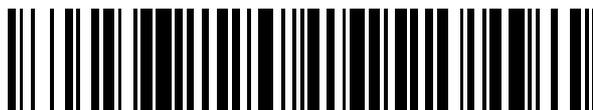


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 788 150**

51 Int. Cl.:

A01N 25/08	(2006.01)
A01N 25/12	(2006.01)
A01N 31/16	(2006.01)
A01N 31/06	(2006.01)
A01N 35/02	(2006.01)
A01P 1/00	(2006.01)
A61K 47/02	(2006.01)
A61K 9/14	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **31.12.2013 PCT/MA2013/000054**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **03.07.2014 WO14104868**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.12.2013 E 13830233 (6)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.02.2020 EP 2938188**

54 Título: **Complejo molecular detoxificante y antimicrobiano**

30 Prioridad:

31.12.2012 MA 35519

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
20.10.2020

73 Titular/es:

**REMMAL, ADNANE (100.0%)
Lotissement Hamza 1, Lot 113 Route D'imouzzer
Fes 30 000, MA**

72 Inventor/es:

CHAMI, AHMED REDA

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

Observaciones:

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o
Bemerkungen) en el folleto original publicado por
la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 788 150 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

Complejo molecular detoxificante y antimicrobiano

5 La presente invención se refiere a un aditivo para alimentos veterinarios, a una composición que contiene este aditivo así como al procedimiento de fabricación de esta composición y a la utilización de esta composición como un aditivo con múltiples acciones: acción de promotor del crecimiento, más la acción de protector contra las enfermedades parasitarias, más la acción de adsorbente de micotoxinas, más la acción inmunoestimulante y de protector intestinal y hepatobiliar.

10 Las patologías que afectan a los animales son en general fenómenos multifactoriales en los que están implicados varios elementos: bacterias, virus, hongos, parásitos, inmunodeficiencia, metabolismo, fisiología, entorno zootécnico, carencias alimentarias, toxinas y otros. El ganadero dispone en general de productos variados que cada uno trata, uno o dos factores solamente. Por lo tanto, está obligado a componer cócteles a partir de estos productos. Esto tiene como consecuencia riesgos de inadecuación de los tratamientos por exceso o por defecto que generan diversas pérdidas. La vía de administración más utilizada para estos tratamientos es la vía oral por adición en el alimento o en el agua de bebida.

15 El alimento del ganado contiene, entre otras cosas, antibióticos utilizados como promotores del crecimiento y agentes antiparasitarios como tratamiento preventivo de la coccidiosis o de la histomoniasis y de otras enfermedades parasitarias. Estos agentes quimioterapéuticos son cuestionados en varios problemas de salud animal y de salud pública por su toxicidad, por los residuos que pueden generar en los productos alimentarios de origen animal y por su implicación en la aparición de la resistencia a los agentes infecciosos, Châfer-Pericàs et al., Food Control 22 (2011) 993-999.

20 Por todas estas razones es por lo que estos agentes han sido prohibidos en varias regiones del mundo. IP/05/1687, Bruselas, 22 de diciembre de 2005.

25 El alimento del ganado contiene también concentraciones no despreciables de micotoxinas procedentes de los mohos que contaminan a los cereales contenidos en el alimento del ganado. Estas micotoxinas tienen efectos perjudiciales sobre la salud de los animales y sus residuos en los alimentos de origen animal son perjudiciales para la salud del consumidor, Wayne and Bryden, Animal Feed Science and Technology 173 (2012) 134-158.

30 En este contexto, los fabricantes de pienso del ganado y los ganaderos que se enfrentan a los problemas de retraso en el crecimiento y de enfermedades parasitarias se ven obligados a encontrar alternativas para reemplazar a los antibióticos utilizados como promotores del crecimiento y a los antiparasitarios que han sido prohibidos como aditivos en el pienso. También deben encontrar aditivos para luchar contra los efectos negativos relacionados con la presencia de mohos que producen las micotoxinas y con las propias micotoxinas (Placinta et al, A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with Fusarium mycotoxins Animal Feed Science and Technology Volume 78, Issue 1, Páginas 21 -37, 31 March 1999)

35 Para impedir que estas micotoxinas pasen a la circulación, se utilizan varios medios. El medio más utilizado es el uso de adsorbentes tales como: aluminosilicato de calcio y sodio hidratado (HSCAS), carbón activado, paredes de levadura, filosilicatos, colestiramina, bacterias lácticas, Phillips, Clement & Park, 1994. Approaches to reduction of aflatoxins in foods and feeds. En D. L. Eaton & J.D. Groopman, eds. The toxicology of aflatoxins - human health, veterinary and agricultural significance, p. 383. San Diego, California, Estados Unidos, Academic Press.

