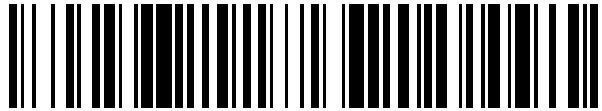


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 439 712**

51 Int. Cl.:

A23K 1/16 (2006.01)

A23K 1/18 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.11.2009 E 09748799 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.10.2013 EP 2358214**

54 Título: **Uso de cantaxantina y/o 25-OH D3 para una capacidad de eclosión mejorada en aves de corral**

30 Prioridad:

19.11.2008 EP 08020153

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

24.01.2014

73 Titular/es:

**DSM IP ASSETS B.V. (100.0%)
Het Overloon 1
6411 TE Heerlen, NL**

72 Inventor/es:

**HERNANDEZ, JOSE-MARIA y
WEBER, GILBERT**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 439 712 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

Uso de cantaxantina y/o 25-OH D3 para una capacidad de eclosión mejorada en aves de corral.

5 CAMPO DE LA INVENCÓN

La presente invención se refiere al uso de cantaxantina y, opcionalmente, al menos un metabolito de la vitamina D, preferiblemente 25-hidroxi vitamina D3 (25-OH D3) para mejorar la capacidad de eclosión de aves de cría. La invención se refiere también al uso de cantaxantina y, opcionalmente, 25-hidroxi vitamina D3 en la fabricación de una composición de pienso o veterinaria para reducir la mortalidad de embriones en aves de corral.

ANTECEDENTES

Para maximizar la fertilidad del huevo y la capacidad de eclosión del embrión durante la fase de crianza, es esencial un estado nutricional óptimo de las aves de cría para la transferencia eficaz de nutrientes al embrión.

De acuerdo con la presente invención, se ha encontrado que se pueden eliminar o mejorar sustancialmente los problemas en la crianza de polluelos, administrando a los animales una cantidad eficaz de cantaxantina o 25-OH D3, opcionalmente una combinación de ambos nutrientes.

La solicitante ha encontrado ahora, sorprendentemente, que concentraciones relativamente elevadas de nutrientes esenciales en el embrión tales como cantaxantina o 25-OH D3 suministrados a través de un suplemento maternal están relacionados con una capacidad de eclosión mejorada, fertilidad y menor mortalidad de los embriones durante la primera fase del desarrollo embrionario.

Se encontró por parte de Atencio et al, Poultry Science 2005; 84: 1277-1285, que 25-OH D3 mejora la fertilidad y la capacidad de eclosión y reduce la mortalidad de los embriones en aves de corral. Robert et al, 16º Simposio Europeo sobre Nutrición de Aves de Corral, 26-30 de agosto de 2007, describe la mejora de un estado oxidativo en polluelos nacidos de gallinas suplementadas con cantaxantina.

Tritsch *et al.* (documento US 2003/0170324) describen una composición de pre-mezcla para piensos de al menos 25-OH D3 en una cantidad entre 5% y 50% (p/p) disuelta en aceite y un antioxidante, un agente que encapsula gotitas de 25-OH D3 y aceite, y un aditivo nutricional (p. ej. vitamina D3). La pre-mezcla se puede añadir a piensos para aves de corral, cerdos, perros o felinos. Esta composición estabiliza la 25-OH D3 frente a la oxidación.

Simoes-Nunes *et al.* (documento US 2005/0064018) describe añadir una combinación de 25-OH vitamina D3 y vitamina D3 a piensos para animales. En particular, se añaden a piensos para cerdos aproximadamente 10 µg/kg hasta aproximadamente 100 µg/kg de 25-OH vitamina D3 y aproximadamente 200 UI/kg a aproximadamente 4.000 UI/kg de vitamina D3. Esta adición mejora la fortaleza de los huesos de los cerdos.

Stark *et al.* (documento US 5.695.794) describen añadir una combinación de 25-OH vitamina D3 y vitamina D3 a piensos para aves de corral para mejorar los efectos de la discondroplasia tibial.

Borenstein *et al.*, documento US 5.043.170 describe la combinación de vitamina D3 y 1-alfa-hidroxicalciferol o 1-alfa,25-dihidroxicalciferol para mejorar la resistencia de los huevos y la fortaleza de las patas en gallinas ponedoras y gallinas de edad.

Fleshner-Barak (documento WO 03/007916) describe la administración de un compuesto bisfosfonato y un derivado natural de vitamina D tal como 1,25-dihidroxivitamina D3 o 24,25-dihidroxivitamina D3, o 25-OH vitamina D3.

