

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 691 981**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/718** (2006.01)  
**A61K 36/81** (2006.01)  
**A61P 1/00** (2006.01)  
**A61P 1/12** (2006.01)  
**A23K 50/60** (2006.01)  
**A23K 50/30** (2006.01)  
**A23K 10/35** (2006.01)  
**A23K 20/163** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.09.2013 PCT/CA2013/050689**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **13.03.2014 WO14036655**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.09.2013 E 13835197 (8)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.07.2018 EP 2892540**

54 Título: **Tratamiento de la diarrea y de la diarrea post-destete con almidón resistente de patata**

30 Prioridad:

**06.09.2012 US 201261697440 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**29.11.2018**

73 Titular/es:

**MCPHARMA BIOTECH INC. (100.0%)  
9 Fredrick Street  
Carberry, Manitoba R0K 0H0, CA**

72 Inventor/es:

**MCLAREN, DEREK y  
MCLAREN, EARL**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

ES 2 691 981 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

Tratamiento de la diarrea y de la diarrea post-destete con almidón resistente de patata

**Información de solicitud previa**

5 La presente solicitud reivindica el beneficio de la Solicitud de Patente Provisional de Estados Unidos 61/697.440, presentada el 6 de septiembre de 2012.

**Antecedentes de la invención**

10 La diarrea post-destete (PWD) es una de las principales pérdidas económicas en la industria porcina y a menudo es causada por múltiples factores, incluidos factores estresantes nutricionales, fisiológicos, ambientales y psicológicos (Heo *et al.*, 2012; Kim *et al.*, 2012). La estrategia más efectiva para controlar la diarrea asociada con el destete se basa en niveles profilácticos y/o terapéuticos de compuestos antimicrobianos como óxido de zinc (ZnO), sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>) y antibióticos en la alimentación. Sin embargo, debido a los problemas relacionados con el desarrollo de cepas resistentes a los antibióticos en patógenos transmitidos por los alimentos, así como con la contaminación ambiental, existe un interés creciente en reducir o eliminar completamente el uso de antibióticos en la alimentación de los animales (Lusk *et al.*, 2006).

15 Una alternativa propuesta para mejorar la diarrea post-destete y mejorar la salud intestinal de los cerdos es el uso de prebióticos como el almidón resistente. Un prebiótico ha sido definido como "un ingrediente fermentado selectivamente que permite cambios específicos, tanto en la composición como en la actividad de la microbiota, que confieren beneficios al bienestar y a la salud del hospedante" (Gibson *et al.*, 2004). El almidón resistente procedente de la patata (*Solanum tuberosum*) es un prebiótico de este tipo y se puede afirmar que el almidón resistente es un  
20 componente vital de un microbioma intestinal de un animal sano. Como tal, se puede demostrar que el almidón resistente procedente de la patata ayuda en (i) establecimiento y promoción de microbios intestinales beneficiosos, incluyendo pero sin limitarse a las especies Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes y Proteobacteria; (ii) metabolismo alterado de los carbohidratos y respuesta a la insulina en los animales; (iii) aumento de la captación, absorción y transporte de micro y macronutrientes; (iv) mejora de la integridad del tracto gastrointestinal, incluyendo el revestimiento mucosal (v) mejora de la función inmunitaria, incluyendo la alteración correspondiente del medio proinflamatorio y antiinflamatorio; y (vi) cambios en la producción de ácidos grasos y en el metabolismo graso.

25 Una investigación anterior realizada en la Universidad de Manitoba informó que alimentando a los cerdos destetados con una dieta que contenía 7% de almidón resistente de patata (RPS) se producía una reducción de la diarrea post-destete sin efectos adversos sobre el crecimiento. Sin embargo, no hubo diferencias en la diarrea post-destete ni en el crecimiento de los lechones alimentados con una dieta con el 14% de almidón resistente de patata en  
30 comparación con los alimentados con la dieta del control negativo.

Por lo tanto, el propósito de este estudio fue determinar los efectos de la inclusión en la dieta de bajas cantidades de almidón resistente de patata sobre el crecimiento de los lechones y otros indicadores de salud gastrointestinal.

**Sumario de la invención**

35 El alcance de la invención se define por las reivindicaciones.

Según una realización de la invención, se proporciona un producto para uso en un método para tratar o prevenir o tratar profilácticamente la diarrea infecciosa en un animal, que comprende administrar a un animal que necesite dicho tratamiento una cantidad eficaz de almidón resistente de patata.

40 Según una realización de la invención, se proporciona un producto para uso en un método para tratar o prevenir o tratar profilácticamente la diarrea post-destete en un animal, que comprende administrar a un animal que necesite tal tratamiento una cantidad eficaz de almidón resistente de patata.

Según una realización de la invención, se proporciona un producto para uso en un método para tratar o prevenir o tratar profilácticamente el estrés gastrointestinal asociado con el destete en un animal, que comprende administrar a un animal que necesite tal tratamiento una cantidad eficaz de almidón resistente de patata.

45 En realizaciones preferidas, el almidón resistente de patata es MSPrebiotic® Resistant Starch (almidón resistente de patata para afecciones de salud humana) o MSP[RS]® Resistant Starch (almidón resistente de patata para uso en la industria ganadera).

50 Como será fácilmente evidente para los expertos en la técnica, "una cantidad eficaz" dependerá del animal, de su edad, peso y estado general, entre otros factores. El almidón resistente de patata es el 0,1-2,5% de la dieta del animal de destete. Los inventores han descubierto que un nivel de almidón resistente mucho más bajo que el que se había creído anteriormente, es suficiente para tratar o mejorar de otra manera al menos uno de los síntomas asociados con diarrea infecciosa, post-metabolismo.

Una investigación anterior realizada en la Universidad de Manitoba informó que alimentando a los cerdos destetados con una dieta que contenía 7% de almidón resistente de patata (RPS) se producía una reducción de la diarrea post-destete sin efectos adversos sobre el crecimiento. Sin embargo, no hubo diferencias en la diarrea post-destete ni en el crecimiento de los lechones alimentados con una dieta con el 14% de almidón resistente de patata en comparación con los alimentados con la dieta del control negativo.

Se ha investigado el uso de almidón resistente para afectar a la composición de la microflora gastrointestinal en los cerdos de destete (Hedemann and Knudsen, 2007). Se ha encontrado que el almidón resistente, que comprende ambos, almidón de maíz y almidón de patata, estimulaba fuertemente la formación de butirato, del cual se había determinado previamente que estimula el crecimiento del intestino grueso. Se ha encontrado que la cantidad de almidón utilizada en la dieta del cerdito de destete afecta a la ganancia de peso diaria dependiendo del porcentaje presente en la dieta; dando como resultado una reducción de la ganancia de peso de hasta un 38% (teniendo una cantidad de 4,5% de almidón resistente de patata). El efecto de estos almidones resistentes sobre la enfermedad o diarrea post-destete no ha sido investigado en este estudio.

Se ha investigado en cerdos de destete (Krause *et al.*, 2010) el uso de una combinación simbiótica de almidón resistente de patata (14%) y un prebiótico de cepas de *E. coli* para afectar a la respuesta a un desafío con *E. coli* enterotóxico (cepa K88). Sin embargo, la inclusión del 14% de almidón de patata dio como resultado una reducción de aproximadamente un 50% en la media de ganancia de peso diaria (0-7 días post-destete); al mismo tiempo la puntuación fecal de las dietas aplicadas de almidón resistente de patata (con o sin prebiótico) fue elevada en comparación con los controles (indicativo de enfermedad post-destete). No se investigó en este estudio ni el efecto de cantidades bajas de almidón resistente de patata sobre la diarrea post-destete ni el efecto de administrar diferentes niveles de almidón resistente de patata.

Por lo tanto, el propósito de este estudio fue determinar los efectos de la inclusión en la dieta de cantidades bajas de almidón resistente de patata sobre el crecimiento del lechón y otros indicadores de salud gastrointestinal.