40 Entre los adsorbentes se encuentran las arcillas activadas por adición de ácidos y calentamiento, documento EP 1 333 919 B1, Utilisation de silicates en couches actives pour l'adsorption de mycotoxines. Sin embargo, los procedimientos de activación son muy complicados y muy costosos, lo que repercute negativamente sobre la calidad y la reproducibilidad de la capacidad de adsorción de las micotoxinas y hace que el precio de las arcillas sea demasiado caro, sobre todo cuando se trata de alimento para el ganado.

45 Otro problema relacionado con las arcillas activadas consiste en el hecho de que estas arcillas pueden actuar como quelantes de vitaminas y disminuir la cantidad de vitaminas disponibles para el animal. Esto puede causar problemas de carencias vitamínicas.

50 Entre las alternativas utilizadas para reemplazar a los antibióticos y a los antiparasitarios se encuentran los aceites esenciales y sus compuestos mayoritarios tales como el timol, el carvacrol, el cinamaldehído, el eugenol y otros (Alleman et coll, Utilisation des huiles essentielles en alimentation des volatiles. INRA Productions Animales, 2013, número 1 ; Bento et coll, Essential oils and their use in animal feeds for monogastric animals, Veterinari Medicina, 58, 2013 (9): 449-458; Brenes and Roura Animal Feed Science and Technology 158 (2010) 1-14).

55 Sin embargo, estas sustancias son volátiles y, por lo tanto, inestables en el alimento. Esta inestabilidad es la causa de una pérdida importante de los aceites esenciales durante la fabricación del pienso. Esto obliga a los fabricantes de pienso del ganado a añadir grandes cantidades de aceites esenciales en exceso para que el alimento una vez fabricado contenga la cantidad necesaria de aceites esenciales o a utilizar métodos de estabilización complicados y

costosos, tales como la microencapsulación (Barros Fernandes et coll, Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil, Carbohydrate Polymers 101 (2014) 524-532).

5 Esta inestabilidad es también la causa del corto período de validez de las acciones buscadas en el pienso del ganado después de la fabricación. Esto tiene un impacto negativo sobre la calidad del alimento que contiene los aceites esenciales como aditivo y aumenta el precio del aditivo, lo que disminuye su competitividad frente a los antibióticos y los antiparasitarios y las otras alternativas.

10 En la técnica anterior, se han descrito composiciones que comprenden arcilla y compuestos volátiles para luchar contra la humedad y los olores nauseabundos (véase la solicitud de patente US 2013-230431, documento que pertenece a los conocimientos actuales de la técnica según el artículo 54(3) CBE), aditivos alimentarios que comprenden un compuesto activo obtenido a partir de plantas del género *Citrus* y un soporte mineral poroso (véase la solicitud de patente EP 1 132 009), y formulaciones insecticidas que comprenden un aceite esencial de *Ocimum gratissimum* y montmorillonita (Nguemtchouin et al., Journal of Stored Products Research, vol. 52, 2013, 57-62) o que comprenden aceite esencial de *Thuja occidentalis*, *Tagetes minuta*, *Hyptis suaveolens*, *Ocimum canum*, *Ocimum basilicum*, *Piper guineense* o *Xylopiya aethiopica* y caolín (Sékou Moussa Kéita et al., Revue canadienne de phytotechnie, 2001, 81(1): 173-177; Sékou Moussa Kéita et al., Journal of Stored Products Research, vol. 36, 2000, 355-364; Nguemtchouin et al., Crop Protection, vol. 29, 2010, 985-991). Los efectos de los aceites esenciales o de la bentonita de sodio sobre los pollos de granja también han sido descritos (Brenes and Roura, Animal Feed Science and Technology, 158, 2010, 1-14; Damiri et al., Pak. Vet. J., 2012, 32(2): 197-200).

El objetivo de la presente invención se define por las reivindicaciones.

20 El propósito de la presente invención consiste en inventar una composición estable que contenga compuestos que tengan una actividad antibiótica (antibacteriana) y antiparasitaria, una actividad antimoho capaz de inhibir el crecimiento de los mohos que segregan las micotoxinas y al mismo tiempo la capacidad de adsorber las micotoxinas. Otro propósito de la invención consiste en seleccionar entre las sustancias que tienen las actividades mencionadas anteriormente, aquellas que tienen también una actividad de protector intestinal y hepato-biliar y de inmunoestimulante.

25 Así, contra las patologías que son fenómenos multifactoriales que afectan a la salud animal, la invención propone una solución con múltiples acciones.

