

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 759 360**

51 Int. Cl.:

**A23K 10/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.10.2015 PCT/NO2015/050186**

87 Fecha y número de publicación internacional: **13.04.2017 WO17061871**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.10.2015 E 15797717 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.08.2019 EP 3358965**

54 Título: **Pienso para aves y, en particular, pienso para aves de corral, que comprende derivados capsaicinoides sintéticos y piensos de este tipo para un uso o tratamiento profiláctico de infección de salmonella**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**08.05.2020**

73 Titular/es:

**AXICHEM AB (100.0%)  
Södergatan 26  
21134 Malmö, SE**

72 Inventor/es:

**HELSING, TORSTEN**

74 Agente/Representante:

**LINAGE GONZÁLEZ, Rafael**

ES 2 759 360 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**

Pienso para aves y, en particular, pienso para aves de corral, que comprende derivados capsaicinoides sintéticos y piensos de este tipo para un uso o tratamiento profiláctico de infección de salmonella

**Campo de la invención y técnica anterior relacionada**

5 La invención se refiere a pienso para aves y, en particular, pienso para aves de corral que comprende derivados capsaicinoides sintéticos y este tipo de piensos para un uso o tratamiento profiláctico de infección de salmonella en pollos de engorde.

10 La entidad aXichem es un proveedor global de compuestos industriales análogos a los naturales y su misión es desarrollar, patentar y comercializar sustancias análogas a las naturales. aXichem está centrada en la fenilcapsaicina, un análogo de la capsaicina natural y sus derivados. Como la fenilcapsaicina se produce por vía sintética, la sustancia presenta una amplia gama de ventajas en comparación con la capsaicina natural, que es extraída de ají picante y, por lo tanto, tiene una calidad variable. Los capsaicinoides sintéticos pueden ser preparados con una pureza elevada y buenos rendimientos y cantidad y a un coste razonable. Además, las cantidades disponibles de capsaicina que se produce de forma natural es limitada. El extracto de capsaicina natural  
15 estandarizado contiene al menos 3 isómeros, que tienen propiedades químicas diferentes pero que son difíciles de diferenciar entre ellos. Por lo tanto, puede ser difícil obtener extractos de capsaicina que tenga una pureza y composición suficientemente uniformes y una composición para el uso previsto.

20 La fenilcapsaicina no es perjudicial para el medio ambiente y, por tanto, es una alternativa viable con una amplia gama de aplicaciones en una diversidad de sectores. La entidad aXichem mantiene patentes europea (EP1670310) y de EE.UU. (US7446226) sobre sus productos sintéticos, su síntesis y uso como agente antisuciedad (documento WO2005025314).

25 La colonización intestinal de bacterias salmonella y aves de corral es una preocupación principal para la seguridad alimenticia en seres humanos. La propagación de salmonella en un conjunto de animales se produce a través de la excreción de salmonella en las heces. Las publicaciones de Crhanova M, et.al.: Immune response of chicken gut to natural colonization by gut microflora and to salmonella enterica serovar enteritidis infection. Infect Immun 2011, 79(7):2755-2763 TELLEZ G I ET AL, 1993: "Effect of prolonged administration of dietary capsaicin on salmonella enteritidis infection in leghorn chicks", describen el efecto de la capsaicina dietética sobre Salmonella enteritidis en pollos.

30 La publicación de MCELROY A P ET AL, 1994: "Effect of prolonged administration of dietary capsaicin on broiler growth and salmonella enteritidis susceptibility", describe el efecto de la administración dietética continua de capsaicina a pollos de engorde sobre la susceptibilidad a salmonella enteritidis.

El documento CN 101999541A describe un método para la fabricación de pienso para aves que contienen capsaicina. El documento KR 20010099502 A describe pienso para aves de corral que contienen pimienta y capsaicina.

35 El documento WO-A-9203923 describe pienso para aves que contienen capsaicina o sus derivados o análogos.

J.A. Negulesco et al. en la publicación Atherosclerosis, 64 (1987), pág. 85-90, describen los efectos de capsaicinoides sobre las concentraciones de plasma y lipoproteínas de pavipollos.

