

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 383 060**

51 Int. Cl.:

**A23K 1/16** (2006.01)

**A23K 1/165** (2006.01)

**A23K 1/18** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **09753725 .2**

96 Fecha de presentación: **07.04.2009**

97 Número de publicación de la solicitud: **2288267**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **02.03.2011**

54 Título: **Una premezcla enzimática contra colonización por bacterias Gram negativas en el tracto intestinal animal**

30 Prioridad:  
**14.04.2008 EP 08154484**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**18.06.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**18.06.2012**

73 Titular/es:  
**Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentaries  
Passeig de Gràcia 44, 3r.  
08007 Barcelona, ES y  
Industrial Técnica Pecuaria S.A.**

72 Inventor/es:  
**BRUFAU DE BARBERÀ, Joaquím;  
PÉREZ VENDRELL, Ana María;  
BADIOLA SANZ, Ignasi y  
PERIS MIRAS, Silvia**

74 Agente/Representante:  
**Zea Checa, Bernabé**

ES 2 383 060 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

Una premezcla enzimática contra colonización por bacterias Gram negativas en el tracto intestinal animal.

- 5 **[0001]** La presente invención se refiere a una premezcla para alimentación animal que es eficaz en la reducción o prevención de bacterias Gram negativas patógenas en el tracto intestinal animal.

**Antecedentes de la técnica**

- 10 **[0002]** Las aves de corral y la carne son fuentes frecuentes de organismos patógenos de transmisión alimentaria. Los patógenos asociados con productos de aves de corral incluyen *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* y *Campylobacter jejuni*. Estos microorganismos se introducen en las aves de corral y poblaciones de animales durante la cría y en las reses muertas durante el procesamiento. Estas bacterias colonizan la mucosidad que cubre las superficies del intestino y también puede hallarse en la mucosidad profunda de las glándulas intestinales.

- 15 **[0003]** La infección de *Salmonella enteritidis* (SE) en aves de corral es uno de los problemas más graves en la industria de las aves de corral debido a brotes relacionados de intoxicación alimentaria. Se ha realizado mucho esfuerzo para inhibir la infección por *Salmonella* spp en aves de corral. La inhibición de *Salmonella* spp con antibióticos no parece ser práctica debido a la aparición de cepas bacterianas resistentes y la toxicidad residual de los antibióticos en los productos de aves de corral.

- 20 **[0004]** Recientemente la vacunación se ha convertido en un enfoque habitual, pero tiene varias limitaciones. La terapia de vacuna no puede distinguir si el origen del anticuerpo deriva de la vacuna o de un patógeno bacteriano cuando se realiza serología de *Salmonella*. Por lo tanto, el período de vacunación debe programarse de forma estricta y se restringe a un intervalo específico de tiempo. Se ha indicado que algunos tipos de carbohidratos, levadura y, especialmente, el resto de manosa son eficaces en la prevención de la colonización por *Salmonella* spp.

- 25 **[0005]** Otro enfoque reciente se basa en el uso de ciertos azúcares monoméricos y diméricos en la dieta de las aves de corral para reducir los niveles de organismos de *Salmonella* que colonizan su intestino. Como se ha indicado previamente, los receptores de azúcares en las superficies de las células epiteliales intestinales aparentemente actúan como receptores para la unión de varios patógenos bacterianos. La interacción entre los pili bacterianos Gram negativos y estos receptores puede bloquearse por ciertos azúcares sencillos en el pienso animal.

- 30 **[0006]** En la publicación de PCT número WO03101219 se describe una premezcla para su uso en alimentación animal. En esta aplicación se describe una premezcla que comprende goma de algarrobo, una preparación de hidrolasa líquida y sepiolita (que es un aditivo aceptable para alimentación animal). La mezcla se usó contra la colonización de *Salmonella* en pollos.

- 35 **[0007]** A pesar de los esfuerzos realizados en la técnica anterior, la investigación de nuevas composiciones más eficaces en la prevención o inhibición de colonización de bacterias Gram negativas (tales como *Salmonella* spp.) aún es un campo activo.