30 La composición objeto de la presente invención y que pretende alcanzar el propósito mencionado antes es el resultado de la complejación por intercalación de moléculas volátiles tales como: timol, cresol, carvacrol, mentol, eugenol, cinamaldehído, que tienen una actividad antibacteriana, antiparasitaria, antifúngica y de protector intestinal, hepato-biliar e inmunoestimulante, con las arcillas. La arcilla tiene al mismo tiempo la acción de excipiente estabilizador de la composición, la acción de adsorbente de micotoxinas y la acción de protector intestinal.

La expresión complejo molecular designa cualquier composición obtenida por mezcla de los aceites esenciales o uno de sus compuestos volátiles con cualquier arcilla comestible cuyas moléculas son capaces de interactuar con estos aceites esenciales y sus compuestos volátiles.

35 La expresión aceites esenciales designa cualquier extracto obtenido a partir de plantas aromáticas por uno de los métodos de extracción conocidos que permiten extraerlos.

La expresión compuestos volátiles de los aceites esenciales designa cualquier molécula volátil obtenida por purificación a partir de los aceites esenciales o de otra fuente natural o si no por síntesis química de manera idéntica, así como sus derivados e isómeros.

40 La expresión arcilla comestible designa cualquier sustancia mineral natural o sintética que tiene una estructura molecular idéntica o similar a la de las arcillas comestibles comúnmente utilizadas en el campo agroalimentario y farmacéutico.

45 La expresión arcilla intercalada designa cualquier situación en la que las moléculas intercalantes entran en interacción con las moléculas de arcilla al insertarse en los espacios interfoliares de la arcilla. Esta intercalación se traduce en un aumento de la distancia interfoliar.

La expresión actividad antimicrobiana designa cualquier acción inhibitoria o destructiva de gérmenes microbianos de naturaleza bacteriana, fúngica, parasitaria o viral.

La expresión protector intestinal y hepato-biliar designa cualquier acción que permite preservar la integridad física y fisiológica del intestino y estimular la función hepática para aumentar su actividad de detoxificación.

50 La expresión inmunoestimulante designa cualquier actividad que permite reforzar las defensas naturales o adquiridas del organismo.

La expresión adsorbente de toxinas designa cualquier actividad que permite fijar las toxinas a nivel intestinal para impedir su absorción hacia la circulación sanguínea.

La cría de animales se enfrenta a una multitud de factores de riesgo de naturaleza zootécnica, infecciosa, sanitaria, higiénica, inmunitaria, fisiológica y alimentaria que favorecen la aparición de patologías que uno solo de estos factores no podría provocar. Es por esta razón por lo que los científicos coinciden en la idea de que la aparición de cualquier enfermedad es un fenómeno multifactorial (Sjaak de Wit, Practical epidemiology of poultry disease and multifactorial conditions, Poultry Diseases (Sixth Edition), 2008, pages 492-509).

De ahí la importancia de estudiar el impacto de cada factor por separado y de aportar un remedio curativo o preventivo para cada uno para impedir la aparición de la enfermedad o atenuar los daños que provoca. La multitud de remedios plantea un problema de coste, de dosis de cada remedio y muchos otros problemas que complican el trabajo del ganadero.

Para resolver el problema del uso de antibióticos y de antiparasitarios de quimioterapia prohibidos por la reglamentación y el problema de los remedios múltiples, la presente invención, tiene por lo tanto, por objeto una composición estable constituida por un complejo molecular que contiene moléculas naturales que tienen actividades farmacológicas múltiples; antimicrobianas, inmunoestimulantes, colagogas, carminativas tales como el timol, el cresol, el carvacrol, el mentol, el eugenol, el cinamaldehído o cualquier componente que los contenga por separado o en mezcla, así como los isómeros, derivados y mezclas de los mismos. Estas moléculas volátiles se fijan y estabilizan por intercalación en el espacio interfoliar de las arcillas que tienen propiedades de adsorbentes de toxinas, de protectores intestinales e hidratantes, compuestas de estevensita y de bentonita, es decir mezclas producidas o naturalmente estratificadas.

En un modo de realización particular, la composición puede comprender dichos agentes antimicrobianos volátiles que son alcoholes aromáticos antisépticos elegidos entre el timol, el cresol, el carvacrol, el mentol, el eugenol, el cinamaldehído o cualquier componente que los contenga por separado o en mezcla así como los isómeros, derivados y mezclas de los mismos. Estos agentes se intercalan en una arcilla comestible que es una mezcla de estevensita y de bentonita producida o naturalmente interestratificada.

Dicho agente antimicrobiano volátil está presente en dicha composición en una relación en peso que varía de 0,005 a 0,33 con respecto a dicha arcilla comestible.

