trigo (medio nutritivo para las bacterias); esta solución tampón tiene por función mantener el pH a un valor constante y suprimir el O₂,
- 10 ml de inóculo, constituido por una mezcla de 1/4 de contenido ileal y de 3/4 de disolución fisiológica estéril, que se filtra y se homogeneiza antes del llenado.

Las dosis ensayadas se calculan para ser representativas de las concentraciones de los productos que se encuentren en el contenido gastrointestinal de los animales.

Tratamiento	Control negativo	HMTBA	HE1	Unidad de ensayo 1	HE2	Unidad de ensayo 2	HE3	Unidad de ensayo 3	HE4	Unidad de ensayo 4	HE5	Unidad de ensayo 5
Unidad	0	HMTBA	HE1	HMTBA + HE1	HE2	HMTBA + HE2	HE3	HMTBA + HE3	HE4	HMTBA + HE4	HE5	HMTBA + HE5
repeticiones	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
dosis de HMTBA	0	83	0	83	0	83	0	83	0	83	0	83
% en peso aportada	0	100	0	75	0	62,5	0	71,4	0	73	0	62,5
dosis de HE	0	0	28	28	50	50	34	34	31	31	50	50
% en peso aportada	0	0	100	25	100	37,5	100	28,6	100	27	100	37,5
inóculo (ml)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
solución tampón (ml)	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90

HE: Aceite esencial o mezcla de aceites esenciales
HMTBA: metionina biodisponible en forma de ácido 2-hidroxi-4-metiltiobutanoico

Tabla I

ES 2 330 046 T3

A partir del esquema experimental descrito anteriormente en la tabla I, se obtienen unas curvas de volumen de gas producido en función del tiempo, que tienen en su mayoría una forma sigmoidea.

Se establece un modelo de estas curvas según el modelo siguiente:

$$Y = A/(1 + (C/t)^B)$$

en el que

Y = volumen de gas producido

T= tiempo

A, B y C = parámetros del modelo

A partir de estas ecuaciones, se analiza entonces el volumen final establecido como modelo Vf ($V_f=A$), así como el tiempo para el cual el porcentaje de producción de gas es máximo, denominado Trm (este tiempo se usa como una medición indirecta del tiempo de latencia, que es inaccesible con este modelo). Se realiza un análisis de varianza (ANOVA) sobre estos datos para evaluar el efecto de la unidad. Si la probabilidad del efecto tratamiento es significativa, es decir, si $p<0,05$, las medias se comparan entonces mediante el ensayo de PLSD de Fisher que permite establecer las diferencias sobre las medias entre los diferentes tratamientos.

Resultados

Los resultados aparecen en la tabla II, a continuación.

En la tabla II, los valores de los parámetros son significativamente diferentes en el umbral de 5% cuando los tratamientos no tienen ninguna letra en común.

En un primer tiempo, se observa que todas las composiciones ensayadas dan unos resultados significativamente diferentes del control en los dos criterios, a saber, Vf y Trm. Estas composiciones tienen por lo tanto un efecto reductor sobre la actividad de la flora ileal.

El objetivo es maximizar el Trm. Todas las unidades de ensayo son por lo tanto eficaces.

Se demuestra que existe un efecto sinérgico entre el compuesto de metionina biodisponible, en este caso HMTBA, y el aceite esencial sobre la actividad bacteriana.

En efecto, el Trm del control negativo es de 10,8 h. El tratamiento con HMTBA da un Trm idéntico, lo que deja entender que el HMTBA no tiene o tiene poco efecto sobre el arranque de la actividad bacteriana cuando éste se aporta sólo.

El tratamiento HE1 da un Trm de 13,5 h. HE1 tiene por lo tanto un efecto sobre la actividad bacteriana.

La mezcla 1 por su parte da un Trm de 19,3 h. La mezcla 1 presenta por lo tanto un efecto sobre la actividad bacteriana que va más allá de la suma de los efectos de HE1 y de HMTBA aisladamente.

La mezcla 1, así como las mezclas 2 a 5 que dan el mismo tipo de resultados, presentan por lo tanto un efecto sinérgico sobre la actividad bacteriana medida mediante el Trm.