**Descripción resumida de la invención**

- 40 **[0008]** Los inventores han descubierto que una premezcla de un polímero con un contenido de manosa comprendido entre 10 % y 100 %; una enzima de  $\beta$ -mananasa; y un anti-aglutinante con una capacidad de absorción y densidad aparente específica es eficaz contra colonización por bacterias Gram negativas en el tracto intestinal animal. Particularmente, esta premezcla tiene una alta fluidez, lo que implica una mejor difusión a través del tracto intestinal. Las principales ventajas de esta alta fluidez y difusión es que la eficacia de la premezcla aumenta y, por lo tanto, se necesita una dosis de inclusión baja (es decir, la cantidad de la mezcla en el pienso de animal) para conseguir el efecto deseado (es decir, evitar la colonización bacteriana). Como se muestra posteriormente, una pequeña cantidad de la mezcla de la invención es suficiente para conseguir el efecto deseado, lo que significa que hay un pequeño aumento del total del forraje que debe administrarse. Esto es de gran importancia porque cuando el animal de granja debe nutrirse, se administra una cantidad fija de forraje. Si la mezcla de la invención tiene que proporcionarse en una cantidad alta, la cantidad de forraje debería reducirse y, por lo tanto, la dieta del animal no sería apropiada para su crecimiento. En este caso deberían añadirse nutrientes adicionales al forraje para ayudar al crecimiento apropiado del animal.

- 45 **[0009]** A partir de las enseñanzas del documento WO03101219 se supo que una mezcla que comprende sepiolita como aditivo tecnológico aceptable, junto con una preparación de hidrolasa líquida, y una goma natural, tiene la capacidad de inhibir la colonización por *Salmonella*. En los ejemplos de dicha aplicación, las cantidades de mezcla usadas son de 2,5 % y 5 % en peso sobre el peso de forraje total, es decir, de 5 a 10 veces mayor que el usado en los ejemplos incluidos posteriormente para inhibir la colonización de bacterias.

- 50 **[0010]** Provechosamente, puesto que la mezcla de la invención es eficaz a una cantidad baja (por ejemplo, en las Tablas 2 y 3 la cantidad es 0,5 % en peso/forraje total), prácticamente se mantiene la cantidad de forraje,

manteniendo los niveles de nutrientes necesarios para el crecimiento apropiado del animal y, por lo tanto, no siendo necesaria la adición de otros componentes.

5 **[0011]** Por otro lado, es relevante que cuando se administra la premezcla de la invención, el índice de conversión se mantiene en comparación con un control. Un valor del índice de conversión significativamente igual al grupo de control es indicativo de una buena transformación (el alimento administrado al animal se transforma en carne/huevos). Un valor diferente significativamente mayor es indicativo de una transformación inapropiada (debe administrarse una enorme cantidad de alimento al animal para conseguir la cantidad deseada de carne/huevos). Como se ilustra posteriormente (Tabla 1, línea T-3), la premezcla descrita en el documento WO03101219 tiene un  
10 índice de conversión significativamente diferente del índice de conversión del grupo de control. Provechosamente, cuando se administra la premezcla de la invención (Tabla 2, líneas T2 y T-3) no hay diferencias significativas con el grupo de control.

15 **[0012]** Por lo tanto, en un primer aspecto de la presente invención se refiere a una premezcla para alimentación animal que comprende: (a) un polímero o una mezcla de polímeros, que tiene un contenido de manosa comprendido entre 10 % y 100 %; (b) enzima  $\beta$ -mananasa; y (c) un agente anti-aglutinante; en la que el agente anti-aglutinante tiene una capacidad de absorción mayor del 20 %, y una densidad aparente que está comprendida entre 0,10 y 2,70 g/cm<sup>3</sup>.

20 **[0013]** Sorprendentemente, el uso del agente anti-aglutinante que tiene tales propiedades (es decir, la capacidad de absorción y densidad aparente) en lugar de sepiolita, mejora la eficacia en la inhibición de colonización. Esta mejora hace posible el uso de la premezcla de la invención en una cantidad aproximadamente al menos 5 veces menor que la cantidad necesaria en el documento WO03101219 para conseguir el mismo efecto (como se ha explicado anteriormente).

