

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 542 504**

51 Int. Cl.:

A23L 1/09 (2006.01)

A61K 31/702 (2006.01)

A61P 31/00 (2006.01)

A61P 1/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.05.2007** **E 07729609 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.04.2015** **EP 2037937**

54 Título: **Tri- y tetraoligosacáridos para uso como agentes de aglutinación para patógenos entéricos**

30 Prioridad:

30.05.2006 EP 06447074

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

06.08.2015

73 Titular/es:

**NUTRITION SCIENCES N.V./S.A. (100.0%)
BOOIEBOS 5
9031 DRONGEN, BE**

72 Inventor/es:

**BRUGGEMAN, GEERT y
DESCHEPPER, KATRIEN**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 542 504 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

Tri- y tetraoligosacáridos para uso como agentes de aglutinación para patógenos entéricos

Campo de la invención

Esta invención se refiere al uso de tri- y tetraoligosacáridos o de sus extractos o sus derivados o mezclas de los mismos como agente de aglutinación para patógenos. En particular, se refiere al uso de tri- y tetraoligosacáridos o sus extractos o sus derivados o mezclas de los mismos para mejorar el ecosistema microbiano en el tracto gastrointestinal del animal mediante el recuento específico de los patógenos entéricos seguida de la excreción específica, para mejorar la ganancia de peso, reducir el índice de transformación del alimento y mejorar de este modo el valor nutritivo y la salud y bienestar del animal.

Antecedentes

En los sistemas de producción animal modernos, el equilibrio entre la flora intestinal y el animal hospedador es delicado, y la alteración de este equilibrio (p.ej. por infección bacteriana) tiene un impacto negativo sobre el rendimiento global de los animales (Eckel, 1999). El conocimiento sobre los problemas de la infección microbiana intestinal en el ganado abre la puerta a modos completamente nuevos de influir en los procesos biorreguladores mediante aditivos de pienso, reduciendo la frecuencia de diarrea e incluso los fallecimientos al estabilizar la flora intestinal. En el pasado, el problema de la infección se resolvía parcialmente suministrando piensos que contenían antibióticos como promotor de crecimiento.

Pero actualmente, 50 años después del descubrimiento de los antimicrobianos tradicionales (p.ej. penicilina), muchas bacterias son ahora resistentes a uno y, en muchos casos, a múltiples antimicrobianos (Guillot, 1989). Esta resistencia se demuestra mortal para miles de personas cada año y da como resultado altos costes médicos e importantes costes económicos (Barton, 1998). El problema de la resistencia antimicrobiana es global, pero está parcialmente causado por la aplicación a escala mundial de antimicrobianos en la nutrición animal, puesto que la adición de los mismos a formulaciones de pienso daba como resultado un mejor rendimiento (índices de conversión del alimento reducidos y mayores tasas de crecimiento) (Dupont y Steele, 1987; Prescott, 1997) y puesto que más de la mitad del uso antimicrobiano estaba asociado a la producción animal (Aarestrup, 1999). Para algunos países, p.ej. la Unión Europea, esto ha conducido ya a una prohibición de todos los antimicrobianos utilizables como promotores del crecimiento en formulaciones de pienso (Muirhead, 1998; Ross, 1999).

El problema con la mayoría de antimicrobianos tradicionales y otros promotores del crecimiento en uso actualmente es que atacan a bacterias a nivel intracelular (Guillot, 1989). Es decir, inhiben enzimas clave en la síntesis de compuestos usados para construir la célula. Siempre que se usa este enfoque, las bacterias pueden desarrollar mutaciones de las enzimas implicadas o pueden desarrollar mecanismos para bombear rápidamente el antimicrobiano fuera de la célula. Como alternativa, pueden desarrollar enzimas que degraden directamente el antimicrobiano (p.ej., β -lactamasa) (Neu *et al.*, 1980; Chirica *et al.*, 1998). Mediante transferencia de plásmido (mediante conjugación microbiana), puede transferirse rápidamente la resistencia de una célula microbiana a otra (expansión de la resistencia) (Finland, 1971; Hedges y Jacob, 1974; Thompson, 1986; Hamilton, 1994).

Desde la respuesta negativa mundial al uso de los antimicrobianos tradicionales (como promotores del crecimiento) en piensos animales, se efectúan investigaciones para buscar nuevos tipos de antimicrobianos (naturales) o promotores del crecimiento (principalmente con otro modo de acción). (Mazza, 1998). Durante la investigación de antimicrobianos alternativos (naturales), se centra actualmente la atención principalmente en el uso de varios ácidos (orgánicos) (Eckel, 1997; Liang, 1997; Radecki *et al.*, 1988), nuevos probióticos activos (Chiquette y Banhaar, 1998; Garriga *et al.*, 1998; Tannock, 1999), prebióticos (Olsen, 1996; Bower *et al.*, 1998; Brown *et al.*, 1998; Iji y Tivey, 1998; Houdijk *et al.*, 1999), algunos extractos de plantas (cebollas y ajo) y hierbas (aceites esenciales) (De Koning y Hongbiao, 1999; Nielsen, 1999).

Hoy en día, se usan ya diferentes tipos de oligosacáridos en diferentes aplicaciones. En algunas de estas aplicaciones, los oligosacáridos están ligados (covalentemente) con un soporte o portador.