### Sumario de la invención

Según una realización de la invención, se proporciona un almidón resistente de patata para uso en el tratamiento del estrés gastrointestinal asociado con el destete en un animal, en donde el almidón resistente de patata es el 0,1 a 2,5% de la dieta de los animales de destete.

Se proporciona por lo tanto un almidón resistente de patata para uso en el tratamiento o prevención o tratamiento profiláctico del estrés gastrointestinal asociado con el destete en un animal, que comprende administrar a un animal que necesite tal tratamiento una cantidad eficaz de almidón resistente de patata.

Preferiblemente, el almidón resistente de patata es MSPrebiotic® Resistant Starch (almidón resistente de patata para afecciones de salud humana) o MSP[RS]® Resistant Starch (almidón resistente de patata para uso en la industria ganadera).

Como será fácilmente evidente para los expertos en la técnica, "una cantidad eficaz" dependerá del animal, de su edad, peso y estado general, entre otros factores. Sin embargo, como se ha expuesto antes, los inventores han descubierto que un nivel de almidón resistente mucho más bajo que el que se había creído anteriormente, es suficiente para tratar o mejorar de otra manera al menos uno de los síntomas asociados con diarrea infecciosa, diarrea post-destete y/o estrés gastrointestinal asociado con el destete, tal como mala consistencia fecal, reducción de la ingesta diaria de alimentos y similares. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la "cantidad eficaz" es almidón resistente a aproximadamente 0,3-2,5%, 0,3-2,0%, 0,3-1,5%, 0,3-1,0%, 0,4-2,5%, 0,4-2,0%, 0,4-1,5%, 0,4-1,0%, 0,5-2,5%, 0,5-2,0%, 0,5-1,5%, o 0,5-1,0% de la dieta del animal.

En otras realizaciones, la "cantidad eficaz" puede ser una cápsula o un comprimido de almidón resistente de patata. La cápsula o el comprimido de almidón resistente se puede preparar según los métodos descritos en la presente memoria. Preferiblemente, la cápsula de almidón resistente de patata puede ser de aproximadamente 500 mg, mientras que el comprimido puede ser de 250 mg. Preferiblemente, la cápsula de almidón resistente de patata es MSPrebiotic® Resistant Starch o MSP[RS]® Resistant Starch.

Por consiguiente, se proporciona almidón resistente de patata para uso en el tratamiento de la diarrea infecciosa en un animal.

Por consiguiente, se proporciona almidón resistente de patata para uso en el tratamiento de la diarrea post-destete en un animal.

Por consiguiente, se proporciona almidón resistente de patata para uso en el tratamiento del estrés gastrointestinal asociado con el destete en un animal.

Se proporciona también un producto alimenticio de transición para animales de destete que comprende una cantidad eficaz de almidón resistente de patata.

Como se usa en la presente memoria, "alimento de transición" se refiere a un alimento que se da a un animal de destete que está en transición desde una alimentación principalmente líquida a una alimentación sólida.

Se proporciona también un método para preparar una composición farmacéutica de almidón resistente de patata que comprende mezclar una cantidad eficaz de almidón resistente de patata con un excipiente adecuado.

## 5 Descripción de las realizaciones preferidas

A menos que se defina otra cosa, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente memoria tienen el mismo significado que es entendido normalmente por los expertos en la técnica a la que pertenece la invención. Aunque en la práctica o análisis de la presente invención se pueden usar cualquiera de los métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente memoria, se describen ahora los métodos y materiales preferidos. Todas las publicaciones mencionadas a continuación se incorporan aquí como referencia.

Como se ha expuesto anteriormente, la diarrea post-destete es un serio problema para la industria ganadera. Tal como se usa en la presente memoria, "ganado" se puede considerar cualquier animal, por ejemplo, un animal de granja mantenido para uso o beneficio, por ejemplo, para uso doméstico y no como mascotas, especialmente en una granja o rancho. Un ejemplo de ellos es la industria porcina; sin embargo, ahora se consideran como ganado una gran variedad de animales, incluidos peces.

La diarrea post-destete es causada por bacterias que utilizan nitrógeno o enterotoxigénicas, tales como *E. coli*. Como se expuso anteriormente, esta enfermedad es causada por múltiples factores: (i) cese de la transmisión pasiva de anticuerpos maternos; (ii) cambio en la alimentación, que da como resultado la presencia de productos alimenticios sin digerir en el tracto digestivo; (iii) factores estresantes adicionales causados por la separación de la madre y la reubicación y (iv) estrés causado por la cría de animales con alta densidad. Por ejemplo, en la industria porcina, al cesar el destete, los lechones ya no tienen anticuerpos procedentes de la cerda madre transmitidos pasivamente con la leche. En consecuencia, estos lechones carecerán de anticuerpos contra las bacterias enterotoxigénicas y son propensos a la infección por las mismas.

Como tal, el "destete" en algunos casos se puede considerar como un período en la vida de un animal durante el cual el animal es alimentado principalmente con alimentos líquidos. El post-destete se refiere a la transición de la alimentación líquida a la alimentación sólida. El alimento de transición se refiere a los alimentos dados a un animal de destete durante este período de tiempo. Después del destete, habrá una media de 20-40% de sustancia proteica sin digerir disponible en el intestino grueso donde es fermentada por la microbiota o la microflora intestinal lo que puede llevar a un crecimiento excesivo de las bacterias que utilizan nitrógeno.

La diarrea post-destete en algunos animales conocida como "diarrea" con frecuencia es tratada administrando antibióticos a los lechones. En muchos casos, la enfermedad es tratada profilácticamente administrando antibióticos a todos los lechones, lo que se cree promueve la salud intestinal y da como resultado un procesamiento más eficiente de la alimentación por los lechones, lo que es una consideración clave en la industria porcina. Específicamente, se cree que los antibióticos reducen los niveles de las bacterias que utilizan nitrógeno, permitiendo un mayor crecimiento de bacterias de ácido láctico, tales como lactobacilos y bifidobacterias.

Sin embargo, los problemas debidos al uso excesivo de antibióticos y el aumento de resistencia a los antibióticos en los patógenos ha llevado a buscar alternativas a los antibióticos.

Una alternativa son los prebióticos, que típicamente promueven el crecimiento de bacterias beneficiosas tales como las bacterias del ácido láctico y/o inhiben el crecimiento de bacterias patógenas tales como las bacterias enterotoxigénicas.

Uno de tales prebióticos es el almidón resistente. Como apreciarán los expertos en la técnica, "almidón resistente", como se usa en la presente memoria, se refiere a un almidón que está compuesto de un alto porcentaje de almidón resistente. En algunas realizaciones, el almidón resistente es almidón procedente de una fuente botánica que naturalmente es rica en almidón resistente, esto es, con al menos 60-80% de almidón resistente. Como se describe más adelante, el almidón resistente es almidón resistente de patata. Ejemplos destacados de tal almidón resistente de patata son MSPrebiotic® Resistant Starch (almidón resistente de patata para afecciones de salud humana) y MSP[RS]® Resistant Starch (almidón resistente de patata para uso en la industria ganadera). Preferiblemente, el almidón resistente de patata es MSPrebiotic® Resistant Starch (almidón resistente de patata para afecciones de salud humana) o MSP[RS]® Resistant Starch (almidón resistente de patata para uso en la industria ganadera).

Se cree que uno de los mecanismos protectores del almidón resistente es a través de la producción de ácidos grasos de cadena corta (SCFA). Específicamente, se ha demostrado que los ácidos grasos de cadena corta tales como el propionato y el formiato matan a *E. coli* o *Salmonella* a una acidez alta (pH 5). Alternativamente, también se cree que la fermentación de almidón resistente promueve el crecimiento y la actividad de las bacterias beneficiosas de ácido láctico y altera el perfil de la microflora intestinal.