La medición del Vf es un indicador del efecto a largo plazo del tratamiento. El objetivo es minimizar el Vf.

Las unidades consideradas como más eficaces son las que minimizan el volumen final y, al mismo tiempo, maximizan el Trm.

Se trata de las mezclas 3 y 5.

Tratamiento	Control negativo	HMTBA	HE1	Unidad de ensayo 1	HE2	Unidad de ensayo 2	HE3	Unidad de ensayo 3	HE4	Unidad de ensayo 4	HE5	Unidad de ensayo 5
Vf (ml)	Media	565	496	469	238	184	460	237	302	252	308	193
	Desviación estándar	21	41	18	34	17	9	48	113	18	55	8
	diferencia	a	b	bc	ef	f	c	ef	d	de	d	f
Trm (h)	Media	10,8	13,5	19,3	28,6	46,3	21,5	39,1	28,9	35,8	30,8	37,2
	Desviación estándar	0,2	0,1	1,8	1,2	3,1	4,6	3,4	0,4	1,3	1,9	3,1
	diferencia	a	b	c	d	f	c	e	d	e	d	e

Vf = volumen final de gas producido (ml)
Trm: tiempo para el cual el porcentaje de producción de gas es máximo (hora).
Unidad de ensayo n = HE n + HMTBA

Tabla II

ES 2 330 046 T3

Ejemplo 2

Las condiciones y los parámetros de experimentación del ejemplo 1 se recogen en el ejemplo 2, según la tabla III siguiente.

TABLA III

Tratamiento		Control negativo	HMTBA	HE1	Unidad de ensayo 1	HE2	Unidad de ensayo 2
Unidad		0	HMTBA	HE1	HMTBA + HE1	HE2	HMTBA + HE2
Repeticiones		4	4	4	4	4	4
dosis de HMTBA aportada	mg	0	83	0	83	0	83
	% en peso	0	100	0	84,7	0	84,7
dosis de HE aportada	mg	0	0	15	15	15	15
	% en peso	0	0	100	15,3	100	15,3
inóculo (ml)		10	10	10	10	10	10
Solución tampón (ml)		90	90	90	90	90	90

HE1: tomillo rojo

HE2: árbol de té

HMTBA: metionina biodisponible en forma de ácido 2-hidroxi-4-metiltiobutanoico

Resultados

Los resultados aparecen en la tabla IV siguiente.

TABLA IV

Tratamiento		Control negativo	HMTBA	HE1	Unidad de ensayo 1	HE2	Unidad de ensayo 2
Vf (ml)	Media	542,0	296,2	226,7	203,1	319,6	361,1
	Desviación estándar	43,9	28,6	15,5	15,6	10,8	41,3
	diferencia	a	b	b	b	b	e
Trm (h)	Media	15,3	20,3	27,7	33,1	20,2	24,8
	Desviación estándar	1,0	0,7	1,1	0,8	0,8	0,8
	diferencia	a	b	c	d	b	e

Vf = volumen final de gas producido (ml)

Trm: tiempo para el cual el porcentaje de producción de gas es máximo (hora).

Unidad de ensayo n = HE n + HMTBA

En cuanto al Trm que se debe maximizar, todos los tratamientos ensayados (HMTBA, HE y unidad de ensayo) son por lo tanto eficaces.

ES 2 330 046 T3

Se demuestra de nuevo que existe un efecto sinérgico entre el compuesto de metionina biodisponible, en este caso HMTBA, y el aceite esencial sobre la actividad bacteriana.

En efecto, el Trm del control negativo es de 15,3 h.

El tratamiento HMTBA da un Trm de 20,3 h. Así, el HMTBA tiene por lo tanto un efecto sobre la actividad bacteriana cuando se aporta solo.

El tratamiento HE1 da un Trm de 27,7 h. HE1 tiene por lo tanto un efecto sobre la actividad bacteriana.

La mezcla 1 (o unidad de ensayo 1) da un Trm de 33,1 h. La mezcla 1 presenta por lo tanto un efecto sobre la actividad bacteriana que va más allá de la suma de los efectos de HE1 y de HMTBA aisladamente.