El procedimiento de fabricación de dicha composición comprende las siguientes etapas:

- i. Dicho agente antimicrobiano volátil se disuelve en un disolvente orgánico o inorgánico para obtener la solución antimicrobiana,
- ii. Dicha solución antimicrobiana así obtenida se mezcla con dicha arcilla comestible en forma de polvo o de pelets en condiciones de agitación y de temperatura que permiten obtener una composición homogénea y estable constituida por un complejo molecular que contiene dicha arcilla comestible intercalada por dicho agente antimicrobiano volátil.

En un modo de realización particular, este procedimiento de fabricación se puede detallar como sigue:

- Una cantidad de agente antimicrobiano volátil se disuelve gradualmente en una cantidad de aceite vegetal o mineral, que representa del 1 al 20 % de la cantidad de agente antimicrobiano volátil, se agita y se calienta a una temperatura que varía de 30 a 80 °C para obtener una solución líquida homogénea y límpida denominada solución antimicrobiana,
- Una cantidad de la solución antimicrobiana se incluye gradualmente mediante mezcla en una cantidad de dicha arcilla comestible en polvo, que representa al menos 3 veces la cantidad de solución antimicrobiana, para obtener un polvo tamizable,
- El polvo tamizable obtenido se calibra mediante tamizado para obtener la granulometría deseada.

En un modo de realización particular, el agente antimicrobiano volátil puede ser el timol solo o mezclado con uno o varios agentes antimicrobianos volátiles como el cresol, el eugenol, el carvacrol, el cineol, el mentol o el cinamaldehído o cualquier aceite esencial que los contenga por separado o mezclados y la arcilla comestible es una mezcla de estevensita y de bentonita o la mezcla de sustancias que las contengan.

En un modo de realización preferido, las preparaciones tales como las detalladas anteriormente estarán destinadas a ser diluidas en el pienso del ganado para la administración a un animal. Esta dilución se puede llevar a cabo en una proporción que varía de 50 gramos de preparación por tonelada de pienso a 10 kilogramos de preparación por tonelada de pienso.

En otro modo de realización preferido, dicha preparación, antes de la dilución en el pienso, puede contener el agente antimicrobiano volátil en una relación en peso que varía de 0,1 a 0,33 con respecto a la arcilla comestible. Preferiblemente en una relación en peso de 0,15 a 0,2 con respecto a la arcilla.

La presente descripción describe la utilización de dichas composiciones como aditivo alimentario para los animales añadidas al pienso y tomadas por vía oral.

En todos los casos, la utilización de dichas composiciones como aditivos alimentarios destinados a ejercer una multitud de acciones que emanan de las propiedades de las sustancias que contienen, a saber:

- 5 - la actividad promotora del crecimiento debida a las propiedades antisépticas de los agentes antisépticos volátiles capaces de disminuir la flora intestinal patógena o comensal,
- la actividad antiparasitaria, anticoccidial y antihistomoniasis, en particular debida a la actividad antiparasitaria de los agentes antimicrobianos volátiles,
- 10 - la actividad antifúngica debida a la actividad antifúngica de los agentes antimicrobianos volátiles que permiten inhibir los mohos responsables de la producción de micotoxinas,
- la actividad adsorbente de micotoxinas debida a las propiedades quelantes de las arcillas,
- la actividad colagoga debida a las propiedades farmacológicas de los agentes antimicrobianos volátiles,
- la actividad inmunoestimulante debida a las propiedades farmacológicas de los agentes antimicrobianos volátiles,
- 15 - la actividad de protector intestinal debida tanto a las propiedades de apósito intestinal de la arcilla como a las propiedades antisépticas intestinales de los agentes antimicrobianos volátiles.

En todos los casos, la utilización de dichas composiciones como aditivos alimentarios destinados a ejercer una multitud de acciones favorables para el organismo animal, que tienen como consecuencia la protección de la integridad intestinal, hepatobiliar e inmunitaria con repercusiones positivas sobre la protección de la salud general de los animales que reciben dichas composiciones como aditivos alimentarios.

20 Los ejemplos que siguen están destinados a ilustrar ciertos aspectos de la invención sin ser, sin embargo, limitativos.

Por una parte, el inventor ha realizado experimentos con diferentes tipos de agentes antimicrobianos volátiles y diferentes tipos de arcillas. Los resultados han permitido poner en evidencia un desplazamiento de los picos de la difracción de rayos X de las moléculas características de las arcillas ensayadas, a saber, la estevensita y la bentonita en un sentido que muestra un aumento de la distancia interfoliar de las arcillas intercaladas por los agentes antimicrobianos volátiles en comparación con las arcillas antes de la intercalación. Esto justifica y explica la fijación perfectamente estable de los agentes antimicrobianos volátiles sobre las arcillas cuando se mezclan según el procedimiento objeto de la invención. Por otra parte, el inventor ha ensayado la eficacia de la composición con las dosis y proporciones particularmente eficaces de la composición en condiciones *in vitro* e *in vivo*:

Ejemplo 1: Ensayo de difracción de rayos X

30 Se realizaron preparaciones con un peso final de 1000 gramos, con 150 gramos de timol disuelto según el procedimiento de la invención con 20 mililitros de aceite de mesa a una temperatura de 60 °C. La solución antiséptica así obtenida se mezcló con 830 gramos de ghassoul de Marruecos o con 830 gramos de bentonita de Marruecos o con 830 gramos de una mezcla de ghassoul/bentonita al 50 %/50 %. (preparación a)

Se prepararon composiciones testigo:

35 Preparación b): Las mismas arcillas puras sin ningún aditivo

Preparación c): Las mismas arcillas con 20 ml de aceite de mesa solo

Preparación d): Las mismas arcillas con timol solo en polvo cristalizado

Preparación e): Las mismas arcillas con timol licuado por calentamiento a 60 °C sin aceite vegetal.

40 Las preparaciones a, b y c se sometieron a un ensayo de difracción de rayos X según las normas habituales de tratamiento de las arcillas en este método analítico.

Los resultados obtenidos muestran un desplazamiento del pico específico de la bentonita y de la estevensita en el espectro de manera sorprendente en el caso de preparaciones según el procedimiento de la invención (preparación a) comparadas con el testigo de las arcillas puras (preparación b) y de las arcillas que han sido mezcladas con aceite de mesa solo (preparación c) (resultados en la tabla 1). Al mismo tiempo, los resultados muestran que para la preparación (d) que contiene timol en polvo cristalizado mezclado con la arcilla, el polvo obtenido es heterogéneo y el espectro de difracción de rayos X obtenido era inutilizable. Para la preparación (e) en la que el timol ha sido licuado por calentamiento y mezclado con la arcilla sin aceite vegetal, se observa que el timol se recristaliza y forma grumos duros. La mezcla así obtenida es heterogénea y no puede cumplir los criterios para los que se realizó la invención.

Esto muestra, por una parte, que el procedimiento de fabricación utilizado en la invención permite efectivamente lograr la intercalación del timol en el espacio interfoliar de las arcillas, lo que se traduce en una dispersión estable y homogénea del timol en la arcilla y en un aumento de la distancia del espacio interfoliar de las arcillas, mejorando en consecuencia la hidrofobicidad y la capacidad de las arcillas para adsorber las toxinas.

- 5 Estos resultados muestran, por otra parte, que las mezclas entre timol y arcilla por los métodos obvios que utilizan el timol cristalizado o licuado por calentamiento no logran el resultado esperado por la invención.

Tabla 1: Distancia interfoliar de las arcillas según los modos de preparación a, b y c.

Las arcillas	Bentonita			Estevensita		
	Bruta (prep. b)	Con aceite de mesa (prep. c)	Con aceite de mesa y aceite esencial (prep. a)	Bruta (prep. b)	Con aceites de mesa (prep. c)	Con aceite de mesa y aceite esencial (prep. a)
Las distancias entre las hojas (en Angstrom)	15,23	15,23	15,69	15,75	16,15	16,51

Ejemplo 2: Ensayo *in vivo*

- 10 Lotes de 25 pollitos de pollos de engorde así como doce pavitos se alimentaron con un pienso que contenía la preparación de la invención a razón de 100 gramos, 500 gramos, 1 kilogramo o 2 kilogramos por tonelada de pienso. Lotes testigo del mismo tamaño se alimentaron con un pienso que no contenía ningún antibiótico ni antiparasitario. Otros lotes testigo del mismo tamaño se alimentaron con un pienso que contenía flavomicina a razón de 200 gramos por tonelada de pienso y salinomicina a razón de 70 gramos por tonelada de pienso para los pollos de engorde y 100
- 15 gramos de monensina por tonelada para los pavos. Durante cinco semanas de tratamiento, se analizaron muestras de heces de cada sujeto en cada lote por microscopía y por análisis microbiológicos apropiados para evaluar el número de bacterias, levaduras, mohos y oocistos de protozoos, en particular de la especie *eimeria. sp* implicada en la coccidiosis del pollo y del pavo. Al final de las cinco semanas del experimento, los sujetos fueron sacrificados y fue realizada una autopsia por veterinarios profesionales especialistas en patologías aviares. El objetivo de la autopsia
- 20 era evaluar las puntuaciones de las lesiones a nivel del intestino y el estado de integridad del hígado, de los riñones, de los pulmones y del bazo y del intestino.