Estudios previos que incluyen la alimentación de almidón resistente en modelos animales han utilizado porcentajes relativamente altos de almidón resistente en la dieta, basados en la creencia de que eran necesarios altos niveles de

almidón resistente para asegurar que se observen los efectos deseados, tales como la producción de suficientes ácidos grasos de cadena corta y alteración del pH en compartimentos del tracto gastrointestinal. Además, la fermentación del almidón resistente natural reduce el pH intestinal y reduce también la producción de ácidos biliares secundarios, amoníaco y fenoles, potencialmente dañinos. En consecuencia, se creía ampliamente que serían necesarios niveles relativamente altos de almidón resistente para efectuar un cambio apreciable en el perfil de ácidos grasos, en la composición de la microbiota y en el pH del tracto intestinal.

Específicamente, se demostró previamente que los cerdos alimentados con una dieta que comprendía un 7% de almidón resistente de patata en realidad consumían menos alimentos que los controles, mientras que los cerdos alimentados con una dieta que comprendía un 14% de almidón resistente de patata habían aumentado el consumo de alimentos en comparación con los controles (Bhandari *et al.*, 2009). Sin embargo, en ambos casos, el crecimiento se redujo en comparación con los controles.

Sin embargo, el 7% de almidón resistente de patata mejoró la consistencia fecal, dando como resultado valores similares a los obtenidos con un control positivo tratado con una cantidad subterapéutica de antibióticos. Sin embargo, el 14% de almidón resistente de patata produjo puntuaciones de consistencia fecal consecuentes con las del control no tratado, esto es, los cerdos que no fueron alimentados con almidón resistente de patata ni recibieron antibióticos y, por lo tanto, eran propensos a la diarrea post-destete.

Como se puede ver, mientras que el 7% de almidón resistente de patata mejoró la consistencia fecal (lo que significa que se redujo la gravedad de la diarrea post-destete), también redujo la tasa de crecimiento de los cerdos, ya sea promoviendo la saciedad para que los cerdos coman menos o como un efecto colateral de haber sido reducido el contenido nutricional del alimento como resultado de que un porcentaje tan grande del alimento sea almidón resistente de patata. Los autores sacaron en conclusión que aunque el 7% de almidón resistente de patata no reemplazó a los efectos de mejora del crecimiento de los antibióticos subterapéuticos, redujo algo la diarrea en ausencia de la administración de antibióticos.

Además, el 14% de almidón resistente de patata no tuvo ningún efecto sobre la consistencia fecal, lo que significa que la gravedad de la diarrea post-destete no se redujo en este grupo de tratamiento. Sorprendentemente, el 14% de almidón resistente causó un aumento del consumo de alimentos, lo que significa que no estaba promoviendo la saciedad; sin embargo, el crecimiento todavía se redujo, lo que indica que este grupo de tratamiento no fue capaz de procesar de manera eficiente el alimento consumido. Por lo tanto, el aumento en la ingesta de alimento no se tradujo en una mejora en el aumento de peso ni en la eficiencia. Esto indica que la mayor concentración de almidón en la dieta está, de hecho, deteriorando la digestión.

En consecuencia, basándose en estos resultados, los expertos en la técnica pueden llegar a la conclusión de que una dieta que incluya un 7% de almidón resistente de patata es adecuada en casos de diarrea post-destete grave o generalizada en los que existe el deseo de evitar el uso de antibióticos. Se puede anticipar que esto tendrá un impacto negativo sobre la tasa de crecimiento, como se expuso anteriormente, aunque no sea significativo.

Además, se podría suponer que un 7% de almidón resistente de patata sería difícil, si no imposible, de incorporar a una dieta humana para tratar enfermedades análogas a la diarrea post-destete, tal como la diarrea infecciosa en humanos y las dificultades asociadas con la transición de la leche materna o de fórmula a alimentos sólidos en los lactantes humanos. En pocas palabras, anteriormente se creía que una dieta que consiste en un 7% de almidón resistente de patata sería difícil de lograr o mantener en los seres humanos.

Por ejemplo, incluso para una dieta de 2000 calorías, un individuo tendría que consumir 140 calorías de almidón resistente para alcanzar el nivel del 7%. Dado que cada gramo de proteína o de carbohidratos tal como el almidón, tiene aproximadamente 4 calorías mientras que cada gramo de grasa tiene aproximadamente 9 calorías, lo que equivale a aproximadamente 35 gramos de almidón resistente para una dieta diaria de 2000 calorías para llegar al 7%.

Además, como se expuso anteriormente, no se creía que las dosis bajas de almidón resistente tuvieran un efecto suficiente (o algún efecto en absoluto) sobre la salud intestinal o la diarrea post-destete. Específicamente, se creía que era necesaria una cantidad significativa de almidón resistente para alterar la composición de la microbiota, bajar el pH del tracto digestivo y disminuir los niveles de ácidos grasos de cadena ramificada en favor de los ácidos grasos de cadena corta y/o ácidos grasos volátiles. Específicamente, se asumió que al menos el 7% de la dieta tendría que ser almidón resistente para que se observen o detecten tales efectos. Sin embargo, como se expone más adelante, los inventores han descubierto sorprendentemente que niveles bajos de almidón resistente de patata, por ejemplo, 0,5% a 1,0% de una dieta, todavía tienen un efecto beneficioso sobre la diarrea post-destete, la diarrea infecciosa y el estrés gastrointestinal asociado con el destete.

Sin embargo, la fuente botánica del almidón resistente debe ser rica en almidón resistente y se debe tener cuidado durante el procesamiento y/o preparación para asegurar que se minimicen las pérdidas de almidón resistente debido a la gelatinización y/o a la fractura de la estructura de los gránulos de almidón resistente.

Preferiblemente, el almidón resistente procede de una fuente que tiene naturalmente 60-80% de almidón resistente. Esto es, una fuente botánica que es naturalmente rica en almidón resistente, esto es, con al menos 60-80% de

almidón resistente. Esta fuente de almidón resistente que tiene 60-80% de almidón resistente, es almidón resistente de patata.

Preferiblemente, el almidón resistente de patata es MSPrebiotic® Resistant Starch o MSP[RS]® Resistant Starch.

5 El almidón resistente se puede preparar inicialmente utilizando cualquiera de una variedad de medios conocidos en la técnica. En algunas realizaciones, el almidón resistente de patata es un subproducto de la preparación de patatas fritas o patatas chip o se prepara directamente a partir de patatas cultivadas específicamente para almidón. Un ejemplo notable de tal almidón resistente de patata es MSPrebiotic® Resistant Starch o MSP[RS]® Resistant Starch.

10 En algunas realizaciones, las patatas se lavan antes de ser sometidas a un procedimiento de extracción para separar los gránulos de almidón de las células. Por ejemplo, se puede usar un lavado de alta potencia en mangas cónicas giratorias para separar una suspensión que contiene almidón de la pulpa de patata. Después la suspensión de almidón crudo se concentra y se refina.

15 Como se expone a continuación, se realizó un estudio para evaluar el efecto de la alimentación de cerdos destetados con un nivel más bajo de almidón resistente, por ejemplo, almidón resistente de patata, específicamente, una dieta que incluye 0,5-1,0% de almidón resistente de patata. Sorprendentemente, aunque la ingesta diaria de alimento y la ganancia media diaria no se vieron afectadas de modo significativo por la adición de bajas cantidades de almidón resistente de patata, la consistencia fecal mejoró, de manera consecuente con el tratamiento de la diarrea post-destete, como se mencionó anteriormente. Como apreciarán los expertos en la técnica, para una dieta diaria de 2000 calorías, un animal solo necesitaría consumir 10 o 20 calorías de almidón resistente, que son sólo 2,5 o 5,0 gramos, lo que es mucho más manejable.