Daifotis *et al.* (documento WO 03/086415) describe inhibir la resorción ósea mediante una combinación de al menos un compuesto de bisfosfonato y de aproximadamente 100 UI a aproximadamente 60.000 UI de un metabolito no activado de D2 y/o vitamina D3.

Los documentos antes mencionados no enseñaban ni sugerían que el uso de cantaxantina y 25-OH D3 o una combinación de los mismos fuese sorprendentemente beneficiosa para mejorar la capacidad de eclosión.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCÓN

Tal como se utiliza a lo largo de la memoria descriptiva y las reivindicaciones, se aplican las siguientes definiciones:

“Metabolito de vitamina D” significa cualquier metabolito de vitamina D tal como, por ejemplo, 25-hidroxi vitamina D3, 1,25-dihidroxi vitamina D3 o 24,25-dihidroxi vitamina D3.

“25-OH D3” se refiere específicamente a 25-hidroxi vitamina D3.

“Aves de corral” quiere dar a entender que incluye pavos, patos y pollos (incluidos, pero no limitados a pollos para consumo, aves ponedoras, aves de cría).

Cantaxantina y 25-OH D3 pueden obtenerse de cualquier fuente, y una composición de las mismas se puede preparar utilizando una tecnología conveniente.

En un primer aspecto, se proporcionan una o más composiciones de piensos, adecuadas para uso en aves de corral, para administrar cantaxantina opcionalmente en combinación con 25-OH D3 como nutrientes para mejorar la capacidad de eclosión, fertilidad y para reducir la mortalidad de embriones durante la primera fase del desarrollo embrionario.

En un segundo aspecto, se proporciona un pienso para aves de corral que comprende de aproximadamente 10 µg/kg a aproximadamente 100 µg/kg de 25-OH D3 y/o de aproximadamente 2 a 100 ppm de cantaxantina, preferiblemente 2 a 10 ppm.

En otro aspecto, se proporciona el uso de cantaxantina, opcionalmente en combinación con 25-OH D3 para aves de cría de corral para mejorar la capacidad de eclosión, fertilidad y para reducir la mortalidad de embriones durante la primera fase del desarrollo embrionario.

El uso para mejorar la capacidad de eclosión en aves de corral comprende administrar al animal que necesite un tratamiento de este tipo una cantidad de aproximadamente 2 ppm a 100 ppm de cantaxantina, preferiblemente 2 a 10 ppm, y/o aproximadamente 10 µg/kg a aproximadamente 100 µg/kg de 25-OH D3.

En otro aspecto, se proporciona una composición de pre-mezcla para piensos para aves de corral que comprende cantaxantina y 25-hidroxi vitamina D3.

Cantaxantina y 25-hidroxi vitamina D3 se administran adecuadamente junto con el pienso. El término pienso, tal como se utiliza en esta memoria, comprende tanto pienso sólido como líquido, así como fluidos para beber tales como agua potable. Particularmente, se pueden añadir ingredientes de la invención en forma de un polvo formulado a una pre-mezcla que contiene otros minerales, vitaminas, aminoácidos y elementos traza que se añade a pienso regular para animales y mezclar a fondo para conseguir una distribución uniforme en el mismo.

En la fabricación de piensos para aves de corral de acuerdo con la invención, se añaden a pienso regular para aves de corral de aproximadamente 2 ppm a 100 ppm, preferiblemente 2 - 10 ppm de cantaxantina y, si se requiere, de aproximadamente 10 µg/kg a aproximadamente 100 µg/kg de 25-hidroxi vitamina D3. Alternativamente, se puede preparar una pre-mezcla de pienso sobre la base de componentes regulares del pienso añadiendo estos ingredientes activos a tales componentes del pienso en una concentración elevada.

De acuerdo con la presente invención, el compuesto cantaxantina está disponible bajo la marca registrada ROVIMIX® Hy-D® 1.25% y cantaxantina bajo la marca registrada CAROPHYLL®Red.

De acuerdo con la presente invención, es además ventajoso que la composición contenga también uno o más de los siguientes ingredientes: vitamina A, vitamina E, biotina, cobre (p. ej. en forma de CuSO₄), zinc (p. ej. en forma de ZnSO₄), cobalto (p. ej. en forma de CoSO₄), selenio (p. ej. en forma de Na₂SeO₃), yodo (p. ej. en forma de KI), manganeso (p. ej. en forma de MnSO₄) y/o calcio (p. ej. en forma de CaSO₄).

Los siguientes Ejemplos no limitantes se presentan para ilustrar mejor la invención.