El documento FR-A-2.908.600 describe aditivos alimenticios para animales que contienen capsaicinoides a partir de fuentes naturales.

40 En relación con la seguridad alimenticia, es un aspecto importante el control de salmonella durante la preparación de productos para animales. Las aves de corral constituyen un depósito de salmonella y numerosos brotes de salmonelosis están asociados con el consumo de productos de aves de corral. La salmonella es capaz de formar colonias en el buche y en el tracto intestinal de aves de corral. Con el fin de reducir los problemas de la salmonella en relación con la seguridad alimenticia, hay un interés creciente de reducir la formación de colonias de salmonella  
45 en el tracto digestivo de aves de corral y la propagación de salmonella a través de excreciones mediante modificaciones de la dieta o complementos para agua de beber.

Las aves de corral infectadas con salmonella, además de provocar el envenenamiento de piensos, provocan contaminación durante el transporte y almacenamiento, en mataderos, en restaurantes y en almacenes de pollos y comestibles. La descontaminación es muy costosa y es altamente ventajoso evitarla.

La infección de salmonella representa un problema grave para la industria global de las aves de corral. La infección conduce también a grandes pérdidas económicas para toda la industria y provoca también una gama de otras consecuencias negativas.

- 5 Actualmente, se usan tres tecnologías diferentes para combatir la infección de salmonella: antibióticos, adición de ácidos orgánicos (principalmente ácido láctico) al agua de beber y tratamientos enzimáticos. Hay asociado un conjunto de problemas a todos estos tratamientos: en primer lugar, el desarrollo de resistencia a los antibióticos, que es un problema grave; en segundo lugar, se ve que los tratamientos con enzimas y ácidos tienen efectos altamente limitados. Se puede apreciar también que el tratamiento con ácido láctico puede provocar problemas de corrosión en los sistemas de agua de beber, y también afecta a la ingestión de piensos de las aves y la calidad general.

## 10 Sumario de la invención

La presente solicitud se refiere a un pienso para aves que comprende al menos un compuesto químico con la fórmula general (I) de la reivindicación 1, en la que R es un sustituyente seleccionado entre el grupo de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>, trifluorometilo, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>, fenilo, fenoxi, feniltio, halógeno; o sus tautómeros o sales. La presente invención se define por medio de las reivindicaciones anejas.

- 15 Específicamente, los capsaicinoides sintéticos en esta solicitud se refieren a derivados alquídicos en los que el grupo R es como se define en la reivindicación 1.

La solicitud se refiere también a pienso para aves como se definen con anterioridad para un uso profiláctico o terapéutico para la resistencia o tratamiento de infecciones por salmonella en aves.

## Descripción detallada de la invención

- 20 La presente solicitud se refiere a pienso para aves que comprenden al menos un compuesto químico con la fórmula (I) de la reivindicación 1 en la que R es un sustituyente seleccionado entre el grupo de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>, trifluorometilo, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>, fenilo, fenoxi, feniltio, halógeno; o sus tautómeros o sales.

Preferentemente, los piensos para aves según la reivindicación 1 comprenden una fenilcapsaicina.

- 25 Preferentemente, los pienso para aves comprenden 5-40 mg/kg de un compuesto de fórmula I, incluso más preferentemente 20 mg/kg.

La solicitud se refiere también a pienso para aves como se define con anterioridad para un uso profiláctico o terapéutico para una resistencia o tratamiento de infección de salmonella en aves.

- 30 Las aves se seleccionan entre el grupo que consiste en aves de corral, en particular pollos de engorde; aves productoras de huevos, en particular pollos; pavo; avestruces; codornices; urogallos; patos; gansos; aves salvajes, aves domesticadas y aves de cría.

Los piensos se seleccionan entre uno o más del grupo que consiste en semillas, maíz, gusanos, mijo, avenas, maní y en la forma de granulados, suspensiones, agua de beber y emulsiones.

- 35 La infección de salmonella se selecciona entre el grupo provocado por Salmonella Mongori; Salmonella Hadar; Salmonelle Montevideo; Salmonella Epinay y Salmonella Enterica de las subespecies *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diazonae*, *houtenase* e *indica*.

Preferentemente, la infección de salmonella está provocada por Salmonella enteritidis, en particular Salmonella enteritidis PT4.

