

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 604 454**

51 Int. Cl.:

A61K 31/715 (2006.01)

A61K 31/716 (2006.01)

A61K 31/353 (2006.01)

A61K 31/702 (2006.01)

A61K 31/733 (2006.01)

A61P 1/00 (2006.01)

A61P 1/04 (2006.01)

A61P 1/14 (2006.01)

A61K 36/8998 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.11.2004** **PCT/US2004/038697**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.06.2005** **WO05051403**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.11.2004** **E 04811413 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.08.2016** **EP 1684771**

54 Título: **Composición para tratar inflamación del tracto gastrointestinal en mascotas**

30 Prioridad:

21.11.2003 US 719569

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

07.03.2017

73 Titular/es:

HILL'S PET NUTRITION, INC. (100.0%)
400 SOUTHWEST 8TH STREET
TOPEKA, KS 66603, US

72 Inventor/es:

KHOO, CHRISTINA;
GROSS, KATHY LYNN y
GIBSON, GLENN

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 604 454 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composición para tratar inflamación del tracto gastrointestinal en mascotas

Antecedentes de la invención

5 Mantener el bienestar del tracto GI de un mamífero es un objetivo muy deseable. Son particularmente relevantes los estados inflamatorios del tracto GI. Las bacterias *Desulfovibrio spp.* (incluyendo, pero sin limitarse a, *desulfuricans*, *intestinalis*, *vulgaris*, etc.) son bacterias reductoras de sulfato que producen sulfuro de hidrógeno que cuando se libera por las bacterias puede causar la inflamación de células del tracto GI. Las bacterias *Helicobacter* (incluyendo, pero sin limitarse a, *heilmannii*, *felix*, *pylori*, *bizzozeronii*, *salomonis*) pueden causar ulceraciones e inflamación de las células del estómago e intestino delgado. Algunos signos de inflamación del tracto GI incluyen diarrea aguda o

10 crónica, deposiciones blandas, sangre en las deposiciones, vómitos, escasa digestión y absorción de nutrientes, pérdida de peso y apetito escaso. Se conoce que enfermedades tales como gastritis, enteritis, enfermedad inflamatoria del intestino, úlceras, algunos tipos de cáncer y otros tienen inflamación GI como componente principal. Bacterias patógenas tales como *Desulfovibrio spp.*, que reducen sulfato para dar sulfuro, también pueden causar un aumento de gas u olor de las deposiciones debido a niveles aumentados de sulfuro u otros compuestos odoríferos

15 en las deposiciones.

Ahora se ha encontrado que los gatos con enfermedad inflamatoria del intestino (EII) tienen un número mayor de *Desulfovibrio* y/o *Helicobacter spp.* que gatos normales, sanos. También se ha encontrado que *Helicobacter* era detectable en todos los gatos con enfermedad inflamatoria del intestino (EII) mientras que sólo 5/12 gatos normales tratados tenían niveles detectables de *Helicobacter*. También se ha encontrado que el 45% de los gatos con EII sometidos a prueba tenían niveles de bifidobacterias, un grupo bacteriano beneficioso, por debajo de niveles de detección convencionales, mientras que el 9% de gatos normales, sanos tenían bifidobacterias por debajo de los niveles de detección convencionales.

20

Sumario de la invención

Según la invención, existe una composición alimenticia comestible por vía oral para su uso por un animal de compañía que comprende una composición alimenticia comestible en combinación con un componente que reduce los niveles de *Desulfovibrio* y/o *Helicobacter spp.* en el animal de compañía, tal como se define en las reivindicaciones adjuntas.

25

También se da a conocer un método para reducir el nivel de *Desulfovibrio* y/o *Helicobacter spp.* en un animal de compañía que comprende administrar por vía oral el alimento de la invención.