Los resultados obtenidos muestran disminuciones muy significativas en el número de bacterias, de levaduras, de mohos y de oocistos en los lotes que recibieron la preparación de la invención en su pienso a las dosis de 1 kilogramo por tonelada y dos kilogramos por tonelada en comparación con los lotes testigo que recibieron un pienso neutro. Los

25 lotes que recibieron la preparación de la invención en el pienso a las dosis de 100 gramos y 500 gramos por tonelada de pienso no presentan diferencias significativas en comparación con el testigo. Los lotes que recibieron el antibiótico y el antiparasitario en el pienso presentan una disminución visible pero no significativa en comparación con el testigo. Sin embargo, el número de bacterias, de levaduras, de mohos y de oocistos en los lotes que recibieron la preparación de la invención a las dosis de 1 kilogramo y dos kilogramos por tonelada de pienso es significativamente inferior al

30 número de bacterias, de levaduras, de mohos y de oocistos registrado en los lotes que recibieron el antibiótico y el antiparasitario en el pienso. Estos resultados muestran que la preparación según la invención utilizada como aditivo en el pienso para pollos y pavos tiene múltiples actividades como promotor del crecimiento (reducción de la flora intestinal), como agente antiparasitario (anticoccidial) y agente antifúngico de manera significativamente superior a los antibióticos y antiparasitarios utilizados en este ensayo. Los resultados de la autopsia muestran también que las puntuaciones de lesiones intestinales, de congestión de los riñones, de los pulmones, del bazo y del hígado son significativamente más bajas en los lotes que recibieron el pienso que contiene la preparación de la invención en comparación con los lotes que recibieron el pienso neutro o el pienso que contiene el antibiótico y el antiparasitario. Estos resultados muestran también que la preparación de la invención utilizada como aditivo en el pienso de pollos y pavos tiene actividades de protector de la integridad intestinal, de protector hepatobiliar, de purificador de los pulmones

35 y de los riñones y de protector del bazo. Estos resultados confirman que la preparación de la invención representa una solución con actividades múltiples para luchar contra las patologías del pollo y del pavo que son enfermedades multifactoriales.

Se alimentaron lotes de 25 pollitos de un día durante 5 semanas de media respectivamente, con:

- lote 1: un pienso para "pollos de engorde" blanco que no contiene ni antibióticos ni antiparasitarios;
- 45 - lote 2: un pienso que contiene un antibiótico factor de crecimiento "flavomicina" a razón de 200 miligramos por kilogramo de pienso y un antiparasitario "salinomicina" a razón de 70 miligramos por kilogramo;
- lote 3: un pienso que contiene la preparación de la invención en el pienso en una proporción de 100 gramos por tonelada de pienso;

- lote 4: un pienso que contiene la preparación de la invención en el pienso en una proporción de 500 gramos por tonelada de pienso;
- lote 5: un pienso que contiene la preparación de la invención en el pienso en una proporción de 1 kg por tonelada de pienso;
- 5 - lote 6: un pienso que contiene la preparación de la invención en el pienso en una proporción de 2 kg por tonelada de pienso;

Tabla 2: Resultados zootécnicos y microbiológicos del ensayo *in vivo* de pollos de engorde

	Tasa de mortalidad	Índice de consumo	Peso corporal (g)	Carga bacteriana (UFC/g de heces)	Carga fúngica (UFC/g de heces)
Lote 1	0 %	2,3	105 ± 8,6	1.10 ¹⁰ ± 0,3	8,6.10 ⁹ ± 3,7
Lote 2	0 %	2,2	110 ± 6,4	4,9.10 ⁹ ± 2,1	1,6.10 ⁹ ± 0,3
Lote 3	0 %	2,2	113 ± 3,4	4,5.10 ⁹ ± 3,2	5,7.10 ⁸ ± 1,2
Lote 4	0 %	2,1	121 ± 4,5	3,2.10 ⁸ ± 4,1	1,3.10 ⁸ ± 0,3
Lote 5	0 %	1,9	138 ± 6,6	7,3.10 ⁷ ± 5,2	8,6.10 ⁷ ± 1,5
Lote 6	0 %	1,8	157 ± 2,2	2.10 ⁷ ± 1,70	5.10 ⁷ ± 1,1

El ensayo *in vivo* para los pavos dio resultados similares a los obtenidos en el ensayo *in vivo* de los pollos de engorde.

10 Ejemplo 3: Ensayos de campo

Se llevaron a cabo ensayos de campo en una granja de pollos de engorde y en una granja de pavos de engorde. En estos ensayos, dos lotes de 13500 pollitos cada uno recibieron la preparación de la invención a la dosis de dos kilogramos por tonelada de pienso durante toda la duración del experimento (40 días para el pollo y 13 semanas para el pavo). Otros dos lotes de 13500 pollitos cada uno recibieron la preparación de la invención a la dosis de 1 kilogramo por tonelada de pienso y otros dos lotes de 13500 pollitos cada uno recibieron un pienso que contenía el antibiótico flavomicina a 200 gramos por tonelada de pienso y el antiparasitario salinomocina a 70 gramos por tonelada de pienso para los pollos y monensina para los pavos. Al final del experimento, se midieron las características zootécnicas y las puntuaciones de las lesiones para cada lote.