- 40 La fenilcapsaicina aporta un tratamiento profiláctico de salmonella y la extensión de salmonella en unidades de producción de aves de corral. El principio básico es sencillo: se añade fenilcapsaicina, según la fórmula 1, en pequeñas cantidades, normalmente de 5-20 ppm, a la alimentación de las aves o el agua de beber de las aves. Esto da lugar a una apuración reducida de salmonella en el sistema digestivo de las aves individuales y, por tanto, también a una extensión reducida de la infección entre las aves a través de las heces.

- 45 El mecanismo exacto de acción todavía no es conocido. Sin embargo, se cree que el mecanismo podría ser que la fenilcapsaicina tiene un efecto antibacteriano directo sobre las aves expuestas a la invención y, por tanto, reduce el crecimiento bacteriano directamente. Este mecanismo está actualmente bajo investigación.

El otro mecanismo de acción propuesto es que la fenilcapsaicina contribuye al cambio del microbiota de las aves de

una forma favorable. Esta explicación propuesta significa que la infección de salmonella es combatida indirectamente en el ave, ya que la fenilcapsaicina afecta a procedimientos microbióticos endógenos y, por lo tanto, reduce el número de bacterias de salmonella en el sistema digestivo del ave.

5 El número reducido de bacterias de salmonella en el sistema digestivo conduce de forma natural a una excreción reducida de bacterias en las heces, que es la trayectoria principal de contaminación entre las aves.

Por tanto, la alimentación de aves de producción con piensos enriquecidos con fenilcapsaicina contrarrestará la extensión de salmonella en aves individuales al mismo tiempo que evitará infecciones entre las aves.

10 Otro uso de compuestos relacionados con capsaicina es como agentes repelentes de roedores (mamíferos) en la alimentación exterior de aves y otros animales. Los derivados sintéticos producidos con pureza elevada y cantidades elevadas y a un coste razonable serán superiores a los extractos de pimientas en este uso.

Los capsaicinoides sintéticos son adecuados para una diversidad de aplicaciones que incluyen pinturas antiincrustaciones marinas, represión de plagas en silvicultura y agricultura y en ciertas aplicaciones farmacéuticas. La fenilcapsaicina ha mostrado también propiedades potenciales como antimicrobiano y favorecedor del crecimiento en piensos para la producción comercial de aves de corral.

## 15 Figuras

Figura 1 - Clasificación numérica de valores de CFU/g de testigo /puntos azules) y el tratamiento con fenilcapsaicina de 20 mg/kg /puntos rojos) (eje X) representados gráficamente frente a los recuentos de CFU/g (eje Y) en el día 20 (a) y el día 29 (b).

### Parte experimental

20 Se realizó un experimento en el que se estudió el efecto de la fenilcapsaicina, complementada a diferentes niveles de dosis para piensos de engorde, frente a la formación y translocación de colonias de salmonella. Aparte del efecto contra la infección de salmonella, se estudió el efecto de la fenilcapsaicina sobre el rendimiento del crecimiento.

25 El estudio se dirigió a evaluar los efectos de la inclusión dietética a diferentes niveles de dosis de fenilcapsaicina, un análogo de capsaicina natural (solución al 1% en aceite de soja) sobre la formación de colonias intestinales y la translocación de Salmonella enteritidis y el rendimiento de crecimiento de pollos de engorde infectados con salmonella. El experimento se llevó a cabo con 420 pollos de engorde machos Ross 308 y duró 30 días. Las aves fueron albergadas en treinta y tres jaulas en serie (14 aves por jaula al comienzo).

30 Se evaluaron cinco tratamientos experimentales, cada uno se repitió seis veces. El diseño experimental se indica en la Tabla 1. El tratamiento I consistió en aves que no estaban infectadas por Salmonella enteritidis y recibieron la dieta testigo. Las aves de los tratamientos II, III, IV y V fueron todas infectadas con Salmonella enteritidis PT4 y recibieron una dieta testigo o la dieta testigo con 20 mg/kg, 28 mg/kg o 36 mg/kg de fenilcapsaicina, respectivamente. La dieta testigo usada se expone en la Tabla 2.