25 **[0014]** Sin quedar ligado a la teoría, se cree que usando un agente anti-aglutinante de acuerdo con el primer aspecto de la invención, la enzima se difunde mejor en la premezcla, siendo más eficaz cuando tiene que hidrolizar su sustrato (es decir, el polímero).

30 **[0015]** La mejora de difusión también afecta al producto resultante (el polímero hidrolizado por la  $\beta$ -mananasa). Por lo tanto, el producto resultante, debido a la presencia del agente anti-aglutinante, difunde mejor hacia el tracto intestinal, mejorándose su eficacia en la inhibición de la colonización bacteriana.

35 **[0016]** En un segundo aspecto, la presente invención se refiere a una composición de pienso animal que comprende la premezcla como se define de acuerdo con el primer aspecto de la invención.

40 **[0017]** En un tercer aspecto, la presente invención se refiere al uso de una premezcla de acuerdo con el primer aspecto de la invención, para la preparación de una composición de pienso animal para la inhibición de colonización por bacterias Gram negativas en el tracto intestinal del animal. Este aspecto puede formularse como un método de tratamiento de un animal, que padece o que es susceptible de padecer una colonización por bacterias Gram negativas administrando la premezcla de la presente invención como se ha definido anteriormente.

45 **[0018]** También es parte de la invención una premezcla como se ha definido anteriormente para su uso como inhibidor de colonización por bacterias Gram negativas en el tracto intestinal animal.

#### **Descripción detallada de la invención**

50 **[0019]** En la presente invención, la expresión "un polímero con un contenido de manosa comprendido entre 10 % y 100 %" abarca homopolisacáridos que consisten exclusivamente en unidades de manosa (es decir, un polisacárido con un contenido de 100 % de manosa) y heteropolisacáridos que comprenden manosa y otras unidades de azúcar tales como glucosa, galactosa, derivado de  $\alpha$ -galactosa, galactomananos, galactosamina, fucosa y arabinosa, por ejemplo. Los polímeros de acuerdo con la presente invención incluyen, pero sin limitación: goma guar, goma de xantano, pectina, goma de tragacanto, goma arábica, goma casia, harina de palmiste, algina, carragenina, goma de algarrobo, semilla de algarrobo y mezclas de los mismos.

55 **[0020]** En una realización del primer aspecto de la invención, el polímero tiene un contenido de manosa comprendido entre 10 % y 60 %.

60 **[0021]** En la presente invención, la expresión "agente anti-aglutinante" abarca cualquier sustancia que reduce o evita la adhesión entre las partículas de compuesto resultantes de la actividad de  $\beta$ -mananasa.

65 **[0022]** En una realización preferida del primer aspecto de la invención el agente anti-aglutinante tiene una capacidad de absorción comprendida entre 60 y 70 % y una densidad aparente comprendida entre 0,10 y 0,30 g/cm<sup>3</sup>.

**[0023]** La capacidad de absorción del agente anti-aglutinante se determina usando el siguiente protocolo:

- 1.- Tarar un matraz volumétrico de 50 ml sobre la escala.
- 2.- Añadir 50 g del agente anti-aglutinante para determinar.
- 3.- Con el tubo graduado añadir gradualmente agua desionizada y agitar con la varilla de vidrio hasta su total absorción por el agente anti-aglutinante.
- 4.- Repetir esta operación (punto 3) hasta que el agente anti-aglutinante no sea capaz de absorber más líquido.
- 5.- El análisis debe realizarse por duplicado.
- 6.- Se aplica la siguiente ecuación:

Capacidad de absorción = [g de agua desionizada / (g de agua desionizada + g de agente anti-aglutinante)] \* 100.

**[0024]** La densidad aparente del agente anti-aglutinante se determina usando el siguiente protocolo:

- 1.- Tarar un tubo graduado de 50 ml sobre la balanza semianalítica (precisión de 0,01 g).
- 2.- Llenar el tubo graduado hasta la línea con el agente anti-aglutinante. No golpear el tubo graduado para evitar resultados incorrectos.
- 3.- Pesar el tubo lleno.
- 4.- Realizar la determinación dos veces.
- 5.- Densidad aparente = peso (g) / 50 ml = g/ml. (Los resultados finales son la media de ambas determinaciones).