Ejemplo 1: Efecto de Carofil Rojo (cantaxantina) sobre el desarrollo productor y reproductor de pollos para consumo

Material y métodos

En este estudio se utilizaron 360 hembras y 36 machos de pollos para consumo, todos ellos de 45 semanas de edad, y de la raza Cobb 500. Las aves fueron alojadas juntas en sus grupos de tratamiento respectivos de acuerdo con el peso corporal y la uniformidad del lote.

Fase pre-experimental – 37ª a 45ª semana:

5 En la fase pre-experimental, las aves fueron sometidas a las prácticas de manipulación y alimentación recomendadas en la guía de los criadores. Para evaluar la fertilidad de las aves en cada uno de los cajones, se llevó a cabo una sesión de incubación durante una semana, y utilizando el diagnóstico embrionario en los huevos que no eclosionaban, se determinó el porcentaje de fertilidad en cada uno de los cajones. El nivel de fertilidad se tuvo en consideración cuando se distribuían los tratamientos a cada uno de los cajones, de modo que todos los tratamientos tenían el mismo nivel de fertilidad al comienzo del estudio.

10

Período de experimentación – 46ª a 66ª semanas:

15 Al comienzo de este período, se pesó a todas las aves y esto se repitió cada 28 días durante el período durante el cual las aves recibieron el tratamiento (Tabla 1). Durante el experimento, se recogió información sobre la producción diaria de huevos. Una muestra de las aves se pesó sobre una base semanal.

Alimentación

20 La dieta proporcionada a las aves era un pienso estándar para pollos para consumo con la adición de los productos que fueron sometidos a ensayo. Los piensos cumplían todos los requisitos nutricionales en relación con la fase de desarrollo de las aves y las recomendaciones en la guía de los criadores. El pienso estaba basado por completo en vegetales utilizando maíz y salvado de soja (Apéndices 1, 2 y 3).

25 TABLA 1. Tratamientos utilizados en el experimento en pollos para consumo (raza – Cobb 500) durante un periodo de seis meses

Tratamientos	Carofil Rojo (ppm)
1	0
2	60

Diseño experimental

30 El diseño experimental era totalmente aleatorio, con dos tratamientos y seis grupos de 30 pollos hembras y 3 pollos machos.

Metodología

35 La tasa de puesta se calculó semanalmente. Para evaluar el peso de los huevos, la densidad específica, el peso medio de los huevos, el peso de la yema, el peso de la clara y la coloración de la yema, se utilizaron todos los huevos que no se consideraron adecuados para la incubación, recogidos en cualquier día dado. La densidad específica se determinó a través de la emersión de los huevos en disoluciones salinas con densidades de 1065; 1070; 1075; 1080; 1085; 1090 y 1095. Los pesajes de los huevos, yemas y claras se llevaron a cabo utilizando una escala de peso de precisión (0,001 g). La coloración de las yemas se determinó utilizando el abanico de color de DSM Nutritional Products®.

40

45 Para evaluar la eclosión, la capacidad de eclosión, fertilidad y mortalidad embrionaria, los huevos se recogieron diariamente. Éstos fueron luego clasificados y marcados con el número del cajón correspondiente. Aquellos que no se consideraron adecuados para la incubación, se almacenaron durante un período máximo de siete días en un recinto con aire acondicionado con un control de la temperatura y la humedad. La incubación se llevó a cabo en una incubadora multi-fases y el día 18 los huevos fueron transferidos a una incubadora. El día 21, se recogieron los polluelos de la incubadora, se vacunaron y clasificaron. Los huevos que no eclosionaban fueron sometidos entonces a diagnósticos embrionarios para evaluar la fertilidad y la fase de mortalidad embrionaria.

50

Análisis estadístico

Después de obtener los datos, se llevó a cabo un análisis de variación y se calculó la desviación estándar. Estos procesos estadísticos se llevaron a cabo con ayuda del programa estadístico SAS.

ES 2 439 712 T3

Resultados

TABLA 2. Índice de puesta durante los periodos 46^a - 56^a, 56^a - 66^a semanas y periodo total (21 semanas)

Tratamientos	Índice de puesta (%)		
	46 ^a a 55 ^a semanas	56 ^a a 66 ^a semanas	Periodo total
Control	58,19 ± 3,87	48,75 ± 3,19	53,25 ± 2,68
Carofil Rojo	59,66 ± 2,97	51,35 ± 3,66	55,31 ± 2,22
Media aritmética	58,93	50,05	54,28
C.V. (%)	5,86	6,87	4,54
P	0,4781	0,2207	0,1793