Tabla 1. Diseño experimental - pollos de engorde infectados con Salmonella enteritidis

Grupo	Número de jaulas	Tratamiento dietético	Infección con Salmonella enteritidis
I	6	Ninguno (dieta testigo)	No
II	6	Ninguno (dieta testigo)	Sí
III	6	20 mg/kg fenilcapsaicina	Sí
IV	6	28 mg/kg fenilcapsaicina	Sí
V	6	36 mg/kg fenilcapsaicina	Sí

Tabla 2. Dieta testigo usada - pollos de engorde infectados con salmonella

		Arranque 0-15 días	Desarrollo 15-30 días
Maíz	g/kg	317,6	191,3
Trigo	g/kg	250,0	400,0
Harina de soja CP 480 g/kg	g/kg	280,0	260,0
Harina de semillas de colza CP 335 g/kg	g/kg	50,0	50,0
Cenizas de proteína de patata > 10 g/kg	g/kg	10,0	0,0
Aceite de soja	g/kg	52,0	65,0
Mezcla previa	g/kg	5,0	5,0
Cal	g/kg	16,0	14,0

## ES 2 759 360 T3

Monofosfato de calcio	g/kg	9,5	5,5
Sal	g/kg	2,0	2,1
Bicarbonato de sodio	g/kg	3,0	2,5
Natuphos 10000G (fitasa - enzima)	g/kg	0,05	0,05
Hostazym NSP - enzima	g/kg	0,10	0,10
Clinacox	g/kg	0,20	0,20
L-lisina HCl	g/kg	1,75	1,75
DL-metionina	g/kg	2,20	1,85
L-treonina	g/kg	0,45	0,50
L-valina	g/kg	0,15	0,15
Total	g/kg	1000,0	1000,0
<hr/>			
Nutrientes calculados (g/kg)			
Proteína en bruto	g/kg	218	207
Grasa en bruto	g/kg	74	83
Fibra en bruto	g/kg	29	29
Cenizas	g/kg	61	54
Lisina digestiva	g/kg	10,7	10,4
Metionina digestiva	g/kg	5,0	4,6
M+C digestiva	g/kg	8,0	7,6
Treonina digestiva	g/kg	6,9	6,7
Valina digestiva	g/kg	8,5	8,3
ME <sub>engorde</sub> <sup>1</sup>	MJ/kg	12,07	12,43
Ca	g/kg	9,4	8,0
P total	g/kg	6,0	5,1
Av. P	g/kg	4,0	3,3
Na	g/kg	1,7	1,6
Cl	g/kg	2,0	2,1
K	g/kg	8,9	8,5

- Los pollos de engorde fueron inoculados en el cultivo en los días 15 y 16 de edad con un promedio de  $3,7 \times 10^8$  DFU de *Salmonella enteritidis* PT4 resistente a ácido nalidixico. Basándose en la necropsia de cinco aves por jaula en los días 20 y 29 de edad, se determinaron recuentos de *Salmonella enteritidis* en la digesta cecal (colonización intestinal) y el bazo (translocación). Se determinó el rendimiento de crecimiento de las aves (ganancia de peso corporal, ingestión de piensos y relación de conversión de piensos) a los 15 y 30 días de edad.

### MEDICIONES

#### *Producto de ensayo*

Se analizó el aceite de soja con la solución al 1% de fenilcapsaicina para la dosis de fenilcapsaicina.

#### *Dietas experimentales*

- 10 Se analizaron muestras de cada dieta experimental (4 dietas al comienzo y 4 de desarrollo) sobre el nivel de inclusión de fenilcapsaicina.

Se analizaron muestras de cada dieta experimental (4 dietas al comienzo y 4 de desarrollo) en cuanto a materia seca, cenizas, proteína en bruto, grasa en bruto (HCL), fibra en bruto, calcio y fósforo.

#### *Evacuaciones*

- 15 A los 13 días de edad (antes de la inoculación) se tomaron muestras de evacuaciones y se reunieron por jaula para determinar la situación inicial de la *Salmonella enteritidis*. Las evacuaciones por jaula se recogieron durante un período de 2 h sobre un papel limpio por debajo de cada jaula.