La mezcla 1, así como la mezcla 2 que da el mismo tipo de resultados, presentan por lo tanto un efecto sinérgico.

La medición del Vf es un indicador del efecto a largo plazo del tratamiento. El objetivo es minimizar el Vf.

Las unidades consideradas como más eficaces son las que minimizan el volumen final y, al mismo tiempo, maximizan el Trm.

Se trata de la mezcla 1.

NB: las diferencias en los valores de Vf y Trm entre los diferentes ejemplos de la presente solicitud pueden ser debidas al uso de diferentes contenidos digestivos, procedentes de diferentes lotes de animales. Aunque la ganadería, la alimentación y las condiciones de extracción sean idénticas, las poblaciones bacterianas que se implantan a nivel digestivo en ganadería no son jamás rigurosamente las mismas. Las variaciones del valor observadas en función de los ejemplos se deben a la variación del tipo de flora presente en las distintas extracciones.

Ejemplo 3

Las condiciones y los parámetros de experimentación del ejemplo 1 se recogen en el ejemplo 3, según la tabla V siguiente.

TABLA V

Tratamiento		Control negativo	HMTBA	HE1	Unidad de ensayo 1
Unidad		0	HMTBA	HE1	HMTBA + HE1
Repeticiones		4	4	4	4
dosis de HMTBA aportada	mg	0	83	0	83
	% en peso	0	100	0	84,7
dosis de HE aportada	mg	0	0	15	15
	% en peso	0	0	100	15,3
inóculo (ml)		10	10	10	10
solución tampón (ml)		90	90	90	90

HE1: canela

HMTBA: metionina biodisponible en forma de ácido 2-hidroxi-4-metiltiobutanoico

Resultados

Los resultados aparecen en la tabla VI siguiente.

TABLA VI

Tratamiento		Control negativo	HMTBA	HE1	Unidad de ensayo 1
Vf (ml)	Media	632,7	334,3	218,3	20,0
	Desviación estándar	23	86	82	10
	diferencia	a	b	c	e
Trm (h)	Media	14,1	28,1	53,5	> 72
	Desviación estándar	0,1	2,2	10,9	nd
	diferencia	a	b	c	d

Vf = volumen final de gas producido (ml)

Trm: tiempo para el cual el porcentaje de producción de gas es máximo (hora).

Unidad de ensayo n = HE n + HMTBA

Nd: no determinado

Todas las composiciones ensayadas dan unos resultados significativamente diferentes del control en los dos criterios, a saber, el Vf y el Trm. Estas composiciones tienen por lo tanto un efecto reductor sobre la actividad de la flora ileal.

En cuanto al Trm que se debe maximizar, todos los tratamientos ensayados (HMTBA, HE y unidad de ensayo) son por lo tanto eficaces.

Se demuestra de nuevo que existe un efecto sinérgico entre el compuesto de metionina biodisponible, en este caso HMTBA, y el aceite esencial, en este caso el aceite esencial de canela, sobre la actividad bacteriana.

En efecto, el Trm del control negativo es de 14,1 h.

El tratamiento HMTBA da un Trm de 28,1 h. Así, el HMTBA tiene un efecto sobre la actividad bacteriana cuando se aporta solo.

El tratamiento HE1 da un Trm de 53,5 h. HE1 tiene por lo tanto un efecto sobre la actividad bacteriana.

La mezcla 1 (o unidad de ensayo 1) da por su parte un Trm "superior a 72 h". Presenta por lo tanto una actividad bactericida casi total que ha impedido la producción de gas por las bacterias procedentes del contenido digestivo. La combinación de HMTBA y de aceite esencial de canela presenta por lo tanto un efecto muy fuerte sobre la actividad bacteriana, efecto que va más allá de la suma de los efectos del aceite esencial de canela y del HMTBA aisladamente.

La mezcla 1 presenta por lo tanto un fuerte efecto sinérgico. Véase la figura 6.

La medición del Vf es un indicador del efecto a largo plazo del tratamiento. El objetivo es minimizar el Vf.

Las unidades consideradas como más eficaces son las que minimizan el volumen final y, al mismo tiempo, maximizan el Trm.