Los resultados muestran:

20 La mortalidad: el porcentaje de pollos y de pavos muertos durante el ciclo de cría fue de 2,9 % para los pollos y 2,5 % para los pavos en los lotes que habían recibido 1 kilogramo o 2 kilogramos de la preparación de la invención por tonelada de pienso. En los lotes que habían recibido el antibiótico y el antiparasitario en el pienso, la mortalidad fue del 5,2 % para los pavos y del 5,9 % para los pollos.

25 El peso medio: el peso medio de los dos lotes que habían recibido 1 kilogramo o dos kilogramos de la preparación de la invención por tonelada de pienso es de 2,3 kg por sujeto vendido en los pollos y de 12,8 kg en los pavos, el de los dos lotes que habían recibido el antibiótico y el antiparasitario fue de 2,135 kg en los pollos y 11,9 kg en los pavos.

El índice de consumo: para los lotes que habían recibido dos kilogramos de la preparación de la invención por tonelada de pienso fue de 1,68, el de los lotes que habían recibido un kilogramo de la preparación por tonelada de pienso fue de 1,82, el de los dos lotes que habían recibido el antibiótico y el antiparasitario fue del orden de 1,98.

30 Los títulos de anticuerpos correspondientes a las vacunas utilizadas: título de inhibición de la hemaglutinación en relación con los anticuerpos del virus de la enfermedad de Newcastle: en los lotes que habían recibido la preparación a razón de dos kilogramos y un kilogramo por tonelada de pienso fueron respectivamente 64, 64, 64, 32 y para los dos lotes que habían recibido el antibiótico y el anticoccidiano fueron 16 y 16.

35 La puntuación de lesiones del intestino: las puntuaciones de las lesiones del intestino fueron las más bajas (1,22) para los lotes que habían recibido la preparación de la invención a razón de dos kilogramos y un kilogramo, mientras que la puntuación de los lotes que habían recibido el antibiótico y el anticoccidiano fue del orden de 2,74 y 3,13.

40 La puntuación de la integridad de los órganos: el aspecto de los órganos (hígado, bazo, pulmones, músculos y huesos) fue claramente más saludable (sin presentar ningún signo de congestión) para los lotes que habían recibido la preparación de la invención a razón de dos kilogramos y un kilogramo por tonelada de pienso, mientras que se observaron signos de congestión visibles a simple vista en la mayoría de los sujetos sometidos a autopsia en los dos lotes que habían recibido el antibiótico y el antiparasitario.

Estos resultados muestran de manera sorprendente que la preparación de la invención ejerce las actividades múltiples para las que ha sido desarrollada y también en las condiciones de cría intensiva en el campo.

Ejemplo 4 Inhibición y adsorción de micotoxinas en el pienso y en el maíz:

Se trataron muestras de maíz y de pienso compuesto con cantidades variables de la preparación de la invención en las proporciones de 2 kilogramos, 4 kilogramos y 6 kilogramos por tonelada de pienso. Estas muestras se embalaron herméticamente y se incubaron a una temperatura de 27,5 °C. Se tomaron alícuotas de 50 gramos después de cuatro semanas para una valoración de micotoxinas: los resultados muestran que las muestras de maíz que habían sido tratadas con la preparación de la invención presentan un nivel de DON (desoxinivalenol) de ZON (zearalenona) y de ocratoxina significativamente más bajo que la muestra testigo. Este efecto de inhibición y de adsorción de las micotoxinas es creciente en función de la dosis de preparación de la invención utilizada. Se obtuvo un resultado similar para la muestra de pienso compuesto tratada por la preparación de la invención en comparación con la muestra no tratada y esto, para las micotoxinas ocratoxina (ZON) y aflatoxina.

Estos resultados muestran que la preparación de la invención tiene también la capacidad de proteger al pienso y al maíz de las micotoxinas que representan un factor de riesgo importante que favorece la aparición de enfermedades y que provoca en los casos agudos intoxicaciones mortales para los animales.

Tabla 3: Porcentaje de reducción de las micotoxinas en el maíz tratado con la preparación de la invención en comparación con el testigo no tratado

Preparación Micotoxinas	0,2 g/100 g de maíz	0,4 g/100 g de maíz	0,6 g/100 g de maíz
Zearalenona	56 %	59 %	61 %
DON	63 %	73 %	75 %
Ocratoxina	13 %	22 %	27 %

Tabla 4: Porcentaje de reducción de las micotoxinas en el pienso compuesto tratado, en comparación con el testigo no tratado.