#### *Digesta cecal y toma de muestras del bazo*

- 20 Se midieron la concentración de *Salmonella enteritidis* en digesta del intestino ciego y del bazo para determinar la colonización y translocación intestinal, respectivamente, sacrificando cinco aves al azar por jaula en los días 20/21 y 29/30 de edad. Para estos fines fueron sacrificadas las aves. Durante la inoculación en el día 15/16, en cada jaula fueron marcados cinco aves escogidas aleatoriamente con una etiqueta en el ala verde y cinco aves escogidas aleatoriamente fueron marcadas con una etiqueta en el ala azul. A los 20/21 días se sacrificaron las aves con una etiqueta del ala verde y a los 29/30 días de edad se sacrificaron las aves con la etiqueta del ala azul. Las aves
- 25 fueron sacrificadas en primer lugar mediante una mezcla de Sedamun y Cetamina (5:3) a través de inyección en el

músculo de la pechuga (dosificación: 1 ml/kg peso corporal) y posteriormente fueron sacarificadas mediante una inyección intravenosa de T61 (una solución acuosa que contenía (en mg por ml) embutramida, 200; mebezoniomiodida, 50; hidrocloreuro de tetracaína, 5). Después de ser sacrificadas las aves se pesaron y posteriormente se recogieron la digesta cecal y el bazo. Después de ser recogidas, las muestras se enfriaron inmediatamente a 2-8°C antes de los análisis en cuanto a la *Salmonella enteritidis* PT4 resistente al ácido nalidíxico.

La concentración de *Salmonella enteritidis* PT4 en digesta y bazo se determinó después de diluciones decimales de las muestras en una solución de peptona tamponada. Las muestras diluidas fueron inoculadas en placas de agar Brilliant Green que contenía 100 µg/l de ácido nalidíxico. Las placas fueron incubadas durante 24 h a 37°C. Se hizo un recuento de colonias de *Salmonella enteritidis* PT4 típicas y se calculó la concentración de las *Salmonella enteritidis* PT4 (cfju/g) en las muestras originales según procedimientos estándar.

*Rendimiento de crecimiento*

Todos los pollos de engorde fueron pesadas por caula a los 0, 15 y 30 días de edad para determinar el peso corporal (BW).

Se registró la ingestión de piensos (FI) por jaula en los días 15 y 24 de edad.

15 Se registró diariamente la mortalidad por jaula.

Los valores de BW, ganancia de peso corporal (BWG), FI, relación de conversión de piensos (FCR) y mortalidad se calcularon durante los siguientes períodos: 0-15 días, 15-30 días y el período experimental completo (0-30 días de edad).

*Observaciones sobre el estado de salud de los animales*

20 Se verificó diariamente el estado de salud de las aves y se registraron las anomalías, así como la causa probable de la muerte para las aves muertas o escogidas. Se registraron la temperatura y la humedad en el entorno de los animales.

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

*Rendimiento de crecimiento y peso del bazo*

25 Se realizaron análisis estadísticos del rendimiento de crecimiento y el peso del bazo en los tratamientos "infectados con salmonella" (tratamientos II - V). Se analizaron estadísticamente los parámetros de respuestas mediante NOVA usando el software estadístico GenStat (17ª edición, VSN International Ltd., Hemel Hempstead, Reino Unido) usando la relación fila/serie como factor de bloques, y la dieta como variable aclaratoria según el modelo estadístico proporcionado a continuación:

30 
$$Y = \mu + \text{fila}_i/\text{serie}_j + \text{dieta}_k + e_{ijkl}$$

en la cual:

Y = Parámetro de respuesta

µ = Media general

fila/serie = fila de jaulas en batería (i = 1,2) como bloque y en serie de fila (j = 1, 2, 3) como sub-bloque

35 dieta = Efecto de la dieta (k = 1 ... 4)

e = Término de error

Se proporcionaron el valor de P del efecto del tratamiento y la LSD (diferencia significativa mínima (P = 0,05)) por parámetro de respuesta. Los efectos de tratamiento con un valor de P ≤ 0,05 se consideró que eran estadísticamente significativos.