**[0025]** Cuando se prepara la premezcla de la invención, esta se obtiene preferentemente como una mezcla sólida homogénea. Para obtener la mezcla sólida homogénea, la enzima puede estar en forma sólida, por ejemplo, polvo.

**[0026]** El hecho de que la enzima esté en forma sólida, hace más fácil su manipulación y mejora su difusión a través del tracto intestinal. En el documento WO03101219 el aditivo de sepiolita se usó como vehículo para "solidificar" la enzima, que estaba inicialmente en forma de preparación líquida. En la presente invención, el uso de un agente anti-aglutinante con las propiedades indicadas anteriormente evita la aparición de grumos en la premezcla, lo que dificultaría la difusión de la mezcla en el tracto intestinal y empeoraría de este modo su eficacia en la inhibición de la colonización por bacterias.

**[0027]** En otra realización preferida más del primer aspecto de la invención, la relación de la enzima está comprendida entre 5 y 40 unidades de actividad enzimática por gramo de polímero. Las unidades de actividad enzimática se determinan para la enzima b-mananasa como la cantidad de enzima que libera 1 micromol de manosa por minuto de galactomanano de algarroba a 40°C y pH = 4.

**[0028]** En otra realización del primer aspecto de la invención, el polímero se selecciona del grupo que consiste en: goma guar, goma de xantano, pectina, goma de tragacanto, goma arábiga, algina, carragenina, goma de algarrobo, semilla de algarrobo, goma cassia, harina de palmiste y mezclas de los mismos.

**[0029]** En la presente invención la "enzima β-mananasa" comprendida en la premezcla de la invención puede ser de origen natural o sintético. Por "origen sintético" se entiende cualquier forma de la enzima obtenida por técnicas de ingeniería (por ejemplo, recombinación).

**[0030]** En una realización preferida del primer aspecto de la invención la enzima β-mananasa es E.C. 3.2.1.78 de acuerdo con la nomenclatura de la Unión Internacional de Bioquímica.

**[0031]** En otra realización preferida del primer aspecto de la invención, la cantidad de agente anti-aglutinante está comprendida entre 0,5 y 4 % en peso con respecto al peso total de la premezcla.

**[0032]** Son ejemplos no limitantes ilustrativos de agentes anti-aglutinantes: ácido silícico precipitado y seco (E551 a), sílice coloidal (E551 b), vermiculita (E561), Kieselgur (E551 c), silicato cálcico sintético (E552), silicato de aluminio y sodio sintético (E554), aluminatos de calcio sintéticos (E598), clinoptilolita de origen volcánico (E567). El número "E", por ejemplo "E551 a", se corresponde con el número de aditivo autorizado en la Unión Europea. En una realización preferida del primer aspecto de la invención, el agente anti-aglutinante se selecciona del grupo que consiste en: ácido silícico precipitado y seco (E551a), sílice coloidal (E551 b) y vermiculita (E561).

**[0033]** En una realización preferida del segundo aspecto de la invención, la premezcla está comprendida entre 0,05 y 1,5 % en peso de la composición total.

**[0034]** Como se ha mencionado a lo largo de la descripción, la premezcla de la presente invención es útil en la inhibición eficaz de la colonización de bacterias Gram negativas. La expresión "bacterias Gram negativas" incluye, pero sin limitación, bacterias que muestran fimbria, tales como *Enterobacteriaceae*, entre otras. En una realización preferida del tercer aspecto de la invención, la bacteria Gram negativa es *Salmonella*.

**[0035]** A lo largo de la descripción y reivindicaciones la palabra “comprender” y variaciones de la palabra, tales como “comprendiendo”, no pretenden excluir otros elementos técnicos, aditivos, componentes o etapas.

5 **[0036]** Los siguientes ejemplos se proporcionan como ilustración, y no se pretende que sean limitantes de la presente invención.

**Ejemplos**

10 Ejemplo 1: Preparación de una premezcla de acuerdo con la presente invención en una proporción de 0,5 % en peso en relación con la dieta para el animal

**[0037]** Por tonelada de pienso la premezcla se prepara como sigue:

- 15 (i) goma de algarrobo: 4.482,5 g  
 (ii) beta-mananasa: 21,5 g  
 (iii) semilla de algarrobo: 446 g  
 (iv) ácido silícico: 50 g

20 **[0038]** Para obtener la premezcla de este hallazgo: (1) los componentes (iv) y (iii) tienen que mezclarse en una primera etapa. En una segunda fase: (2) 1/3 de (i) tiene que mezclarse con la totalidad de (ii). Después de la mezcla homogénea, añadir el resto de (i) a esta última premezcla. Finalmente, mezclar homogéneamente (1) y (2).