5 TABLA 3. Capacidad de eclosión en los periodos entre las 46^a - 56^a y 56^a - 66^a semanas y el periodo total (21 semanas)

Tratamientos	Capacidad de eclosión (%)		
	46 ^a a 55 ^a semanas	56 ^a a 66 ^a semanas	Media de las 21 semanas
Control	92,48 ± 0,98 b	93,42 ± 0,51 b	92,97 ± 0,54 b
Carofil Rojo	94,33 ± 0,76 a	95,96 ± 0,53 a	95,18 ± 0,56 a
Media aritmética	93,41	94,69	94,08
C.V. (%)	0,94	0,55	0,59
P	0,0047	0,0001	0,0001

(a>b ensayo de Duncan)

10 TABLA 4. Eclosión, capacidad de eclosión, fertilidad y mortalidad embrionaria durante el periodo observado (21 semanas)

Tratamientos	Eclosión	Capacidad de eclosión	Fertilidad	Mortalidad embrionaria
	(%)			
Control	83,03 ± 0,89 b	92,97 ± 0,54 b	90,98 ± 0,81 b	5,46 ± 0,75 a
Carofil Rojo	86,03 ± 0,42 a	95,18 ± 0,56 a	92,11 ± 0,48 a	3,72 ± 0,86 b
Media aritmética	84,53	94,08	91,54	4,59
C.V. (%)	0,83	0,59	0,75	16,77
P	0,0001	0,0001	0,0171	0,0029

(a>b ensayo de Duncan)

15 TABLA 5. Efecto de los tratamientos sobre la tasa media de mortalidad embrionaria a lo largo del periodo observado

Tratamientos	Mortalidad embrionaria (%)			
	M1	M2	M3	M4
Control	1,80 ± 0,45 a	0,89 ± 0,70	0,69 ± 0,28	2,07 ± 0,23 a
Carofil Rojo	1,04 ± 0,41 b	0,66 ± 0,33	0,58 ± 0,33	1,44 ± 0,58 b
Media aritmética	1,42	0,77	0,64	1,76
C.V. (%)	28,02	40,41	54,07	21,86
P	0,0083	0,2225	0,5980	0,0171

(a>b ensayo de Duncan)

- 20 M1 – Mortalidad embrionaria en las primeras 48 horas de incubación
M2 – Mortalidad embrionaria que se produce entre el día 3 y el día 7 de incubación
M3 – Mortalidad embrionaria que se produce entre el día 8 y el día 14 de incubación
M4 – Mortalidad embrionaria que se produce entre el día 15 y el día 21 de incubación

ES 2 439 712 T3

TABLA 6. Mortalidad embrionaria entre las 19ª y 21ª semanas y para todas las 21 semanas del estudio

Tratamientos	Mortalidad embrionaria (%)			
	Semana 19	Semana 20	Semana 21	21 semanas
Control	5,32 ± 3,24	4,57 ± 1,57	5,18 ± 2,72	5,46 ± 0,75 a
Carofil Rojo	3,33 ± 4,12	3,51 ± 2,56	3,12 ± 2,12	3,72 ± 0,86 b
Media aritmética	4,33	4,04	4,15	4,59
C.V. (%)	57,93	52,75	54,88	16,77
P	0,0127	0,4081	0,1490	0,0029

(a>b ensayo de Duncan)

5 TABLA 7. Número de huevos, huevos susceptibles de ser incubados y polluelos por ave alojados durante el periodo observado (21 semanas)

Tratamientos	Producción de huevos/ave	Huevos susceptibles de ser incubados/ave	Polluelos/ave
Control	78,27 ± 3,95	71,71 ± 4,46	5952 ± 3,18 b
Carofil Rojo	81,30 ± 3,40	75,25 ± 3,46	64,73 ± 2,82 a
Media aritmética	79,79	73,48	62,13
C.V. (%)	4,55	5,36	4,76
P	0,1793	0,1503	0,0122

TABLA 8. Niveles nutricionales calculados en el pienso utilizado durante el experimento

Energía metabólica media (Kcal)	2850,00
Proteína Bruta (%)	15,96
Arginina Total (%)	0,94
Lisina Total (%)	0,80
Metionina Total (%)	0,35
Metionina + Cisteína Total (%)	0,55
Treonina Total (%)	0,59
Triptófano Total (%)	0,17
Isoleucina Total (%)	0,63
Leucina Total (%)	1,46
Valina Total (%)	0,72
Histidina Total (%)	0,42
Cloro Total (%)	0,77
Calcio (%)	3,30
Fósforo Disponible (%)	0,40
Sodio (%)	0,19
Cloro (%)	0,28
Potasio (%)	0,60
Vitamina A (UI)	10450,00
Cantaxantina (UI)	1662,50