40 *Recuentos de Salmonella enteritidis PT4*

Para examinar las diferencias en números (CFU/g) de Salmonella en la digesta cecal de pollos alimentados con una

dieta que contenía 20, 28 y 36 mg/kg de fenilcapsaicina se compararon con un grupo testigo sobre una dieta sin fenilcapsaicina. En primer lugar, se realizó un ensayo de chi cuadrado de Pearson sobre valores clasificados (de bajo a elevado) de la concentración entre el grupo testigo y de tratamiento alimentado a 20 mg/kg. Debido a los valores que faltan, este análisis no se pudo hacer en los tratamientos de 28 y 36 mg/kg. Como los pollos de engorde fueron mantenidos en jaulas diferentes, las jaulas fueron tratadas en primer lugar como factores de efectos aleatorios usando un modelo de efectos mixtos lineales generalizados (GLMM), aplicando la función glmmPQL de la biblioteca MASS de R, adoptando la distribución de Poisson debido a los datos en recuento. En segundo lugar, los datos fueron analizados excluyendo el efecto de las jaulas mediante un modelo lineal generalizado aplicando la función glm de la biblioteca MASS de R, adoptando nuevamente la distribución de Poisson. Los análisis se realizaron sobre datos de los dos días de muestras (día 20 y día 29; global), y sobre los datos de los días 20 y 29, separadamente. En el día 20, el valor testigo más elevado ( $1,3 \times 10^7$  CFU/g) y los dos valores más elevados en el grupo de tratamiento de 28 mg/kg ( $1,3 \times 10^7$  y  $1,2 \times 10^7$  CFU/g) son considerablemente más elevados que el siguiente valor más elevado ( $1,1 \times 10^6$  y  $4,0 \times 10^6$  CFU/g) para los grupos testigo y de tratamiento de 28 mg/kg, respectivamente, y por lo tanto se consideró que eran valores anómalos. Por tanto, se realizaron análisis sobre los datos restantes después de excluir estos puntos de datos.

### RESULTADOS

El peso del bazo en pollos de engorde inoculados con salmonella a los 20 y 29 días de edad era numéricamente más elevado que el peso del bazo en pollos de engorde sin inoculación con salmonella, que supone una infección de salmonella satisfactoria. El complemento dietético de fenilcapsaicina a 20, 28 y 36 mg/kg no afectó al peso del bazo en los 20 y 29 días de edad de los pollos de engorde inoculados con salmonella. Las dietas de alimentación de pollos de engorde que contienen 20 mg/kg de fenilcapsaicina tenían recuentos de salmonella numéricamente inferiores a los pollos testigos en una dieta sin fenilcapsaicina (valores de P de 0,15 para ambos días (20 y 29 días de edad) y 0,13 para el día 29). Los resultados se resumen en la Tabla 3. Las diferencias en los números clasificados son altamente significativas entre el grupo testigo y el de tratamiento de 20 mg/kg, teniendo el grupo de 20 mg/kg recuentos de salmonella consistentemente inferiores que el grupo testigo en el día 20 así como en el día 29. Los resultados se exponen en la Tabla 4 y en la Figura 1. La formación de colonias en el intestino ciego de *Salmonella enteritidis* PT4 no se vio afectada por la inclusión dietética de 28 y 38 mg/kg de fenilcapsaicina. Estos resultados implican que los más probablemente la dosis eficaz está en el intervalo hasta 20 mg/kg de fenilcapsaicina en lugar de niveles de dosis de fenilcapsaicina por encima de 20 mg/kg.

Tabla 3

Compendio de valores estadísticos del modelo mixto lineal generalizado (en el que la jaula fue tratada como factores de efectos aleatorios usando un modelo de efectos mixtos lineales generalizados (GLMM), aplicando la función glmmPQL de la biblioteca MASS de R) y un modelo lineal generalizado (sin controlar el efecto aleatorio de la jaula, aplicando la función glm de la biblioteca MASS de R) usaos para examinar las diferencias en recuentos CFU/g entre pollos alimentados con una dieta que contiene 20 mg/kg de fenilcapsaicina y pollos alimentados con dietas testigos sin fenilcapsaicina. Los valores anómalos son definidos como fales  $> 1,0 \cdot 10^7$  CFU/g.