30 Descripción detallada de la invención

Tal como se indicó anteriormente, ahora se ha descubierto que los niveles de *Desulfovibrio spp.* son superiores en gatos con un trastorno inflamatorio del tracto GI, EII, que en los gatos normales que no tienen este trastorno. Por tanto, será beneficioso para cualquier animal de compañía que tiene un nivel superior de *Desulfovibrio* y/o *Helicobacter spp.*, con o sin signos clínicos visibles de una enfermedad o trastorno generalmente acompañado por inflamación del tracto GI, reducir sus niveles. También pueden derivarse beneficios de la prevención del aumento de *Desulfovibrio* y/o *Helicobacter spp.*, es decir un efecto preventivo.

35

Las bacterias pueden reducirse por agentes activos. Estos incluyen materiales antibacterianos tales como antibióticos, compuestos quimioterápicos y similares. Sorprendentemente, las fibras también pueden reducir los niveles de *Desulfovibrio* y/o *Helicobacter spp.* Los ejemplos de fibras de ese tipo incluyen un oligosacárido, un galactano, un beta-glucano y mezclas de los mismos. Los ejemplos de oligosacáridos incluyen xilo-oligosacárido, galacto-oligosacárido, fructo-oligosacárido. Los ejemplos de un beta-glucano incluyen extracto de células de levadura, cebada germinada, fibra de avena, curdlano (polisacárido de fermentación microbiana). Los ejemplos de galactanos incluyen arabinogalactano. Preferiblemente también puede(n) estar presente(s) un(os) polifenol(es) con el agente activo, particularmente cuando el agente activo es una fibra, y más particularmente cuando la fibra es un galactano tal como arabinogalactano. El polifenol es generalmente de una estructura que tiene al menos dos fenoles y más preferiblemente es un flavonoide tal como una taxifolina. Las cantidades mínimas del polifenol en la composición son un mínimo de aproximadamente el 0,01, el 0,05 o el 0,1% en peso tal como se mide en la dieta diaria un animal de compañía. El máximo generalmente no excede aproximadamente el 2, el 1 o el 0,75% en peso tal como se mide en la dieta diaria de un animal de compañía, todos los pesos en base de materia seca.

40

45

Puede emplearse una cantidad eficaz de componente frente a *Desulfovibrio* y/o *Helicobacter spp.* Un agente antibacteriano tal como un antibiótico o agente quimioterápico puede proporcionarse por vía oral a la mascota a un mínimo de aproximadamente 2 y 5 mg/kg de peso corporal. Los máximos generalmente no son de más de aproximadamente 25, 50 mg/kg de peso corporal. Con respecto a una fibra, el mínimo es de aproximadamente el

50

0,1, el 0,5 o el 1,0% en peso y el máximo generalmente no debe exceder aproximadamente el 5, el 10 o el 20% en peso tal como se mide en la dieta diaria de un animal de compañía, en base de materia seca.

La reducción de *Desulfovibrio* y/o *Helicobacter* spp. puede ser eficaz para ayudar a controlar enfermedades y estados en un animal de compañía en los que la inflamación del tracto GI es un componente principal. Ejemplos de animales de compañía son perros, gatos, caballos.

Ejemplo - Mostrar la presencia de nivel aumentado de bacterias patógenas en gatos con EII.