25 Ejemplo 2. Ensayo con pollos Leghorn que consumen pienso complementado con diferentes productos del estado de la técnica durante 28 días

**[0039]** Los pollos se alojaron en jaulas, a una tasa de 5 animales/jaula, en la granja experimental del departamento de Nutrición Animal de IRTA. La dieta se basó en maíz-soja en forma de puré. La aplicación de la premezcla siempre fue por sustitución de maíz.

30 **[0040]** Se infectó a los pollos con *Salmonella enteritidis* marcada con ácido nalidíxico. La eficacia de la aplicación de cada uno de los productos se evaluó por medio de una determinación de la presencia de *Salmonella* en el ciego de los pollos. Se infectó a los pollos con un día de edad, cuando llegaron a la granja experimental, inoculando *Salmonella enteritidis* (S-2146/c/03 Tn 5<sup>12</sup>), cepas que resistían ácido nalidíxico 20 µg/ml y CIHg 12 µg/ml. Las cepas se originaron de la colección L.S.A., Barcelona.

35 **[0041]** Durante los 28 días del experimento se recogieron datos del consumo de pienso y pesos corporales iniciales y finales. Con esos datos se calcularon los siguientes parámetros: aumento de peso corporal diario (APCD) (g/d), consumo de pienso diario (CPD) (g/d) e índice de conversión de pienso (ICP) (consumo de pienso diario/aumento de peso corporal diario). a, b, c: diferentes letras en la misma columna significan diferencias significativas.

Tabla 1

Tratamiento	Producto añadido	APCD <sup>1</sup>	CPD <sup>2</sup>	ICP <sup>3</sup>	Infección 15 días	/
T-1	Control (sin producto añadido)	8,9 (a) 8,9 (a)	18,2 (a)	2,04 (c)	12/12	100 %
T-2	Goma de algarrobo 2,5 %	6,8 (b) 6,8 (b)	17,2 (a)	2,52 (a)	6/12	50 %
T-3	Goma de algarrobo 5 % + Sepiolita + β-mananasa (documento WO03101219)	6,9 (b)	17,0 (a)	2,46 (ba)	4/12	25 %

45 **[0042]** Usando la premezcla descrita en el documento WO030101219, se consigue una reducción de la infección. Sin embargo, el índice de conversión es significativamente mayor en comparación con el control y se observa una reducción del aumento de peso corporal.

50 Ejemplo 3: Resultados experimentales usando la premezcla de la invención

**[0043]** Las gallinas se alojaron en jaulas, a una tasa de 5 animales/jaula, en la granja experimental del Departamento de Nutrición Animal de IRTA. La dieta se basó en maíz-soja en forma de puré. La aplicación de la premezcla preparada como se ha explicado en el Ejemplo 1 siempre fue por sustitución de maíz.

55 **[0044]** Cada 4 semanas se registraron datos de consumo de pienso y cambios en el peso corporal. Con esos datos se calculó el índice de conversión de pienso (consumo de pienso diario/aumento de peso corporal diario). Los resultados se muestran en la Tabla 2.

5 **[0045]** El día 27 del tratamiento, se puso en contacto por vía oral a todas las gallinas con *Salmonella enteritidis*. Las cepas usadas fueron una mezcla de GN825 y GN1063, que se habían seleccionado a partir de las más invasivas en ensayos previos. En dos de los tratamientos, control y producto nuevo a 0,5 %, cada cuatro semanas (al final del período de 4 semanas), se sacrificaron 8 animales por tratamiento y se examinaron los ovarios y el ciego con respecto a presencia/ausencia de *Salmonella*. Se realizó un estudio de *Salmonella enteritidis* de acuerdo con el patrón ISO modificado. Brevemente: se recogieron muestras de tejido en recipientes de plástico estériles con 225 ml de agua de peptona tamponada; incubación; adición de 3 gotas de caldo pre-enriquecimiento en un medio semisólido Rappaport-Vassiliadis e incubación de este medio. Se transfirieron colonias blancas de *Salmonella* potenciales a placas de agar XLT4 para confirmar la presencia/ausencia de *Salmonella*. Los resultados se muestran en la Tabla 3.