El documento W02006022542 reivindica el uso combinado de oligosacáridos indigeribles y sacáridos de galactosa digeribles para la fabricación de una composición para uso en un método para el tratamiento y/o la prevención de infección del tracto respiratorio y/o enfermedad infecciosa del tracto respiratorio, comprendiendo dicho método administrar por vía oral una composición a un mamífero, comprendiendo dicha composición a) un oligosacárido indigerible que contiene galactosa que contiene al menos dos unidades sacárido terminales, en el que al menos una unidad sacárido terminal se selecciona del grupo consistente en glucosa y galactosa; y al menos un sacárido terminal se selecciona del grupo consistente en galactosa y fucosa; y b) al menos un 5 % en peso de sacárido de galactosa digerible basado en el peso seco total de la composición, seleccionándose dicho sacárido del grupo consistente en galactosa y sacárido que contiene galactosa digerible que contiene al menos dos unidades sacárido terminales, en el que al menos una unidad sacárido terminal se selecciona del grupo consistente en glucosa y galactosa y al menos un sacárido terminal se selecciona del grupo consistente en galactosa y fucosa. La dosificación es de 0,1 a 12 gramos de transgalactoligosacáridos con un grado de polimerización de entre 2 y 10 por 100 g de peso seco de la composición.

El documento W02004074496 se refiere a un proceso para la producción de un oligosacárido novedoso, comprendiendo el proceso combinar un sustrato con la enzima α -galactosidasa de *Lactobacillus*. La invención se refiere también al oligosacárido mismo y a composiciones que lo comprenden. La invención se refiere adicionalmente al uso del oligosacárido, así como a composiciones que lo comprenden, para aumentar las bacterias

beneficiosas en el tracto gastrointestinal de un animal. Dicho oligosacárido está compuesto por galactosa y glucosa.

El documento JP2002226496 proporciona un método para obtener un oligosacárido mediante la hidrólisis de polisacárido sin añadir un ácido y para obtener un agente antienfermedad infecciosa que contiene el oligosacárido. Solución: Se hidroliza un polisacárido sulfatado ejemplificado por fucoidano pasando el polisacárido sulfatado a través de una columna de resina de intercambio catiónico de tipo H que contiene un grupo carboxilo y un grupo sulfato como grupos de intercambio, seguido de calentamiento para procurar el oligosacárido. El oligosacárido obtenido mediante el método está compuesto principalmente por fucosa y exhibe actividad como agente antienfermedad infecciosa contra *Escherichia coli*, *Vibrio*,... mediante la función de evitar la unión de hongos patógenos al tracto intestinal.

El documento CN1370734 describe el proceso de preparación de oligosacárido de quitinamina que incluye la disolución de quitinamina con ácido acético, la reacción de adición enzimática, la adición de ácido hidrocórico y el secado por pulverización final. Se caracteriza porque la enzima añadida comprende hemicelulasa, celulasa y β -amilasa y por una evaporación a presión reducida durante la reacción. El proceso degrada la quitinamina a oligosacárido de quitinamina de 2-12 quitinaminas y un peso molecular medio de 1500. El oligosacárido de quitinamina puede usarse en la inhibición de tumores, la prevención y tratamiento de la hepatitis, la mejora de la función del tracto intestinal y la prevención y el tratamiento de enfermedades seniles.

El documento JP2002121138 indica la producción de una composición para la profilaxis de enfermedades infecciosas del tracto intestinal capaz de llevar a cabo la profilaxis de las enfermedades infecciosas causadas por las bacterias causantes de las enfermedades infecciosas del tracto intestinal. Solución: Esta composición para la profilaxis de las enfermedades infecciosas del tracto intestinal comprende una o más clases seleccionadas del grupo consistente en oligosacáridos derivados de yema de huevo de gallina, proteínas unidas a oligosacárido y péptidos unidos a oligosacárido. La composición es especialmente de sialiloligosacáridos, proteínas unidas a sialiloligosacárido y péptidos unidos a sialiloligosacárido. Además, la composición tiene acciones inhibidoras sobre la adhesión de las bacterias causantes de las enfermedades infecciosas del tracto intestinal a las células hospedadoras.

El documento US6069137 describe un método para el tratamiento de la diarrea del viajero mediada por *E. coli* enterotoxigénica en un sujeto, comprendiendo dicho método administrar a un sujeto necesitado de dicho tratamiento una cantidad eficaz de una composición que comprende una secuencia oligosacáridica seleccionada del grupo consistente en β -Gal(1-4)- β -Glc, β -Gal(1-3)- β -GalNAc, β -GalNAc(1-4)- β -Gal, β -Gal(1-3)- β -Gal, β -Gal(1-3)- β -GalNAc(1-4)- β -Gal y α -NeuAc(2-3)- β -Gal unidas covalentemente a partículas de sílice derivatizadas, en el que dicha secuencia oligosacáridica se une a al menos un serotipo de *E. coli* enterotoxigénica, y en el que dicha composición puede eliminarse del tracto gastrointestinal.

El documento EP1018342 describe el uso de un agente en la preparación de un medicamento para la prevención o el tratamiento de una infección entérica mediada por una SLT, en el que dicho agente es un soporte de afinidad inerte sólido farmacéuticamente aceptable que puede eliminarse del tracto gastrointestinal, teniendo dicho soporte un ligado de afinidad unido covalentemente al mismo a través de un brazo espaciador, en el que dicho ligando se caracteriza como un oligosacárido que contiene la subunidad disacáridica α -Gal(1-4)- β -Gal que se une a la SLT; con la condición de que el disacárido no sea parte de un trisacárido α -Gal(1-4)- β -GlcNAc o un trisacárido α -Gal(1-4)- β -Glc.