20 En consecuencia, los inventores procedieron entonces a investigar el desarrollo de productos farmacéuticos.

25 Como se expone en la presente memoria, se debe tener mucho cuidado para asegurar que se retiene la mayor cantidad posible de almidón resistente. Como se expone más adelante, los inventores han descubierto que hay varias consideraciones adicionales más allá de mantener una temperatura por debajo de 60°C cuando se preparan productos farmacéuticos tales como comprimidos y cápsulas de almidón resistente, tales como el contenido de humedad del almidón y la presión utilizada en la formación de comprimidos.

30 Inicialmente, los inventores intentaron desarrollar cápsulas que contienen almidón resistente. Sin embargo, los intentos iniciales fueron insatisfactorios ya que el almidón resistente tendía a agruparse y era difícil de llenar o hacer fluir en una cápsula de tamaño adecuado. Posteriormente, se descubrió que secando cuidadosamente el almidón resistente hasta un contenido de humedad inferior al 20%, por ejemplo, entre el 12-19% se producía almidón fluido que no se pegaba. En otras realizaciones, el contenido de humedad puede ser inferior al 17%, por ejemplo, 12-17% o 12-15%.

35 Por consiguiente, se proporciona un método para preparar una cápsula de almidón resistente de patata que comprende secar una cantidad de almidón resistente de patata por debajo del 20% de humedad, por ejemplo, por debajo del 17% y después hacer fluir el almidón resistente de patata seco al interior de una cápsula. Específicamente, el contenido de humedad puede ser 12-19%, 12-17% o 12-15%.

Los inventores han intentado también preparar comprimidos de almidón resistente de patata, ya que existía la preocupación de que las cápsulas de almidón resistente de patata pudieran no haber sido el mecanismo de administración ideal debido a la lenta liberación del almidón desde la cápsula.

40 En estas realizaciones, se prepara una solución de un excipiente adecuado y se añade almidón resistente a la solución. Se deja entonces que la mezcla forme pelets o gránulos. Se secan los gránulos y después se reducen de tamaño utilizando cualquier medio adecuado conocido en la técnica. El material de almidón resistente de patata se conforma en un comprimido bajo una presión adecuada. Sorprendentemente, se encontró que las presiones típicamente utilizadas para la preparación de comprimidos, por ejemplo 200 - 500 MPa en la preparación de dichos comprimidos, fracturaban la estructura de los gránulos del almidón resistente, reduciendo así enormemente la cantidad de almidón resistente en el comprimido. Experimentos posteriores demostraron que presiones entre 60 y 100 MPa son adecuadas para producir el comprimido, mientras que presiones más bajas producían comprimidos que se rompen y presiones más altas fracturaban la estructura granular del almidón resistente hasta un grado inaceptable.

50 En algunas realizaciones, el excipiente es un aglutinante, por ejemplo, polivinilpirrolidona (PVP). Sorprendentemente, aunque se probaron otros aglutinantes tales como metilcelulosa, almidón gelatinizado e hidroxipropilcelulosa, se descubrió que solamente la PVP producía comprimidos con las propiedades deseadas.

55 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica se prepara como sigue: se prepara una solución acuosa con 1 parte de PVP, se disuelven en ella 9 partes de almidón resistente a una temperatura inferior a 60°C. Se deja que se formen pelets y gránulos que después se secan. El material seco se reduce de tamaño con un molino de martillos. Se conforma después el material en un comprimido y se somete a una presión entre, por ejemplo, 45-100 MPa o en algunas realizaciones preferidas entre 60-100 MPa.

- Como apreciarán los expertos en la técnica, las cápsulas y los comprimidos se pueden fabricar en cualquier tamaño adecuado, por ejemplo, en una dosis unitaria para tomar una vez al día, o en dosis para tomar múltiples veces al día, por ejemplo dos veces o más al día en un régimen o programa de dosificación adecuado. Por ejemplo, un régimen de dosificación adecuado puede ser una o más cápsulas o comprimidos que comprenden 50-750 mg de almidón resistente de patata preparados como se indica en la presente memoria, cada 2, 4, 6, 8, 12 o 24 horas o tomados con las comidas. Por ejemplo, las cápsulas o los comprimidos pueden ser de 50 mg, 100 mg, 200 mg, 220 mg, 250 mg, 300 mg, 350 mg, 400 mg, 450 mg, 500 mg, 600 mg, 700 mg, 750 mg o cualquier otro tamaño similar adecuado según preferencia del paciente y/o consumidor.
- En algunas realizaciones, cada cápsula puede pesar  $625 \pm 5,0$  mg y cada cápsula puede contener  $528 \pm 17,6$  mg de material, del cual 350-370 mg es almidón resistente.
- En algunas realizaciones, el material se conforma en comprimidos a una presión entre 45-100 MPa o entre 60-100 MPa. En algunas realizaciones, cada comprimido tiene 40-50% de almidón resistente, por ejemplo, 45% de almidón resistente.
- Se proporciona también un método para preparar una composición farmacéutica de almidón resistente de patata que comprende mezclar una cantidad eficaz de almidón resistente de patata con un excipiente adecuado. El excipiente puede ser PVP. La mezcla puede ser de 1 parte o aproximadamente 1 parte de PVP a 9 partes o aproximadamente 9 partes de almidón resistente de patata o de una fuente de almidón resistente de patata. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica está en la forma de un comprimido. En otras realizaciones, el almidón resistente de patata se seca hasta un contenido de humedad inferior al 20%, por ejemplo, entre 12-19% o por debajo del 17%, por ejemplo, entre 12-17% y se hace fluir a una cápsula de tamaño adecuado, produciendo así una cápsula de almidón resistente de patata.
- Por consiguiente, la composición farmacéutica descrita anteriormente se utiliza para tratar la diarrea infecciosa en un animal.
- Por consiguiente, la composición farmacéutica descrita anteriormente se utiliza para tratar la diarrea post-destete en un animal.
- Por consiguiente, la composición farmacéutica descrita anteriormente se utiliza para tratar el estrés gastrointestinal asociado con el destete en un animal.
- Se debe entender que el tratamiento puede ser profiláctico. Es decir, la composición farmacéutica de almidón resistente de patata se puede administrar a un animal, por ejemplo, un ser humano en riesgo de desarrollar o sospechoso de tener diarrea infecciosa, diarrea post-destete o estrés asociado con el destete en un lactante.
- Se debe entender que la composición farmacéutica será eficaz para tratar o reducir la gravedad o la frecuencia de aparición de uno o más síntomas asociados con diarrea infecciosa, diarrea post-destete o estrés asociado con el destete en comparación con un control no tratado o un control simulado tratado de edad, peso y condición similares. Los síntomas incluyen, pero de ninguna manera están limitados a, por ejemplo, diarrea, baja consistencia fecal, aumento del pH en el tracto digestivo y aumento de los niveles de bacterias fijadoras de nitrógeno.
- Como podrán apreciar los expertos en la técnica, la diarrea infecciosa es causada típicamente por una infección con un patógeno gastrointestinal, por ejemplo, una cepa vírica o bacteriana. El patógeno gastrointestinal puede ser transmitido a otros animales infecciosamente. Los inventores han descubierto que un nivel mucho más bajo de almidón resistente del que se creía previamente es suficiente para tratar o mejorar de otra manera al menos uno de los síntomas asociados con diarrea infecciosa, diarrea post-destete y/o estrés gastrointestinal asociado con el destete, tal como la consistencia fecal, la ingesta diaria de alimentos y similares. La cantidad eficaz de almidón es 0,1%-2,5%, 0,1-2,0%, 0,1-1,5%, 0,1-1,0%, 0,2-2,5%, 0,2-2,0%, 0,2-1,5%, 0,2-1,0%, 0,3-2,5%, 0,3-2,0%, 0,3-1,5%, 0,3-1,0%, 0,4-2,5%, 0,4-2,0%, 0,4-1,5%, 0,4-1,0%, 0,5-2,5%, 0,5-2,0%, 0,5-1,5% o 0,5-1,0% de la dieta del animal.
- La "cantidad eficaz" puede ser una cápsula o un comprimido de almidón resistente. La cápsula o comprimido de almidón resistente se puede preparar según los métodos descritos en la presente memoria. Preferiblemente, la cápsula de almidón resistente es una cápsula de 500 mg. El comprimido puede ser un comprimido de 220 mg o un comprimido de 250 mg.
- Se proporciona almidón resistente de patata para uso en el tratamiento de la diarrea infecciosa en un animal.
- Se proporciona almidón resistente de patata para uso en el tratamiento de la diarrea post-destete en un animal.
- Se proporciona almidón resistente de patata para uso en el tratamiento del estrés gastrointestinal asociado con el destete en un animal.
- Se proporciona también un producto alimenticio de transición para animales de destete que comprende una cantidad eficaz de almidón resistente de patata.