1. Protocolo para el examen de muestras fecales de gatos:

Se recogieron muestras fecales de gatos normales sanos y de los gatos con diagnóstico de EII. Se mantuvieron los gatos normales con una dieta seca Science Diet® Feline maintenance® mientras que los gatos con EII se mantuvieron con una dieta gastrointestinal terapéutica. Se congelaron las muestras fecales a -70°C antes del análisis. Para el análisis, se mezclaron muestras con solución salina tamponada con fosfato hasta una razón de 1:10 (p/p), se agitaron con vórtex con perlas de vidrio y se centrifugaron para eliminar materia particulada. Se añadió una alícuota de 375 µl de muestra a un tubo que contenía 1,125 ml de paraformaldehído al 4% y se dejó a 4°C durante 4-5 horas. Se centrifugaron las muestras y se lavaron dos veces en PBS, entonces se mezclaron con 150 µl de etanol filtrado y se almacenaron a -20°C antes de análisis de hibridación *in situ* fluorescente (FISH para enumeración microbiana). Se sintetizaron sondas dirigidas a ARNr 16S específico de género y se monomarcaron en el extremo 5' con tinte fluorescente para detectar las bacterias de interés en los medios de fermentación. Se tiñó el ácido nucleico total para obtener los recuentos de células totales. Los datos se expresan como log₁₀ de células/g de heces. FISH permite la cuantificación bacteriana de muestras almacenadas e incluye tanto diversidad cultivable como no cultivable.

Resultados

Tabla 1. Log₁₀ de unidades formadoras de colonias de bacterias patógenas en gatos normales y con EII

	Normal	EII
Heces con <i>Desulfovibrio</i>	ufc/g 7,0 ± 2,5	7,7 ± 0,6
Heces con <i>Helicobacter</i>	ufc/g 2,9 ± 3,6	7,3 ± 0,6

Estos resultados muestran que los gatos con inflamación del tracto GI, específicamente EII, tenían una cantidad aumentada de bacterias patógenas presentes en el tracto GI.

Ejemplo 2 - Efecto *in vivo* de AG sobre *Desulfovibrio* en gatos con EII y normales

2. Protocolo para el estudio de alimentación

Se alimentaron once (11) gatos con EII y 10 gatos normales sanos con alimentos que contenían el 1,0% de pulpa de remolacha con el 0,6% de extracto de arabinogalactano del alerce occidental. El extracto tenía aproximadamente el 90% en peso de arabinogalactano y aproximadamente el 4% en peso de polifenoles, siendo el polifenol predominante taxifolina, siendo el resto humedad, todo en una base de materia seca durante dos semanas. Tras esto, se cambiaron los gatos a alimento que contenía el 1,5% de pulpa de remolacha sola. Se recogieron muestras fecales en los días 0, día 14 y día 28. Se prepararon las muestras de la siguiente manera para el análisis mediante FISH: Para congelar cada muestra fecal, se suspendieron 5 g de heces en solución salina tamponada con fosfato (PBS) anaerobia a pH 7,3 en una bolsa o un recipiente de plástico estéril para dar una concentración final del 10% (45 ml para 5 g). Se homogeneizó/mezcló la suspensión espesa en la bolsa para evitar contaminación. Se usó un recipiente diferente para cada muestra. Se mezclaron 5 ml de la suspensión espesa con una cantidad igual de glicerol para dar una mezcla 50:50 que se congeló para el análisis mediante FISH.

Resultados:

Se obtuvieron trece (13) conjuntos completos de muestras fecales. Cuando los gatos recibían alimento que contenía el 0,6% de extracto de AG, 4/13 gatos tenían reducciones de los niveles de *Desulfovibrio* spp. de 0,3 unidades log y superiores. 8/13 gatos tenían pequeñas reducciones o ningún cambio en los niveles de *Desulfovibrio* spp. mientras que sólo 1/13 gatos tenía un aumento de *Desulfovibrio* spp. Cuando se cambiaron los gatos a alimento sin AG, 10/13 gatos tenían aumentos de los niveles de *Desulfovibrio* spp. de 0,3 unidades log y superiores, 2/13 gatos no tenían cambios y sólo 1/13 gatos tenía reducción de los niveles de *Desulfovibrio* spp.

Los resultados muestran que el extracto de AG podía prevenir un aumento en los niveles de *Desulfovibrio* spp. en la mayoría de los gatos y tendía a reducirlos en algunos de los gatos. Esto era al nivel que se alimentó en comparación

con pulpa de remolacha, que tendía a provocar un aumento en los niveles de *Desulfovibrio spp.* en la mayoría de los gatos.