El documento US5939397 describe un método para tratar cólera y desequilibrio electrolítico y diarrea causados por infección por *V. cholera* en un sujeto, comprendiendo dicho método administrar a un sujeto necesitado de dicho tratamiento una cantidad eficaz de una composición que comprende una secuencia oligosacáridica unida covalentemente a un soporte inerte sólido farmacéuticamente aceptable a través de un brazo ligador compatible no peptídico, en el que dicha secuencia oligosacáridica, unida así a dicho soporte inerte sólido, puede unirse a uno o más serotipos de *V. cholerae*, y en el que dicha composición puede eliminarse del tracto gastrointestinal. Dicho oligosacárido es un oligosacárido 1-3.

Es un objeto de la presente invención proporcionar un intervalo más específico y más activo de oligosacáridos que tengan efectos mejorados sobre el ecosistema microbiano en el tracto gastrointestinal. Más en particular, la invención se dirige a proporcionar un intervalo específico de oligosacáridos para controlar y regular selectivamente el ecosistema microbiano en el tracto gastrointestinal de un sujeto necesitado de ello mediante el recuento específico de los patógenos entéricos seguido de la excreción específica de los mismos. Cuando se aplica como composición (de pienso) a animales, se cree que dicha actividad da sorprendentemente como resultado una composición (de pienso) eficaz que da como resultado un índice de transformación del alimento mejorada (que es el peso de pienso consumido por kg de ganancia de peso corporal) y un valor nutritivo, salud y bienestar mejorados del animal.

Compendio

La actual solicitud de patente mejora el estado de la técnica mediante, entre otras cosas:

- otras estructuras oligosacáridicas bioactivas, que comprenden principalmente sacáridos de pentosa (tales como ribosa, arabinosa, xilosa y lixosa), sacáridos de hexosa (tales como alosa, altrosa, gulosa, idosa, talos y manosa), ácido glucurónico, ácido galacturónico o sus derivados y mezclas,
- un intervalo bien definido y menor de grado de polimerización (3-4),
- una menor tasa de inclusión,
- sin necesidad de portador de soporte ni brazo ligador,
- actividad de aglutinación solo contra gérmenes patogénicos.

La presente invención se refiere al uso de trímeros y tetrameros de oligosacáridos (también llamados tri(oligo)sacáridos y tetra(oligo)sacáridos) o derivados de los mismos como agentes novedosos e innovadores con capacidades de promoción del crecimiento.

En un primer aspecto, la invención se refiere al uso de una composición que comprende un homotrímero, heterotrímero, homotetrámero y/o heterotetrámero de un componente seleccionado del grupo que comprende pentosa, hexosa, un isómero L o D de la misma o una forma α o β de la misma, combinaciones de las mismas, un derivado oxidado de las mismas, o cualquier mezcla de las mismas como agente de aglutinación para aglutinar patógenos entéricos. La presente invención proporciona el uso de un grupo seleccionado de oligómeros de sacáridos (oligosacáridos) o derivados de los mismos. La presente invención se refiere al uso de oligosacáridos o derivados de los mismos que tienen un bajo grado de oligomerización, y aún más en particular, a tri- y tetra(oligo)sacáridos o derivados de los mismos. Ventajosamente, los presentes oligómeros de sacáridos proporcionarán efectos satisfactorios como tales. No tienen que ligarse (covalentemente) con ningún tipo de portador ni soporte. Además, es otra ventaja que el grupo seleccionado de oligómeros de sacáridos muestra menores tasas de inclusión y es activo solo contra patógenos entéricos.

Preferiblemente, la presente composición es una composición de pienso sólida o líquida para controlar y regular selectivamente el ecosistema microbiano en el tracto gastrointestinal de un sujeto necesitado de ello, comprendiendo el método alimentar a dicho sujeto con una composición como se define en la presente memoria. La invención proporciona adicionalmente un método para controlar la diarrea en un sujeto necesitado de ello, comprendiendo el método administrar a dicho sujeto una composición como se define en la presente memoria. Otro aspecto de la invención incluye un método para mejorar la ganancia de peso y reducir el índice de transformación del alimento de un animal necesitado de ello, comprendiendo el método administrar a dicho animal una composición como se define en la presente memoria.

La presente invención está basada al menos en parte en la observación de que proporcionar al animal tri- y tetra(oligo)sacáridos o extractos o derivados de los mismos como aditivo de pienso cambia el ecosistema microbiano en el tracto gastrointestinal del animal del modo específico siguiente. Se recuenta sorprendentemente la cantidad total de patógenos entéricos en una primera etapa en el lumen del tracto gastrointestinal (= desarrollo selectivo de patógenos entéricos en el tracto gastrointestinal) evitando su adhesión a la pared gastrointestinal, y en una segunda etapa, se excretan muy rápidamente los patógenos entéricos recontados (preferiblemente al cabo de dos semanas después de la aplicación de los tri- y tetra(oligo)sacáridos) del tracto gastrointestinal del animal. Los patógenos entéricos pueden incluir bacterias, hongos, levaduras y virus patogénicos. Mediante la rápida eliminación de los patógenos entéricos del tracto gastrointestinal, en segundo lugar, se obtienen mejores rendimientos que se reflejan en el crecimiento diario y el índice de transformación del alimento de los animales. El efecto promotor del crecimiento de los tri- y tetra(oligo)sacáridos es ya claramente visible al nivel de elución de las cepas patogénicas entéricas enriquecidas del tracto gastrointestinal del animal.