Energía metabólica media (Kcal)	2850,00
Vitamina E (mg)	53,59
Vitamina K3 (mg)	2,50
Vitamina B1 (mg)	5,77
Vitamina B2 (mg)	10,82
Vitamina B6 (mg)	10,85
Vitamina B12 (mg)	19,00
Biotina (mg)	0,30
Ácido Fólico (mg)	1,74
Ácido Nicotínico (mg)	65,36
Ácido Pantoténico (mg)	25,22
Cobre (mg)	18,43
Hierro (mg)	122,94
Yodo (mg)	0,80
Manganeso (mg)	83,10
Selenio (mg)	0,69
Zinc (mg)	93,83

TABLA 9. Composición de piensos utilizados durante el experimento

Ingredientes	Porcentaje
Maíz	68,52
Salvado de soja 46%	21,57
Caliza 38% de Ca	7,21
Fosfato bicálcico	1,64
Sal	0,4
Salvado de trigo	0,112
DL-metionina 99%	0,045
Pre-mezcla	0,50

5

TABLA 10. Composición de la premezcla añadida a la dieta de los polluelos

Nutriente	Cantidad por kilo de producto	Unidad
Ácido Fólico	237,5	mg
Ácido Nicotínico	8500	mg
Ácido Pantoténico	3800	mg
Biotina	38	mg
Cobre	12400	mg
Colina	72000	mg
Azufre	10222	mg
Hierro	12000	mg
Yodo	160	mg
Manganeso	14000	mg
Metionina	118800	mg
Oxitetraciclina	8000	mg
Selenio	108	mg
Vitamina A	2090000	UI/kg
Vitamina B1	475	mg
Vitamina B12	3800	mg
Vitamina B2	1900	mg
Vitamina B6	950	mg
Cantaxantina	332500	UI/kg
Vitamina E	7600	mg
Vitamina K3	950	mg
Zinc	14000	mg

Ejemplo 2: Estudio del suplemento de Cantaxantina y 25-OH D3 en gallinas criadoras para consumo

10

Material y métodos:

El ensayo se ha realizado de acuerdo con el Ejemplo 1, con la adición de ROVIMIX® Hy-D®. Los tratamientos en el Ejemplo 2 eran como sigue:

15

T1 – Dieta control

T2 – Dieta control + 60 ppm de Carofil Rojo

T3 – Dieta control + 69 ppm de ROVIMIX® Hy-D®

20

T4 – Dieta control + 60 ppm de Carofil Rojo + 69 ppb de ROVIMIX® Hy-D® y con 6 réplicas/tratamientos de 40 aves de cría para consumo y 4 gallos jóvenes por réplica.

La producción de huevos, fertilidad y capacidad de eclosión se registran semanalmente. Los resultados se muestran en la Tabla 11. Los datos muestran una buena respuesta a ROVIMIX® Hy-D® y cantaxantina.

TABLA 11:

TRT	Capacidad de eclosión media al cabo de 10 semanas
Control	85,26
ROVIMIX® Hy-D®	86,85
CAROFIL ROJO	87,22
CAROFIL ROJO + ROVIMIX® Hy-D®	88,07

REIVINDICACIONES

- 1.- El uso de cantaxantina para mejorar la capacidad de eclosión y fertilidad en aves de corral.
- 5 2.- El uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde cantaxantina se combina con al menos un metabolito de vitamina D.
- 3.- El uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el metabolito de vitamina D es 25-hidroxi vitamina D3.
- 10 4.- El uso de cantaxantina en la fabricación de una composición de pienso o veterinaria para reducir la mortalidad de embriones en aves de corral.
- 5.- El uso de acuerdo con la reivindicación 4, en donde cantaxantina se combina con al menos un metabolito de vitamina D.
- 15 6.- El uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el metabolito de vitamina D es 25-hidroxi vitamina D3.
- 7.- Un pienso para aves de corral que comprende de aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg de 25-hidroxi vitamina D3 y de aproximadamente 2 a 100 ppm de cantaxantina, preferiblemente de aproximadamente 2 ppm a 10 ppm.
- 20 8.- Una composición de pre-mezcla que comprende cantaxantina y 25-hidroxi vitamina D3 para uso en piensos para aves de cría para reducir la mortalidad de embriones.
- 25 9.- Uso de una composición de pre-mezcla que comprende cantaxantina y 25-hidroxi vitamina D3 para mejorar la capacidad de eclosión y la fertilidad en aves de corral.