Como se ha expuesto anteriormente, el almidón resistente de patata es preferiblemente naturalmente rico en almidón resistente, es decir, al menos 60-80% de almidón resistente. Preferiblemente, el almidón resistente de patata es MSPrebiotic® Resistant Starch (almidón resistente de patata para indicaciones de salud humana) o MSP[RS]® Resistant Starch (almidón resistente de patata para uso en la industria ganadera).

- 5 Como apreciarán los expertos en la técnica, dicho producto alimenticio de transición puede ser un producto de cereales o fruta o verdura procesado y preparado para el consumo por un mamífero post-destete tal como un lactante humano complementado con una cantidad eficaz de almidón resistente.

En resumen, los inventores han descubierto sorprendentemente que, contrariamente a la creencia frecuente en la técnica, niveles de almidón resistente de patata por debajo del 1,0% de una dieta son suficientes y eficaces para tratar la diarrea post-destete. Esto se respalda al menos por la Tabla 4, descrita más adelante, que muestra una disminución en los ácidos grasos de cadena ramificada (BCFA) y un aumento en la concentración de ácidos grasos volátiles (VFA) en el ciego, independientemente del formato de administración del almidón resistente de patata. siempre que se tenga cuidado en la preparación del material de almidón resistente de patata de tal manera que se minimice la fractura de la estructura de los gránulos de almidón resistente. Esto es importante, dada la preocupación con respecto a la posibilidad de que las cápsulas tengan un perfil de liberación lenta y también con respecto al impacto de la presión utilizada durante la formación de los comprimidos de almidón resistente de patata. Como se ha expuesto anteriormente, los inventores han determinado una ventana de presiones adecuadas que producen comprimidos que tienen las propiedades deseadas en los que se retiene una porción significativa del almidón resistente. De manera similar, los inventores han descubierto que menos del 20% de humedad es un umbral crítico para obtener almidón resistente de patata fluido para la preparación de cápsulas.

El estudio se realizó para evaluar el efecto de alimentar a cerdos destetados con almidón resistente, en algunas realizaciones, el almidón resistente MSP[RS]®, sobre el crecimiento, la consistencia fecal y las características del tracto gastrointestinal (GIT). Sesenta lechones (Yorkshire x Large White x Duroc) destetados a los 21 días (proporción por sexo 1:1) con un peso corporal inicial de  $7,17 \pm 0,78$  kg fueron asignados en un diseño completamente aleatorio a uno de cinco tratamientos dietéticos para dar 6 observaciones por tratamiento (2 cerdos por jaula). Los tratamientos dietéticos consistieron en un control negativo con dieta a base de harina de maíz-soja (NC; sin agentes antibióticos añadidos) o el control negativo complementado con almidón resistente en polvo o en cápsulas y cada uno incluía 0,5 o 1,0%. Se ofrecieron a los cerdos las dietas experimentales sobre una base *ad libitum* durante 4 semanas y el agua estuvo disponible en todo momento. El peso corporal y la ingesta de alimento se controlaron semanalmente. Al final de la semana 4, se sacrificaron 6 cerdos por tratamiento (3 por cada sexo) para recoger la digesta y los órganos. La complementación con almidón resistente mejoró ( $P < 0,001$ ) la consistencia fecal, y la dosis de 1,0% de almidón resistente produjo heces más sólidas ( $P < 0,05$ ) en comparación con el 0,5% de almidón resistente durante las 2 primeras semanas después del destete, independientemente de la forma de dosificación del almidón resistente. La complementación con almidón resistente disminuyó el pH de la digesta ileal y cecal ( $P < 0,05$ ) en comparación con el control negativo. Además, la complementación con almidón resistente tendió a aumentar las concentraciones de ácidos grasos volátiles pero tendió a disminuir la proporción molar de ácidos grasos de cadena ramificada en el ciego ( $P = 0,073$  y  $P = 0,057$ , respectivamente), independientemente de la forma de dosificación del almidón resistente, en comparación con el control negativo. Sin embargo, no hubo diferencias ( $P > 0,05$ ) en el número de tratamientos con antibióticos, ADG, ADFI, FCR ni en el peso de los órganos ni en el  $\text{NH}_3\text{-N}$  intestinal entre tratamientos. Se llegó a la conclusión de que complementar una dieta de cerdo de destete con al menos un 0,5% de almidón resistente tiene potencial para mejorar los resultados característicos de un intestino sano en los lechones destetados.

El propósito de este estudio fue examinar si un nivel de complementación más bajo (es decir, 0,5 y 1,0%) de almidón resistente MSP[RS]® para dietas de cerdos de destete sin antibióticos en la alimentación podía tener efectos comparables sobre la diarrea post-destete y las características intestinales fisiológicas a los observados previamente cuando los lechones recibieron una dieta que contenía un 7% de almidón resistente de patata (Bhandari *et al.*, 2009). Además, los resultados del estudio de Bhandari *et al.* (2009), que incluía almidón resistente de patata al 14% en dietas de cerdos de destete podría tener efectos adversos sobre la fisiología gastrointestinal. Sin embargo, se desconoce si la inclusión de almidón resistente de patata en dietas para lechones a niveles inferiores al 7% todavía conferirá efectos similares a los observados con el nivel de inclusión del 7%. Esto es crítico ya que un nivel de inclusión más bajo probablemente presentará menos desafíos en la formulación de la dieta. Los resultados del presente estudio indican que complementar una dieta de cerdo de destete que no contenga antimicrobianos en la alimentación con al menos 0,5% de almidón resistente tiene potencial para mejorar los resultados característicos de un intestino sano en los lechones destetados.

La complementación de la dieta de los lechones con almidón resistente mejoró la consistencia fecal, lo que está de acuerdo con informes anteriores (Callesen *et al.*, 2007; Bhandari *et al.*, 2009). Estos estudios mostraron que alrededor del 7% de la complementación con almidón resistente de patata en la dieta reducía la diarrea post-destete sin antibióticos en la alimentación. Sin embargo, los resultados del estudio actual parecen sugerir que un nivel tan bajo como el 0,5% de complementación con almidón resistente en la dieta podría ofrecer una estrategia dietética eficaz para minimizar las incidencias de diarrea post-destete. Hubo una fuerte tendencia hacia una disminución de la concentración de BCFA (ácidos grasos de cadena ramificada) con dietas complementadas con almidón resistente junto con una tendencia a un aumento en las concentraciones de ácidos grasos volátiles en el ciego. Estas

observaciones han sido implicadas en la patogenia de la diarrea post-destete (Aumaitre *et al.*, 1995; Williams *et al.*, 2001; Pluske *et al.*, 2002). En efecto, los cerdos alimentados con dietas complementadas con almidón resistente tuvieron un pH más bajo en el íleon y en el ciego. Esto puede ser debido al hecho de que la complementación con almidón resistente aumentó la cantidad de sustrato disponible para la fermentación con carbohidratos utilizando la microbiota intestinal. Está bien documentado que la alimentación con carbohidratos fermentables puede alterar las poblaciones bacterianas y su actividad (Bauer *et al.*, 2001; Hogberg *et al.*, 2004; Metzler *et al.*, 2009). Sin embargo, la complementación con almidón resistente no tuvo ningún efecto sobre las concentraciones de nitrógeno amoniacal en el íleon y en el ciego.