Descripción de las figuras

La **Figura 1** ilustra el número de patógenos entéricos en el tracto gastrointestinal de pollo en diferentes puntos temporales después de la alimentación.

La **Figura 2** ilustra los resultados de un ensayo de aglutinación que usa tri- y/o tetramanosacáridos sobre A) *E. coli* K88 y B) *Lactobacillus amylovorus*.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a una composición y al uso de la misma como agente de aglutinación para aglutinar patógenos entéricos.

Más en particular, la presente composición comprende un oligosacárido, y más preferiblemente un homotrímero, heterotrímero, homotetrámero y/o heterotetrámero de un componente seleccionado del grupo que comprende pentosa, hexosa, un isómero L o D de las mismas, una forma β de las mismas, combinaciones de las mismas, un derivado oxidado de las mismas o cualquier mezcla de las mismas. El término oligosacárido hace referencia a una cadena corta de moléculas de azúcar. El término "oligómeros" se usa en la presente memoria para hacer referencia

a compuestos que tienen más de una unidad monomérica. Los oligómeros presentes en la presente composición comprenden sustancialmente trímero(s) y tetrámero(s) de compuestos (oligo)sacarídicos y más en particular homotrímeros y/o heterotrímeros.

- 5 Puede usarse una concentración de hasta un 1 %, preferiblemente una cantidad comprendida entre 0,01 y 0,2 % en peso, eventualmente combinada con otras materias primas u otras sustancias promotoras del crecimiento tales como antibióticos, probióticos, prebióticos, ácidos... para conseguir este fin particular. Se ha encontrado que 0,125 g/100 g de pienso es particularmente adecuado (véanse los ejemplos).

En conclusión, los tri- y tetraoligosacáridos causan en primer lugar el crecimiento de patógenos entéricos (favorecen el crecimiento de patógenos entéricos) seguido del aclaramiento de las cepas patogénicas entéricas recontadas.

- 10 La novedad de la invención es que los tri- y tetraoligosacáridos son utilizables como promotor del crecimiento específico en la cría animal, mientras que la característica innovadora de la invención es el recuento de los patógenos entéricos en el tracto gastrointestinal del animal, antes del aclaramiento de los patógenos entéricos recontados. Como resultado, se obtiene menos diarrea y mejores rendimientos. Además, puesto que los patógenos entéricos se excretan del animal, se obtienen animales más sanos. Los animales pueden incluir aves (aves de corral,...) y mamíferos (cerdos, rumiantes, mascotas,... pero también seres humanos).

El efecto observado se obtiene durante el tránsito normal de los tri- y tetraoligosacáridos (eventualmente secados) a través del tracto gastrointestinal del animal.

- 20 La presente invención se refiere a composiciones de pienso líquidas o sólidas que comprenden tri- y tetraoligosacáridos para uso en la mejora del ecosistema microbiano en el tracto gastrointestinal del animal mediante el recuento específico de los patógenos entéricos adheridos anteriormente antes de su excreción específica, para mejorar la ganancia de peso, reducir el índice de transformación del alimento y mejorar de este modo su valor nutritivo y la salud y bienestar del animal (causando, p.ej. menos diarrea).

La presente invención se refiere a un método de uso de una composición de tri- y/o tetraoligosacáridos como se define en la presente memoria como promotor de crecimiento específico en la cría animal.

- 25 La presente invención se refiere a métodos y usos en los que los tri- y/o tetraoligosacáridos están compuestos por sacáridos de pentosa (tales como ribosa, arabinosa, xilosa y lixosa), sacáridos de hexosa (tales como alosa, altrosa, gulosa, idosa, talosa y manosa), ácido glucurónico, ácido galacturónico y combinaciones. Esto significa también que los tri- o tetraoligosacáridos son homo- o heterooligómeros.

- 30 La presente invención se refiere a métodos y usos en los que las hexosas se ligan entre sí mediante enlaces α o β o combinaciones de ambos. La presente invención se refiere a métodos y usos en los que los ácidos galacturónicos se ligan entre sí mediante enlaces α o β o combinaciones de ambos. La presente invención se refiere a métodos y usos en los que las pentosas se ligan entre sí mediante enlaces α o β o combinaciones de ambos.

- 35 La presente invención se refiere a métodos y usos en los que el efecto observado se obtiene durante el proceso de tránsito y digestión normal de los tri- y tetraoligosacáridos o una mezcla de los mismos a través del tracto gastrointestinal del animal.

La presente invención se refiere a métodos y usos en los que los tri- y tetraoligosacáridos o mezclas de los mismos se usan hasta aproximadamente un 1 %.

En dichos métodos o usos, los tri- y/o tetraoligosacáridos se usan solos o en combinación con otras materias primas u otras sustancias promotoras del crecimiento, tales como antibióticos, probióticos, prebióticos, y ácidos.

- 40 La presente invención se refiere a métodos y usos en los que los tri- y/o tetraoligosacáridos o mezclas de los mismos se dosifican en base seca a 0,125 g / 100 g de pienso.

La presente invención se refiere a un uso en el que los patógenos entéricos incluyen los géneros *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Erwinia*, *Yersinia*, *Campylobacter*, *Helicobacter*, *Vibrio*, *Pseudomona* así como otras bacterias gramnegativas.