Datos aportados	Ensayo R	Error estándar	df	Valor de t	P
Ambos días (día 20 y día 29)					
Todos los recuentos de CFU/g	glmmPQL	3,521	106	0,223	0,82
	glm	3,521	116	0,229	0,82
Todos los recuentos de CFU/g; valores anómalos ocultos	glmmPQL	1,507	105	1,469	0,15
	glm	1,507	115	1,469	0,15
Día 20					
Todos los recuentos de CFU/g	glmmPQL	1,444	10	1,240	0,24
	glm	1,444	58	1,240	0,22
Todos los recuentos de CFU/g; valores anómalos ocultos	glmmPQL	0,468	10	0,822	0,43
	glm	0,468	57	0,822	0,41
Día 29					
Todos los recuentos de CFU/g	glmmPQL		10	1,646	0,13
	glm		58	1,646	0,11

Tabla 4

Compendio de valores estadísticos del ensayo de chi cuadrado de Pearson ensayando diferencias en números clasificados de recuentos de salmonella en digesta cecal

Día	$\chi^2$	df	Nivel de probabilidad
Día 20	21,6	1	0,001

Día 29	6,67	1	0,01
--------	------	---	------

5 En las aves infectadas con salmonella, el peso corporal (BW) y la ganancia de peso corporal (BWG) de los pollos de engorde alimentados con dietas de 36 mg/kg de fenilcapsaicina eran significativamente menores que los BW y BWG de pollos de engorde alimentados con dietas de 0, 10 o 28 mg/kg de fenilcapsaicina. La ganancia de peso corporal inferior de los pollos de engorde alimentados con dietas de 36 mg/kg dio lugar a una relación de conversión de piensos más elevada en comparación con otros tratamientos con pollos de engorde inoculados con salmonella. La inclusión dietética de fenilcapsaicina no tuvo efecto sobre la ingestión diaria de piensos de los pollos de engorde inoculados con salmonella.

10 En la fase de desarrollo (15-30 días), después de la infección de salmonella, la inclusión dietética de fenilcapsaicina a 20, 28 y 36 mg/kg no afectó a la ingestión de piensos y la relación de conversión de piensos de los pollos de engorde inoculados con salmonella. Se observó una tendencia hacia una BWG inferior al aumentar el nivel de dosis de fenilcapsaicina (P=0,099). Los pollos de engorde que recibieron las dietas con la dosis más elevada de fenilcapsaicina (36 mg/kg) tenía numéricamente la BWG más baja y la FCR más elevada.

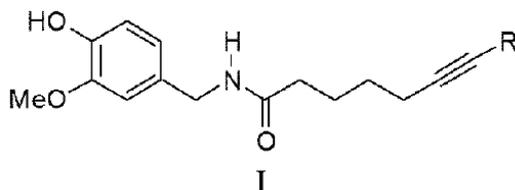
15 El peso corporal (BW) y la ganancia de peso corporal (BWG) en pollos de engorde inoculados con salmonella alimentados con dietas de 36 mg/kg de fenilcapsaicina fueron significativamente menores que el BW y la BWG en pollos de engorde inoculados con salmonella alimentados con dietas de 0, 20 o 28 mg/kg de fenilcapsaicina. La inclusión dietética de fenilcapsaicina no tuvo efecto sobre la ingestión diaria de piensos y la relación de conversión de piensos de pollos de engorde inoculados con salmonella.

*Conclusión*

20 La inclusión dietética de 20 mg/kg de fenilcapsaicina dio lugar a diferencias estadísticamente significativas en recuentos de Salmonella enteritidis PT4 en el intestino ciego individualmente clasificados en comparación con el tratamiento testigo. Este resultado puede ser un indicador de un efecto reductor de salmonella de la inclusión de 20 mg/kg de fenilcapsaicina en dietas de pollos de engorde.

REIVINDICACIONES

1. Pienso para aves, que comprende al menos un compuesto químico con la formula general (I)



5 en la que R es un sustituyente seleccionado entre el grupo de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>, trifluorometilo, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>, fenilo, fenoxi, feniltio, halógeno; o sus tautómeros o sales.