La mezcla 1 responde a estas características y se puede considerar por lo tanto como particularmente eficaz.

ES 2 330 046 T3

Ejemplo 4

Las condiciones y los parámetros de experimentación del ejemplo 1 se recogen en el ejemplo 4, según la tabla VII siguiente.

TABLA VII

Tratamiento		Control negativo	HMTBA	MHE	Unidad de ensayo
Unidad		0	HMTBA	HE1	HMTBA + HE1
Repeticiones		4	4	4	4
dosis de HMTBA aportada	mg	0	83	0	83
	% en peso	0	100	0	84,7
dosis de HE aportada	mg	0	0	15	15
	% en peso	0	0	100	15,3
inóculo (ml)		10	10	10	10
solución tampón (ml)		90	90	90	90

MHE: 3/4 de árbol de té, 1/4 de aceite esencial de canela

HMTBA: metionina biodisponible en forma de ácido 2-hidroxi-4-metiltiobutanoico

Resultados

Los resultados aparecen en la tabla VIII siguiente.

TABLA VIII

Tratamiento		Control negativo	HMTBA	MHE	Unidad de ensayo
Vf (ml)	Media	518	421	377	253
	Desviación estándar	35	37	21	2
	diferencia	a	b	b	d
Trm (h)	Media	11,1	15,4	19,0	25,3
	Desviación estándar	1,4	1,7	2,7	2,6
	diferencia	a	b	d	e

Vf = volumen final de gas producido (ml)

Trm: tiempo para el cual el porcentaje de producción de gas es máximo (hora).

Se demuestra de nuevo que existe un efecto sinérgico entre el compuesto de metionina biodisponible y las mezclas de aceite esencial sobre la actividad bacteriana.

El Trm del control negativo es de 11,1 h.

En cuanto a la unidad de ensayo que consiste en 84,7% de HMTBA y 15,3% de una mezcla de 3/4 de aceite esencial de árbol de té y de 1/4 de aceite esencial de canela:

- el tratamiento HMTBA da un Trm de 15,4 h. Así, el HMTBA tiene un efecto sobre la actividad bacteriana cuando se aporta solo (diferencia con el control negativo), valor de la diferencia: 4,3 h
- el tratamiento MHE da un Trm de 19,0 h. HE1 tiene por lo tanto un efecto sobre la actividad bacteriana (diferencia con el control negativo), valor de la diferencia: 7,9 h

ES 2 330 046 T3

- la mezcla (o unidad de ensayo) por su parte da un Trm de 25,3 h. La mezcla presenta por lo tanto un efecto sobre la actividad bacteriana que va más allá de la suma de los efectos de MHE2 y de HMTBA aisladamente. En efecto, (25,3-11,1) es superior a (4,3+7,9).

5 La mezcla presenta por lo tanto un efecto sinérgico sobre la actividad bacteriana.

La medición del Vf es un indicador del efecto a largo plazo del tratamiento. El objetivo es minimizar el Vf. Las unidades consideradas como las más eficaces son las que minimizan el volumen final y, al mismo tiempo, maximizan en el Trm.

10 La mezcla de este ensayo responde a estas características y se puede considerar por lo tanto como particularmente eficaz.

15 Ejemplo 5

Se ha mostrado con el ejemplo 1 la eficacia de las 5 mezclas de aceites esenciales para reducir la actividad de la flora ileal procedente de animales alimentados con un régimen a base de trigo.

20 El objetivo de este ensayo es demostrar que tres de estas mezclas tienen asimismo un efecto reductor sobre la actividad de la flora ileal procedente de pollos alimentados con un régimen a base de maíz.

Animales y extracciones

25 Condiciones idénticas a las del ejemplo 1.

Ensayos in vitro

30 El esquema experimental se representa en la tabla I para las mezclas 2, 3, 4 y 5.

Resultados

35 Los resultados aparecen en la tabla IX siguiente.

TABLA IX

40

45

50

55

Tratamiento		Control negativo	HE2 + HMTBA	HE3 + HMTBA	HE4 + HMTBA	HE5 + HMTBA
Vf (ml)	Media	455	203	201	228	206
	Desviación estándar	11,8	8,4	1,5	14,4	13,9
	diferencia	a	b	b	b	b
Trm (h)	Media	17,1	30,1	22,1	28,0	30,3
	Desviación estándar	0,68	1,86	1,18	0,63	2,20
	diferencia	a	d	b	c	d

HE: Aceite esencial o mezcla de aceites esenciales.