- 45 La presente invención se refiere a un uso en el que los patógenos entéricos incluyen los géneros *Norovirus*, *Rotavirus*, así como otros virus.

La presente invención se refiere a métodos y usos en los que el animal se clasifica como ave (ave de corral,...) o como mamífero (cerdo, rumiante, mascota,... pero también seres humanos).

- 50 La presente invención se refiere a métodos y usos en los que los oligosacáridos se suministran a los animales en fase sólida o líquida.

Para entender más claramente la presente invención, se describirá la forma preferida con referencia a los siguientes ejemplos.

Ejemplos

Ejemplo 1: Influencia de tri- y tetramanolígosacáridos sobre el ecosistema microbiano del tracto gastrointestinal de aves de corral

Se proporcionaron a 3 x 40 pollos de un día de edad los siguientes piensos: pienso de control, pienso de control suplementado con 3 ppm de flavomicina y pienso de control suplementado con 0,025 % de tri- y/o tetramanolígosacáridos. El pienso de control era un pienso granulado compuesto por materias primas adecuadas para la nutrición animal. Se suministraron agua y pienso a voluntad. Se contaminaron los pollos el día 2 con contenidos de ciego de pollos de 3 semanas de edad (el periodo más crítico para problemas gastrointestinales). A intervalos temporales regulares, se diseccionaron los pollos y se determinaron los contenidos de patógenos entéricos en el intestino delgado mediante conteo en placa sobre agar MacConkey. La Figura 1 resume los resultados.

A partir de la figura 1, resulta evidente que los tri- y/o tetramanolígosacáridos tienen durante la primera semana un efecto positivo sobre el crecimiento/supervivencia de bacterias entéricas. Solo después de una semana, el contenido de bacterias entéricas en el tracto intestinal se reduce muy rápidamente, incluso a un nivel menor que en el tratamiento de control y con flavomicina.

Ejemplo 2: Influencia de tri- y/o tetraolígosacáridos de ácido galacturónico sobre el rendimiento de pollos

Se aplicaron las mismas condiciones experimentales que se describen en el experimento 1. En este ejemplo, se monitorizaron el crecimiento diario y el índice de transformación del alimento después de 13 días. Se resumen los resultados en la tabla 1.

Tabla 1. Influencia de tetraolígosacáridos sobre el rendimiento de pollos

	Control	Control + flavomicina	Control + tetraolígosacáridos
Peso/pollo el día 1	43,1	43,54	43,66
Peso/pollo el día 13	164,1	208,8	211,5
Índice de transformación del alimento/pollo	1,80	1,51	1,48

A partir de la tabla 1, puede concluirse que el uso de tri- y/o tetraolígosacáridos de ácido galacturónico en este ensayo particular daba resultados similares a los obtenidos con un promotor del crecimiento tradicional (flavomicina). No obstante, el modo de acción no es comparable (véase el ejemplo 1).

Ejemplo 3: Influencia de tri- y/o tetraolígosacáridos de ácido galacturónico sobre el rendimiento de lechones

Al inicio del ensayo, se alojaron 5 lechones por jaula. Para cada jaula, se instaló un alimentador (a voluntad) de pienso sólido extrusionado. Se instaló una tetilla de bebida por jaula. La temperatura al inicio era de 28 °C hasta 10 días después del destete. Después de ello, se redujo la temperatura a 25 °C. Se procuraron dietas comerciales no medicadas. No medicada significa que el lechón no recibe antibióticos terapéuticos antes y durante el ensayo. Las dietas se procuraron en forma de extrusionado. Las dietas eran las siguientes:

- Co: dieta de control
- Tr : dieta de control + 0,125 % de manolígosacáridos

El diseño del ensayo era como sigue: 2 tratamientos (Co y Tr) x 16 repeticiones x 5 lechones.

Al inicio del ensayo, se asignaron los lechones (de aproximadamente 7 kg de peso corporal) a las diferentes jaulas por peso. Esta asignación se realizó para tener un peso medio igual y una desviación estándar igual del peso medio para cada tratamiento y jaula. A intervalos temporales regulares, se pesaron los lechones y se monitorizó el consumo de pienso. Esto dio como resultado el crecimiento diario, ingestión diaria de pienso e índice de transformación del alimento (tabla 2).

Tabla 2. Rendimiento zootécnico de lechones que reciben manoligosacáridos

	Pienso	Parámetro	Destete	Crecimiento	Total
Co		Crecimiento diario (g/cerdo/día)	116,0	320,9	218,4
		Ingestión de pienso (g/cerdo/día)	156,3	419,5	287,9
		Índice de transformación del alimento	1,73	1,63	1,65
Tr		Crecimiento diario (g/cerdo/día)	131,9	322,2	224,8
		Ingestión de pienso (g/cerdo/día)	225,2	515,1	363,7
		Índice de transformación del alimento	1,73	1,68	1,65

A partir de la tabla 2, puede concluirse que los parámetros zootécnicos de los lechones mejoran al suministrarles manoligosacáridos.

5 Ejemplo 4: Influencia de tri- y/o tetramanoligosacáridos sobre la aglutinación de patógenos

Se incubaron tri- y/o tetramanoligosacáridos en líquido a una dosis de 0,025 % a pH 7,0 con células *E. coli* K88 y *Lactobacillus amylovorus* durante 10 minutos. Después de 10 minutos, se visualizó la aglutinación mediante análisis microscópico. La Figura 2 muestra el resultado. A partir de la Figura 2, resulta evidente que los tri- y/o tetramanoligosacáridos pueden aglutinar células K88 de *E. coli* y no células de *Lactobacillus amylovorus*. Esto significa que se aglutinan gérmenes patogénicos por tri- y/o tetramanoligosacáridos.