**Tabla 2**

Tratamiento	Producto añadido	Cambio de peso corporal (g)	CPD <sup>1</sup> (g)	ICP <sup>2</sup>
T-1	Control (sin producto añadido)	48	106	2,33
T-2	Nuevo producto 0,5 %	45	104	2,39
T-3	Nuevo producto 5 %	44	103	2,41

15 **[0046]** A partir de los resultados obtenidos con la premezcla de acuerdo con la presente invención, el índice de conversión se mantiene sustancialmente en comparación con el grupo de control y el cambio de peso corporal cuando la premezcla se administra a los animales infectados prácticamente se mantiene en comparación con el grupo de control.

20 **Tabla 3.** Resultados de análisis microbiológico de ciego y ovario en diferentes periodos temporales después de la inoculación (% de aves con presencia de *Salmonella*)

Tratamiento	Producto añadido	Antes de la inoculación	la Infección/30 días	Infección/90 días	Infección/120 días	Infección/150 días
T-1	Control (sin producto añadido)	0,0	25,0 <sup>a</sup>	25,0 <sup>a</sup>	12,5 <sup>a</sup>	12,5 <sup>a</sup>
T-2	Producto de la invención 0,5 %	0,0	6,3 <sup>b</sup>	6,3 <sup>b</sup>	0,0 <sup>b</sup>	0,0 <sup>b</sup>

**REIVINDICACIONES**

1. Una premezcla para alimentación animal que comprende:

- 5 (a) un polímero o una mezcla de polímeros con un contenido de manosa comprendido entre 10 % y 100 %;
- (b) enzima  $\beta$ -mananasa; y
- (c) un agente anti-aglutinante;

10 en la que el agente anti-aglutinante tiene una capacidad de absorción mayor del 20 %, y una densidad aparente que está comprendida entre 0,10 y 2,70 g/cm<sup>3</sup>.

2. La premezcla de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el polímero tiene un contenido de manosa comprendido entre 10 % y 60 %.

15 3. La premezcla de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones previas, en la que el agente anti-aglutinante tiene una capacidad de absorción comprendida entre 60 y 70 % y una densidad aparente comprendida entre 0,10 y 0,30 g/cm<sup>3</sup>.

20 4. La premezcla de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones previas, que es una forma sólida homogénea.

5. La premezcla de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la relación de la enzima está comprendida entre 5 y 40 unidades de actividad enzimática por gramo de polímero.

25 6. La premezcla de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la cantidad de agente anti-aglutinante está comprendida entre 0,5 y 4 % en peso con respecto al peso total de la premezcla.

30 7. La premezcla de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el polímero se selecciona del grupo que consiste en: goma guar, goma de xantano, pectina, goma de tragacanto, goma arábiga, algina, carragenina, goma de algarrobo, semilla de algarrobo, goma cassia, harina de palmiste y mezclas de los mismos.

8. La premezcla de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la enzima 13-mananasa es E.C. 3.2.1.78 de acuerdo con la nomenclatura de la Unión Internacional de Bioquímica.

35 9. La premezcla de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el agente anti-aglutinante se selecciona del grupo que consiste en: ácido silícico, sílice coloidal y vermiculita.

10. Una composición alimenticia para animales que comprende la premezcla como se ha definido en cualquiera de las reivindicaciones 1-9.

40 11. Una premezcla como se ha definido en cualquiera de las reivindicaciones 1-9, para su uso como inhibidor de colonización por bacterias Gram negativas en el tracto intestinal animal.

45 12. Uso de una premezcla como se ha definido en cualquiera de las reivindicaciones 1-9, para la preparación de una composición alimenticia para animales para la inhibición de colonización por bacterias Gram negativas en el tracto intestinal animal.

13. La premezcla de acuerdo con la reivindicación 12, en la que la bacteria Gram negativa es de *Salmonella* spp.