Preparación Micotoxinas	0,2 g/100 g de pienso	0,4 g/100 g de pienso	0,6 g/100 g de pienso
Zearalenona	35 %	63 %	94 %
Aflatoxina	74,33 %	86 %	89 %

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición que combina a la vez las actividades antimicrobianas y adsorbentes de toxinas, caracterizada porque está constituida por un complejo molecular obtenido por mezcla de un agente antimicrobiano volátil con una arcilla comestible, estando intercalado dicho agente antimicrobiano volátil en el espacio interfoliar de la arcilla y siendo dicha arcilla una mezcla de estevensita y de bentonita producida o naturalmente interestratificada.
2. Composición según la reivindicación 1, caracterizada porque dicho agente antimicrobiano es un aceite esencial o uno de sus compuestos volátiles, preferiblemente un alcohol aromático antiséptico elegido entre el timol, el cresol, el carvacrol, el eugenol, el mentol y el cinamaldehído, naturales o sintéticos, y los isómeros, derivados y mezclas de los mismos.
- 10 3. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizada porque dicho agente antimicrobiano volátil está constituido por una mezcla de dos o más agentes antimicrobianos naturales o sintéticos.
- 15 4. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizada porque dicha arcilla comestible es una mezcla de Ghassoul y de bentonita, preferiblemente una mezcla de Ghassoul de Marruecos y de bentonita de Marruecos, que consiste preferiblemente en al menos 5 % en peso, y de manera más particularmente preferible en al menos 30 % en peso, de Ghassoul de Marruecos.
5. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizada porque dicho agente antimicrobiano volátil está presente en una relación másica de 0,005 a 0,33 con respecto a dicha arcilla comestible.
6. Procedimiento de fabricación de dicha composición según las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado porque comprende las siguientes etapas:
- 20 i. Dicho agente antimicrobiano volátil se disuelve en un disolvente orgánico o inorgánico para obtener la solución antimicrobiana.
- ii. Dicha solución antimicrobiana así obtenida se mezcla con dicha arcilla comestible en forma de polvo o de pelets en condiciones de agitación y de temperatura que permiten obtener una composición homogénea y estable constituida por un complejo molecular que contiene dicha arcilla comestible intercalada por dicho agente antimicrobiano volátil,
- 25 preferiblemente, dicho agente antimicrobiano volátil se elige entre el timol, el cresol, el carvacrol, el mentol, el eugenol y el cinamaldehído, y los isómeros, derivados y mezclas de estos, dicho disolvente orgánico o inorgánico es un aceite vegetal y dicha arcilla comestible es una mezcla de estevensita y de bentonita producida o naturalmente interestratificada.
- 30 7. Procedimiento de fabricación según la reivindicación 6, caracterizado porque:
- i. Una cantidad de agente antimicrobiano volátil se disuelve gradualmente en una cantidad de aceite vegetal, que representa del 1 al 20 % de la cantidad de agente antimicrobiano volátil, se agita y se calienta a una temperatura que varía de 30 a 80 °C para obtener una solución líquida homogénea y límpida denominada solución antimicrobiana;
- 35 ii. Una cantidad de la solución antimicrobiana se incluye gradualmente mediante mezcla en una cantidad de dicha arcilla comestible en polvo, que representa al menos 3 veces la cantidad de solución antimicrobiana, para obtener un polvo tamizable;
- iii. El polvo tamizable obtenido se calibra mediante tamizado para obtener la granulometría deseada.
- 40 8. Procedimiento de fabricación según la reivindicación 6 o 7, caracterizado porque dicho agente antimicrobiano es el timol y dicho disolvente orgánico es un aceite vegetal, y dicha arcilla comestible es el Ghassoul de Marruecos solo o mezclado con la bentonita de Marruecos.
9. Procedimiento de fabricación según la reivindicación 8, caracterizado porque la etapa de disolución gradual de una cantidad de timol en una cantidad de aceite vegetal que representa del 1 al 20 % de la cantidad de timol, se lleva a cabo a una temperatura que oscila de 40 a 60 °C.
- 45 10. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, siendo dicha composición un aditivo alimentario para animales.
- 50 11. Composición según la reivindicación 10, en la que dicho animal se elige entre los mamíferos, preferiblemente elegidos entre los bovinos, los ovinos, los conejos, los cerdos, los caprinos y los équidos, los peces, las abejas y las aves de corral, preferiblemente elegidas entre los pollos de engorde, las gallinas ponedoras, los gallos y gallinas reproductores, las pintadas, los pavos, las codornices, los patos, los gansos y las palomas.