Ejemplo 5: Influencia del grado de polimerización de xiloligosacáridos sobre la aglutinación de patógenos

Se incubaron xilosa, trixiloligosacáridos, tetraxiloligosacáridos, pentaxiloligosacáridos y decaxiloligosacáridos a una dosis de 0,025 % a pH 7,0 con células K88 de *E. coli* y de *Lactobacillus amylovorus* durante 10 minutos. Después de 10 minutos, se visualizó la aglutinación mediante análisis microscópico. Resultaba evidente que se obtenía la mejor aglutinación con trixiloligosacáridos y tetraxiloligosacáridos. Esto significa que los gérmenes patogénicos se aglutinan preferiblemente por tri- y/o tetraxiloligosacáridos.

Referencias

AARESTRUP, F.M. (1999). "Association between the consumption of antimicrobial agents in animal husbandry and the occurrence of resistant bacteria among food animals". *International Journal of Antimicrobial Agents*, 12, 279-285.

BARTON, M.D. (1998). "Does the use of antibiotics in animals affect human health". *Aust. Vet. J.*, 76, 177-180.

BOWER, C.K., DAESCHEL, M.A. Y MCGUIRE, J. (1998). "Protein antimicrobial barriers to bacterial adhesion". *J. Dairy Sci.*, 81, 2771-2778.

BROWN, I.L., WANG, X., TOPPING, D.L., PLAYNE, M.J. Y CONWAY, P.L. (1998). "High amylose maize starch as a versatile prebiotic for use with probiotic bacteria". *Food*, 50, 603-610.

CHIQUELLE, J. Y BANCHAA, C. (1998). "Effect of diet and probiotic addition on chemical composition of free and particle associated bacterial populations of the rumen". *Can. J. Anim. Sci.*, 78, 115-120.

CHIRICA, L.C., GURAY, T., GURAKAN, G.C. Y BOZOGLU, T.F. (1998). "Characterisation of extracellular β -lactamase from penicillin G-resistant cell of *Streptococcus thermophilus*". *J. Food Prot.*, 61, 896-898.

DE KONING, W. Y HONGBIAO, D. (1999). "Chinese herbs as feed additives". *Feed Mix*, 6(3), 17-18.

DUPONT, H.L. Y STEELE, J.H. (1987). "Use of antimicrobial agents in animal feeds: implications for human health". *Rev. Infect. Dis.*, 9, 447-460.

ECKEL, B. (1997). "Feed acids in piglet feeding". *Feed magazine*, 1, 28-31.

ECKEL, B. (1999). "Probiotics can improve intestinal microbe balance and feed hygiene". *Feed Tech*, 3(7), 39-41.

FINLAND, M. (1971). "Changes in susceptibility of selected pathogenic bacteria to widely used antibiotics". *Ann. NY Acad. Sci.*, 182, 5-20.

GARRIGA, M., PASCUAL, M., MONFORT, J.M. Y HUGAS, M. (1998). "Selection of lactobacilli for chicken probiotic adjuncts". *J. Appl. Microbiol.*, 84, 125-132.

- GUILLOT, J.F. (1989). "Apparition et évolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques". Ann. Rech. Vet., 20, 3-16.
- HAMILTON, J.O.C. (1994). "Who will stop the mutant microbes". Business Week, 1 de agosto, 52-53.
- 5 HEDGES, RW. Y JACOB, A.E. (1974). "Transposition of ampicillin resistance from RP4 to other replicons". Mol. Gen. Genet., 132,31-40.
- HOUDIJK, J.G.M., BOSCH, M.W., TAMMINGA, S., VERSTEGEN, M.W.A., BERENPAS, E.B. Y KNOOP, H. (1999). "Apparent Ileal and Total-Tract nutrient digestion by pigs as affected by dietary nondigestible oligo-saccharides". J. Anim. Sci., 77,148-158.
- 10 IJI, P.A. Y TIVEY, DR. (1998). "Natural and synthetic oligo-saccharides in broiler chicken diets". World's Poultry Science Journal, 54, 129-143.
- LIANG, C. (1997). "Organic acids control harmful micro-organisms in poultry feed". Zootechnica International, enero, 36-39.
- MAZZA, G. (ed.) (1998). "Functional Foods". Technomic Publishing Company, Pensilvania.
- MUIRHEAD, S. (1998). "EU ban of antibiotics draws sharp criticism". Feedstuffs, 70, 1-4.
- 15 NEU, C.H., RICHMOND, M., MITSUHASHI, S., NORD, C.E., ROSS, G.W., KNOWLES, J.R Y SUTHERLAND, R (1980). "β-lactamase: a major form of bacterial resistance". *En: "Current chemotherapy and infectious diseases"*. Springer Verlag, Berlín, 19-25.
- NIELSEN, P.E. (1999). "Denmark's approach to problem free feeding". Feed Mix, 6(5),15-17.
- 20 OLSEN, R (1996). "Experience with mannanoligo-saccharides in commercial turkey production". Zootechnica International, agosto, 38-39.
- PATENTE WO/98/26787. "Prebióticos y probióticos".
- PRESCOTT, J.F. (1997). "Antibiotics: miracle drugs or pig food". Can. Vet. J., 38, 763-766.
- RADECKI, S.V., JUHL, M.R Y MILLER, E.R (1988). "Fumaric and citric acids as feed additives in starter pig diets: effect on performance and nutrient balance". J. Anim. Sci., 66, 2598-2605.
- 25 ROSS, I.W. (1999). "Antibiotics in animal feed stocks and implications of the European Commission ban". Food Test Anal., 5, 8-10.
- TANNOCK, G.W. (ed.) (1999). "Probiotics: a critical review". Horizon Scientific Press, Wymondham.
- THOMPSON, R (1986). "R plasmid transfer". J. Antimicrob. Chemother., 18, 13-23.
- 30 ZERIAL, A., SKERLAVAJ, B., GENNARO, R AND ROMEO, D. (1987). "Inactivation of herpes virus by protein components of bovine neutrophil granules". Antivir. Res., 7, 341-352.