Ejemplo 3 - Experimento *in vitro* que muestra que diversas fibras reducían los niveles de *Desulfovibrio spp.*

Se prepararon vasos de fermentación que contenían medio tamponado con fosfato anaerobio y se añadió 1 ml de inóculo fecal canino (muestra fecal al 10% p/v con respecto a tampón). La composición de los medios era tal como se describe en Sunvold GD, Hussein HS, Fahey GC, Merchen NR, y Reinhart GA (1995), In vitro fermentation of selected fiber sources by dogs fecal inoculum and in vivo digestion and metabolism of fiber supplemental diets. J. Animal Sci. 73:1099-1109 (1995). Las fermentaciones se llevaron a cabo a 39°C. Se realizaron experimentos de manera ciega con diferentes fibras. Después de 8 horas de incubación, se retiró 1 ml de líquido de cultivo. Se preparó una alícuota de esto para FISH. Después de 8 horas, se retiró 1 ml de líquido de cultivo y se mezcló con paraformaldehído al 4% en PBS y se fijó para FISH. Se sintetizaron sondas dirigidas a ARNr 16S específico de género y se monomarcaron en el extremo 5' con tinte fluorescente para detectar las bacterias de interés en los medios de fermentación. Se tiñó el ácido nucleico total para obtener los recuentos microbianos totales. Los resultados mostraron que varios tipos diferentes de fibras podían disminuir el crecimiento de *Desulfovibrio spp.* en de 0,5 a 1,0 unidades log durante la fermentación de 8 horas (véase la tabla 2).

Tabla 2

Números de <i>Desulfovibrio spp.</i> después de 8 horas de incubación (log de ufc/ml de inóculo fecal).		
	Log ₁₀ DE UFC A LAS 0 HORAS	Log ₁₀ DE UFC A LAS 8 HORAS
Arabinogalactano	7,5 ± 0,3	6,4 ± 1,0
Xilo-oligosacárido	7,2 ± 0,4	6,8 ± 0,9
Galacto-oligosacárido	7,0 ± 1,0	6,8 ± 0,9
Fructo-oligosacárido	6,9 ± 1,0	6,3 ± 0,8
Inulina	7,3 ± 0,2	6,4 ± 1,0
Cebada germinada	6,8 ± 0,9	5,8 ± 0,0

Sumario

Por tanto, se ha mostrado tanto *in vitro* como *in vivo* que AG disminuyó el nivel de *Desulfovibrio spp.*

REIVINDICACIONES

1. Fibra para su uso en el tratamiento de inflamación del tracto gastrointestinal (GI) de un animal de compañía, en la que el tratamiento de inflamación comprende administrar por vía oral al animal de compañía una composición que comprende fibra,
- 5 en la que el tratamiento de inflamación comprende reducir la cantidad de especies de *Desulfovibrio* y/o *Helicobacter* en el tracto GI, y
en la que la fibra se selecciona del grupo que consiste en un oligosacárido, un galactano, un beta-glucano y una mezcla de los mismos.
2. Fibra para su uso según la reivindicación 1, en la que el animal de compañía necesita dicha administración.
- 10 3. Fibra para su uso según la reivindicación 2, en la que el animal de compañía es un perro o gato.
4. Fibra para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que la fibra se selecciona del grupo que consiste en arabinogalactano, xilo-oligosacárido, galacto-oligosacárido, fructo-oligosacárido, inulina, cebada germinada y una mezcla de los mismos.
- 15 5. Fibra para su uso según cualquier reivindicación anterior, en la que la composición comprende fibra en una cantidad del 0,1%, el 0,5%, el 1%, el 5%, el 10% o el 20% en una base de materia seca.
6. Fibra para su uso según cualquier reivindicación anterior, en la que la composición comprende además un polifenol.
7. Fibra para su uso según cualquier reivindicación anterior, que además comprende reducir el olor de los gases intestinales y/o el olor de las deposiciones.