No se encontraron diferencias en el crecimiento ni en el peso de órganos viscerales en el estudio actual entre los tratamientos dietéticos. Este hallazgo está de acuerdo con los resultados de otros (Kerr *et al.*, 1998; Bhandari *et al.*, 2009). Esto fue debido probablemente al hecho de que las dietas experimentales se formularon para contener cantidades equivalentes de contenido de energía digestible (DE), lisina ileal estandarizada/kg de energía digestible y nivel de proteína bruta. También puede ser debido al hecho de que la cantidad de almidón resistente complementario utilizada en el estudio actual era demasiado baja para tener efectos negativos sobre la digestión y utilización de nutrientes.

En conclusión, los resultados del presente experimento demostraron que al menos un 0,5% de almidón resistente sin ningún antibiótico en la alimentación mejoró la consistencia fecal acorde con el pH reducido en el íleon y el colon, pero no afectó al crecimiento ni al peso de órganos viscerales durante 4 semanas después del destete.

#### Resultados

Los lechones se mantuvieron sanos y tuvieron buen aspecto durante todo el estudio, aunque un cerdo en la dieta de control negativo se negó a consumir la dieta experimental y posteriormente fue excluido de este estudio para todas las medidas.

La complementación con almidón resistente mejoró ( $P < 0,001$ ) la consistencia fecal, y la dosis de 1,0% de almidón resistente produjo heces más sólidas ( $P < 0,05$ ) en comparación con el 0,5% de almidón resistente durante las 2 primeras semanas después del destete, independientemente de la forma de dosificación del almidón resistente (Tabla 2).

La complementación con almidón resistente disminuyó el pH de la digesta ileal y cecal ( $P < 0,05$ ) en comparación con el control negativo y también tendió a aumentar las concentraciones de ácidos grasos volátiles, pero tendió a disminuir la proporción molar de ácidos grasos de cadena ramificada en el ciego ( $P = 0,073$  y  $P = 0,057$ , respectivamente), independientemente de la forma de dosificación del almidón resistente, en comparación con el control negativo. Sin embargo, no hubo diferencias ( $P > 0,05$ ) en la concentración de  $\text{NH}_3\text{-N}$  en los contenidos ileal y cecal entre tratamientos (Tablas 3 y 4).

Como se expuso anteriormente, el material utilizado para esta investigación fue MSP[RS]® Resistant Starch.

El protocolo experimental utilizado en el presente estudio fue revisado y aprobado por el Animal Care Committee de la Universidad de Manitoba. Los animales fueron cuidados según las directrices del Canadian Council on Animal Care (CCAC, 2009).

#### Animales, alojamiento y diseño experimental.

Un total de 60 lechones (Yorkshire x Large White x Duroc; peso corporal inicial de  $7,17 \pm 0,78$  kg) destetados a los  $21 \pm 2$  días (proporción por sexo 1:1) se obtuvieron de Glenlea Swine Research Station en la Universidad de Manitoba y se asignaron a los tratamientos en un diseño completamente aleatorio. Se pesaron los cerdos y se asignaron a los grupos de resultados según el peso corporal y el sexo, y se distribuyeron aleatoriamente a 5 tratamientos, que consistían en 2 cerdos por jaula y 6 replicados. Cada jaula tenía un suelo de metal expandido cubierto de plástico, un alimentador de acero inoxidable y un bebedero de tetilla a baja presión. Los cerdos tuvieron acceso ilimitado a los alimentos y al agua durante el estudio de 4 semanas. La gravedad de la diarrea se puntuó utilizando el sistema de puntuación de la consistencia fecal desarrollado por Heo *et al.* (2008) para investigar el impacto del almidón resistente sobre la diarrea post-destete durante 2 semanas después del destete. Se pesaron los cerdos una vez a la semana durante 4 semanas y se registró la desaparición del alimento en cada jaula cada semana y se utilizaron las dos variables para calcular el índice de conversión del alimento. La temperatura ambiente se mantuvo a  $29 \pm 1^\circ\text{C}$  durante la semana inicial y después se bajó  $2^\circ\text{C}$  en la segunda semana. El día 28, se sacrificaron seis cerdos por tratamiento, con equilibrio entre sexos ( $n = 30$ ), mediante una inyección intracardiaca de pentobarbital sódico (110 mg/kg de peso corporal), para recoger la digesta intestinal y los órganos.

#### Dietas experimentales

Los tratamientos dietéticos consistieron en un control negativo con dieta a base de harina de maíz-soja (NC; sin agentes antibióticos añadidos) o el control negativo complementado con almidón resistente en polvo o en cápsulas y cada uno incluido al 0,5 o 1,0%. Las dietas experimentales se formularon para cumplir o superar los requisitos de

nutrientes de NRC (1998) para cerdos que pesan de 7 a 20 kg. Los cerdos fueron alimentados con dietas de fase I durante las 2 primeras semanas y posteriormente con dietas de fase II.

#### Muestreo de la digesta

5 Al final del estudio, el cerdo con un peso corporal más próximo a la media del peso corporal del grupo de la jaula se mantuvo bajo anestesia general y se sacrificó mediante una inyección intracardiaca de pentobarbital de sodio (50 mg/kg de peso corporal). Después de la eutanasia, se abrió la cavidad abdominal desde el esternón hasta el pubis para exponer el tracto gastrointestinal sin dañar la pared del tracto digestivo. Se pesaron el estómago, el intestino delgado y el intestino grueso con y sin digesta para determinar los pesos con digesta y vacíos, respectivamente. También se pesaron el hígado, el bazo y el riñón. El intestino delgado se separó de su mesenterio y se dividió 10 después en 3 secciones: 1) el íleon desde la unión ileocecal hasta 80 cm anteriores a esta unión; 2) el duodeno, 80 cm posteriores al esfínter gastro-duodenal; y 3) el yeyuno que constituye las regiones entre el íleon y el duodeno (Bhandari *et al.*, 2009). Se tomaron muestras de la digesta del íleon y del ciego para medir el pH y las concentraciones de ácidos grasos volátiles y de N amoniacal. Se determinó el pH inmediatamente usando un peachímetro (AB 15, Fisher Scientific, Pittsburgh, PA) y se conservaron las muestras a -20°C hasta que se 15 analizaron las concentraciones de ácidos grasos volátiles y NH<sub>3</sub>-N.

#### Análisis químicos

Se determinó la DM (materia seca) según la AOAC (1990; método 925.09) y se midió el contenido en GE (energía bruta) utilizando un calorímetro de bomba adiabático (modelo 6300, Parr Instrument, Moline, IL, USA) que había sido calibrado utilizando ácido benzoico como estándar. El contenido de nitrógeno (N) se determinó utilizando el método 20 de combustión (990.03; AOAC, 1990) utilizando el analizador de N LECO (modelo CNS-2000; LECO Corp., St. Joseph, MI, USA).

#### Análisis estadístico

Los efectos del tratamiento se evaluaron de forma unívoca en un modelo lineal mixto normal utilizando el procedimiento GLM de SPSS (versión 18.0, SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA). La jaula fue la unidad experimental 25 para todas las medidas, y el modelo incluyó el tratamiento y el sexo como fuentes de variación. Puesto que no se detectó ningún efecto del sexo ( $P > 0,05$ ), se agruparon los datos y se analizaron los efectos del tratamiento. El peso corporal inicial se incluyó en el modelo como una covariable para los análisis de los datos de crecimiento. El cerdo fue la unidad experimental para la consistencia fecal y las características gastrointestinales. La significancia estadística se aceptó a  $p < 0,05$ . Se realizaron cuando fue apropiado las comparaciones por pares entre las medias 30 utilizando el análisis LSD de Duncan cuando se observó un efecto significativo del tratamiento.