REIVINDICACIONES

1. Una composición de pienso líquida o sólida que comprende un homotrímero, heterotrímero, homotetrámero y/o heterotetrámero de un componente seleccionado del grupo consistente en una forma β de una aldopentosa seleccionada del grupo consistente en ribosa, arabinosa, xilosa y lixosa; una forma β de una aldohexosa seleccionada del grupo consistente en alosa, altrosa, manosa, gulosa, idosa y talosa; combinaciones de las mismas, un derivado oxidado de las mismas o cualquier mezcla de las mismas, en la que dicho homotrímero, heterotrímero, homotetrámero y/o heterotetrámero está presente en una cantidad de hasta un 1 % en peso seco de la composición.
2. Composición según la reivindicación 1, en la que dicho homotrímero, heterotrímero, homotetrámero y/o heterotetrámero no está ligado covalentemente con un soporte o portador.
3. Composición según la reivindicación 1 o 2, en la que dicho componente es ácido glucurónico y/o ácido galacturónico.
4. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que dichas aldopentosas, dichas aldohexosas, combinaciones de las mismas y derivados oxidados de las mismas están ligadas entre sí mediante enlaces β -glicosido.
5. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 y 3 a 4, en la que dicho homotrímero, heterotrímero, homotetrámero y/o heterotetrámero está presente en una cantidad comprendida entre 0,01 y 0,2 % en peso seco de la composición.
6. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, combinada con uno o más componentes adicionales seleccionados del grupo que comprende antibióticos, probióticos, prebióticos y/o ácidos.
7. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para uso como agente de aglutinación para aglutinar patógenos entéricos.
8. Composición para uso como agente de aglutinación para aglutinar patógenos entéricos según la reivindicación 7, en la que dichos patógenos entéricos son bacterias seleccionadas del grupo que comprende los géneros *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Erwinia*, *Yersinia*, *Campylobacter*, *Helicobacter*, *Vibrio*, *Pseudomona* así como otras bacterias gramnegativas.
9. Composición para uso como agente de aglutinación para aglutinar patógenos entéricos según la reivindicación 7, en la que dichos patógenos entéricos son virus seleccionados del grupo que comprende los géneros *Norovirus*, *Rotavirus* así como otros virus.
10. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para uso en el control y regulación selectivos del ecosistema microbiano en el tracto gastrointestinal de un sujeto necesitado de ello.
11. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para uso en el control de la diarrea en un sujeto necesitado de ello.
12. Uso de una composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para mejorar la ganancia de peso y reducir el índice de transformación del alimento de un animal necesitado de ello.
13. Oligosacárido consistente en un homotrímero, heterotrímero, homotetrámero y/o heterotetrámero de un componente seleccionado del grupo consistente en una forma β de una aldopentosa seleccionada del grupo consistente en ribosa, arabinosa, xilosa y lixosa; una forma β de una aldohexosa seleccionada del grupo consistente en alosa, altrosa, manosa, gulosa, idosa y talosa; combinaciones de las mismas, un derivado oxidado de las mismas o cualquier mezcla de las mismas para uso como agente de aglutinación para aglutinar patógenos entéricos, caracterizado porque dicho oligosacárido está presente en una composición de pienso sólida o líquida a una concentración de hasta un 1 % en peso seco de la composición.
14. Oligosacárido para uso como agente de aglutinación para aglutinar patógenos entéricos según la reivindicación 13, en el que dicho oligosacárido es como se define en cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4.
15. Oligosacárido para uso como agente de aglutinación para aglutinar patógenos entéricos según las reivindicaciones 13 o 14, en el que dichos patógenos entéricos son bacterias seleccionadas del grupo que comprende los géneros *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Erwinia*, *Yersinia*, *Campylobacter*, *Helicobacter*, *Vibrio*, *Pseudomona* así como otras bacterias gramnegativas.
16. Oligosacárido para uso como agente de aglutinación para aglutinar patógenos entéricos según las reivindicaciones 13 o 14, en el que dichos patógenos entéricos son virus seleccionados del grupo que comprende los géneros *Norovirus*, *Rotavirus*, así como otros virus.
17. Oligosacárido consistente en un homotrímero, heterotrímero, homotetrámero y/o heterotetrámero de un componente seleccionado del grupo consistente en una forma β de una aldopentosa seleccionada del grupo

consistente en ribosa, arabinosa, xilosa y lixosa; una forma β de una aldohexosa seleccionada del grupo consistente en alosa, altrosa, manosa, gulosa, idosa y talosa; combinaciones de las mismas; un derivado oxidado de las mismas o cualquier mezcla de las mismas para uso en el control y regulación selectivos del ecosistema microbiano en el tracto gastrointestinal de un sujeto necesitado de ello, caracterizado porque dicho oligosacárido está presente en una composición de pienso sólida o líquida a una concentración de hasta un 1 % en peso seco de la composición.