60 En la tabla, los valores de los parámetros son significativamente diferentes en el umbral de 5% cuando los tratamientos no tienen ninguna letra en común.

Las 4 mezclas ensayadas disminuyen significativamente el Vf y aumentan significativamente el Trm con relación al control. Por consiguiente, estos productos son eficaces para reducir la actividad de la flora ileal de pollo alimentado con un régimen a base de maíz, tanto a corto plazo como a largo plazo, tal como era el caso con la flora de pollo alimentado con un régimen a base de trigo (ejemplo 1).

65

Estas mezclas son por lo tanto eficaces con los dos tipos de regímenes usados.

ES 2 330 046 T3

Ejemplo 6

Se ha mostrado con los ejemplos 1 y 5 la eficacia de varias mezclas de aceites esenciales para reducir la actividad de la flora ileal procedente de pollos de carne.

El objetivo de este ensayo es conocer la eficacia de estas mezclas sobre la flora cecal el de cerdo.

Animales

Se crían unos cerdos hasta el 100º día, y después se extrae el contenido de su ciego en unas condiciones anaerobias.

Ensayos *in vitro*

El esquema experimental se representa en la tabla I para las mezclas 2, 3 y 4.

Resultados

Los resultados aparecen en la tabla X.

En la tabla, los valores de los parámetros son significativamente diferentes en el umbral de 5% cuando los tratamientos no tienen ninguna letra en común.

TABLA X

Tratamiento		Control negativo	HE2 + HMTBA	HE3 + HMTBA	HE4 + HMTBA
Vf (ml)	Media	430	265	344	412
	Desviación estándar	48,0	2,5	27,4	17,4
	diferencia	ab	d	c	b
Trm (h)	Media	21,1	23,9	25,8	25,2
	Desviación estándar	0,36	1,25	2,04	1,30
	diferencia	a	bc	c	c

HE: Aceite esencial o mezcla de aceites esenciales.

Todas las mezclas ensayadas disminuyen el Vf significativamente para 2 y 3, como media para 4, y aumentan significativamente el Trm con relación al control. Las mezclas son por lo tanto eficaces para reducir la actividad de la flora cecal de cerdo, tanto a corto plazo como a largo plazo.

Así, 3 mezclas funcionan al mismo tiempo sobre la flora del pollo y del cerdo.

Ejemplo 7

El objetivo de este ensayo es comparar la eficacia de por lo menos un aceite esencial y de HMTBA cuando estos compuestos son aportados separadamente en las botellas (los dos productos se encuentran en baja cantidad en 100 ml de disolución; existe por lo tanto poco contacto directo entre las moléculas), o después de haber sido mezclados previamente a su adición a la disolución.

Animales

Para este ensayo se usa la flora ileal procedente de pollo de 35 días alimentado con un régimen a base de trigo.

Ensayos *in vitro*

En este ensayo se ensaya una de las mezclas ensayadas en el ejemplo 1. El esquema experimental se representa en la tabla I para la mezcla 2.

Resultados

Los resultados aparecen en la tabla XI.

- 5 En la tabla, los valores de los parámetros son significativamente diferentes en el umbral de 5% cuando los tratamientos no tienen ninguna letra en común.

TABLA XI

Tratamiento		Control negativo	HE2 + HMTBA Después de la mezcla	HE2 + HMTBA Aportación separada
Vf (ml)	Media	532	184	407
	Desviación estándar	20,4	23,3	24,4
	diferencia	a	c	b
Trm (h)	Media	14,8	31,3	19,4
	Desviación estándar	0,45	3,31	0,66
	diferencia	a	c	a

HE: Aceite esencial o mezcla de aceites esenciales.