#### Preparación de comprimidos de almidón resistente

Formulación: 90% de almidón resistente de patata + 10% de polivinilpirrolidona (PVP), el agua debe ser el 30% de la cantidad total de la harina. Por ejemplo, para 9 kg de almidón resistente de patata más 1 kg de PVP, el agua debe ser  $10 \times 30\% = 3$  kg (3 litros).

#### 35 Procedimiento

- Etapa 1: Pesar respectivamente, almidón resistente de patata, PVP y agua.
- Etapa 2: Disolver la PVP en agua, calentar y disolver.
- Etapa 3: Enfriar la solución de PVP en un baño de agua con hielo hasta temperatura ambiente.
- Etapa 4: Añadir la solución de PVP a los polvos de almidón resistente de patata y mezclar bien con un 40 mezclador (10 - 20 minutos, dependiendo de la cantidad).
- Etapa 5: Tamizar la masa húmeda a través de una malla para formar pelets o gránulos con un granulador.
- Etapa 6: Secar los gránulos utilizando un secador a 40-45°C durante aproximadamente 72 h, dependiendo de la cantidad de gránulos preparada.
- Etapa 7: Después de secar los gránulos, pasarlos a través de un molino de martillos (se utilizó una malla # 4, 45 con agujeros de 0,75 mm de diámetro).
- Etapa 8: Pasar por máquina de comprimir (se requiere una presión de 60 - 100 MPa para el almidón resistente que contiene 60 - 75% de RS. Un RS más alto requiere una presión más alta. El producto del comprimido final debe contener aproximadamente 40% de RS, db).

50 Aunque se han descrito anteriormente las realizaciones preferidas de la invención, se reconocerá y se entenderá que se pueden realizar varias modificaciones en ellas, y las reivindicaciones adjuntas pretenden cubrir todas estas modificaciones que puedan estar dentro del espíritu y alcance de la invención.

Tablas

Tabla 1

Composición de las dietas experimentales (% , basado en el alimento)

Item	Fase I	Fase II
Cebada		14,00
Maíz	20,7	9,95
Trigo HRW	16,80	37,00
<i>Millrun</i>	-	10,00
Harina de canola	10,00	-
Harina de soja 44%	20,00	20,00
Harina de pescado	6,79	3,55
Suero desecado	20,00	-
Aceite vegetal	4,00	2,15
Caliza	0,40	0,90
Fósforo monocálcico	-	0,71
Premezcla Vit-Min <sup>1</sup>	1,00	1,00
Lys-HCl	0,01	0,27
Treonina	-	0,10
DL-metionina	-	0,07
TiO <sub>2</sub>	0,3	0,3
Contenido de nutrientes calculado		
Energía digestible (DE), kcal/kg	3,556	3,351
CP, %	23,00	20,00
Ca, %	0,801	0,762
tP, %	0,702	0,695
P medio, %	0,435	0,417
Lys SID (estándar digestible en el ileon), g/Mcal DE	3,439	3,434

<sup>1</sup>Proporciona los siguientes nutrientes (por kg de dieta secado al aire): Vitaminas: A, 8250 UI, D3, 825 UI, E, 40 mg, K, 4 mg, B1, 2 mg, B2, 10 mg, B6, 4,5 mg, B12, 25 µg, pantotenato cálcico, 15 mg, ácido fólico, 2 mg, niacina, 22,5 mg, biotina, 200 µg. Minerales: Cu, 25 mg (como sulfato de cobre), yodo, 0,4 mg (como yoduro de potasio), hierro, 100 mg (como sulfato ferroso), Mn, 50 mg (como óxido de manganeso), Se, 0,3 mg (como selenito de sodio), Zn, 150 mg (como óxido de zinc).

Tabla 2

- 5 Efecto del almidón resistente sobre la consistencia fecal en cerdos destetados alimentados con diferentes dietas experimentales después del destete.

Item	Control	Polvo 0,5%	Polvo 1,0%	Cápsulas 0,5%	Cápsulas 1,0%	SEM	Valor P
Consistencia fecal <sup>1</sup> , %							
Semana 1	31,4	29,3	28,6	30,5	28,6	0,40	0,116
Semana 2	49,0 <sup>c</sup>	42,6 <sup>b</sup>	35,7 <sup>a</sup>	45,2 <sup>bc</sup>	32,0 <sup>a</sup>	0,66	<0,001
Semana 1-2	40,2 <sup>c</sup>	36,0 <sup>b</sup>	32,1 <sup>a</sup>	37,9 <sup>bc</sup>	30,3 <sup>a</sup>	0,45	<0,001

<sup>1</sup>Puntuación de la consistencia fecal [0 (0%), muy dura; 1 (20%), heces bien formadas; 2 (40%), formadas-blandas; 3 (60%), desparramadas; 4 (80%), diarrea pastosa; 5 (100%), diarrea líquida]

Tabla 3

Efecto del almidón resistente sobre el pH intestinal en cerdos destetados alimentados con diferentes dietas experimentales después del destete.

Item	Control	Polvo 0,5%	Polvo 1,0%	Cápsulas 0,5%	Cápsulas 1,0%	SEM	Valor P
pH							
Estómago	2,8	3,3	3,3	3,2	3,3	0,08	0,967
Duodeno	6,2	6,4	6,5	6,4	6,4	0,07	0,924
Yeyuno	7,3	7,5	7,4	7,4	7,4	0,07	0,927
Íleon	7,7 <sup>a</sup>	7,4 <sup>b</sup>	7,3 <sup>b</sup>	7,3 <sup>b</sup>	7,2 <sup>b</sup>	0,03	0,002
Ciego	6,4 <sup>a</sup>	6,2 <sup>b</sup>	6,2 <sup>b</sup>	6,3 <sup>b</sup>	6,2 <sup>b</sup>	0,02	<0,001
Colon	7,1	7,1	7,2	7,2	7,0	0,06	0,997

Tabla 4

5 Efecto del almidón resistente sobre los ácidos grasos volátiles (VFA) y NH<sub>3</sub>-N intestinales en cerdos destetados alimentados con diferentes dietas experimentales después del destete.

Item	Control	Polvo 0,5%	Polvo 1,0%	Cápsulas 0,5%	Cápsulas 1,0%	SEM	Valor P
Ácidos grasos volátiles en el íleon, mmol/kg							
Total	15	16	13	12	20	1,6	0,593
BCFA <sup>1</sup> , %	4,3	5,8	5,0	5,2	3,7	0,40	0,510
Ácidos grasos volátiles en el ciego, mmol/kg							
Total	137	147	148	147	147	1,3	0,073
BCFA, %	4,4	2,7	2,2	2,9	2,6	0,24	0,057
NH <sub>3</sub> -N, mg/kg							
Íleon	32	25	25	25	24	1,5	0,435
Ciego	101	99	104	103	100	1,8	0,885

<sup>1</sup>Ácidos grasos de cadena ramificada; proporción molar de ácido isobutírico, ácido isovalérico y ácido valérico con respecto al total de ácidos grasos volátiles (VFA). El ácido valérico se considera que está asociado con la degradación de proteínas del metabolismo de los aminoácidos (Macfarlane *et al.*, 1992)

Tabla 5

Efecto del almidón resistente sobre el peso de órganos viscerales en cerdos destetados alimentados con diferentes dietas experimentales después del destete.

Item	Control	Polvo 0,5%	Polvo 1,0%	Cápsulas 0,5%	Cápsulas 1,0%	SEM	Valor P
Peso del órgano, g/kg de peso corporal							
Estómago	9,4	9,9	9,2	8,9	9,8	0,23	0,608
Intestino delgado (SI) <sup>1</sup>	44,9	41,9	45,0	43,2	46,8	0,85	0,451
Ciego	3,2	3,5	2,9	3,4	3,2	0,09	0,226
Intestino grueso (LI) <sup>1</sup>	22,4	22,6	23,7	22,6	23,4	0,49	0,893
Hígado	32,6	34,0	33,8	32,7	35,1	0,58	0,633

Item	Control	Polvo 0,5%	Polvo 1,0%	Cápsulas 0,5%	Cápsulas 1,0%	SEM	Valor P
Bazo	3,6	3,3	3,8	3,7	3,7	0,18	0,940
Riñón	6,1	6,1	6,5	6,3	6,5	0,11	0,641

<sup>1</sup>Abreviaturas: SI, intestino delgado; LI, intestino grueso

Tabla 6

Efecto del almidón resistente sobre el crecimiento en cerdos destetados alimentados con diferentes dietas experimentales después del destete.