5

18. Oligosacárido consistente en un homotrímero, heterotrímero, homotetrámero y/o heterotetrámero de un componente seleccionado del grupo consistente en una forma β de una aldopentosa seleccionada del grupo consistente en ribosa, arabinosa, xilosa y lixosa; una forma β de una aldohexosa seleccionada del grupo consistente en alosa, altrosa, manosa, gulosa, idosa y talosa; combinaciones de las mismas; un derivado oxidado de las mismas o cualquier mezcla de las mismas para uso en el control de la diarrea en un sujeto necesitado de ello, caracterizado porque dicho oligosacárido está presente en una composición de pienso sólida o líquida a una concentración de hasta un 1 % en peso seco de la composición.

10

19. Uso de un oligosacárido consistente en un homotrímero, heterotrímero, homotetrámero y/o heterotetrámero de un componente seleccionado del grupo consistente en una forma β de una aldopentosa seleccionada del grupo consistente en ribosa, arabinosa, xilosa y lixosa; una forma β de una aldohexosa seleccionada del grupo consistente en alosa, altrosa, manosa, gulosa, idosa y talosa; combinaciones de las mismas; un derivado oxidado de las mismas o cualquier mezcla de las mismas en la mejora de la ganancia de peso y la reducción del índice e transformación del alimento de un animal necesitado de ello, caracterizado porque dicho oligosacárido está presente en una composición de pienso sólida o líquida a una concentración de hasta un 1 % en peso seco de la composición.

15

20

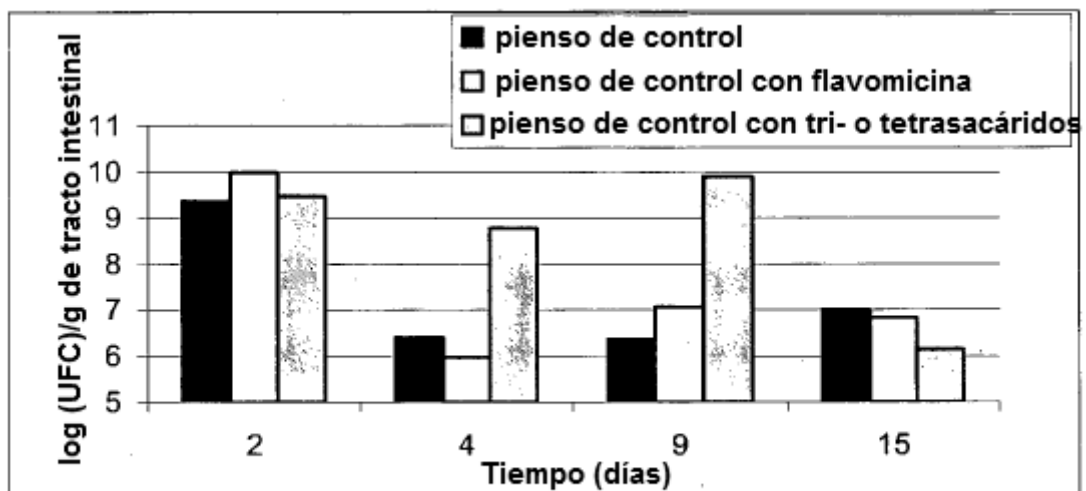


FIG. 1

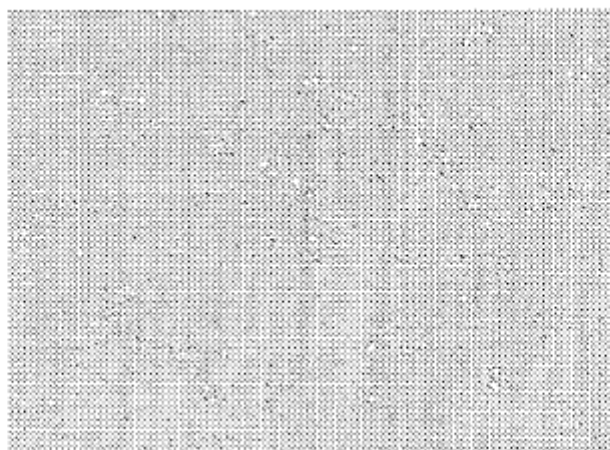


FIG. 2A

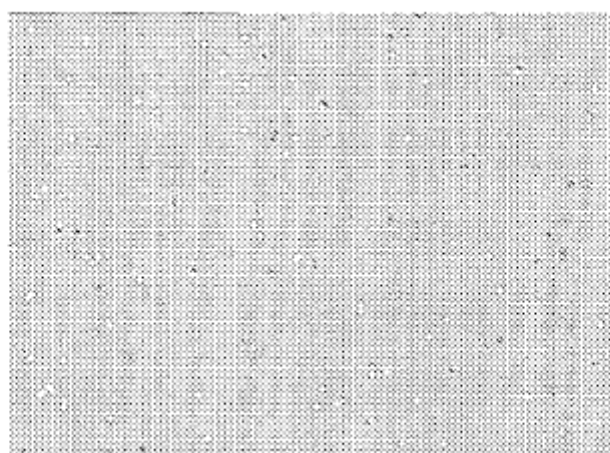


FIG. 2B