2. Pienso para aves según la reivindicación 1, en el que R es fenilo.

3. Pienso para aves según la reivindicación 1 o 2, que comprende 5-40 mg/kg de un compuesto de fórmula I.

4. Pienso para aves según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende 20 mg/kg de un compuesto de fórmula I.

10 5. Pienso para aves según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, para un uso profiláctico o terapéutico para la resistencia o el tratamiento de infección de salmonella en aves.

6. Pienso para aves según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que las aves se seleccionan entre el grupo que consiste en aves de corral, en particular pollos de engorde; aves productoras de huevos, en particular pollos; pavos; avestruces; codornices; urogallos; patos; gansos; aves salvajes, aves domesticadas y aves de cría.

15 7. Pienso para aves según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el pienso se selecciona entre uno o más del grupo que consiste en semillas, maíz, gusanos, mijo, avenas, frutos secos y en la forma de granulados, suspensiones, agua de beber y emulsiones.

20 8. Pienso para animales según la reivindicación 5, en el que la infección de salmonella está provocada por el grupo que consiste en *Salmonella* Mongori; *Salmonella* Hadar; *Salmonelle* Montevideo; *Salmonella* Epinay y *Salmonella* Enterica de las subespecies *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diazonae*, *houtenase* e *indica*.

9. Pienso para aves según la reivindicación 5, en el que la infección de salmonella está provocada por *Salmonella* enteritidis, en particular *Salmonella* enteritidis PT4.

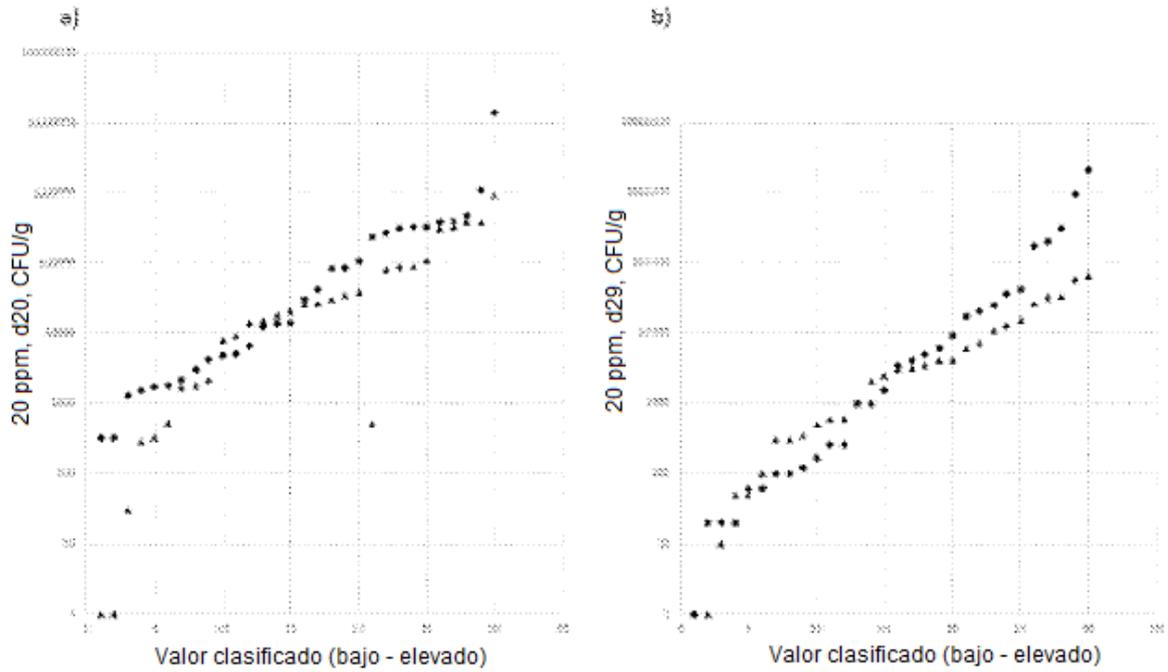


Figura 1

5 Número clasificado de valores de CFU/g de testigo (puntos redondos) y el tratamiento con fenilcapsaicina de 20 mg/kg (puntos triangulares) (eje x) representados gráficamente frente a recuentos de CFU/g (eje y) en el día 20 (a) y el día 29 (b)