El efecto de HE2 + HMTBA es muy superior cuando los dos compuestos se mezclan antes de la introducción en la botella: el contacto previo mejora particularmente la acción de los compuestos sobre la flora. Por lo tanto, se puede pensar que existen unas interacciones físico-químicas entre los compuestos, modificando estas interacciones su eficacia. Esto confirma el efecto sinérgico de la mezcla de un compuesto de metionina biodisponible con por lo menos un aceite esencial.

Ejemplo 8

Animales

Para este ensayo, se usa flora ileal procedente de pollos de 35 días alimentados con un régimen a base de trigo.

Ensayos in vitro

El esquema experimental se representa en la tabla XII siguiente.

TABLA XII

Tratamiento		Control negativo	HMTBA	MHE	Unidad de ensayo
Unidad		0	HMTBA	HE	HMTBA + HE
Repeticiones		4	3	3	3
dosis de HMTBA aportada	mg	0	113	0	113
	% en peso	0	100	20	89,7
dosis de HE aportada	mg	0	0	13	13
	% en peso	0	0	100	10,3
inóculo (ml)		10	10	10	10
solución tampón (ml)		90	90	90	90

HE: aceite de orégano

Resultados

Los resultados aparecen en la tabla XIII siguiente. En la tabla, los valores de los parámetros son significativamente diferentes en el umbral de 5% cuando los tratamientos no tienen ninguna letra en común.

TABLA XIII

Tratamiento		Control negativo	HMTBA	HE	HE + HMTBA
Vf (ml)	Media	407	353	300	224
	Desviación estándar	45,1	17,7	127,6	1,9
	diferencia	a	a	a	a
Trm (h)	Media	16,0	16,2	18,3	20,3
	Desviación estándar	1,67	0,71	0,99	0,67
	diferencia	a	a	a	a

Cuando se usa solo, el HMTBA no tiene ningún efecto significativo sobre la fermentación, tal como se ha observado en el ejemplo 1.

El aceite de orégano aumenta el Trm en 2,3 horas como media con relación al control negativo (efecto significativo).

La mezcla del aceite de orégano y del HMTBA aumenta el Trm en 4,3 horas con relación al control negativo. El efecto de la mezcla es sinérgico sobre la actividad de la flora bacteriana. El aceite y el HMTBA actúan por lo tanto en sinergia para reducir a corto plazo la actividad de la flora.

REIVINDICACIONES

1. Composición sinérgica de metionina biodisponible destinada a la alimentación de los animales de ganadería, que comprende:

- a) un compuesto de metionina biodisponible, y
- b) por lo menos 5% en peso de por lo menos un aceite esencial.

2. Composición según la reivindicación 1, que comprende:

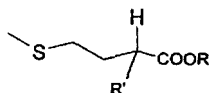
- a) de 5 a 95% en peso de un compuesto de metionina biodisponible,
- b) de 5 a 95% en peso de por lo menos un aceite esencial, y
- c) eventualmente por lo menos otro compuesto.

3. Composición según la reivindicación 1, que consiste en:

- a) de 5 a 95% en peso de un compuesto de metionina biodisponible, y
- b) de 5 a 95% en peso de por lo menos un aceite esencial.

4. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el compuesto a) se selecciona de entre la metionina en sí (L-metionina o D,L-metionina), o uno de sus derivados, de tipo sal, amida, éster alquílico y alcohólico, derivado cetónico, hidroxí-análogo o un derivado de estos productos.

5. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el compuesto a) tiene por fórmula general (I):



en la que

R representa H o un grupo isopropilo, y

R' representa -OH o -NH₂-.

6. Uso de la composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para obtener un alimento destinado a la alimentación animal.

7. Uso de la composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para obtener un aditivo alimenticio.

8. Uso según la reivindicación 7 para obtener un aditivo alimenticio destinado a disminuir la actividad de la flora endógena en los animales de ganadería.

9. Uso según la reivindicación 7 para obtener un aditivo alimenticio destinado a mejorar los rendimientos de los animales de ganadería tales como el crecimiento, la viabilidad, la homogeneidad, y la eficacia de producción.

10. Uso según la reivindicación 7 para la preparación de una disolución medicamentosa destinada a combatir los efectos nefastos de los microorganismos patógenos de la flora intestinal de los animales de ganadería.