Item	Control	Polvo 0,5%	Polvo 1,0%	Cápsulas 0,5%	Cápsulas 1,0%	SEM	Valor P
Media de crecimiento diario (ADG), g/día							
Semana 1	66	83	81	77	79	6,8	0,939
Semana 2	310	313	328	308	281	10,1	0,782
Semana 3	305	265	312	336	288	9,9	0,225
Semana 4	407	418	372	431	349	11,6	0,168
Semana 1-4	272	270	273	288	257	5,8	0,597
Media de ingesta diaria de alimentos (ADFI), g/día							
Semana 1	165	188	182	187	189	6,3	0,735
Semana 2	408	497	467	469	497	17,1	0,472
Semana 3	608	541	561	594	491	16,2	0,220
Semana 4	776	741	747	788	665	19,4	0,366
Semana 1-4	489	492	489	509	461	8,2	0,508
Relación de conversión de alimentos (FCR), g/g							
Semana 1	2,12	2,55	2,79	2,72	2,53	0,238	0,921
Semana 2	1,33	1,63	1,47	1,54	1,84	0,067	0,230
Semana 3	2,06	2,20	1,86	1,82	1,80	0,109	0,730
Semana 4	1,93	1,79	2,01	1,84	1,95	0,045	0,539
Semana 1-4	1,77	1,87	1,78	1,73	1,86	0,036	0,696

Abreviaturas: ADG, media de crecimiento diario; ADFI, media de ingesta diaria de alimentos; FCR, relación de conversión de alimentos

Tabla 7

5

Contenido en almidón resistente de una serie de muestras de alimentos

Muestra de alimento	Contenido en almidón resistente
Salvado de trigo	0,42
Copos de maíz	2,8
Almidón de patata natural	78,1
Almidón de patata cocinado y enfriado	3,8

**Referencias**

- AOAC, 1990. Official methods of Analysis of Analysis of AOAC International, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists Washington, DC.
- 5 Aumaitre, A., Peiniau, J., Madec, F., 1995. Digestive adaptation after weaning and nutritional consequences in the piglet. *Pig News and Information* 16, 73N-79N.
- Bauer, E., Williams, B.A., Voigt, C, Mosenthin, R., Verstegen, M.W.A., 2001. Microbial activities of faeces from unweaned and adult pigs, in relation to selected fermentable carbohydrates. *Animal Science* 73, 313-322.
- 10 Bhandari, S.K., Nyachoti, CM., Krause, D.O., 2009. Raw potato starch in weaned pig diets and its influence on postweaning scours and the molecular microbial ecology of the digestive tract. *Journal of Animal Science* 87, 984-993.
- Callesen, J., Halas, D., Thorup, F., Knudsen, K. E. B., Kim, J. C, Mullan, B. P., Hampson, D. J., Wilson, R. H., Pluske, J. R., 2007. The effects of weaning age, diet composition, and categorisation of creep feed intake by piglets on diarrhoea and performance after weaning. *Livestock Science* 108, 120-123.
- 15 CCAC, 2009. Guidelines on the care and use of farm animals in research, teaching and testing. Canadian Council on Animal Care, Ottawa.
- Gibson, G. R., Probert, H. M., Loo, J. V., Rastall, R. A., Roberfroid, M. B., 2004. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews* 17, 259-275.
- 20 Heo, J. M., Kim, J. C, Hansen, C. F., Mullan, B. P., Hampson, D. J., Pluske, J. R., 2008. Effects of feeding low protein diets to piglets on plasma urea nitrogen, faecal ammonia nitrogen, the incidence of diarrhoea and performance after weaning. *Archives of Animal Nutrition* 62, 343-358.
- Heo, J. M., Opapeju, F. O., Pluske, J. R., Kim, J. C, Hampson, D. J., Nyachoti, C. M., 2012. Gastrointestinal health and function in weaned pigs: A review of feeding strategies to control post-weaning diarrhoea without using in-feed antimicrobial compounds. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*..
- 25 Hogberg, A., Lindberg, J. E., Leser, T., Wallgren, P., 2004. Influence of cereal non-starch polysaccharides on ileo-caecal and rectal microbial populations in growing pigs. *Acta Veterinaria Scandinavica* 45, 87-98.
- Kerr, C. A., Goodband, R. D., Tokach, M. D., Nelssen, J. L, Dritz, S. S., Richert, B. T., Bergstrom, J. R., 1998. Evaluation of enzymatically modified potato starches in diets for weanling pigs. *Journal of Animal Science* 76, 2838-2844.
- 30 Kim, J. C, Hansen, C. F., Mullan, B. P., Pluske, J. R., 2012. Nutrition and pathology of weaner pigs: Nutritional strategies to support barrier function in the gastrointestinal tract. *Animal Feed Science and Technology* 173, 3-16.
- Lusk, J., L, F. B. N., Pruitt, J. R., 2006. Consumer demand for a ban on antibiotic drug use in pork production. *American Journal of Agricultural Economics* 88, 1015-1033.
- 35 Macfarlane, G. T., Gibson, G. R., Beatty, E., Cummings, J. H., 1992. Estimation of short-chain fatty acid production from protein by human intestinal bacteria based on branched-chain fatty acid measurements. *FEMS Microbiology Ecology* 101 81-88.
- Metzler, B. U., Vahjen, W., Baumgärtel, T., Rodehutsord, M., Mosenthin, R., 2009. Changes in bacterial populations in the ileum of pigs fed low-phosphorus diets supplemented with different sources of fermentable carbohydrates. *Animal Feed Science and Technology* 148, 69-89.
- NRC, 1998. Nutrient requirements of swine. National Academy Press, Washington, DC.
- 40 Pluske, J. R., Pethick, D. W., Hopwood, D. E., Hampson, D. J., 2002. Nutritional influences on some major enteric bacterial diseases of pigs. *Nutrition Research Reviews* 15, 333-371.
- Williams, B. A., Verstegen, M. W. A., Tamminga, S., 2001. Fermentation in the large intestine of single-stomached animals and its relationship to animal health. *Nutrition Research Reviews* 14, 207-227

**REIVINDICACIONES**

1. Almidón resistente de patata para uso en el tratamiento del estrés gastrointestinal asociado con el destete en un animal, en donde el almidón resistente de patata es el 0,1-2,5% de la dieta del animal de destete.
- 5 2. El producto almidón resistente de patata según la reivindicación 1, para uso según la reivindicación 1, en donde el animal es un animal de granja.
3. El producto almidón resistente de patata según la reivindicación 1, para uso según la reivindicación 1, en donde el animal es un cerdo de destete.
4. El producto almidón resistente de patata según la reivindicación 1, para uso según la reivindicación 1, en donde el almidón resistente de patata es el 0,5-2,5% de la dieta del animal de destete.
- 10 5. El producto almidón resistente de patata según la reivindicación 1, para uso según la reivindicación 1, en donde el almidón resistente de patata es el 0,5-2,0% de la dieta del animal de destete.
6. El producto almidón resistente de patata según la reivindicación 1, para uso según la reivindicación 1, en donde el almidón resistente de patata es el 0,5-1,0% de la dieta del animal de destete.
- 15 7. El producto almidón resistente de patata según la reivindicación 1, para uso según la reivindicación 1, en donde el estrés gastrointestinal es diarrea post-destete.